

© С. Р. ПІДРУЧНА

ДВНЗ “Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського”

## Вплив ліофілізованих ксеноімплантатів на показники гуморальної ланки імунітету при тяжкій і комбінованій травмі

S. R. PIDRUCHNA

SHEI “Ternopil State Medical University by I. Ya. Horbachevsky”

### INFLUENCE OF LIOPHILIZED XENOIMPLANTS ON THE INDICES OF HUMORAL LINK OF THE IMMUNITY AT COMBINED AND SEVERE INJURY

Тяжка і комбінована травми супроводжуються порушеннями імунологічної реактивності організму. Застосування ліофілізованих ксеноімплантатів у тварин із політравмою усіх досліджуваних груп сприяє частковій нормалізації порушеної імунореактивності організму. Після проведеної корекції вміст показників гуморальної ланки імунітету – імуноглобулінів А, G, M та циркулюючих імунних комплексів мав тенденцію до зниження. Використання ліофілізованих ксеноімплантатів протягом тижня привело до найістотнішого зниження вмісту в плазмі крові Ig A, G, M та циркулюючих імунних комплексів.

Severe and combined injuries are accompanied with disorders of immunological reactivity of an organism. Application of liophilized xenoimplants in animals with polytrauma of all studied groups contributes to partly normalization of broken immunoreactivity of the organism. After the conducted correction the content of indices of humoral link of the immunity – immunoglobulins A, G, M and circulating immune complexes had a tendency to decrease. Application of liophilized xenoimplants during the week led to the most significant content decrease in the blood plasma of Ig, A, G, M and circulating immune complexes.

**Постановка проблеми і аналіз останніх досліджень та публікацій.** Причиною високої частоти інфекційних ускладнень при тяжких травмах є імунні порушення, які або передують травмі (травма в імунологічно скомпрометованих постраждалих), або розвиваються у постраждалих внаслідок обширності пошкоджених тканин, гострої масивної крововтрати або пошкодження життєво важливих органів, що найбільш характерно для тяжких поєднаних травм – політравм. Огляд спеціальної літератури [1–4], на жаль, не пояснює суті проблеми, залишивши в стороні ключове питання – роль імунних порушень у патогенезі поліорганної дисфункції при політравмі та можливі шляхи їх корекції. Проблема імунних розладів, супутніх тяжкій травмі, є вкрай важливою і актуальною, позаяк вкрай тяжка форма органно-функціональних порушень – поліорганна недостатність, компонентом якої є дисфункція імунної системи, стає безпосередньою причиною смерті більшості постраждалих від травм.

Вагомими регулювальними чинниками імунітету на тлі травматичної хвороби є про- і протизапальні цитокіни [5, 6]. Викликана травмою гострофазова реакція і в подальшому цитокінова мережа керують імунними реакціями, яка у стані дисбалансу може викликати стан або переважаючого

гіперзапалення, або пригнічення імунітету, або їх поєднання. Як наслідок, порушується взаємодія і правильне функціонування макрофагів і Т-клітин.

Проте відомі літературні дані про порушення імунологічного захисту при травматичній хворобі обмежені внутрішньосистемними характеристиками, а не відображають багатогранність посттравматичних реакцій цілого організму і не дозволяють провести ранню діагностику і прогнозування синдрому поліорганної недостатності та вісцеральних ускладнень у постраждалих із тяжкою травмою. При цьому сучасні уявлення про патофізіологічні закономірності перебігу травматичної хвороби недостатні. Зокрема, донині залишаються недостатньо вивченими особливості системної запальної відповіді при політравмі, які можуть забезпечувати тією чи іншою мірою функціональну дезінтеграцію імунної, детоксикаційної систем, дисфункцію органів і систем із розвитком поліорганної недостатності, через специфічні рецептори для цитокінів і регуляторних поліпептидів, тобто первинних і вторинних месенджерів [7–11]. У даний час в літературі з'явилися повідомлення про використання ліофілізованих ксеноімплантатів для лікування скальпованих ран та глибоких опіків [12–14], проте на сьогодні залишається не вирішеною

їх роль у корекції імунних порушень при тяжкій та комбінованій травмі. Також потребують подальшого вивчення особливості імунних порушень, які розвиваються на тлі політравми і являють собою тяжку складову частину поліорганної недостатності з депресією імунної системи, що, в свою чергу, може бути однією із причин смертельних наслідків серед більшості постраждалих [15].

