

УДК 616-001:355.01:616.155-097.1/.3
DOI: 10.26435/UC.V013(36).575

Д.В. Соболев, П.А. Чернобривцев, М.С. Кишеня, С.Г. Белецкий, А.А. Щадько

ГОО ВПО «Донецкий национальный медицинский университет имени М. Горького», Донецк

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СОДЕРЖАНИЯ МАРКЕРОВ ЦИТОКИНОВОГО ПРОФИЛЯ В КРОВИ ПРИ БОЕВОЙ ТРАВМЕ

Вооруженный конфликт в Донбассе, начиная с 2014 года, носит ряд характерных особенностей, в частности, раненые и пострадавшие с боевыми повреждениями получают полный объем медицинской помощи в гражданских лечебных учреждениях [6]. Значительный коечный фонд, квалифицированный кадровый состав, наличие современной лечебно-диагностической базы создали возможность решать задачи специализированной медицинской помощи раненым и пострадавшим с боевыми повреждениями [8]. Однако, несмотря на адекватную, своевременную, радикальную хирургическую обработку, выполняющуюся в условиях специализированного центра, многокомпонентное консервативное лечение, было отмечено, что раневой процесс при сопоставимых по тяжести, локализации ранениях протекает по-разному у различных категорий раненных [2, 3]. Это обстоятельство послужило толчком к более пристальному изучению раневого процесса при боевой травме, изучению механизмов ускоренной или замедленной репарации. В работе использован опыт работы ожогового центра Института неотложной и восстановительной хирургии им. В.К. Гусака (ИНВХ) с 2014 по 2020 гг. при оказании специализированной хирургической помощи раненым и пострадавшим.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучить содержание маркеров цитокинового профиля в крови у раненных и пострадавших, установить степень их влияния на раневой процесс.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследование проводили на 120 пациентах, находившихся на стационарном лечении в ожоговом центре ИНВХ. В качестве критерия, отражающего скорость восстановительного периода, использовали длительность нахождения больных в стационаре. Методология исследования построена основе модели «случай-контроль». Были отобраны пациенты, срок нахождения в

стационаре которых находился в границах от 7 до 48 суток госпитального лечения. Все больные были доставлены в специализированный центр в срок до 48 часов от момента ранения. Формирование групп исследования проводили следующим образом: первую группу составили 60 человек с минимальными сроками лечения (7-10 суток), вторую группу – 60 пациентов с максимальными сроками лечения (19-48 суток).

В указанных группах больных все пациенты поступили в состоянии средней тяжести со следами непроникающими осколочными ранениями конечностей, головы, туловища. Тяжесть состояния при госпитализации оценивали по принятым шкалам ВПХ-СП, ВПХ-СГ и ВПХ-СС (военно-полевая хирургия, С – состояние, П – поступление, Г – госпитализация, СС – специализированный центр). После краткой предоперационной подготовки, все пациенты были оперированы в экстренном порядке, была произведена первичная хирургическая обработка раны, удаление инородных тел. В послеоперационном периоде раненные получали консервативное лечение, включающее в себя перевязки, обезболивание, антибактериальную и симптоматическую терапию.

Статистическая обработка полученных результатов проводилась с использованием пакетов программ Microsoft Excel 2010, STATISTICA 10 (StatSoft Inc., USA), онлайн-калькулятора (<http://gen-exp.ru/calculatoror.php>).

Для выявления соответствия распределений генотипов ожидаемым значениям при равновесии Харди-Вайнберга (HWE) и для сравнения распределений частот генотипов и аллелей в двух субпопуляциях использовался критерий χ^2 Пирсона с поправкой Йейтса [1]. Для представления результатов измерения показателя рассчитывалось его среднее значение с указани-

ем ошибки среднего ($\bar{X} \pm m$), для представления показателя частоты проявления качественного признака рассчитывалась его частота и ее ошибка ($\% \pm m\%$).

