

УДК. 616-001.4-002+ 612.017.2+ 616-08-039.71

МОРФО-ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ КАРТИНА ДЛИТЕЛЬНО НЕЗАЖИВАЮЩИХ РАН.

**Арипова Тамара Уктамовна. Умаров Бахтиёржон Ятгарович. Хамдамов
Бахтиёр Зарифович.**

Институт иммунологии и геномики человека, Бухарский медицинский
институт.

Аннотация. При наличии исходно низкой продукции IgM в раневой поверхности больных с генерализацией инфекции концентрация данного иммуноглобулина лишь нарастает, что, по-видимому, было связано с особенностями проявления общего заболевания. При этом, в случаях отсутствия генерализации инфекции и при условии благоприятного исхода заболевания продукция IgM снижается.

Ключевые слова. рана, инфекция, профилактика.

Актуальность. Для длительно незаживающих ран (ДНЗР) характерным является пролонгирование последней стадии воспалительного процесса. Соответственно, цитологические исследования отпечатков ран и оценка иммунологической клеточной популяции у больных с ДНЗР позволило выявить длительное присутствие миелоидных клеток, таких как макрофаги, нейтрофилы и моноциты.

Иммунные клетки активно взаимодействуют с некроветворными клетками, такими как кератиноциты, посредством секреции различных сигнальных молекул (8,9). Кератиноциты вносят значительный вклад в образование хронических ран, однако точный механизм не до конца понятен. Известно лишь, что нарушение регуляции некоторых микроРНК, таких как miR-34a/c, miR-203, miR-19a/b и miR-20a, в кератиноцитах влияет на иммунные функции и приводит к ДНЗР (10,13,14,15,16,17,18,19,20).

Иммунные и структурные клетки активно экспрессируют и регулируют цитокины, хемокины и факторы роста в процессе заживления раны (11).

Например, повышенный уровень INF- γ , VEGF и растворимого VCAM-1, наблюдаемый у пациентов с ДНЗР, способствует их заживлению (4,12).

Во время нормального заживления раны клетки в поврежденной области, такие как фибробласты, кератиноциты и иммунные клетки, индуцируются местными медиаторами для секреции матриксной металлопротеиназы. К таким медиаторам относятся различные цитокины и факторы роста, участвующие в заживлении ран, такие как TGF- β , VEGF, EGF, интерлейкины и интерфероны (1,9). Матриксная металлопротеиназа обычно требуется в небольшом количестве и отвечают за надлежащую эпителизацию и пролиферацию. Однако их дисрегуляция приводит к нарушению эпителизации и тесно связана с ДНЗР (4,6,8,21,22,23,24,25).

Процесс полноценной регенерации ДНЗР не происходит, когда иммунная система не может продолжить нормальный процесс восстановления, что приводит к длительному присутствию нейтрофилов и провоспалительных макрофагов в поврежденной коже, что способствует воспалению, фиброзу тканей и плохой васкуляризации. Исследования в данном направлении продолжаются, однако, на сегодняшний день требуется выяснения причин развития генерализации воспалительного процесса при применении общеизвестных методов лечения ДНЗР и определить роль изменения иммунного статуса. Это позволило бы разработать эффективные методы иммунодиагностики, а также прогнозирования и профилактики генерализации инфекции, что в конечном счете, по нашему мнению, можно добиться улучшения результатов лечения больных с ДНЗР.

Цель исследования. Разработка методов определения изменений морфологической и местной иммунологической картины длительно незаживающих ран.

Материал и методы: Местные клинические методы исследования ран были основаны на оценке характера некробиотического процесса в ДНЗР. Визуально оценивали наличие/отсутствием местного воспалительного процесса и типа некроза тканей (сухой, влажный или смешанный).

Определяли тип ткани в ложе ДНЗР, которая могла быть в виде плотной и красной грануляции, хрупкой и бледной грануляции, фиброзной пленки или ткани, а также в виде образования струпа.

Для объективной оценки выраженности репаративных процессов ране нами проведено цитологическое исследование клеточного состава раневой поверхности. При чем был использован как качественный (морфологический), так и количественный (морфометрический) методы исследования.

Патогистологические исследования проводились нами на 1, 7, 14, 28 сутки и на конечный срок лечения перед выполнением закрытия раны кожной пластикой.

Оценку состояния иммунной системы организма больных проводили по экспрессии антигенов CD-дифференцировочных и активационных. Определяли следующие маркеры иммунокомпетентных клеток: CD3+-, CD4+, CD8+-, CD16+-, CD20+-, CD23+-, CD38+-, а также CD25+-, CD95+-лимфоцитов. Экспрессию рецепторов CD проводили в реакции розеткообразования с помощью моноклональных антител серии LT производство ООО «Сорбент» (РФ) по методу Гариба Ф.Ю. и соавт. (1995).

Интерлейкины (цитокины) определяли в сыворотке крови обследованных методом твердофазного иммуноферментного анализа. Для реализации этого варианта использованы по два моноклональных антитела с различной этиотропной специфичностью к интерлейкинам IL-1b, TNF- α и TGF- β . Так же в сыворотке крови определяли концентрации MIP-1 α , MIP-2 β и PDGF при помощи специальных наборов для иммуноферментного анализа по стандартной методике.

