

УДК 617.58:616.13-004.6-001.4-07-08

ОЦЕНКА, ПРОГНОЗИРОВАНИЕ И КОРРЕКЦИЯ ПЕРВОЙ ФАЗЫ РАНЕВОГО ПРОЦЕССА У БОЛЬНЫХ С ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ПЕРИФЕРИЧЕСКИХ АРТЕРИЙ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ

С.М. СМОТРИН, д.м.н.; А.Г. КУЗНЕЦОВ;

И.А. НАУМОВ, к.м.н.; В.М. ШЕЙБАК, д.м.н.

УО «Гродненский государственный медицинский университет»

В статье приводятся данные о типах клеточной эмиграции в очаг травматического повреждения у здоровых лиц и больных с заболеваниями периферических артерий, которые позволяют проводить оценку и прогнозировать течение первой фазы раневого процесса. Установлены четыре типа реакции клеточной эмиграции: нормоэргический, гипоэргический, гиперэргический и анергический. У 68% больных синдромом диабетической стопы отмечен гипоэргический тип клеточной эмиграции, а у 32% больных анергический тип. Показано, что пирогенал стимулирует эмиграцию лейкоцитов в очаг повреждения тканей и может быть применен для коррекции первой фазы раневого процесса.

Ключевые слова: первая фаза раневого процесса, типы клеточной реакции: нормоэргический, гипоэргический, гиперэргический, анергический, сахарный диабет, облитерирующий атеросклероз артерий нижних конечностей, пирогенал.

The article presents the data on the types of cell migration into the traumatic injury focus in healthy subjects and in patients with peripheral arterial disease which allow to estimate and prognosticate the course of the first phase of wound process. Four reaction types of cell migration have been determined: normoergic, hypoergic, hyperergic and anergic. 68% of patients with the Diabetic Foot Syndrome showed hypoergic type of cell migration, and 32% of patients had anergic type. Pirogenal has been shown to stimulate leucocytes migration into the focus of tissue lesion and to be effective in correction of the first phase of wound process.

Key words: the first phase of wound process; normoergic, hypoergic, hyperergic and anergic types of cell reaction; diabetes mellitus; obliterating atherosclerosis of the arteries of lower extremities; pirogenal.

В последние годы наблюдается существенный рост числа больных с заболеваниями периферических артерий нижних конечностей. Наряду с этим отмечено и увеличение таких осложнений патологии артерий, как некротические поражения стопы, требующие хирургического лечения [1]. В условиях нарушенного кровообращения и иммунитета наблюдается увеличение нагноений послеоперационных ран. Известно, что реакция организма на внешнее воздействие, при котором происходит повреждение мягких тканей, реализуется через систему защиты, которая определяется совокупностью целого ряда факторов: возрастом, полом, наличием хронических заболеваний, нарушением периферической циркуляции крови, гемодинамическими расстройствами, ожирением и даже генетическими факторами [2, 3]. Однако, рассматривая вопрос о резистентности организма на повреждение мягких тканей в аспекте развития раневой инфекции, прежде всего, необходимо иметь в виду как биологические, так и клинические аспекты данной проблемы. Любое оперативное вмешательство сопровождается повреждением тканей организма. Первая фаза раневого процесса – это реакция организма на операционную травму, которая местно в первые часы послеоперационного периода реализуется через лейкоцитарно-макрофагальную сис-

тему. Определяющим моментом течения первой фазы раневого процесса является эмиграция лейкоцитов в зону повреждения. Именно через лейкоцитарно-макрофагальную систему обеспечивается адекватный интравульнарный фагоцитоз и активизируется клеточное и гуморальное звено иммунной системы [5, 6, 9, 8, 7]. Следовательно, развитие инфекции в области хирургического вмешательства (ИОХВ) определяется не только характером и степенью контаминации раны, но и способностью организма местно, через лейкоцитарно-макрофагальную систему обеспечить свою защиту от инфекционного фактора. Однако исследования по изучению местной клеточной реакции организма на внешнее повреждение мягких тканей ограничены в силу малодоступности стандартизированных методов исследования, позволяющих определять не только относительное, но и абсолютное содержание клеточных форм в очаге повреждения.