**Мета роботи:** з'ясувати патогенетичну роль ліофілізованих ксеноімплантатів у корекції тяжкої і комбінованої травм, враховуючи особливості імунних порушень у цих умовах.

**Матеріали і методи.** В експерименті використано 64 нелінійних білих щурів масою 180–200 г. У першій дослідній групі в асептичних умовах під легким ефірним наркозом моделювали політравму [16]. У другій групі додатково на депільованій поверхні спини викраювали шкірний клапоть площею близько 10 % поверхні шкіри. На рану накладали стерильну пов'язку. Із 3-ї доби рану вели відкритим способом. У третій групі тваринам моделювали опік III А ступеня на аналогічній ділянці депільованої спини за методикою [17] у нашій модифікації, відповідно до якої в умовах ефірного знеболювання до депільованої поверхні спини прикладали мідну пластинку площею 28 см<sup>2</sup> на 10 хв, попередньо занурену в киплячу воду. Тваринам першої дослідної групи, яким моделювали тяжку травму, ліофілізовані ксеноімплантати виробництва ПМП "Комбустіолог" (м. Тернопіль, Україна), вводили внутрішньошлунково зондом із розрахунку 0,5 г/кг маси тіла щоденно протягом всього терміну експерименту. Тваринам 2-ї та 3-ї груп шкірний дефект вкривали ксеноімплантатами відповідного розміру, які підшивали до країв рани

і додатково покривали стерильною пов'язкою. Використовували ксеноімплантати того ж виробника. Тварин утримували ізольовано одна від одної. Контрольну групу склали інтактні тварини, яких утримували у стандартних умовах віварію. На 1-шу, 3-тю та 7-му доби після травмування в умовах тіопентало-натрієвого знеболювання у щурів забирали кров для біохімічних досліджень, дотримуючись принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986). Кількість циркулюючих імунних комплексів у сироватці крові визначали преципітацією їх розчином поліетиленгліколю – 6000 [18]. Визначення вмісту імуноглобулінів у сироватці крові проводили за методом [18]. Достовірність отриманих після статистичного аналізу результатів визначали, використовуючи критерій Стьюдента. Зміни вважали достовірними при  $p < 0,05$ .

**Результати досліджень та їх обговорення.** Як впливає з даних, наведених у таблиці 1, корекція ксеноімплантатами протягом тижня привела до достовірного зниження концентрації імуноглобулінів класів А, М та G в плазмі крові. На 1-шу добу дослідження вміст Ig А, М та G мав тенденцію до зниження, проте несуттєво. Так, Ig А у тварин з політравмою в цей термін спостереження зменшився лише на 6 %. До 7-ї доби спостереження відбулося достовірне суттєвіше його зменшення. Ig М мав подібну тенденцію до зниження. Так, на 1-шу добу після проведеної корекції його концентрація у тяжкотравмованих тварин достовірно зменшилася на 14 %. Лікування протягом тижня привело до найістотнішого (на 20 %,  $p < 0,001$ ) зниження вмісту Ig М, проте рівня інтактних тварин

**Таблиця 1. Показники вмісту імуноглобулінів А, М та G у крові щурів із політравмою після корекції ліофілізованими ксеноімплантатами ( $M \pm m$ )**