Иммунологические исследования сыворотки крови проводились нами на 1, 7, 14, 28 сутки лечения больных.

Исследования местной иммунологической реакции ДНЗР включало в себя определение иммуноглобулинов G, A и M в смывах раны методом радикальной иммунодиффузии в геле с помощью моноспецифических сывороток по методу В. Manchini (1968). Концентрацию лизоцима в смывах раны определяли нефелометрическим методом по способу Г.Д. Дорофейчука (1968).

Местные иммунологические исследования проводились нами на 1, 7, 14, 28 сутки и на конечный срок лечения перед выполнением закрытия раны кожной пластикой.

Результаты и их обсуждение. Общей морфологической картиной для всех ран в исследованных группах было наличие хронического воспалительного процесса, который включал в себя все три фазы раневого процесса. ДНЗР

характеризовались тем, что их дно как обычно было покрыта как фибрином, так и грануляционной тканью. Местами отмечалось наличие некротических изменений тканей по типу «некротические островки» и гнойное отделяемое под ними. Грануляционная ткань у больных с ДНЗР обычно была вялого роста, бледного цвета. Краевые поверхности длительно незаживающих ран были уплотнены по типу кратеров с эпителизацией, а порой даже с гиперкеротизацией.

Цитологическая характеристика раневой поверхности больных с ДНЗР во все сроки проводимого лечения определялась воспалительным фоном, состоящего из детритов преимущественно жировой и белковой природы. Все они образовывали основу имеющихся дистрофических и некротических изменений тканевых структур длительно незаживающих ран. На фоне таких преобразований цитологической картины нами выявлялись преимущественно клетки воспалительного ряда, в особенности среди больных с обострением течения хронического раневого процесса.

Цитологическая картина ДНЗР на 1 сутки проводимого лечения имела особенность, характеризующаяся тем, что тканевые элементы поверхности ДНЗР, покрытые белковыми фоновыми структурами, находились под воздействием микроорганизмов и тем самым поддерживали воспалительную реакцию в тканях. Такие изменения определялись в виде некробиотических проявлений и деструкции клеток. При этом, присутствующие в ране микроорганизмы образовывали колонии, что явно свидетельствовало о растущей бактериальной нагрузке на ткани.

Характерным являлось наличие вакуолизации и разрыхления ядерных и цитоплазматических структур. Местами они имели характер разрыхления и гомогенизации. Как представлено на рисунке 1, на фоне определяющихся нейтрофильных лейкоцитов, идентифицируются разрушенные белые клетки крови, состоящие из лимфоцитов, а также наличием местами различных бактериальных частиц. В фоновом пространстве выявляются белковые элементы.

Для цитологической отпечатки раны в данный срок проведенного исследования характерным было наличие в периферических участках на границе с кожей поврежденных коллагеновых нитей, которые явно не достигали своей прочности.

Определенного рода повышенная активность была выявлена по отношению к гистиоцитарным клеткам, которые характеризовались некоторой активацией в форме увеличения в размерах цитоплазмы и приобретением их ядер гиперхроматических свойств.

В более поздние сроки проводимого лечения цитологических отпечатки раны можно было отметить наличие лейкоцитарной инфильтрации гистиоцитарных и лимфоидных клеток. Так, на 14 сутки проводимого лечения в цитологической картине отпечатков ДНЗР нами выявлялся определенный фон, который был образован за счет белковых веществ находящиеся в уплотненном состоянии. Выявляемые клетки в ране характеризуются наличием преимущественно нейтрофилов, лимфоцитов и гистиоцитов.

В случае, когда среди клеточных элементов обнаруживали слабоокрашенные белковые суспензимальные вещества, то этот факт свидетельствовал о наличии некроза.

Также в препаратах были видны внеклеточные гранулы и глыбки бесструктурных масс детрита различной величины. Детрит имел сероватый оттенок при его белковом происхождении. Желтоватый оттенок свидетельствовал о наличие некротического вещества жирополипоидной природы. Характер детрита и белковой массы в составе цитологического препарата определял вид бактерий. При наличии бесструктурных масс жирополипоидной природы, инфекция была вызвана грамположительными кокками, которые, естественно, снаружи покрывается липосахаридной оболочкой.

На фоне обнаруживаемых клеток крови, таких как лейкоциты и лимфоциты, которые находятся в разрушенном состоянии, прослеживаются элементы разрушенной структуры микроорганизмов.

Нейтрофилы находятся с измененной структурой в виде кариолизиса и кариопикноза их ядер. Преобладающей массой в исследуемых цитологических отпечатках выступала масса, состоящая преимущественно их белка. Такой вариант проявления морфологической картины раны зачастую обусловлен активностью грамотрицательных микроорганизмов. Как известно, такие микроорганизмы имеют смешанную гликопротеиновую оболочку, покрывающую их снаружи.

Проведенные цитологические исследования еще раз подтвердили вариант течения ДНЗР в виде инфильтрации клеточного воспалительного характера.