При сравнении средних значений двух выборок использовался критерий Стьюдента (в случае нормального закона распределения анализируемых данных) либо критерий Вилкоксона (когда закон распределения отличался от нормального). Значения уровня $p < 0,05$ рассматривались как статистически значимые.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Рассматривая процесс репаративной регенерации полученных повреждений как процесс воспалительной реакции, включающей фазы альтерации, экссудации и пролиферации, целесообразным является изучение как местных так и системных факторов регуляции и их влияния на длительность и характер регенераторно-восстановительных процессов.

Характер, динамика и прогноз течения воспаления в ранах являлись результатом патогенетически обусловленных взаимосвязей профилей как про- так противовоспалительных цитокинов.

Анализ значений трансформирующего фактора роста бета1 (TGFβ1) у пациентов в 1-2 сутки при поступлении позволил определить статистически достоверные отличия медианы первой и второй групп пациентов, а также межгрупповые различия. Так в первой группе уровень TGFβ1 увеличился в 1,22 раза, во второй группе – в 1,11 раза, что указывало на невысокий уровень влияния фактора роста и позволило рассматривать регенерацию во второй группе как процесс с митогенным потенциалом со сниженной активностью.

Исследуемые значения уровня TGFβ1 в период выписки пациентов, как в первой так и во второй группах больных характеризовались увеличением медианы в 1,36 раза в первой группе и 1,19 раза во второй группе в сравнении с контролем ($p < 0,001$), что являлось незначительным, но статистически достоверным, свидетельствуя о стимулирующем влиянии фиброгенных факторов в фазе пролиферации.

Сравнивая динамику содержания TGFβ1 в крови между группами пациентов на этапах поступления и выписки из стационара, удалось установить достоверное повышение фактора роста, как в первой так и во второй группах в 1,11 и 1,08 раза, соответственно ($p < 0,001$). Отличительной особенностью динамики синтеза TGFβ1 являлась большая активность в первой группе больных по сравнению со второй группой. По нашему мнению, в первой группе паци-

ентов продукция TGFβ1 соответствовала адекватному течению раневого процесса и являлась критерием эффективного заживления, соответствуя благоприятному неосложненному течению процессов репарации. Во второй группе больных гипопродукция TGFβ1 сопровождалась вялотекущим пролонгированным течением раневого процесса с присоединением микробных факторов и экссудативного компонента.

TGFβ1, являясь одним из ключевых клеточных медиаторов, участвующих в регуляции клеточного роста, воспаления, пролиферации и дифференцировки, внеклеточной матричной регенерации [9] активно стимулирует сложную систему фибробласта как источника биосинтеза компонентов межклеточного матрикса, способствующих процессам репарации ран [10].

Исследование провоспалительного цитокина фактора некроза опухоли альфа (TNFα) показало, что пациенты первой и второй групп имели статистически достоверное увеличение медианных значений TNFα пациентов в 2,27 и 2,67 раза, соответственно, ($p < 0,001$) в 1-2 сутки пребывания в стационаре. Высокая продукция цитокина TNFα была направлена на изменения микроциркуляции, активацию форменных элементов для привлечения гуморальных и клеточных медиаторов воспаления, участвующих в индуцировании воспалительных явлений. Заживление ран к моменту выписки из стационара, сопровождалось достоверным снижением концентрации TNFα крови в 1,37 раза в первой группе. Во второй группе динамика TNFα имела тенденцию к достоверному уменьшению в сравнении с начальным периодом лечения, превышая контрольный уровень в 2,58 раза ($p < 0,001$). В первой группе показатели TNFα превышали контрольный уровень к моменту выписки в 1,67 раза ($p < 0,001$), свидетельствуя о сохраняющемся влиянии провоспалительного цитокина на раневой процесс в группе с благоприятным неосложненным течением. Во второй группе сохраняющийся высокий уровень TNFα на протяжении всего периода лечения ран свидетельствовал о хронизации воспалительного процесса и вялотекущем течении регенераторных процессов [7, 11].

