

УДК 616-001.4-002.3:616.155.3-008.13

## ИССЛЕДОВАНИЕ МАКРОФАГАЛЬНОЙ ТРАНСФОРМАЦИИ МОНОНУКЛЕАРНЫХ КЛЕТОК В КУЛЬТУРЕ ЛЕЙКОЦИТОВ КРОВИ БОЛЬНЫХ С ГНОЙНЫМИ РАНАМИ

А.Н. Жадинский

Донецкий национальный медицинский университет им. М.Горького

**Реферат.** Лечение гнойных ран остается одной из важных проблем медицины. Необходима методика лечения гнойных ран, учитывающая естественные процессы заживления гнойных ран и ориентированная на усиление целебных сил самого организма. В этом плане нам представляются перспективными воздействия, направленные на стимуляцию трансформации, находящихся в ране моноядерных клеток в макрофаги. Цель работы – оценить *in vitro* процесс макрофагальной трансформации моноядерных клеток крови больных с гнойными ранами и больных с гнойными ранами на фоне сахарного диабета. Для количественной оценки преобразований клеток определяли показатель макрофагальной трансформации моноядерных клеток крови (ПМТМ) в соответствии с методическими рекомендациями Т.А. Демченко (1980). Лейкоциты крови 25 больных с гнойными ранами и 25 больных с гнойными ранами и сахарным диабетом культивировали в пенициллиновых флаконах, создавая в них различные условия. При культивировании лейкоцитов крови этих групп больных в среде 199 с 15% эмбриональной телячьей сывороткой существенных различий средних значений ПМТМ не выявлено,  $p=0,14$ . Замещение эмбриональной телячьей сыворотки на аутосыворотку приводило к существенному изменению ПМТМ. Он достоверно ( $P < 0,01$ ) повышался в культуре лейкоцитов крови больных с гнойными ранами. Обратный результат – статистически достоверное снижение ПМТМ ( $P < 0,01$ ) зарегистрирован в культуре лейкоцитов крови больных сахарным диабетом. В случае прибавления к среде 199 аутосыворотки больных сахарным диабетом и инсулина в концентрации 1 ЕД/мл отмечено среднее значение ПМТМ на уровне  $53,11 \pm 0,64\%$ , что статистически выше такового при культивировании лейкоцитов крови больных сахарным диабетом в среде 199 с эмбриональной телячьей сывороткой ( $48,83 \pm 0,66$ ;  $P < 0,01$ ) и аутосывороткой ( $41,31 \pm 0,51$ ;  $P < 0,01$ ). Полученные результаты могут быть использованы при разработке способа коррекции раневого процесса, направленного на сокращение сроков заживления гнойных ран.

**Ключевые слова:** гнойная рана, моноядерные клетки крови, трансформация

Проблема гнойных осложнений течения раневого процесса имеет глобальный характер и большую социально-экономическую значимость, которая еще более возрастает в связи с увеличением частоты промышленных, бытовых, военных травм, расширением объема оперативных вмешательств, применением в хирургии технических средств, имплантантов, ростом числа больных сахарным диабетом [1,2,7,9,10]. Врачей не могут удовлетворять длительные сроки лечения больных с гнойны-

ми ранами, осложнения в виде сепсиса, летальные исходы [5,8,11]. Нужна научно обоснованная методика лечения, учитывающая естественно протекающие в организме процессы заживления гнойных ран и ориентированная на усиление целебных сил самого организма.

После анализа построенной нами системы «Заживление раны» [6] стало понятным, что воздействия, предназначенные для ускорения течения первой фазы раневого процесса, должны быть направлены на стимуляцию трансформации находящихся в ране моноядерных клеток в макрофаги. Эти клетки, обладающие большим запасом лизосомальных ферментов и бактерицидных веществ, будут способствовать очищению раны от погибших клеток и микробов.

С целью выбора направленных воздействий на этот процесс нам представлялось важным оценить *in vitro* процесс макрофагальной трансформации моноядерных клеток крови больных с гнойными ранами и больных с гнойными ранами на фоне сахарного диабета, поскольку раны последних чаще нагнаиваются и длительно не заживают.

### Материал и методы

Для количественной оценки преобразований клеток определяли показатель макрофагальной трансформации моноядерных клеток крови (ПМТМ) в соответствии с методическими рекомендациями «Определение феномена макрофагальной трансформации моноядерных клеток в культуре лейкоцитов крови для оценки иммунологического состояния организма» [4]. Культивирование клеток вне организма дает возможность изучать клетки не в пределах сложно построенного и тонко отрегулированного организма, а в наиболее простых, наиболее доступных для наблюдения условиях. Именно в этих условиях мы решили оценить влияние на этот процесс ряда факторов, в частности, гетеро- и аутосывороток крови, инсулина.