На 28 сутки проводимого лечения рана была покрыта струпом, который имел желтую окраску и состоял из фиброзной ткани. В структуре такого струпа обнаруживали фибрин, гной и белковоподобный материал.

Фон отпечатка образуют разрушенные лейкоциты, лимфоциты и микроорганизмы. На этом фоне выявляются нейтрофилы с признаками неполного фагоцитоза. При этом в цитоплазме нейтрофильных лейкоцитов были обнаружены фагоцитированные тельца. Фибробласты имели особенность приобретения низкой пролиферативной способности.

В большом количестве определяются клетки моноцитарно-макрофагального ряда и плазматические клетки.

В целом, для морфологических изменений в ранние сроки проводимого лечения ДНЗР характерным было наличие гранулоцитов, которые представлялись полинуклеарным вариантом. Такое определение обусловлено тем, что в процессе окраски клеток их ядерные структуры зачастую имели повышенную цветовосприимчивость (гиперхромия). Мостики, соединяющие хроматиновые сегменты таких ядер были набухшими и утолщенными. Но не все гранулоциты имели такой морфологической структуры. Наравне с ними нами были выявлены и гранулоциты с кариолитическими, а местами даже и кариоректическими изменениями в своих ядрах и их структурах. В таких случаях хроматиновое вещество ядер было распыленным и в распадающемся состоянии. Такая же картина была отмечена нами и по отношению полинуклеарных лейкоцитов. Их цитоплазма была увеличена в объемах за счет набухания. При этом гранулярным состав приобретал активную форму, что проявлялось разрыва и растворения, а местами еще и излития содержимого в околочлеточную среду.

В отдельных случаях, когда в цитологических препаратах было обнаружено наличие смешанной флоры, а среди гранулярных лейкоцитов наличие единичных эозинофильных лейкоцитов, то в данном случае констатировали присоединение к воспалительным заболеваниям аутоиммунных процессов.

Таким образом, на основании проведенного морфологического исследования отпечатков ДНЗР можно сделать заключение о ведущей роли присутствия белкового фона, основу которого составляют клетки воспалительного ряда и микроорганизмы. Все это определяло клеточно-микробный фактор как один из главных компонентов возглавляющих ход всего процесса формирования ДНЗР. Основанием для такого суждения могут быть наличие выявленных нами

микроорганизмов различной формы, однако с преимущественным грамотрицательным структурным характером на фоне многоядерной инфильтрации лейкоцитов. И хотя в более поздние сроки лейкоцитарная инфильтрация уменьшалась, тем не менее в ДНЗР все еще преобладали лимфоциты и клетки гистиоцитарного ряда. Такой характер поражения ДНЗР определял роль клеток лейкоцитарного ряда как главного фактора в организации течения раневого процесса.

Подсчет клеток в отпечатке раны у больных с ДНЗР показал преобладание во всех случаях доли гранулоцитов. При этом минимальный средний уровень за весь период проведенного лечения был отмечен по отношению к количеству лимфоцитов ($6,86 \pm 1,06\%$). Среднее количество макрофагов в ране у больных с длительно незаживающим процессом преобладали над количеством фибробластов ($17,37 \pm 2,62\%$ и $12,97 \pm 2,65\%$ соответственно).

Минимальное количество гранулоцитов в отпечатках ДНЗР [СІ: 50,8; 64,8] приходилось в отдаленные периоды проводимого лечения ($p < 0,05$). В противовес этому, минимальное количество фибробластов [СІ: 6; 8,2] и макрофагов [СІ: 10,6; 13,8] было выявлено на 1 сутки проводимого лечения раны.

Раздельный анализ динамики изменения количества клеток в отпечатке ДНЗР позволил выявить неоднозначную цито-морфометрическую картину.

У больных первой подгруппы среднее количество фибробластов в отпечатке ДНЗР за весь период проведенного лечения составило $13,82 \pm 2,6\%$. Динамика изменения численности данных клеток проявлялась относительным ростом их в ДНЗР с $2,9 \pm 0,1\%$ на 1-сутки проводимого лечения до $11,9 \pm 2,1\%$ ($p < 0,05$) уже на 7-сутки и до $17,4 \pm 2,8\%$ ($p < 0,05$) уже на 14-сутки исследования. Начиная с 28-суток и до конца проводимого традиционного лечения в наших исследованиях была отмечена стабилизация количества фибробластов в отпечатке ДНЗР на уровне от $18,1 \pm 3,2\%$ и до $18,8 \pm 4,8\%$ ($p < 0,05$ достоверное изменение по отношению к 1-суткам проводимого лечения).