Исследование в крови интерлейкина-6 (IL-6) у пострадавших в 1-2 сутки лечения в стационаре показало статистически значимое увеличение его концентрации в первой группе больных в 9,77 раза, во второй группе в – 4,11 раза ($p < 0,001$), что указывало на более выраженный реактивный ответ у пациентов первой группы, стимулирующий механизмы воспалительной альтерации. Уровень IL-6 при выписке оставался повышенным, но в меньшей степени, чем при поступлении, так в первой группе IL-6 был

достоверно увеличен в 6,7 раза и 3,8 раза во второй группе ($p < 0,001$). Реакция на травму в первой группе проявлялась значимым снижением IL-6 в 1,45 раза в динамике лечения, а во второй группе минимальным уменьшением в 1,07 раза ($p < 0,001$).

Провоспалительный эффект IL-6 при повреждениях обусловлен активной миграцией раневых фибробластов, продуцирующих компоненты основного вещества соединительной ткани и волокон, такие как протеогликаны, эластин, коллаген, необходимые для восстановления поврежденных тканей. Несмотря на однонаправленность реакции IL-6 в исследуемых группах, механизмы эффективного заживления ран имели различные регуляторные влияния. Если в первой группе гиперпродукция IL-6 стимулировала реакции неспецифической защиты в I фазе раневого процесса и процессы коллагенообразования и иммунореактивности во II-III фазах, то сравнительно небольшая продукция IL-6 во второй группе, была обусловлена тормозящим влиянием гиперкортизолемии, неактивным нейтрофильным и макрофагальным фагоцитозом, угнетением T- и B-лимфоцитарной межклеточной кооперации, сопровождающейся длительным вялотекущим заживлением ран.

IL-6 начинает подавлять секрецию TNF α , активизирует синтез белков острой фазы воспаления [4], стимулирует синтез гормонов гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы [5], участвующих в патогенезе воспаления, что указывает на медиаторные эффекты IL-6 как, протак и противовоспалительного влияния.

При сравнении показателей противовоспалительного цитокина интерлейкина-10 (IL-10) в крови в исследуемых группах в 1-2 сутки лечения в стационаре было выявлено его статистически достоверное увеличение в 1,7 и 1,6 раза в первой и во второй группах, соответственно ($p < 0,001$). Исследование IL-10 в период выписки из стационара показало значимое увеличение его содержания в 2,6 раза в первой группе и в 1,7 раза во второй группе больных ($p < 0,001$). Анализ динамики уровня IL-10 в первой группе за период лечения в стационаре показал достоверный рост в 1,7 раза, а во второй группе незначительное увеличение IL-10 в процессе лечения являлось недостоверным ($p = 0,190$). Полученные результаты отражали активность провоспалительных реакций в первой группе и их влияние на процесс эффективного заживления. Во второй группе низкая продукция IL-10 в течение всего периода наблюдения свидетельствовала о слабо выраженном противовоспалительном влиянии, угнетении и замедлении процессов репаративной регенерации.

Исследование интерферона-гамма (IFN γ) в группах раненных в 1-2 сутки госпитализации в специализированное отделение показало достоверное увеличение его содержания в первой и второй группах в 1,4 раза и 1,3 раза ($p < 0,001$). Различия в уровнях IFN γ между группами в начальном периоде лечения травмы являлись незначительными и недостоверными ($p = 0,260$).

В процессе лечения содержание IFN γ не имело выраженной динамики и к моменту выписки оставалось повышенным в первой группе в 1,3 раза, а во второй группе в 1,46 раза ($p < 0,001$). Сравнивая динамику IFN γ в обеих группах при поступлении и выписке из стационара очевидным являлось его снижение в первой группе ($p = 0,012$), но превышающем контрольные значения и статистически значимое увеличение во второй группе ($p < 0,001$). Уменьшение содержания IFN γ к моменту выписки из стационара в первой группе и наметившаяся тенденция к нормализации его показателей соответствует процессу активной пролиферации и рубцевания ран. Во второй группе тенденция к увеличению IFN γ в процессе лечения ран и более длительные сроки заживления ран свидетельствовали о слабо выраженном стимулирующем влиянии IFN γ на процессы пролиферации.