Показник	Умови експерименту	Інтактні (n=10)	Доби експерименту		
			1-ша доба (n=10)	3-тя доба (n=10)	7-ма доба (n=10)
Ig А, г/л	Без корекції	0,5±0,01	0,53±0,01 $p > 0,05$	0,56±0,02 $p < 0,05$	0,6±0,02 $p < 0,002$
	Після корекції		0,5±0,01 $p_1 < 0,02$	0,52±0,01 $p_1 > 0,05$	0,53±0,01 $p_1 < 0,01$
Ig М, г/л	Без корекції	0,8±0,02	1,03±0,05 $p < 0,002$	1,08±0,04 $p < 0,001$	1,17±0,04 $p < 0,001$
	Після корекції		0,89±0,01 $p_1 < 0,05$	0,91±0,01 $p_1 < 0,01$	0,94±0,02 $p_1 < 0,001$
Ig G, г/л	Без корекції	6,28±0,16	7,13±0,22 $p < 0,02$	7,2±0,22 $p < 0,01$	7,31±0,29 $p < 0,02$
	Після корекції		6,87±0,08 $p_1 > 0,05$	6,61±0,11 $p_1 < 0,05$	6,56±0,11 $p_1 < 0,05$

ми не досягли. Приблизно такою ж мірою нормалізувався вміст Ig G під впливом донорської ксеношкіри. На 7-му добу експерименту його вміст у плазмі крові достовірно знизився на 10 %.

Як видно з даних, наведених у таблиці 2, статистично значущі зміни під впливом проведеного лікування зафіксовані нами стосовно концентрації циркулюючих імунних комплексів. В результаті

проведеної корекції концентрація ЦІК достовірно знизилася лише на 3-тю та 7-му доби спостереження. Найсуттєвіше зниження вмісту ЦІК ми зафіксували на 7-му добу. Їх вміст у сироватці крові щурів із політрамою після внутрішньошлункового введення ліофілізованої ксеношкіри був у 1,4 раза нижчим відносно групи тварин, яким корекцію не проводили.

**Таблиця 2. Показники вмісту циркулюючих імунних комплексів у крові щурів із політрамою після корекції ліофілізованими ксеноімплантатами (M±m)**

Показник	Умови експерименту	Інтактні (n=10)	Доби експерименту		
			1-ша доба (n=10)	3-тя доба (n=10)	7-ма доба (n=10)
ЦІК, ум. од.	Без корекції	38,56±2,83	51,13±2,51 p<0,01	99,51±5,45 p<0,001	180,26±8,16 p<0,001
	Після корекції		47,63±1,49 p <sub>1</sub> >0,05	80,75±3,53 p <sub>1</sub> <0,02	124,43±10,53 p <sub>1</sub> <0,002

Наступним етапом нашої роботи було дослідження впливу ксеноімплантатів на імунологічну реактивність організму за умов політрави, обтяженої механічним дефектом шкіри.

Як впливає з даних, наведених у таблиці 3, корекція ксеноімплантатами протягом тижня привела до достовірного зниження концентрації імуноглобулінів класів А, М та G у плазмі крові. На 1-шу добу дослідження вміст Ig A, М та G в експери-

ментальних групах тварин мав тенденцію до зниження, проте несуттєво. Так, достовірного зниження Ig A в цей термін спостереження у травмованих тварин із додатковим механічним дефектом шкіри після проведеної корекції ми не відзначали. До 7-ї доби спостереження відбулося достовірне його зменшення на 14 %. Ig M мав подібну тенденцію до зниження. Так, на 1-шу добу після проведеної корекції його концентрація достовірно зменшила-

**Таблиця 3. Показники вмісту імуноглобулінів А, М та G у крові щурів із політрамою, обтяженою механічним дефектом шкіри, після корекції ліофілізованими ксеноімплантатами (M±m)**