В случае, когда у больных были выявлены признаки генерализации инфекции (вторая подгруппа), количество фибробластов в отпечатках ДНЗР исходно, уже на 1-сутки проводимого лечения, превышало в 3,9 раза ($p < 0,05$) значения первой подгруппы больных и составило в среднем $11,3 \pm 2,1\%$. При этом на 7-сутки проводимого лечения количество фибробластов в отпечатках ДНЗР у больных второй подгруппы оставалось на данном уровне ($11,1 \pm 2,6\%$), отличаясь

незначительным уменьшением численности по сравнению с данными больных первой подгруппы. Количество фибробластов в отпечатках ДНЗР больных второй подгруппы на 14-28 сутки проводимого лечения, по сравнению с предыдущими сроками, повышалось до $12,1 \pm 2,8\%$ и до $12,5 \pm 3,2\%$, что было ниже значений по сравнению с больными первой подгруппы в данный исследуемый срок. Даже в отдаленные сроки проводимого лечения у больных второй подгруппы количество фибробластов в отпечатках ДНЗР не превышало подобные значения среди больных первой подгруппы и составило $13,6 \pm 2,8\%$.

Таким образом, сравнительная характеристика содержания фибробластов в ДНЗР больных позволило выявить местный рост их экспрессии, причем в случае наличия генерализации инфекции такая тенденция была менее выраженной и характеризовалось относительно низкими значениями данного показателя.

Среднее количество гранулоцитов в отпечатках ДНЗР за весь период проведенного лечения среди больных второй подгруппы превышало ($65,76 \pm 10,66\%$) подобные значения чем у больных первой подгруппы ($59,84 \pm 9,2\%$).

Лишь на 1-сутки проводимого лечения количество гранулоцитов было больше среди больных первой подгруппы ($72,0 \pm 12,9\%$), чем среди больных второй ($68,0 \pm 12,8\%$).

В динамике проводимого традиционного лечения количество гранулоцитов в отпечатках ДНЗР у больных разных подгрупп изменялось не идентично (рисунок б). Среди больных первой подгруппы нами было выявлено прогрессирующее снижение численности гранулоцитов в отпечатках ДНЗР в виде достоверного их спада на 7-сутки проводимого лечения (до $63,8 \pm 9,7\%$; $p < 0,05$) и относительно стабильный уровень ($67,3 \pm 11,3\%$) среди больных второй подгруппы.

Проведенные исследования показали, что 14-сутки проводимого лечения характеризовались продолжением выраженного снижения количества гранулоцитов в отпечатках ДНЗР у больных первой подгруппы, которая достигала значения до $54,9 \pm 8,9\%$. В то же время, у больных второй подгруппы данный показатель, по сравнению с предыдущими сроками исследования, изменялся незначительно и приравнивался $66,4 \pm 9,7\%$.

Следует отметить, что в последующие сроки проводимого традиционного лечения, то есть на 28-сутки и до рубцевания ДНЗР, среди больных первой подгруппы нами выявлена относительная стабилизация количества

гранулоцитов в отпечатках ран ($54,3 \pm 9,4\%$ и $54,2 \pm 5,1\%$ соответственно), тогда как среди больных второй подгруппы нами выявлен продолжающийся местный спад количества гранулоцитов (с $65,7 \pm 9,6\%$ и до $61,4 \pm 8,9\%$ соответственно).

Таким образом, динамика изменения количества гранулоцитов в отпечатках ДНЗР характеризуется уменьшением данных видов клеток на протяжении всего периода проводимого лечения. При этом, в случае отсутствия генерализации инфекции гранулоциты в ране прогрессивно снижаются в ранние сроки проводимого лечения, что является характерным относительно благоприятного течения хронического воспалительного процесса.

Среднее число лимфоцитов в отпечатках ДНЗР среди больных первой подгруппы за весь период проведенного лечения было выше ($8,48 \pm 1,12\%$) чем среди больных второй подгруппы ($5,24 \pm 1,0\%$; $p < 0,05$) и в целом характер динамики изменений был идентичный с динамикой гранулоцитов.

У больных первой подгруппы количество лимфоцитов в ДНЗР на всем протяжении динамики проводимого традиционного лечения прогрессивно снижалась с $14,6 \pm 2,1\%$ на 1-сутки и до $10,2 \pm 1,7\%$ на 7-сутки, до $9,3 \pm 1,2\%$ на 14 суток, до $4,9 \pm 0,4\%$ на 28 суток и до $3,4 \pm 0,2\%$ в последующие сроки до рубцевания раны. Как видно из указанного резкие точки снижения лимфоцитов в ДНЗР было отмечено нами на 7 и 28 суток проводимого традиционного лечения. Хотя последний срок исследования имел разный период пролонгации, тем не менее динамика было относительно выраженной.

В противовес вышеотмеченному, среди больных второй подгруппы таких относительно резких скачков снижения количества лимфоцитов в отпечатках ДНЗР нами не отмечено. Максимальное количество лимфоцитов в отпечатках ДНЗР было отмечено нами на 1-сутки проводимого лечения ($6,8 \pm 1,1\%$). В последующем, на 7-сутки проводимого лечения снижение количества лимфоцитов в ране до $5,7 \pm 1,2\%$, сохраняла свою стабильность и на 14-сутки исследования ($5,6 \pm 1,1\%$). Начиная с 28-суток проводимого лечения нами вновь выявлялся резкий спад количества лимфоцитов в отпечатках ДНЗР, который достигал $4,9 \pm 0,9\%$, что было меньше первоначального показателя в 1,4 раза. В отдаленный суммарный период исследования снижение количества лимфоцитов в отпечатке ДНЗР достигала отметки $3,2 \pm 0,7\%$, что было меньше исходных значений уже в 2,1 раза ($p < 0,05$). Таким образом, ДНЗР характеризуются наличием клеток лимфоцитов в ране, которые по мере достижения регенеративного процесса прогрессивно снижаются, что видимо было

обусловлено активными процессами иммунологического характера. В то же время, у больных с генерализацией инфекции исходное значение лимфоцитов становится не выраженным, хотя в динамике проводимого лечения также имеют тенденцию к уменьшению экспрессии этих клеток в ране.