Образцы крови для определения ПМТМ брали от 50 больных (25 больных с гнойными ранами и 25 больных с гнойными ранами и сахарным диабетом (СД)). Уровень глюкозы в крови больных СД составлял 8-13 ммоль/л. Лейкоциты крови каждого больного культиви-

ровали, как минимум в 2-3 пенициллиновых флакончиках на покровных стеклах, создавая различные условия выращивания. Гетеро- и аутосыыворотки прибавляли к среде 199 в количестве 15%. В качестве гетеросыворотки использовали эмбриональную телячью сыворотку (ЭТС). Инсулин прибавляли к среде культивирования из расчета 1ЕД/мл.

### Результаты и обсуждение

Полученные результаты представлены в таблице.

При проведении анализа результатов исследования выявлено различие средних значений показателя макрофагальной трансформации мононуклеаров крови для групп сравнения (дисперсионный анализ,  $p < 0,001$ ).

Для проведения попарных сравнений был использован метод множественных сравнений Шефе [3], который дал следующие результаты.

При культивировании лейкоцитов крови больных с гнойными ранами и больных с гнойными ранами и сахарным диабетом в среде 199 с эмбриональной телячьей сывороткой существенных различий средних значений показателя макрофагальной трансформации мононуклеаров крови не выявлено,  $p = 0,14$ .

Замена эмбриональной телячьей сыворотки на аутосыыворотку приводила к существенному изменению ПМТМ. Он достоверно ( $p < 0,01$ ) повышался в культуре лейкоцитов крови больных с гнойными ранами. Обратный результат – статистически достоверное снижение ПМТМ ( $p < 0,01$ ) зарегистрирован в куль-

туре лейкоцитов крови больных сахарным диабетом с гнойными ранами.

В случае прибавления к среде 199 аутосыыворотки больных сахарным диабетом с гнойными ранами инсулина в концентрации 1 ЕД/мл отмечено среднее значение ПМТМ на уровне  $- 53,11 \pm 0,64\%$ . Этот показатель статистически выше такового при культивировании лейкоцитов крови больных сахарным диабетом в среде 199 с эмбриональной телячьей сывороткой ( $48,83 \pm 0,66$ ) ( $p < 0,01$ ) и аутосыывороткой ( $41,31 \pm 0,51$ ) ( $p < 0,01$ ).

На рисунке представлена интервальная оценка среднего значения показателя макрофагальной трансформации мононуклеаров крови.

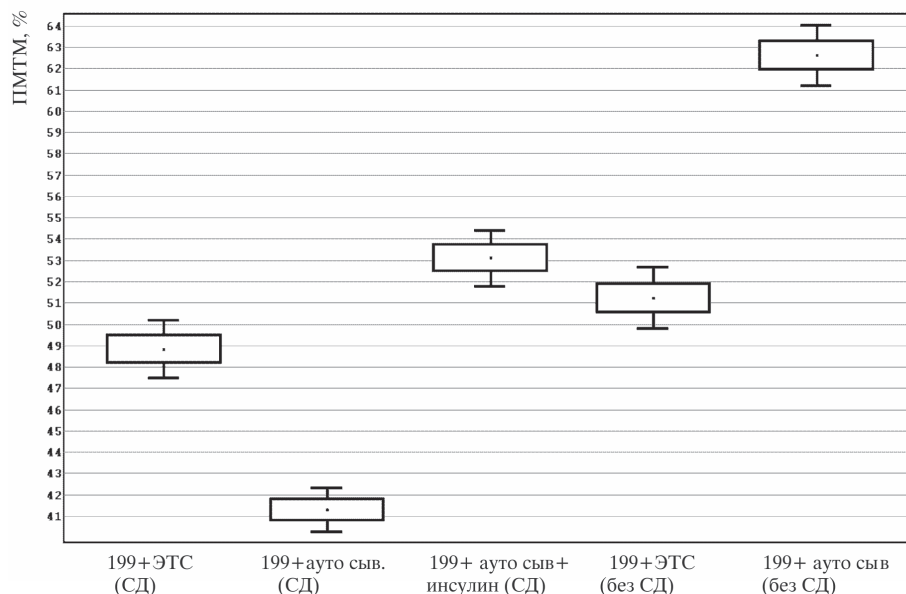
### Заключение

Таким образом, количественный учет процесса трансформации мононуклеаров крови в культуре позволил установить, что способность мононуклеарных клеток крови трансформироваться в макрофаги одинаково выражена у больных с гнойными ранами и больных с гнойными ранами и сахарным диабетом. Установлено также, что процесс этот управляемый. Интенсифицировать процесс трансформации клеток больных с гнойными ранами без сахарного диабета можно путем внесения в питательную среду для культивирования клеток аутосыыворотки, а больных с гнойными ранами и сахарным диабетом – аутосыыворотки с инсулином. Как мы полагаем, инсулин, соприкасаясь с клетками, способствует более интенсив-

Показатель макрофагальной трансформации мононуклеаров крови больных с гнойными ранами и больных сахарным диабетом с гнойными ранами