Показник	Умови експерименту	Інтактні (n=10)	Доби експерименту		
			1-ша доба (n=10)	3-тя доба (n=10)	7-ма доба (n=10)
Ig A, г/л	Без корекції	0,5±0,01	0,43±0,03 p>0,05	0,57±0,03 p>0,05	0,63±0,01 p<0,001
	Після корекції		0,49±0,01 p <sub>1</sub> >0,05	0,52±0,01 p <sub>1</sub> >0,05	0,54±0,01 p <sub>1</sub> <0,001
Ig M, г/л	Без корекції	0,8±0,02	1,0±0,05 p<0,01	1,06±0,06 p<0,01	1,18±0,03 p<0,001
	Після корекції		0,88±0,01 p <sub>1</sub> <0,05	0,9±0,01 p <sub>1</sub> <0,05	0,96±0,03 p <sub>1</sub> <0,001
Ig G, г/л	Без корекції	6,28±0,16	7,43±0,16 p<0,001	7,73±0,25 p<0,001	8,03±0,25 p<0,001
	Після корекції		6,65±0,08 p <sub>1</sub> <0,002	6,44±0,12 p <sub>1</sub> <0,001	6,4±0,11 p <sub>1</sub> <0,001

ся на 12 %, а на 3-тю добу – на 15 %. Лікування протягом тижня привело до найістотнішого достовірного (на 19 %) зниження вмісту Ig M, проте рівня інтактних тварин ми не досягли. Приблизно такою ж мірою нормалізувався вміст Ig G під впливом ліофілізованих ксеноімплантатів. На 7-му добу експерименту його вміст у плазмі крові достовірно знизився на 20 %.

Як видно з даних, наведених у таблиці 4, статистично значущі зміни під впливом проведеного лікування зафіксовано нами стосовно концентрації циркулюючих імунних комплексів. На 1-шу добу спостереження в результаті проведеної корекції препаратами ксеношкіри концентрація ЦІК достовірно зменшилася в 1,3 раза. Ще більшою мірою (в 1,9 раза) достовірно знизився вміст ЦІК у крові

**Таблиця 4. Показники вмісту циркулюючих імунних комплексів у крові щурів із політравмою, обтяженою механічним дефектом шкіри, після корекції ліофілізованими ксеноімплантатами (M±m)**

Показник	Умови експерименту	Інтактні (n=10)	Доби експерименту		
			1-ша доба (n=10)	3-тя доба (n=10)	7-ма доба (n=10)
ЦІК, ум. од.	Без корекції	38,56±2,83	56,85±3,25 p<0,002	229,76±5,48 p<0,001	313,55±11,88 p<0,001
	Після корекції		43,71±1,56 p <sub>1</sub> <0,01	139,7±6,99 p <sub>1</sub> <0,001	161,2±10,99 p <sub>1</sub> <0,001

травмованих тварин, яким протягом семи днів проводили корекцію.

При дослідженні впливу ліофілізованих ксеноімплантатів на імунологічну реактивність організму за умов політравми, обтяженої опіком шкіри, ми виявили, що тижнева корекція призвела до достовірного зниження концентрації імуноглобулінів класів А, М та G в плазмі крові (табл. 5). На 1-шу добу дослідження вміст Ig A, М та G в усіх дослідних групах мав тенденцію до зниження, проте несуттєво. Так, Ig A у цей термін спостереження зменшився лише на 8 % і наблизився до рівня інтактних тварин. До 7-ї доби

спостереження відбулося достовірне його зменшення на 9 %, і після лікування вміст Ig A досягнув рівня інтактних тварин. Ig M мав подібну тенденцію до зниження. Так, на 1-шу добу після проведеної корекції його концентрація достовірно зменшилася на 12 %. Лікування протягом тижня привело до найістотнішого (на 20 %, p<0,001) зниження вмісту Ig M, проте рівня інтактних тварин ми не досягли. Приблизно такою ж мірою нормалізувався вміст Ig G під впливом донорської ксеношкіри. На 7-му добу експерименту в плазмі крові експериментальних тварин його вміст достовірно знизився на 21 %.