Цель исследования – изучить течение первой фазы раневого процесса у здоровых лиц, больных облитерирующим атеросклерозом артерий нижних конечностей (ОААНК), синдромом диабетической стопы (СДС) и определить возможности пирогенала для ее коррекции.

Материал и методы исследования

Исследования по изучению первой фазы раневого процесса проведены на 40 добровольцах мужского пола в возрасте 18-22 лет, 16 больных СДС и 31 больном ОААНК. Им с помощью специальных камер на коже внутренней поверхности средней трети левого предплечья создавали кожно-вакуумные пузыри. Давление в вакуумной камере постепенно понижали до $-0,6 \text{ кг/см}^2$ в течение 20 минут и поддерживали его на этом уровне до образования 4 пузырей диаметром 4,5-5,5 мм (рисунок 1).

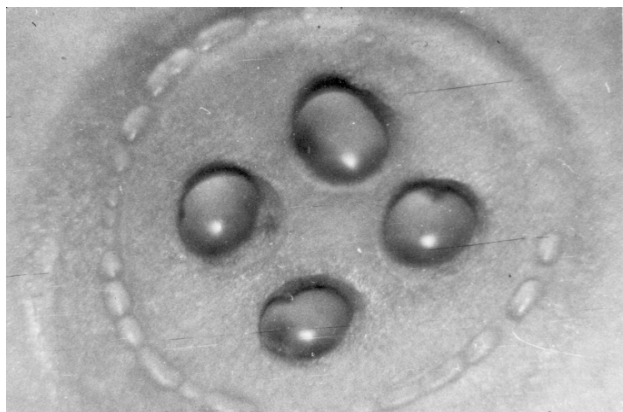


Рис. 1. Кожно-вакуумные пузыри диаметром 4-5 мм, образованные на коже предплечья у добровольца

Жидкость из пузырей на исследование брали сразу после удаления камеры и спустя 1, 3, 6, 12, 24 и 48 часов. Взятие жидкости из КВП у здоровых добровольцев осуществлялось по следующей методике: перед взятием жидкости для более равномерного распределения клеток обследуемым за 4-5 минут до вскрытия пузырей надавливали несколько раз стеклянной палочкой на их поверхность при положении предплечья вертикально вверх и 1-2 минуты крышкой пузыря вниз. Пузыри вскрывали с помощью пинцета с остро заточенными браншами, надрывая их у основания, и с помощью пипетки с тонким носиком по возможности забирали всю жидкость. С целью дополнительного перемешивания жидкость, набранную в пипетку, дважды выпускали на предметное стекло, размешивая на площади 1 см^2 , и максимально полно забирали обратно.

Часть жидкости использовали для подсчета количества лейкоцитов (подсчет производили в камере Горяева), а часть жидкости помещали на предметное стекло и после окраски по Романовскому определяли относительное содержание различных форм лейкоцитов. Иммунофенотипирование лимфоцитов проводилось с использованием диагностикумов на основе моноклональных антител. Аналогичному исследованию подвергалась жидкость КВП больных ОААНК и СДС. При подготовке к хирургическому лечению 14 больным с ОААНК для стимуляции В-системы иммунитета был применен бактериальный липополисахарид в дозе 100 МПД.

Результаты и обсуждение

Изучение эмиграции лейкоцитов в полость КВП у здоровых людей позволило установить, что динамические процессы накопления лейкоцитов в пузырной жидкости происходят в течение всего срока наблюдения (таблица 1.). Клеточный состав пузырной жидкости слагался из лейкоцитов и эритроцитов. Начиная с 6 часов от начала воздействия неполного вакуума, в клеточной суспензии пузырной жидкости наблюдалось численное преобладание лейкоцитов над эритроцитами, что позволяет считать ее с этого срока исследования лейкосуспензией. Было установлено отсутствие достоверного влияния времени взятия пузырной жидкости на количество содержащихся в ней эритроцитов, что, скорее всего, связано с тем, что эритроциты попадали в полость пузыря только во время его образования вместе с тканевой жидкостью.