Продукция IFN γ является не только маркером активации макрофагов, нейтрофилов, лимфоцитов, но и определяет регуляторные межклеточные взаимодействия в связи со значительными изменениями адгезивных свойств мембран клеток и экспрессии рецепторов для медиаторов, что существенно для механизмов формирования патологического процесса, его течения и исхода.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Характер, динамика и прогноз течения воспаления в ранах является результатом патогенетически обусловленных взаимосвязей профилей как про- так противовоспалительных цитокинов. Динамика цитокинов про- и противовоспалительного действия, фактора роста TGF β 1 в процессе лечения являлась отражением единства и взаимосвязи воспаления и регенерации, как неразрывных компонентов тканевой реакции на повреждение. Реакция IFN γ как одного из первоочередных пусковых медиаторов воспаления в ране обеспечивала активацию провоспалительных цитокинов TNF α и IL-6 для обеспечения адекватной фазы гидратации и очищения раны от поврежденных участков ткани, погибших клеток, экссудата, микробных патогенов. С первых суток травмы достоверное увеличение количества IFN γ в 1,4 раза в первой группе и 1,3 раза во второй группе указывало на его

иницирующее влияние на реакцию альтерации с ее преобладанием в первой группе. Достоверное увеличение TNF α в 2,28 и 2,67 раза и IL-6 в 9,76 и 4,11 раза в первой и второй группах больных свидетельствовало о выраженной активности сосудисто-клеточной реакции тканевых базофилов, нейтрофилов, эндотелиоцитов и моноцитов-макрофагов. Гиперреактивность IL-6 в первой группе обеспечивала быстрый и эффективный ответ клеток раневого дефекта при повреждении, и, наоборот, во второй группе слабая стимуляция эндотелия и структур периваскулярного пространства создавала неблагоприятный фон воспалительной реакции с тенденцией длительной экссудации в ране. Увели-

чение противовоспалительного цитокина IL-10 в 1,7 раза в обеих группах свидетельствовало о наличии регенераторного потенциала и стимуляции клеток раневого дефекта к пролиферации и дифференцировке. В динамике раневого процесса выявлена разнонаправленность реакции IFN γ , выразившаяся в достоверном снижении его количества в первой группе ($p=0,012$), и увеличении в полтора раза во второй группе ($p<0,001$), что являлось отражением продолжающегося альтеративно-экссудативного воспаления, привлечением в рану медиаторов воспаления клеточного и гуморального происхождения.

Д.В. Соболев, П.А. Чернобрытцев, М.С. Кишеня, С.Г. Белецкий, А.А. Щадько

ГОО ВПО «Донецкий национальный медицинский университет имени М. Горького», Донецк

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СОДЕРЖАНИЯ МАРКЕРОВ ЦИТОКИНОВОГО ПРОФИЛЯ В КРОВИ ПРИ БОЕВОЙ ТРАВМЕ

При боевой травме, несмотря на адекватную, своевременную, радикальную хирургическую обработку, выполняющуюся в условиях специализированного центра, многокомпонентное консервативное лечение, было отмечено, что раневой процесс при сопоставимых по тяжести, локализации ранениях протекает по-разному у различных категорий раненных. Это обстоятельство послужило толчком к более пристальному изучению раневого процесса при боевой травме, изучению механизмов ускоренной или замедленной репарации. В работе использован опыт работы ожогового центра ИНВХ с 2014 по 2020 гг. при оказании специализированной хирургической помощи раненым и пострадавшим. Целью исследования было изучить и проанализировать содержание в крови маркеров цитокинового профиля у раненных и пострадавших, установить степень их влияния на раневой процесс. Характер, динамика и прогноз течения воспаления в ранах является результатом патогенетически обусловленных взаимосвязей профилей как про- так противовоспалительных цитокинов. Динамика цитокинов про- и противовоспалительного действия, фактора роста TGF β 1 в процессе лечения являлась отражением единства и взаимосвязи воспаления и регенерации, как неразрывных компонентов ткане-