Относительно дисперсионной динамики изменения количества моноцитов и макрофагов в ДНЗР следует отметить почти идентичные значения среднего показателя за весь период проведенного лечения.

Так, если, среди больных первой подгруппы среднее количество моноцитов в ДНЗР приравнялось $17,86 \pm 3,72\%$, то среди больных второй подгруппы оно составило $16,88 \pm 1,52\%$. Однако отдельный динамический контроль выявил неоднозначную картину изменения количества лимфоцитов в длительно незаживающих ранах.

В целом среди больных первой подгруппы нами был выявлен относительный прогресс в увеличении количества макрофагов в отпечатках поверхности длительно незаживающих ран. При этом, если, исходное значение данного показателя на 1-сутки проводимого лечения приравнялось $10,5 \pm 2,3\%$, то на протяжении последующих 7-28 суток оно лишь прогрессивно повышалось ($14,1 \pm 3,1\%$ на 7-сутки, $18,4 \pm 3,9\%$ на 14-сутки и $22,7 \pm 4,2\%$ на 28-сутки соответственно).

В отдаленный период регенерации ДНЗР количество макрофагов хотя и повышалось ($23,6 \pm 5,1\%$), тем не менее оно было незначительным и не достоверным.

Отличительной стороной динамики изменения количества макрофагов в отпечатках поверхности ДНЗР больных второй подгруппы было относительно стабильное сохранение численного на протяжении 7-28 суток проводимого лечения. Так, если, на 1-сутки проводимого лечения количества макрофагов в отпечатках поверхности ДНЗР приравнялось $13,9 \pm 0,9\%$, то на 7-сутки исследования незначительное увеличение количества данных клеток до $15,9 \pm 1,3\%$ держалось на данном уровне и на 14-сутки исследования ($15,9 \pm 1,2\%$). На 28-сутки проводимого лечения количество макрофагов в отпечатках поверхности ДНЗР повышалось недостоверно до $16,9 \pm 1,6\%$, однако в отдаленный период проводимого лечения данный показатель изменялся достоверно ($21,8 \pm 2,6\%$; $p < 0,05$).

Весьма характерные были выявлены изменения и в динамике изменения форм нейтрофилов раны (таблица 2). В частности, отмечался рост регенеративно-дегенеративного индекса на достоверном уровне уже на 14-28-сутки проведения традиционных методов лечения при относительно стабильном количестве дегенеративных форм нейтрофилов.

Таким образом, динамика изменения количества макрофагов в отпечатках поверхности ДНЗР характеризуется присутствием данных клеток на всем протяжении проведенного лечения, при чем в случаях отсутствия генерализации инфекции характерным является увеличение их местной экспрессии.

Суммарное значение иммуноглобулинов в смывах поверхности ДНЗР на 1-сутки проводимого лечения приравнивалось $50,5 \pm 9,8$ мкг/мл. При этом в 62% случаев они были представлены IgG, в 23,8% случаев – IgA, и в 14,3% случаев – IgM.

Применение традиционных методов лечения у больных контрольной группы уже на 7 сутки динамики привело к росту количества иммуноглобулинов в смывах поверхности длительно незаживающих ран до $61,25 \pm 11,3$ мкг/мл. Данные перемены выражались за счет снижения удельного веса IgG до 51,9% ($p < 0,05$) при росте доли IgA до 26,5% ($p < 0,05$) и IgM до 13,2% ($p < 0,05$). Данный срок характеризовался пиком уровня выявляемых иммуноглобулинов в ране по сравнению со всем периодом проведенного исследования.

Начиная с 14-суток проводимого традиционного лечения нами выявлялся спад количество иммуноглобулинов в смывах поверхности ДНЗР. Суммарное значение иммуноглобулинов в смывах поверхности ДНЗР составило $57,55 \pm 9,7$ мкг/мл.

Однако в структуре исследованных иммуноглобулинов подобного рода изменения были не однозначными. Так, в исследуемый срок повышалась продукция IgG по сравнению с предыдущим сроком исследования на 20,9% ($p < 0,05$) и составило 2/3 от общей доли выявленных иммуноглобулинов в смывах поверхности ДНЗР. Увеличение доли иммуноглобулина IgG было отмечено за счет снижения удельного веса IgA в 1,9 раза ($p < 0,05$) и IgM – в 1,6 раза ($p < 0,05$).