Таблица 1. Динамика нарастания лейкоцитов в КВП у здоровых людей

Часы	Количество лейкоцитов в 1 мм^3 ($M \pm m$)	Относительное содержание лейкоцитов, (%)			
		Нейтрофилы ($M \pm m$)	Эозинофилы ($M \pm m$)	Макрофаги ($M \pm m$)	Лимфоциты ($M \pm m$)
0	$10,33 \pm 3,46$	-	-	-	-
1	$19,33 \pm 4,46$	-	-	-	-
3	$480,5 \pm 80,4$	$86,1 \pm 1,4$	$2,47 \pm 0,4$	$9,99 \pm 1,4$	$1,49 \pm 0,3$
6	$1897 \pm 226,9$	$67,6 \pm 3,5$	$3,10 \pm 0,5$	$27,3 \pm 3,2$	$1,96 \pm 0,4$
12	$3467 \pm 470,9$	$61,3 \pm 2,5$	$3,38 \pm 0,7$	$32,9 \pm 2,4$	$2,42 \pm 0,5$
24	$3072 \pm 465,5$	$55,2 \pm 4,4$	$2,01 \pm 0,4$	$39,9 \pm 3,9$	$3,00 \pm 0,7$
48	$2644 \pm 288,3$	$41,4 \pm 3,4$	$6,02 \pm 1,3$	$45,0 \pm 2,7$	$7,59 \pm 0,8$

При оценке влияния индивидуальных различий на состав лейкосуспензии установлено, что последняя испытывала наибольшее влияние индивидуальных особенностей состояния организма добровольцев в период с 6 до 24 часов экспозиции, а наиболее чувствительными показателями оказались относительное содержание нейтрофильных и эозинофильных лейкоцитов и общее число лейкоцитов.

В результате проведенных исследований не было выявлено достоверного влияния на состав лейкосуспензии длительности воздействия вакуума. Состав лейкосуспензии не испытывал также достоверного влияния времени (в течение суток) начала воздействия вакуума и не был связан с количеством эритроцитов в жидкости пузырей. Это указывает на то, что клеточный состав может отражать не только общебиологический характер реакции организма человека на данную травму, но и индивидуальные особенности реактивности, в число которых, несомненно, могут входить и патологические состояния. Лейкоциты в лейкосуспензии были активными на все сроки наблюдения, не направленно мигрировали и образовывали псевдоподии.

Так, после воздействия вакуумной травмы и образования кожно-вакуумных пузырей концентрация лейкоцитов в пузырной жидкости резко возрастала в течение первых часов наблюдения, достигая максимума на 12 часов. Затем число лейкоцитов в единице объема свободной жидкости несколько уменьшалось. Изменения клеточного состава жидкости КВП после экспозиции в том виде, кото-

рый представлен в таблице 1, возможны только тогда, когда хотя бы часть клеток способна исчезать из свободной пузырьной жидкости. В связи с этим наиболее вероятны два механизма: либо клетки могут разрушаться, что вполне вероятно в отношении, например, нейтрофильных лейкоцитов, либо мигрировать из пузыря через базальную мембрану назад в дерму. Последний механизм, по-видимому, характерен для мононуклеаров, так как большинство гранулоцитов, вышедших в ткань, никогда не возвращается в кровоток [4].

Начиная с трех часов от момента воздействия неполного вакуума, в пузырьной жидкости наблюдалось непрерывное уменьшение относительного содержания нейтрофильных лейкоцитов, тогда как концентрация макрофагов в лейкосуспензии непрерывно возрастала. Перекрест между количеством указанных клеточных форм наблюдался между 24 и 48 часами экспозиции.

Содержание эозинофилов в пузырьной жидкости несколько возросло лишь к 48 часам от начала воздействия отрицательного давления.

Характерным образом в пузырьной жидкости изменялось содержание лимфоцитов, оставаясь практически постоянным вплоть до 24 часов, еще через сутки оно вырастало в среднем в 2,5 раза. Кроме того, проведенный нами корреляционный анализ позволил сделать заключение об устойчивости характера, возникающей в ответ на воздействие неполного вакуума посттравматической воспалительной реакции. Посевы пузырьной жидкости и бактериоскопические исследования показали, что у человека, в отличие от лабораторных крыс, в течение 2 суток после образования кожно-вакуумных пузырей жидкость в их полости остается стерильной, а посттравматическое воспаление развивается по асептическому типу. У здоровых людей, в зависимости от характера и клеточного состава жидкости кожно-вакуумных пузырей, нами были выделены три типа реакции клеточной эмиграции: нормоэргический, гипоэргический, гиперэргический (таблицы 2 – 4).

