

СТАН ЕНДОГЕННОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ ТА ПОКАЗНИКІВ НЕСПЕЦИФІЧНОГО ІМУННОГО ЗАХИСТУ ОРГАНІЗМУ ПРИ МІСЦЕВОМУ ВИКОРИСТАННІ ПОДРІБНЕНОГО СУБСТРАТУ ЛІОФІЛІЗОВАНОГО КСЕНОДЕРМОІМПЛАНТАТА ДЛЯ ЗАКРИТТЯ ІНФІКОВАНИХ ОПІКОВИХ РАН ІІІ–ІV СТУПЕНІВ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

В експериментах на морських свинках показано доцільність місцевого використання подрібненого субстрату ліофілізованого ксенодермоімплантата при інфікованих опікових ранах ІІІ–ІV ступенів. Застосування подрібненого субстрату ксеношкіри забезпечує очищення опікових ран, стимулює регенерацію, фактори неспецифічного імунного захисту організму опечених тварин, підвищуючи стійкість організму до антигенного навантаження, спричиненого опіковою травмою.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: ксенодермоімплантат, опіки, подрібнений субстрат ксеношкіри.

ВСТУП. Рівень ендотоксемії та зміни показників імунологічних досліджень при опіковій травмі залежать від площі, глибини опікових ран та перебігу ранового процесу. Вже на 2–3 добу після опіку у тварин розвивається опікова токсемія як другий період опікової хвороби. Вирішальну роль у розвитку інтоксикації відіграють токсичні речовини різної природи: специфічні токсини, що надходять із вогнища термічного ураження при пошкодженні тканин, розвитку запалення; неспецифічні токсини – пептиди середньої молекулярної маси, що утворюються при протеолітичному розщепленні білків плазми, біогенні аміни, компоненти кінінової системи, простагландини, ендоперекиси ліпідів, гідролази клітинного походження та ін.; токсини мікробного походження, медіатори імунних реакцій [5, 7].

Саме для зменшення проявів інтоксикації використовують місцево на рани різноманітні біологічні й синтетичні покриття [3], оскільки через рани втрачаються вода, білки, електроліти, а сама рана є джерелом інфікування організму. Названі патогенетичні фактори призводять до різнопланових ускладнень і високого рівня летальності при глибоких поширених опіках з різко вираженою токсемією [3, 7].

У лікувальних закладах України для лікування опікових ран як тимчасове біологічне покриття широко використовують ліофілізовані ксенодермоімплантати [2]. Клінічний досвід

© І. М. Кліщ, А. В. Цимбалюк, 2013.

показав їх високу ефективність при поверхневих, а також свіжих неінфікованих глибоких опіках [5]. Разом із цим, при застосуванні ліофілізованих ксенодермоімплантатів для місцевого лікування ран після ранньої некректомії, а також за наявності інфікованих ран із значними серозно-гнійними виділеннями ефективність їх використання незначна [1, 4].

Тому пошук нових препаратів та замінників шкіри для місцевого лікування опікових ран є актуальним і необхідним.

Дослідження фізико-хімічних, біохімічних та біофізичних властивостей подрібненого субстрату з ліофілізованого ксенодермоімплантата характеризують подрібнений субстрат як новий високоефективний препарат з високим сорбційно-антиоксидантним, пластичним, метаболічним і окисно-відновним потенціалом [6, 8], і він може бути використаний для розробки нових методичних схем місцевого лікування опікових ран.

Метою даної роботи було дослідити стан ендогенної інтоксикації та зміни деяких імунологічних показників при використанні подрібненого субстрату ліофілізованого ксенодермоімплантата при опіковій травмі в експерименті.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Експериментальні дослідження проводили на лабораторних тваринах – морських свинках-самцях. Опікову травму відтворювали під внутрішньом'язовим

каліпсоловим наркозом шляхом спрямування водяної пари при температурі 96–97 °С на епільовану поверхню шкіри спини тварини впродовж 60 с на площі 18–20 % поверхні тіла.