**Таблиця 5. Показники вмісту імуноглобулінів А, М та G у крові щурів із політравмою, обтяженою опіком шкіри, після корекції ліофілізованими ксеноімплантатами (M±m)**

Показник	Умови експерименту	Інтактні (n=10)	Доби експерименту		
			1-ша доба (n=10)	3-тя доба (n=10)	7-ма доба (n=10)
Ig A, г/л	Без корекції	0,5±0,01	0,39±0,02 p<0,001	0,43±0,01 p<0,001	0,55±0,02 p<0,05
	Після корекції		0,49±0,01 p <sub>1</sub> <0,02	0,51±0,01 p <sub>1</sub> <0,001	0,5±0,01 p <sub>1</sub> <0,05
Ig M, г/л	Без корекції	0,8±0,02	1,05±0,03 p<0,001	1,1±0,03 p<0,001	1,18±0,03 p<0,001
	Після корекції		0,92±0,01 p <sub>1</sub> <0,01	0,89±0,02 p <sub>1</sub> <0,001	0,95±0,01 p <sub>1</sub> <0,001
Ig G, г/л	Без корекції	6,28±0,16	7,43±0,27 p<0,01	7,86±0,22 p<0,001	8,33±0,38 p<0,001
	Після корекції		6,29±0,06 p <sub>1</sub> <0,01	6,39±0,09 p <sub>1</sub> <0,001	6,6±0,12 p <sub>1</sub> <0,002

Як видно з даних, наведених у таблиці 6, статистично значущі зміни під впливом проведеного лікування ми зафіксували стосовно концентрації циркулюючих імунних комплексів. На 1-шу добу спостереження в результаті проведеної корекції

концентрація ЦІК достовірно зменшилися на 26 %. Ще більшою мірою (на 38 та 50 %) статистично значуще знизився вміст ЦІК у крові опечених травмованих тварин, яким протягом трьох та семи днів проводили корекцію.

**Таблиця 6. Показники вмісту циркулюючих імунних комплексів у крові щурів із політравмою, обтяженою опіком шкіри, після корекції ліофілізованими ксеноімплантатами (M±m)**

Показник	Умови експерименту	Інтактні (n=10)	Доби експерименту		
			1-ша доба (n=10)	3-тя доба (n=10)	7-ма доба (n=10)
ЦІК, ум. од.	Без корекції	38,56±2,83	87,46±6,16 p<0,001	244,63±11,19 p<0,001	360,53±13,56 p<0,001
	Після корекції		64,58±2,43 p <sub>1</sub> <0,01	150,93±6,77 p <sub>1</sub> <0,001	179,68±2,0 p <sub>1</sub> <0,001

**Висновок.** Застосування у тварин із політравмою усіх досліджуваних груп ліофілізованих ксеноімплантатів сприяє частковій нормалізації порушеної імунореактивності організму. Після проведеної корекції вміст показників гуморальної ланки імунітету – імун