Таблица 2. Характеристика клеточного состава жидкости кожно-вакуумных пузырей при нормоэргическом типе реакции клеточной эмиграции

Показатели цитогаммы	3 часа	6 часов	12 часов	24 часа
Абсолютное количество лейкоцитов в 1 мм ³	420-560	1670-2120	2990-3930	2410-3540
Нейтрофилы, %	86,1±1,4	67,6±3,5	61,3±2,5	55,2±4,4
Лимфоциты, %	1,49±0,30	1,96±0,40	2,42±0,50	3,00±0,70
Т-лимфоциты (CD3), %	47,8±2,3	49,4±2,6	52,6±2,9	59,3±1,9
Т-хелперы (CD 4), %	32,2±2,1	31,6±2,1	31,7±1,9	31,9±1,8
Т-супрессоры (CD 8), %	28,4±3,9	26,6±4,6	24,8±4,6	26,5±3,4
Иммунорегуляторный индекс (CD/4CD 8)	1,1-1,2	1,1-1,2	1,1-1,3	1,1-1,3

Таблица 3. Характеристика клеточного состава жидкости кожно-вакуумных пузырей при гипоэргическом типе реакции клеточной эмиграции

Показатели цитогаммы	3 часа	6 часов	12 часов	24 часа
Абсолютное количество лейкоцитов в 1 мм ³	220-420	970-1670	1840-2990	980-2410
Нейтрофилы, %	72,1±1,6	52,9±5,1	41,7±2,7	31,2±3,1
Лимфоциты, %	1,31±0,11	1,74±0,32	1,13±0,35	1,13±0,64
Т-лимфоциты (CD3), %	47,8±3,1	46,3±1,9	48,7±2,1	48,2±2,7
Т-хелперы (CD 4), %	26,1±1,1	26,4±2,2	25,5±1,8	26,8±2,1
Т-супрессоры (CD 8), %	30,1±1,8	30,6±2,6	27,8±1,6	29,5±2,3
Иммунорегуляторный индекс (CD/4CD 8)	0,8-0,9	0,8-0,9	0,8-0,9	0,8-0,9

При нормоэргическом типе реакции клеточной эмиграции (таблица 2) количество лейкоцитов в 1 мм³ пузырьной жидкости на 6 часов исследования было в пределах 1670-2120, а на 24 часа - 2410-3540. Содержание нейтрофилов на 6 часов исследования составляло 67,6±3,5%, а на 24 часа 55,2±4,4%. Иммунорегуляторный индекс имел стабильный показатель и находился в пределах 1,1-1,3. При гипоэргическом типе реакции клеточной эмиграции (таблица 3) отмечено замедление процессов эмиграции лейкоцитов в очаг повреждения. На 6 часов исследования нейтрофильные лейкоциты составляли 52,9±5,1% от всех клеточных форм, находящихся в полости КВП, а на 24 часа - 31,2±3,1%, иммунорегуляторный индекс находился в пределах 0,8-0,9. Гиперэргический тип реакции клеточной эмиграции (таблица 4) характеризовался ускорением нарастания всех клеточных форм в жидкости КВП и увеличением иммунорегуляторного индекса до 1,5-1,7.