Піддослідних тварин було поділено на 3 групи по 18 особин у кожній: до 1-ї групи входили тварини, в яких на рани накладали антисептики та мазеві пов'язки (контроль); до 2-ї – тварини з опіковою травмою, в яких після дренажної некректомії рани покривали клаптями ліофілізованого ксенодермоімплантата (ЛК); до 3-ї – тварини, в яких після некректомії опікову рану покривали подрібненим субстратом ліофілізованого ксенодермоімплантата (ПСЛК).

Подрібнений субстрат ксеношкіри використовували як тимчасову біологічну пов'язку, яка забезпечує бар'єрну функцію, з достатньо вираженими антимікробними та сорбційними властивостями [4, 8].

Місцеве лікування опікових уражень було спрямоване на очищення ран та підготовку їх до пластичного закриття автодермотрансплантатами.

Для вивчення при опіковому ураженні ендотоксемії та деяких імунологічних показників у плазмі крові тварин виводили з досліду шляхом передозування внутрішньом'язового каліпсолового наркозу і декапітації на 7, 14, 21 доби після травми. Ці терміни відповідають стадіям опікової хвороби: ранньої і пізньої токсемії та септикотоксемії.

Для оцінки лікувальної ефективності використання ПСЛК при експериментальній опіковій хворобі як критерій інтоксикації використано тест на мембранну резистентність клітин крові, зокрема еритроцитів у реакції кислотного гемолізу, і тест на токсичність за парамеціями.

Кількість лейкоцитів у периферійній крові, індекс зсуву лейкоцитів, фагоцитарну активність лейкоцитів, циркулюючі імунні комплекси (ЦІК) вивчали за загальноприйнятими методиками.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Аналізуючи результати експериментального дослідження опікового ураження, слід відмітити суттєві відмінності динаміки перебігу токсемії, ранового процесу і зміни показників імунологічних досліджень в усіх трьох групах лабораторних тварин.

Уже на 4–5 добу після опіку відмічали значні серозно-гнійні виділення з ран. У піддослідних тварин 1-ї групи виділення відзначали з-під коагуляційного некрозу в значній кількості. У морських свинок 2-ї групи спосте-

рігали відшарування клаптів ксеношкіри. Інфікування ран поширювалося на сусідні ділянки ран, що змушувало проводити щоденні перев'язки з антисептиками або заміною ЛК. У тварин 3-ї групи вже через 2–3 перев'язки з ПСЛК відмічали зменшення виділень з ран. На 14–15 добу проведеного експерименту у тварин 3-ї групи рани були чисті, без серозно-гнійних виділень, готові до проведення автодермопластики.

Слід зазначити, що в клінічному відношенні адсорбційна та пов'язана з нею антитоксична здатність подрібненого субстрату ксеношкіри має особливо важливе значення. Так, накладений на рану подрібнений субстрат, завдяки своїм активним сорбційним властивостям, активно проводить адсорбцію з неї токсинів, що сприяє інтенсивнішій елімінації токсинів з плазми крові, покращує перебіг опікової хвороби.

Отже, найбільш ефективно проходили очищення опікових ран, особливо інфікованих, зменшення ранових виділень та запального процесу, підготовка їх до автодермопластики у тварин 3-ї дослідної групи, в яких для місцевого лікування використовували ПСЛК.

При обстеженні в піддослідних тварин усіх трьох груп відмічали зростання токсичності сироватки крові на 7-му добу після опіку. Показники токсичності сироватки крові за індексом резистентності еритроцитарних мембран досягали мінімальних значень на 7-й день проведення експерименту і були збільшені у 1-й групі до 156 %, 2-й – до 149 %, 3-й – до 139 % відносно показників токсичності сироватки крові за резистентністю мембран еритроцитів у реакції кислотного гемолізу інтактних тварин (табл. 1).

В подальшому відмічали тенденцію до зменшення токсичності крові у піддослідних тварин: на 14-ту добу дослідження – до 142, 136 та 121 % відповідно, а на 21-шу добу в 1-й групі тварин – до 121 %, у 2-й – до 118 %, у 3-й – до 105 % відносно показників токсичності сироватки крові інтактних тварин (табл. 1).