В последующем, на 28-сутки проводимого традиционного лечения и до появления признаков рубцевания раны, суммарное значение иммуноглобулинов в смывах поверхности ДНЗР количество иммуноглобулинов уменьшалось до $34,4 \pm 6,1$ мкг/мл и до $31,9 \pm 4,9$ мкг/мл соответственно. То есть снижение количества иммуноглобулинов в ране в столь отдаленные сроки находилось в

относительно стабильных параметрах. В данный срок доля количества выявляемых иммуноглобулинов в смывах поверхности ДНЗР снижалось за счет IgG до 68% и до 64,9% при стабильном удельном весе IgM (по 9,6% соответственно). Относительно IgA следует отметить рост его процентного удельного веса на 28-сутки проводимого лечения в 1,6 ($p<0,05$) и в 1,8 раза ($p<0,05$) соответственно.

Таким образом, анализ динамики изменения уровня иммуноглобулинов в смывах поверхности ДНЗР показал, что критическим сроком в процессе проводимого традиционного лечения оказались 14-сутки, когда отмечалось усиление выработки иммуноглобулинов за счет IgG и снижения продукции IgA и IgM.

Средний уровень IgG в смывах поверхности ДНЗР у больных первой и второй групп за весь период проведенного исследования не имел достоверного различия и приравнивался $30,26\pm 3,86$ мкг/мл и $29,38\pm 5,3$ мкг/мл соответственно.

Отличительными оказались и динамика изменения концентрации IgG в смывах поверхности ДНЗР, которая среди больных первой подгруппы характеризовалась постепенным увеличением с $27,9\pm 8,6$ мкг/мл на 1-сутки проводимого традиционного лечения до $33,4\pm 3,4$ мкг/мл на 7-сутки и до $56,9\pm 4,6$ мкг/мл на 14-сутки соответственно.

В отдаленные сроки проводимого лечения концентрация IgG прогрессивно снижалась до $17,3\pm 2,3$ мкг/мл на 28-сутки и до $15,8\pm 0,4$ мкг/мл в средний окончательный период забора проб.

Среди больных второй подгруппы концентрация данного иммуноглобулина в смывах поверхности ДНЗР, в противовес предыдущей подгруппе прогрессивно снижалась с $34,7\pm 4,3$ мкг/мл на 1-сутки проводимого традиционного лечения до $30,2\pm 6,1$ мкг/мл на 7-сутки и до $26,9\pm 4,7$ мкг/мл на 14-сутки соответственно. В отдаленные сроки проводимого лечения концентрация IgG изменялось не достоверно, находясь на уровне от 20,1 мкг/мл до 35,4 мкг/мл.

Сравнительный характер динамики изменения концентрации IgA в смывах поверхности ДНЗР, в зависимости от наличия генерализации хирургической инфекции, проявлялся почти идентичной картиной как среди больных первой, так и второй подгрупп. Она проявлялась повышением концентрации IgA в смывах поверхности ДНЗР с $15,3\pm 4,2$ мкг/мл на 1-сутки лечения и до $17,9\pm 3,7$ мкг/мл на 7-сутки лечения среди больных первой подгруппы, а также с $8,7\pm 1,9$ мкг/мл на 1-сутки лечения и до $14,6\pm 4,6$ мкг/мл на 7-сутки лечения среди

больных второй подгруппы. При этом на 14-сутки проводимого традиционного лечения концентрация IgA в смывах поверхности ДНЗР в обеих исследуемых подгруппах больных снижается до $3,7 \pm 1,5$ мкг/мл среди больных первой и до $12,3 \pm 2,1$ мкг/мл – среди больных второй подгруппы.

В отдаленные сроки проведенного исследования нами было выявлено расхождение динамики кривой концентрации IgA в смывах поверхности ДНЗР, которая среди больных первой подгруппы характеризовалось снижением значений до $1,8 \pm 0,6$ мкг/мл и до $1,6 \pm 0,3$ мкг/мл соответственно, а среди больных второй подгруппы – повышением до $13,6 \pm 2,7$ мкг/мл и до $14,7 \pm 3,1$ мкг/мл соответственно.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о факте последствий перенесенного хронического сепсиса, когда даже в условиях ликвидации генерализации инфекции продукция IgA продолжается с заполнением ими раневой поверхности.

Концентрация IgM в смывах поверхности ДНЗР среди больных первой подгруппы была в 5,5 раза выше, чем среди больных второй подгруппы ($p < 0,05$). Как и в предыдущем случае в динамике уже на 7-сутки проведенного традиционного лечения концентрация IgM в смывах поверхности ДНЗР среди больных первой подгруппы повышалась в 1,7 раза ($p < 0,05$), а среди больных второй подгруппы – в 2,6 раза ($p < 0,05$). При этом разница в продукции IgM среди больных первой и второй подгруппы составила 3,5 раза ($p < 0,05$), что было менее выражено чем на исходном уровне.

На 14-сутки проводимого лечения концентрация IgM в смывах поверхности раны среди больных первой подгруппы снижалась с $20,6 \pm 4,2$ мкг/мл до $10,4 \pm 2,8$ мкг/мл, то есть почти в 2 раза ($p < 0,05$). Среди больных второй подгруппы нами так же было отмечено снижение концентрации IgM в смывах поверхности раны с $5,8 \pm 0,7$ мкг/мл до $4,9 \pm 0,2$ мкг/мл ($p > 0,05$). Разница в концентрации данного иммуноглобулина между больными первой и второй подгруппы в данный срок составила 2,1 раза ($p < 0,05$).