Таблица 4. Характеристика клеточного состава жидкости кожно-вакуумных пузырей при гиперэргическом типе реакции клеточной эмиграции

Показатели цитогаммы	3 часа	6 часов	12 часов	24 часа
Абсолютное количество лейкоцитов в 1 мм ³	560-860	2120-2570	3930-4880	3540-3990
Нейтрофилы, %	80,2±1,1	77,4±1,6	72,5±1,9	70,3±2,2
Лимфоциты, %	2,11±0,11	2,43±0,21	3,23±0,19	3,11±0,53
Т-лимфоциты (CD3), %	45,3±1,4	44,4±2,1	46,5±2,8	45,8±1,8
Т-хелперы (CD 4), %	36,3±3,3	37,2±2,3	34,7±3,9	35,7±1,8
Т-супрессоры (CD 8), %	21,3±1,8	22,5±2,7	20,6±1,9	20,5±1,3
Иммунорегуляторный индекс (CD/4CD 8)	1,5-1,7	1,5-1,7	1,5-1,7	1,5-1,7

Нормоэргический тип клеточной эмиграции встречался у 82,8% здоровых добровольцев, гипоэргический тип – у 11,4% добровольцев, а гиперэргический – у 5,8% здоровых лиц.

У больных с СДС характер клеточной эмиграции не зависел от типа сахарного диабета. При этом у 68% больных отмечен гипоэргический тип клеточной эмиграции, а у 32% больных анергический тип клеточной эмиграции. Наряду с этим установлена обратная корреляционная связь абсолютного прироста нейтрофилов и уровня глюкозы в пузырьной жидкости ($r = -0,95$; $P < 0,05$) и крови больных ($r = -0,82$; $P < 0,05$), что, по-видимому, являлось следствием затрудненного усвоения глюкозы нейтрофильными лейкоцитами, а это, в свою очередь, снижает их функциональную активность [10]. Преобладание у больных синдромом диабетической стопы анергического и гипоэргического типа клеточной эмиграции свидетельствует о выраженном снижении активности местных защитных реакций организма и высокой вероятности развития ИОХВ. Как показали проведенные исследования, у больных с ОААНК на 6 часов от начала нанесения КВП в сравнении со здоровыми добровольцами отмечается замедление эмиграции лейкоцитов в зону посттравматического воспаления. При этом и относительное содержание нейтрофилов у больных с ОААНК было на 38% меньшим в сравнении со здоровыми добровольцами ($p < 0,05$). Более значительные нарушения процессов эмиграции лейко-

цитов наблюдались на 24 часа. На этот срок исследования у больных значительно менялись как относительные, так и абсолютные показатели эмиграции лейкоцитов в КВП, содержание нейтрофилов у больных с ОААНК составляло 51%. Торможение процессов эмиграции лейкоцитов в полость КВП пузырей у больных ОААНК соответствовало гиперергическому типу клеточной реакции в ответ на повреждение.

Четырнадцать больным с ОААНК, при подготовке к хирургическому лечению, для стимуляции В-системы иммунитета был применен пирогенал. Пирогенал вводили больным в дозе 100 МПД сразу после создания на коже предплечий КВП. Динамика эмиграции лейкоцитов в КВП после введения пирогенала у больных представлены на рис. 2 и рис. 3.

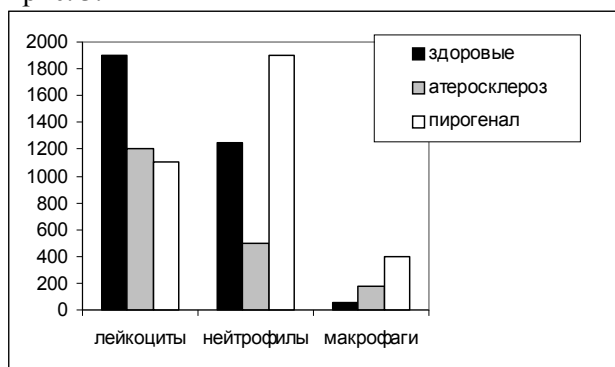


Рис. 2. Абсолютные показатели клеточного состава жидкости КВП у больных с ОААНК (на 6 часов исследования)

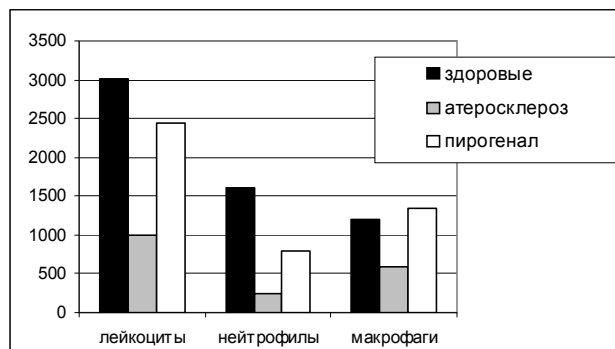


Рис. 3. Абсолютные показатели клеточного состава жидкости КВП у больных с ОААНК (на 24 часа исследования)