Показники токсичності сироватки крові за парамеційним тестом також показали схожу картину змін. Так, на 7-му добу показник токсичності сироватки крові у 1-й групі піддослідних тварин був підвищений до 148 %, у 2-й – до 144 %, у 3-й – до 138 %, а в подальшому зменшувався і на 21-шу добу дослідження становив у 1-й групі 112 %, у 2-й – 112 %, а в 3-й – 102 % відносно інтактних тварин (табл. 2).

Поряд з бар'єрними тканинами у відповіді неспецифічних захисних систем організму на зовнішнє пошкодження вкрай важливу роль

Таблиця 1 – Токсичність сироватки крові тварин за резистентністю мембран еритроцитів у реакції кислотного гемолізу

Група тварин	Після травми, доби		
	7-ма	14-та	21-ша
1-ша	12,25±0,42*	16,33±1,5*	22,22±1,9*
2-га	14,49±0,34*	18,20±0,85*	23,10±0,68*
3-тя	17,27±0,63*#	22,23±0,7*#	26,90±0,9#
Інтактні	28,23±0,51		

Примітки. Тут і в наступних таблицях:

- 1) * – достовірність відмінностей між інтактними тваринами і дослідними групами;
- 2) # – достовірність відмінностей між контрольною і 3-тю дослідною групами.

Таблиця 2 – Токсичність сироватки крові тварин за парамеційним тестом

Група тварин	Після травми, доби		
	7-ма	14-та	21-ша
1-ша	4,2±0,4*	5,6±0,8*	7,1±1,2
2-га	4,6±0,4*	5,8±0,8*	7,2±1,2
3-тя	5,1±0,4*	6,4±0,8*	8,0±1,2
Інтактні	8,2±0,5		

відіграють інші клітинні елементи, зокрема такі складові системи крові, як лейкоцити. Зміна кількості лейкоцитів у периферійній крові тварин контрольної групи, для лікування яких використовували традиційні методи, відповідала характеру реакції на опікове пошкодження за нормоергічним типом (табл. 3). На 7-му добу експерименту у тварин цієї групи, опіки в яких лікували з використанням розчинів та водорозчинних мазей, відмічено лейкоцитоз, що становив $(8,52 \pm 0,16) \cdot 10^9/\text{л}$ проти $(6,23 \pm 0,14) \cdot 10^9/\text{л}$ в інтактних тварин. Значення індексу зсуву лейкоцитів (ІЗЛК) також було підвищеним проти рівня інтактних тварин на 73 %.

Аналогічну ситуацію стосовно кількості лейкоцитів у тварин 1-ї групи спостерігали і надалі. Якщо на 14-ту добу вона достовірно відрізнялася від показника інтактних тварин та дорівнювала 119 % до їх рівня, то на завершення (21-ша доба) складала 106 % від показника здорових морських свинок ($p > 0,05$).

На 14-ту добу відмічено зменшення ІЗЛК до 104 % проти показника інтактних тварин, а на 21-шу добу показник навіть дещо знизився і становив 98 % від норми ($p > 0,05$).

Кількість лейкоцитів периферійної крові експериментальних тварин 2-ї групи на 7-му добу становила $(7,42 \pm 0,17) \cdot 10^9/\text{л}$, що складало 119 % відносно інтактних тварин. На 14-ту добу кількість лейкоцитів становила 111 %, а на 21-шу – 108 % щодо норми.

На 7-му добу ІЗЛК у морських свинок 2-ї дослідної групи дорівнював 150 % від показника інтактних тварин та був на 23 % меншим порівняно з 1-ю дослідною групою.

Надалі, як і в морських свинок 1-ї дослідної групи, відмічали поступове та рівномірне

зменшення кількості ІЗЛК до 100 % на 14-ту добу та 96 % на 21-шу добу від рівня інтактних тварин (табл. 3).