Таким образом, ранний период проведенного лечения характеризовался волнообразным изменением концентрации IgM как среди больных первой, так и второй подгрупп. При этом в случае наличия генерализации инфекции изменения проявлялись незначительно.

В отдаленные сроки проведенного традиционного лечения среди больных первой подгруппы концентрация IgM в ДНЗР выявлялась нами лишь в единичных случаях и очень низких концентрация по сравнению с предыдущими сроками исследования (от 1,1 мкг/мл до 1,9 мкг/мл) составив в среднем $1,5 \pm 0,4$ мкг/мл и $1,3 \pm 0,2$ мкг/мл соответственно. При этом среди больных второй подгруппы изменения носили недостоверный характер и колебались в пределах от 4,3 мкг/мл до 5,9 мкг/мл составив в среднем $5,1 \pm 0,8$ мкг/мл и $4,8 \pm 0,5$ мкг/мл соответственно.

Таким образом, при наличии исходно низкой продукции IgM в раневой поверхности больных с генерализацией инфекции концентрация данного иммуноглобулина лишь нарастает, что, по-видимому, было связано с особенностями проявления общего заболевания. При этом, в случаях отсутствия генерализации инфекции и при условии благоприятного исхода заболевания продукция IgM снижается.

Концентрация лизоцима на поверхности ДНЗР была незначительной ($1,84 \pm 0,33$ мкг/мл) и в основном была представлена за счет больных первой подгруппы ($2,56 \pm 0,58$ мкг/мл) чем второй ($1,11 \pm 0,08$ мкг/мл).

В ранние сроки проведения лечения раны концентрация лизоцима в ране постепенно повышалось до $2,62 \pm 0,35$ мкг/мл на 7-сутки и до $2,99 \pm 0,34$ мкг/мл на 14-сутки исследования. При этом в обоих случаях львиная доля концентрации лизоцима в ране была представлена больными первой подгруппы, превышая значения больных в 1,5 ($p < 0,05$) и в 2,4 раза ($p < 0,05$) соответственно.

В последующие, отдаленные сроки проводимого лечения концентрация лизоцима в ДНЗР постепенно снижалось до $2,23 \pm 0,29$ мкг/мл на 28-сутки и до $1,55 \pm 0,24$ мкг/мл ($p < 0,05$) в последующие сроки. Однако, в отличие от ранних сроков исследования, в данный период основным удельным весом лизоцима выступали больные второй подгруппы. Более высокие концентрации лизоцима, в 1,5 раза ($p < 0,05$) и в 2,2 раза ($p < 0,05$) в смывах ДНЗР у больных второй подгруппы была связана с длительным периодом генерализации инфекции.

Таким образом, концентрация лизоцима в ДНЗР характеризуется изменением динамики в зависимости от наличия генерализации инфекции в виде повышения продукции более чем исходного значения. Такие изменения в концентрации лизоцима напрямую связаны с наличием генерализации инфекции и могут быть

использованы при прогнозировании течения воспалительного процесса у больных с ДНЗР.

ВЫВОДЫ:

1. Динамика изменения количества макрофагов в отпечатках поверхности ДНЗР характеризуется присутствием данных клеток на всем протяжении проведенного лечения, при чем в случаях отсутствия генерализации инфекции характерным является увеличение их местной экспрессии.
2. Ранний период проведенного лечения характеризовался волнообразным изменением концентрации IgM как среди больных первой, так и второй подгрупп. При этом в случае наличия генерализации инфекции изменения проявлялись незначительно.
3. При наличии исходно низкой продукции IgM в раневой поверхности больных с генерализацией инфекции концентрация данного иммуноглобулина лишь нарастает, что, по-видимому, было связано с особенностями проявления общего заболевания. При этом, в случаях отсутствия генерализации инфекции и при условии благоприятного исхода заболевания продукция IgM снижается.
4. Концентрация лизоцима в ДНЗР характеризуется изменением динамики в зависимости от наличия генерализации инфекции в виде повышения продукции более чем исходного значения. Такие изменения в концентрации лизоцима напрямую связаны с наличием генерализации инфекции и могут быть использованы при прогнозировании течения воспалительного процесса у больных с ДНЗР.

Литература

1. Храмилин В.Н. Современные аспекты местного лечения хронических ран нижних конечностей у больных сахарным диабетом. // Научно- практический медицинский журнал ЭНЦ РАМН.2015;4:26-30.
2. Stone R.C. A bioengineered living cell construct activates an acute wound healing response in venous leg ulcers. // Sci. Transl. Med.2017;9(371):eaaf8611.
3. Burden of venous leg ulcers in the United States. / J.B. Rice, U. Desai, A.K. Cummings, et al. // J. Med. Econ. 2014;17:347-356.
4. Driscoll P. Wound prevalence and wound management, 2012–2020. 2013. // Accessed on 14 September 2015. Available online: <http://blog.mediligence.com/2013/01/29/wound-prevalence-and-wound-management-2012-2020/>
5. Garraud O., Hozzein W.N., Badr G. Wound healing: Time to look for intelligent, “natural” immunological approaches? // BMC Immunol.2020;(18):23.