Исследования показали, что на 6 часов после введения пирогенала наблюдается увеличение в пузырьной жидкости нейтрофильных лейкоцитов и макрофагов. На 24 часа стимулирующий эффект от введения пирогенала на эмиграцию лейкоцитов в очаг асептического воспаления сохраняется.

Таким образом, результаты проведенных исследований показали, что нормоергический тип кле-

точной эмиграции встречается у 82,8% здоровых добровольцев, гиперергический тип – у 11,4% добровольцев, а гиперергический – у 5,8% здоровых лиц. Наличие гиперергического типа клеточной эмиграции, проявляющегося существенным снижением количества нейтрофильных лейкоцитов в очаге воспаления свидетельствует о предрасположенности этих людей к возникновению ИОХВ при условии контаминации ран при оперативном вмешательстве. У больных с СДС характер клеточной эмиграции не зависел от типа сахарного диабета. При этом у 68% больных отмечен гиперергический тип клеточной эмиграции, а у 32% больных анергический тип клеточной эмиграции. У больных с ОААНК преобладает гиперергический тип клеточной эмиграции. Применение пирогенала в составе базисной консервативной терапии приводит к смене гиперергического типа клеточной реакции на нормоергический. При этом как на 6 часов, так и на 12 часов исследования отмечен стимулирующий эффект БЛПС на эмиграцию лейкоцитов в очаг асептического воспаления.

Литература

1. Кокобелян А.Р., Зигмантович Ю.М. Синдром диабетической стопы и атеросклероз артерий нижних конечностей // Вестник хирургии. - 2006. - № 3. - С. 74-78.
2. Стручков Ю.В. Прогнозирование и профилактика послеоперационных нагноений // Хирургия. - 1987. - № 7. - С. 119-123.
3. Хирургические инфекции: руководство / Под ред. И.А. Ерюхина, Б.Р. Гельфанда, С.А. Шляпникова. - СПб: Питер, 2003. - 864 с.
4. Borel J.F., Feurer C.A. Model for assessing effects of drugs on granulocyte emigration in vivo // In: Willoughby D.A. et al., ed. Perspectives in inflammation. - Lancaster. - Eng. - MTP Press, 1977. - Vol. 3. - P. 69-74.
5. Hernandez - Richter J., Struck H. Die wundheilung theoretische und praktische Grundlagen // Int. Surg. - 1970. - № 4. - S. 385.
6. Hilario J. Infection control in the surgical center % a study over 16, 140 operations // BRA. - Tech. HOSP. Med. - Soc. Sanit. 1980. - Vol. 35, № 416. - P. 79-82.
7. Jakubaszko W., Grzebeniak Z., Melezynska -Matej m., Kuliczowski K. Wstepne wyniki wspomagania leczenia rozlanego zapalenia otrzewnej granulocytowo-makrofaqowym czynnikiem wzrostu (GM-CSF). Белорусско-польские дни хирургии/ под ред. проф., д.м.н. П.В. Гарелика. - Материалы международного научного симпозиума (18-20 октября 2001 г.). - Гродно, 2001. - 176 с.
8. Jensen L.S., Andersen., Holme J.B. Prevention of infections complications in acute and elective colorectal surgery. The role of prophylactic antibiotics and blood transfusion // Arch. Surg. - 1989. - Vol. 119, № 5. - P. 42-43.
9. Jondal M., Holm G., Wigsel H. Surface markers of human T- and B-lymphocytes forming non-immune rosettes vita aheep red blood cells // J. Exp. Med. - 1972. - Vol. 136. - P. 207-215.
10. Steckel R.R. Electrical stimulation on skin wound healing in the horse: preliminary studies // Am. J. Vet. Res. - 1984. - Vol. 45, № 4. - P. 800-803.

Поступила 31.07.07