Завдяки своїм помірним антисептичним та вираженим мембранопротекторним властивостям, місцеве лікування з використанням ПСЛК дозволило помітно скорегувати інтенсивність і тривалість запальної та некролітичної фаз катаболічного періоду ранового процесу, зменшити навантаження на захисні механізми тварин та пришвидшити початок репаративних явищ, на що побічно вказували отримані показники щодо стану неспецифічної резистентності у 3-й дослідній групі (табл. 3).

Вже на 7-му добу дослідження вміст лейкоцитів складав 109 % від показника інтактних тварин і був на 28 % меншим від аналогічного у контрольній групі. Надалі зниження кількості лейкоцитів у периферійній крові тварин 3-ї дослідної групи було рівномірним, і на 14-ту добу показник становив 105 %, а на 21-шу – перебував на рівні інтактних тварин.

Щодо співвідношення різних форм лейкоцитів помітно суттєву різницю: якщо у контролі момент переважання зрілих форм над незрілими наставав лише на 14-ту добу, то в 3-й дослідній групі вже на 7-му добу ІЗЛК наближався до показника інтактних тварин та становив 109 % від його рівня і був меншим на 24,52 % ($p < 0,001$) від показника контрольної групи.

Поряд із кількісними показниками стану будь-якої системи організму важливе значення має і її функціональний потенціал. Ми досліджували фагоцитарну активність лейкоцитів (ФАЛ) як один із важливих тестів напруження та ефективності роботи захисних механізмів, яка багато в чому залежить від стану реактив-

Таблиця 3 – Показники неспецифічного захисту організму тварин з опіковою травмою на тлі застосування коригувальних чинників ($M \pm m$)

Термін спостереження, доби	Група тварин			
	Інтактні	1-ша (контроль)	2-га (ЛК)	3-тя (ПСЛК)
Кількість лейкоцитів, $\cdot 10^9$ /л				
7-ма	6,23 \pm 0,14	8,52 \pm 0,16*	7,42 \pm 0,17*	6,82 \pm 0,16**
14-та		7,42 \pm 0,12*	6,92 \pm 0,16*	6,56 \pm 0,14*
21-ша		6,58 \pm 0,12	6,72 \pm 0,14*	6,28 \pm 0,15
ІЗЛК				
7-ма	0,052 \pm 0,007	0,09 \pm 0,008*	0,078 \pm 0,010	0,057 \pm 0,011
14-та		0,054 \pm 0,008	0,052 \pm 0,007	0,053 \pm 0,005
21-ша		0,051 \pm 0,008	0,050 \pm 0,005	0,052 \pm 0,006
ФАЛ, %				
7-ма	48,34 \pm 0,36	48,9 \pm 0,62	49,6 \pm 0,64	54,3 \pm 0,42**
14-та		48,5 \pm 0,47	49,2 \pm 0,43	48,6 \pm 0,32
21-ша		48,3 \pm 0,34	48,4 \pm 0,28	51,6 \pm 0,29**
ЦІК, МО/мл				
7-ма	85,16 \pm 0,29	208 \pm 3,4*	202 \pm 2,5*	166 \pm 2,8**
14-та		192 \pm 4,7*	186 \pm 4,3*	132 \pm 3,1**
21-ша		174 \pm 8,8*	158 \pm 4,8*	105 \pm 2,1**

ності організму. Отримані результати наведено в таблиці 3.

Так, у тварин 1-ї групи на 7-му добу було відмічено незначне зростання активності фагоцитів, яке становило 101 % до показника інтактних тварин. Впродовж усіх наступних термінів показник також суттєво не відрізнявся від норми (табл. 3). Очевидно, значне навантаження на механізми неспецифічного захисту продуктами життєдіяльності мікроорганізмів, ендогенна інтоксикація, пов'язана з піком розвитку запального процесу та катаболічними явищами в ділянці рани, спричинили помірний депресивний вплив на фагоцитарний потенціал.

У піддослідних тварин 2-ї групи на 7-му добу показник ФАЛ становив 103 %. На цей час рівень активності фагоцитів був меншим від показника здорових тварин (при $p \leq 0,001$). У наступні терміни в морських свинок 2-ї дослідної групи виявляли незначне зростання ФАЛ, яке, однак, було недостовірним (табл. 3).