ноглобулінів А, G, М та циркулюючих імунних комплексів мав тенденцію до зниження. Використання ліофілізованих ксеноімплантатів протягом тижня привело до найістотнішого зниження вмісту в плазмі крові IgA, G, М та циркулюючих імунних комплексів.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Ранняя интоксикация у больных с тяжелыми механическими повреждениями / К. Я. Гуревич, Л. Н. Губарь, В. Е. Демидов [и др.] // Вестн. хир. – 1988. – Т. 140, № 4. – С. 71–75.
2. Splenectomy ameliorates acute multiple organ damage induced by liver warm ischemia reperfusion in rats / H. Jiang, F. Meng, W. Li [et al.] // Surgery. – 2007. – Vol. 141, № 1. – P. 320.
3. Bochud P. Y. Pathogenesis of sepsis: new concepts and implication for future treatment / P. Y. Bochud, Th. Calandra // BMJ. 2003. – Vol. 326, № 7383. – P. 262–265.
4. Champion H. R. Trauma severity scoring to predict mortality / H. R. Champion, W. J. Sacco, T. K. Hunt // World J. Surg. 1983. – Vol. 7, № 1. – P. 411.
5. The early second hit in trauma management augments the proinflammatory immune response to multiple injuries / S. K. Tschoeke, M. Hellmuth, P. A. Hostmann, W. Ertel // The Journal of trauma, injury, infection and critical care. – 2007. – Vol. 62, № 6. – P. 1396–1404.
6. Gebhard F. Polytrauma-pathophysiology and management principles / F. Gebhard, M. Huber-Lang // Langenbeck's Arch. Surg. – 2008. – Vol. 393, № 6. – P. 825–831.
7. Сепсис: определение, диагностическая концепция, патогенез и интенсивная терапия / Б. Р. Гельфанд, В. А. Руднов, Д. Н. Проценко [и др.] // Инфекции в хирургии. – 2004. – Т. 2, № 2. – С. 2–17.
8. Пашковський Э. В. Состояние центральной гемодинамики при травматической болезни / Э. В. Пашковський, А. В. Гончаров, С. В. Гайдук // Вестн. хирургии. – 2001. – Т. 160, № 5. – С. 109–113.
9. Смирнов В.С. Иммунодефицитные состояния / В. С. Смирнов, И. С. Фрейдлин. – СПб. : Фолиант, 2000. – 568 с.
10. Bochud P. Y. Pathogenesis of sepsis: new concepts and implication for future treatment / P. Y. Bochud, Th. Calandra // BMJ. 2003. – Vol. 326, № 7383. – P. 262–265.
11. Champion H. R. Trauma severity scoring to predict mortality / H. R. Champion, W. J. Sacco, T. K. Hunt // World J. Surg. 1983. – Vol. 7, № 1. – P. 411.
12. Збереженість компонентів епідермальних проліферативних одиниць консервованих аутодермотрансплантатів / К. С. Волков, А. В. Довбуш, О. П. Андрішин [та ін.] // XX з'їзд хірургів України : матеріали з'їзду. – Тернопіль : Укрмедкнига, 2002. – Т. 2. – С. 654–655.
13. Особливості перебігу регенераційних процесів у рані при опіках ШБ-ступенів в умовах застосування ліофілізованих ксенодермотрансплантатів / К. С. Волков, Т. В. Бігуняк, П. І. Лучанко, В. М. Таран // XX з'їзд хірургів України : матеріали з'їзду. – Тернопіль : Укрмедкнига, 2002. – Т. 2. – С. 656–657.
14. Бігуняк В. В. Біологічні і біофізичні властивості ліофілізованої шкіри свині: загальнобіологічні аспекти, проблеми, перспективи / В. В. Бігуняк, В. В. Демяненко, Н. В. Бігуняк // Матеріали XX з'їзду хірургів України. – Тернопіль : Укрмедкнига, 2002. – Т. 2. – С. 536–538.
15. Jiang H. Splenectomy ameliorates acute multiple organ damage induced by liver warm ischemia reperfusion in rats / H. Jiang, F. Meng, W. Li [et al.] // Surgeiy. – 2007. Vol. 141, № 1. – P. 320.
16. Пат. на корисну модель 30028 Україна МПК 2006G09B23/00. Спосіб моделювання політравми / Т. Я. Секела, А. А. Гудима (Україна); Тернопільський мед. університет. – № U 2007 10471; заявл. 21.09.2007; опубл. 11.2.08, Бюл. № 3. – 4 с.
17. Regas F. C. Elucidating the vascular response to burns with a new rat model / F. C. Regas., H. P. Ehrlich // J. Trauma. – 1992. – V. 32, № 5. – P. 557–563.
18. Чернушенко Е. Ф. Иммунологические методы исследования в клинике / Е. Ф. Чернушенко, Л. С. Когосова. – К. : Здоров'я, 1978. – 159 с.

Отримано 23.09.12