вой реакции на повреждение. Реакция IFN γ как одного из первоочередных пусковых медиаторов воспаления в ране обеспечивала активацию провоспалительных цитокинов TNF α и IL-6 для обеспечения адекватной фазы гидратации и очищения раны от поврежденных участков ткани, погибших клеток, экссудата, микробных патогенов. С первых суток травмы достоверное увеличение количества IFN γ в 1,4 раза в первой группе и 1,3 раза во второй группе указывало на его инициирующее влияние на реакцию альтерации с ее преобладанием в первой группе. Достоверное увеличение TNF α в 2,28 и 2,67 раза и IL-6 в 9,76 и 4,11 раза в первой и второй группах больных свидетельствовало о выраженной активности сосудисто-клеточной реакции тканевых базофилов, нейтрофилов, эндотелиоцитов и моноцитов-макрофагов. Гиперреактивность IL-6 в первой группе обеспечивала быстрый и эффективный ответ клеток раневого дефекта при повреждении, и, наоборот, во второй группе слабая стимуляция эндотелия и структур периваскулярного пространства создавала неблагоприятный фон воспалительной реакции с тенденцией длительной экссудации в ране.

Ключевые слова: цитокины, раневой процесс, репарация, боевая травма.

D.V. Sobolev, P.A. Chernobrytsev, M.S. Kishenya, S.G. Beletskiy, A.A. Shchadko

SEI HPE «M. Gorky Donetsk National Medical University», Donetsk

THE COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF CYTOKINE PROFILE MARKERS OF THE BLOOD CONTENT IN COMBAT TRAUMA

It was noted that the wound process with comparable severity, localization of wounds proceeds differently in different categories of combat trauma, despite ad-

equately, timely, radical surgical treatment performed in a specialized center, multicomponent conservative treatment. This circumstance gave a rise to a closer study of

the wound process in combat trauma, of mechanisms of accelerated or delayed repair. The work was used the experience of the burn center from 2014 to 2020 when providing specialized surgical care to the wounded and injured. The aim of the study was to study and analyze the content of cytokine profile markers in the blood of the injured and wounded, to determine the degree of their influence on the wound process. The nature, dynamics and prognosis of inflammation in wounds is the result of pathogenetically determined relationships between the profiles of both pro- and anti-inflammatory cytokines. The dynamics of cytokines of pro- and anti-inflammatory action, growth factor TGFβ1 in the course of treatment was a reflection of the unity and relationship of inflammation and regeneration, as inseparable components of the tissue response to damage. The reaction of IFNγ as one of the primary trigger mediators of inflammation in the wound provided activation of proinflammatory cytokines TNFα and IL-6 to ensure an adequate phase of hydration and purification of the wound from damaged

tissue sites, dead cells, exudate, and microbial pathogens. From the first day of injury, a significant increase in the number of IFNγ 1.4 times in the first group and 1.3 times in the second group indicated its initiating effect on the reaction of alterations with its predominance in the first group. A significant increase in TNFτ by 2.28 and 2.67 times and IL-6 by 9.76 and 4.11 times in the first and second groups of patients indicated a pronounced activity of vascular-cellular reaction of tissue basophils, neutrophils, endotheliocytes and monocytes-macrophages. Hyperreactivity of IL-6 in the first group provided a rapid and effective response of wound defect cells in case of injury, and, conversely, in the second group, weak stimulation of the endothelium and structures of the perivascular space created an unfavorable background of the inflammatory reaction with a tendency to prolonged exudation in the wound.