Щоденна місцева терапія ранового процесу ПСЛК дозволила суттєво скорегувати відповідь організму на опікове пошкодження. Антибактерійний потенціал ПСЛК сприяв зменшенню мікробної контамінації рани, а також мав мембранопротекторний ефект, у результаті чого зменшувалося подразнювальне та антигенне навантаження на захисні механізми морських свинок 3-ї дослідної групи. Так, показник ФАЛ на 7-му добу складав 112 %, на 14-ту – 101 % та на 21-шу – 107 % відносно інтактних тварин.

Отримані дані можна пояснити меншою деструкцією тканин дерми продуктами запально-інфекційного процесу, швидшим процесом завершення некролізу та початком анаболіч-

ної фази з проліферацією замісної грануляційної тканини. На 21-шу добу показники морських свинок 3-ї дослідної групи не відрізнялися від показників, характерних для інтактних тварин (табл. 3).

Одним з індикаторів стану імунного статусу організму і розвитку автоімунних процесів є рівень циркулюючих імунних комплексів у крові. Тривала циркуляція в організмі імунних комплексів навіть при незначному підвищенні їх рівня призводить до утворення накопичень останніх у тканинах, підвищеної агрегації і адгезії тромбоцитів, що, у свою чергу, спричиняє порушення мікроциркуляції крові та облітерацію судин гемомікроциркуляторного русла, пошкодження і некроз тканин [7].

Зміни концентрації ЦІК у сироватці крові помітно відрізнялись у тварин кожної експериментальної групи.

На 7-му добу отримано такі дані: найнижчу концентрацію було виявлено у 3-й дослідній групі, де для місцевого лікування використовували ПСЛК, вона складала 204 % від рівня інтактних тварин. Найвищий вміст загальних ЦІК спостерігали в контрольній групі, він становив 244 % від норми. У подальшому було відзначено зниження концентрації в кожній групі. На 14-ту добу в контрольній групі концентрація складала 225 % від показника інтактних тварин, а на 21-шу – 204 %.

У 2-й і 3-й групах на 14-ту та 21-шу доби дослідження концентрація ЦІК дещо зменшувалася і становила, відповідно, 218 та 185 % (у 2-й групі) і 155 та 123 % (у 3-й групі) від рівня інтактних тварин.

Наведені вище результати свідчать про те, що подрібнений субстрат ксеношкіри є ефек-

тивним засобом корекції загоєння інфікованих опікових ран в експериментальних тварин. Піком його позитивного впливу були фази розвитку ексудативного процесу та очищення рани від некротичних мас. Внаслідок пригнічення вираження запального процесу подрібненим субстратом ЛК різко скорочувалися періоди цих двох етапів, значно швидше наставала фаза анаболічних змін у тканинах рани, суттєво скорочувався період очищення рани від некротичних тканин (6–7 діб), створювалися умови для швидшого проведення автодермопластики рани.

ВИСНОВКИ. 1. Місцеве застосування для закриття інфікованих опікових ран III–IV ступенів подрібненого субстрату ліофілізованого ксенодермоімплантата в експерименті супроводжується зниженням ступеня вираження ендогенної інтоксикації внаслідок адсорбції з рани токсичних продуктів, що сприяє інтенсивнішій елімінації токсинів з плазми крові й забезпечує очищення опікової рани.

2. Використання подрібненого субстрату ліофілізованого ксенодермоімплантата стимулює фактори неспецифічного імунного захисту організму опечених тварин, підвищуючи стійкість організму до антигенного навантаження, спричиненого опіковою травмою.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Алексеев А. А. Применение биологической повязки “Ксенодерм” для лечения ожоговых ран / А. А. Алексеев, Ю. И. Тюрников, С. В. Попов // Комбустиология. – 2007. – № 32. – С. 34–37.

2. Бигуняк В. В. Применение криолиофилизированной ксеногенной кожи в лечебных учреждениях Украины / В. В. Бигуняк, Н. В. Гуда, А. В. Цимбалюк // 2-й съезд Ассоциации врачей экстренной медицинской помощи, посвященный десятилетию службы экстренной медицинской помощи Республики Узбекистан, Ташкент, 21–22 окт. 2011 г. – Ташкент, 2011. – С. 49–50.