6. An economic evaluation of the impact, cost, and medicare policy implications of chronic nonhealing wounds. / S.R. Nussbaum, M.J. Carter, C.E. Fife, et al. // *Value Health*.2018;21:27–32.
7. The humanistic and economic burden of chronic wounds: A systematic review. / M. Olsson, K. Jarbrink, U. Divakar, et al. // *Wound Repair. Regen*.2019;27:114–125.
8. Skin wound healing process and new emerging technologies for skin wound care and regeneration. / E.M. Tottoli, R. Dorati, I. Genta, et al. // *Pharmaceutics*. 2020;12:735.
9. Immune regulation of skin wound healing: Mechanisms and novel therapeutic targets. / J. Larouche, S. Sheoran, K. Maruyama, et al. // *Adv. Wound Care*.2018;7:209–231.
10. Khamdamova M.T., Akramova D. E. Genetic aspects of genital prolapse in women of reproductive age // *New day in medicine*. Bukhara, 2023. - No. 5 (55). - P. 638-643.
11. Khamdamova M.T., Teshayev Sh.Zh., Hikmatova M.F. Morphological changes of the thymus and spleen in renal failure in rats and correction with pomegranate seed oil // *New day in medicine*. Bukhara, 2024. - N. 3(65). - P. 167-187.
12. Khamdamova M. T. The state of local immunity in background diseases of the cervix // *Eurasian journal of medical and natural sciences Innovative Academy Research Support Center*. Volume 3 Issue 1, January 2023 ISSN 2181-287X R.171-175.
13. Khamdamova M.T., Khasanova M.T. Various mechanisms of pathogenesis of endometrial hyperplasia in postmenopausal women (literature review) // *New day in medicine*. Bukhara. 2023. - No. 8 (58). - P. 103-107.
14. Khamdamova M.T. Reproductive Health of Women Using Copper-Containing Intrauterine Contraception // *Eurasian Medical Research Periodical* Volume 28 January 2024, ISSN: 2795-7624 .www.geniusjournals.org P. 39-45.
15. Khamdamov I.B. Advantages Of Laparoscopic Hernioplasty in Obesity Women of Fertile Age // *Eurasian Medical Research Periodical* Volume 28 January 2024, ISSN: 2795-7624 .www.geniusjournals.org P. 33-38.
16. Khamdamova M.T., Zhaloldinova M.M., Khamdamov I.B. The state of nitric oxide in blood serum in patients with cutaneous leishmaniasis // *New day in medicine*. Bukhara, 2023. - No. 5 (55). - P. 638-643.
17. Khamdamova M.T., Zhaloldinova M.M., Khamdamov I.B. The value of ceruloplasmin and copper in blood serum in women wearing copper-

containing intrauterine device // *New day in medicine*. Bukhara, 2023. - No. 6 (56). - P. 2-7.

18. Khamdamova M. T. Bleeding when wearing intrauterine contraceptives and their relationship with the nitric oxide system // *American journal of pediatric medicine and health sciences* Volume 01, Issue 07, 2023 ISSN (E): P. 2993-2149. R.58-62

19. Khamdamova M.T. Reproductive Health of Women Using Copper-Containing Intrauterine Contraception // *Eurasian Medical Research Periodical* Volume 28 January 2024, ISSN: 2795-7624 .www.geniusjournals.org P. 39-45.

20. Khamdamov I.B. Advantages Of Laparoscopic Hernioplasty in Obesity Women of Fertile Age // *Eurasian Medical Research Periodical* Volume 28 January 2024, ISSN: 2795-7624 .www.geniusjournals.org P. 33-38.

21. Mesenchymal stem cells for chronic wound healing: Current status of preclinical and clinical studies. / Y.Z. Huang, M. Gou, L.C. Da, et al. // *Tissue Eng. Part B*. Rev.2020;26:555–570.

22. Goldberg S.R., Diegelmann R.F. What makes wounds chronic. // *Surg. Clin. New Am.*2020;100:681–693.

23. Matrix metalloproteinases (MMPs) and diabetic foot: Pathophysiological findings and recent developments in their inhibitors of natural as well as synthetic origin. In *The Eye and Foot in Diabetes*. / K. Kaur, A. Singh, S. Attri, et al. // Intech. Open: London, UK, 2020.

24. Validation of matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) as a novel target for the treatment of diabetic foot ulcers in humans and discovery of a potent and selective small-molecule MMP-9 inhibitor that accelerates healing. / T.T. Nguyen, D. Ding, W.R. Wolter, et al. // *J. Med. Chem.* 2018;61:8825–8837.

25. High glucose activates ERK1/2 to stabilize AP1 and increase MMP9 expression in diabetic foot ulcers. / J. Lang, C. Yang, L. Liu, et al. // *Exp. Cell Res.* 2021;112550.