Key words: cytokines, wound process, repair, combat trauma

ЛИТЕРАТУРА

1. Антомонов М.Ю. Математическая обработка и анализ медико-биологических данных. К.: Изд-во «Малий-друк»; 2006. 558.
2. Военно-полевая хирургия: учебник. Под ред. Е.К. Гуманенко. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2013. 768.
3. Военно-полевая хирургия. Под ред. Н.А. Ефименко. М.: Медицина; 2002. 528.
4. Иголкина Е.В., Чичасова Н.В. Выживаемость терапии ингибиторами фактора некроза опухоли А: основные причины и тактика замены препаратов. Современная ревматология. 2018; Т. 12, 4: 23-31.
5. Могулевцева Ю.А., Мезенцев А.В., Брускин С.А. Воздействие на физиологические эффекты фактора некроза опухоли посредством рнк-интерференции матриксной металлопротеиназы. Генетика. 2018; Т. 54, 8: 948-955.
6. Специализированная хирургическая помощь при боевой травме. Под ред. Фисталь Э.Я., Долгошапко О.Н. Донецк; 2019. 232.
7. Батенева А.В. и др. Фармакокинетика рекомбинантного человеческого фактора некроза опухоли альфа в составе средства доставки. Биопрепараты. Профилактика, диагностика, лечение. 2019; Т. 19, 3: 169-177.
8. Фисталь Э.Я., Бассов О.И., Долгошапко О.Н. и др. Военно-полевая медицина. Донецк; 2015. 624.
9. Шевченко Ю.Л., Борщев Г.Г. Стимуляция ангиогенеза эндогенными факторами роста. Вестник Национального медико-хирургического центра им. Н.И. Пирогова. 2018; Т. 13, 3: 96-102.
10. Шепель Р.Н., Драпкина О.М. Новые векторы в диагностике метаболического синдрома: оценка уровня сосудистого эндотелиального фактора роста, пентраксина-3 и трансформирующего фактора роста бета. Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2019; Т. 18, 6: 57-61.
11. Теселкин Ю.О. и др. TLR-опосредованная продукция активных форм кислорода и фактора некроза опухоли альфа нейтрофилами периферической крови человека. Биофизика. 2018; Т. 63, 2: 270-276.

REFERENCES

1. Antomonov M.Yu. Matematicheskaya obrabotka i analiz mediko-biologicheskikh dannykh. K.: Izd-vo «Maliidruk»; 2006. 558 (in Russian).
2. Voenno-polevaya khirurgiya: uchebnik. Pod red. E.K. Gumanenko. M.: GEOTAR-Media; 2013. 768 (in Russian).
3. Voenno-polevaya khirurgiya. Pod red. N.A. Efimenko. M.: Meditsina; 2002. 528 (in Russian).
4. Igolkina E.V., Chichasova N.V. Vyzhivaemost' terapii ingibitorami faktora nekroza opukholi A: osnovnye prichiny i taktika zameny preparatov. Sovremennaya revmatologiya. 2018; T. 12, 4: 23-31 (in Russian).
5. Mogulevtseva Yu.A., Mezentsev A.V., Bruskin S.A. Vozdeistvie na fiziologicheskie efekty faktora nekroza opukholi posredstvom rnk-interferentsii matriksnoi metalloproteinazy. Genetika. 2018; T. 54, 8: 948-955 (in Russian).
6. Spetsializirovannaya khirurgicheskaya pomoshch' pri boevoi travme. Pod red. Fistalya E.Ya., Dolgoshapko O.N. Donetsk; 2019. 232 (in Russian).
7. Bateneva A.V. i dr. Farmakokinetika rekombinantnogo chelovecheskogo faktora nekroza opukholi al'fa v sostave sredstva dostavki. Biopreparaty. Profilaktika, diagnostika, lechenie. 2019; T. 19, 3: 169-177 (in Russian).
8. Fystal' E.Ya., Bassov O.I., Dolgoshapko O.N. i dr. Voenno-polevaya meditsina. Donetsk; 2015. 624 (in Russian).
9. Shevchenko Yu.L., Borshchev G.G. Stimulyatsiya angiogeneza endogennymi faktorami rosta. Vestnik Natsional'nogo mediko-khirurgicheskogo tsentra im. N.I. Pirogova. 2018; T. 13, 3: 96-102 (in Russian).
10. Shepel' R.N., Drapkina O.M. Novye vektory v diagnostike metabolicheskogo sindroma: otsenka urovnya sosudistogo endotelial'nogo faktora rosta, pentraksina-3 i transformiruyushchego faktora rosta beta. Kardiovaskulyarnaya terapiya i profilaktika. 2019; T. 18, 6: 57-61 (in Russian).
11. Teselkin Yu.O. i dr. TLR-oposredovannaya produktsiya aktivnykh form kisloroda i faktora nekroza opukholi al'fa neutrofilami perifericheskoi krovi cheloveka. Biofizika. 2018; T. 63, 2: 270-276 (in Russian).