3. Бигуняк В. В. Використання ліофілізованих ксенодермотрансплантатів у комбустиології / В. В. Бигуняк, М. Ю. Повстаний, Н. В. Гуда // Метод. рекомендації. – 2003. – 21 с.

4. Бигуняк В. В. Використання подрібненого субстрату кріоконсервованої ксеношкіри в лікуванні хворих із раневим процесом / В. В. Бигуняк, Н. В. Гуда, А. В. Бигуняк // Матеріали наукового конгресу 22-го

з'їзду хірургів України. – Вінниця, 2–5 черв. 2010 р. – Вінниця, 2010. – Т. 1. – С. 128–129.

5. Гуда Н. В. Використання ліофілізованих ксенодермотрансплантатів для лікування дермальних опіків у потерпілих похилого і старечого віку / Н. В. Гуда, А. В. Бигуняк // Шпитальна хірургія. – 2007. – № 3. – С. 47–52.

6. Гуда Н. В. Вміст амінокислот та мікроелементів кріоліофілізованої ксеношкіри як показник її біологічної активності / Н. В. Гуда, А. В. Цимбалюк // Мед. хімія. – 2012. – 14, № 1 (50). – С. 70–73.

7. Местное медикаментозное лечение ожоговых ран: проблемы и перспективы / А. А. Алексеев, М. Г. Крутиков, А. Э. Бобровников, М. Г. Логвилова // Актуальные проблемы термической травмы. – СПб., 2009. – С. 236–237.

8. Цимбалюк А. В. Антитоксичний феномен кріоліофілізованого ксенодермального субстрату / А. В. Цимбалюк, Н. В. Гуда // Мед. хімія. – 2012. – 14, № 2 (51). – С. 64–67.

И. Н. Клищ, А. В. Цимбалюк

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

СОСТОЯНИЕ ЭНДОГЕННОЙ ИНТОКСИКАЦИИ И ПОКАЗАТЕЛЕЙ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ ИММУННОЙ ЗАЩИТЫ ОРГАНИЗМА ПРИ МЕСТНОМ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ИЗМЕЛЬЧЕННОГО СУБСТРАТА ЛИОФИЛИЗИРОВАННОГО КСЕНОДЕРМОИМПЛАНТАТА ДЛЯ ЗАКРЫТИЯ ИНФИЦИРОВАННЫХ ОЖОГОВЫХ РАН III–IV СТЕПЕНЕЙ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Резюме

В экспериментах на морских свинках показана целесообразность местного использования измельченного субстрата лиофилизированного ксенодермоимплантата при инфицированных ожоговых ранах III–IV степеней.

Применение измельченного субстрата ксенокожи обеспечивает очищение ожоговых ран, стимулирует регенерацию, факторы неспецифической иммунной защиты организма животных с ожогами, повышая стойкость организма к антигенной нагрузке при ожоговой травме.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **ксенодермоимплантат, ожоги, измельченный субстрат ксенокожи.**

I. M. Klishch, A.V. Tsymbaliuk

I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

STATE OF ENDOGENOUS INTOXICATION AND INDICES OF NON-SPECIFIC IMMUNE ORGANISM DEFENSE AT LOCAL APPLICATION OF MORSSELIZED SUBSTRATE OF LIOPHILIZED XENOGRAFT FOR CLOSING THE INFECTED BURN

Summary

Expediency of morselized xenograft substrate local usage at III–IV stage infected burns was shown experimentally on guinea pigs. Application of morselized xenograft substrate provides burn wound cleaning, stimulates regeneration and non-specific immune defense factors in burned animal's organisms, which at the same time increases organism's persistence to antigen load in case of burn trauma.

KEY WORDS: **xenograft, burns, morselized xenograft substrate.**

Отримано 17.01.13

Адреса для листування: *I. М. Кліщ, Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського, м. Воли, 1, Тернопіль, 46001, Україна.*