Таблица

Контингент обследованных	Количество больных	Условия культивирования лейкоцитов крови	Количество культур лейкоцитов крови	ПМТМ среднее, %, $\bar{x} \pm m$	Стандартное отклонение, %, s	Статистическая значимость различий, p
Больные с гнойными ранами	25	Среда 199 + эмбриональная телячья сыворотка	25	$51,24 \pm 0,69$	3,46	<0,001
		Среда 199 + аутосыыворотка	25	$62,62 \pm 0,68$	3,42	
Больные с гнойными ранами и сахарным диабетом	25	Среда 199 + эмбриональная телячья сыворотка	25	$48,83 \pm 0,66$	3,29	<0,001
		Среда 199 + аутосыыворотка	25	$41,31 \pm 0,51$	2,53	
		Среда 199 + аутосыыворотка + инсулин	25	$53,11 \pm 0,64$	3,18	



**Рис.** Среднее значение, ошибка среднего и 95% доверительный интервал показателя макрофагальной трансформации мононуклеарных клеток в культурах лейкоцитов крови больных с гнойными ранами и больных сахарным диабетом с гнойными ранами, культивируемых в различных условиях

ному проникновению через клеточные мембраны внутрь клеток глюкозы, находящейся в среде культивирования и аутосыворотке. Это нормализует обменные процессы и способствует лучшей трансформации мононуклеарных клеток в макрофаги.

Полученные результаты представляют практический интерес и могут быть использованы при разработке способа коррекции раневого процесса, направленного на сокращение сроков заживления гнойных ран.

#### ДОСЛІДЖЕННЯ МАКРОФАГАЛЬНОЇ ТРАНСФОРМАЦІЇ МОНОНУКЛЕАРНИХ КЛІТИН В КУЛЬТУРІ ЛЕЙКОЦИТІВ КРОВІ ХВОРИХ З ГНІЙНИМИ РАНАМИ

*А.М. Жадинський*

**Реферат.** Лікування гнійних ран залишається однією з важливих проблем медицини. Необхідна методика лікування гнійних ран, що враховує природні процеси загоєння гнійних ран і орієнтована на посилення цілющих сил самого організму. У цьому плані нам представляються перспективними дії, направлені на стимуляцію трансформації моноядерних клітин, що знаходяться в рані, в макрофаги. Мета роботи – оцінити *in vitro* процес макрофагальної трансформації моноядерних клітин крові хворих з гнійними ранами і хворих з гнійними ранами на тлі цукрового діабету. Для кількісної оцінки перетворень клітин визначали показник макрофагальної трансформації мононуклеарів крові (ПМТМ) відповідно до методичних рекомендацій Т.А. Демченко (1980). Лейкоцити крові 25 хворих з гнійними ранами і 25 хворих з гнійними ранами і цукровим діабетом культивували у флаконах, створюючи в них різні умови. При культивуванні лейкоцитів крові цих груп хворих в середовищі 199 з 15% ембріональною телячою сироваткою істотних відмінностей середніх значень ПМТМ не виявлено,  $p=0,14$ . Заміщення ембріональної телячої сироватки на аутосироватку приводило до істотної

зміни ПМТМ. Він достовірно ( $P < 0,01$ ) підвищувався в культурі лейкоцитів крові хворих з гнійними ранами. Зворотний результат – статистично достовірне зниження ПМТМ ( $P < 0,01$ ) зареєстрований в культурі лейкоцитів крові хворих на цукровий діабет. У разі додавання до середовища 199 аутосироватки хворих на цукровий діабет і інсуліну в концентрації 1 ОД/мл відмічене середнє значення ПМТМ на рівні  $53,11 \pm 0,64\%$ , що статистично вище за таке при культивуванні лейкоцитів крові хворих на цукровий діабет в середовищі 199 з ембріональною телячою сироваткою ( $48,83 \pm 0,66$ ;  $P < 0,01$ ) і аутосироваткою ( $41,31 \pm 0,51$ ;  $P < 0,01$ ). Отримані результати можуть бути використані при розробці способу корекції раневого процесу, спрямованого на скорочення термінів загоєння гнійних ран.

**Ключові слова:** гнійна рана, моноядерні клітини крові, трансформація

#### INVESTIGATION OF PHAGOCYTES TRANSFORMATION OF MONONUCLEAR CELLS IN BLOOD LEUCOCYTES CULTURE OF PATIENTS WITH PURULENT WOUNDS

*A. N. Zhadinskiy*

**Abstract.** Treatment of purulent wounds is considered to be one of the most important problems of medicine. Method of treatment of purulent wounds is necessary taking into account natural processes of purulent wounds cicatrization and oriented to strengthening of healthful forces of organism. Influence is thought to be prospective directed into transformation stimulation of mononuclear cells into phagocytes in the wound. The purpose of the research is to estimate *in vitro* phagocyte transformation of mononuclear blood cells of patients with purulent wounds and patients with purulent wounds on the background of diabetes mellitus. Index of phagocytes transformation of blood mononuclears (IPTM) was determined to estimate cell transformation quantitatively according to T.A. Demchenko's methodical recommendations (1980). Blood leucocytes of 25 patients with purulent wounds and 25 patients with purulent wounds and diabetes mellitus were cultivated in penicillin cartridges

developing different conditions in them. On cultivation of blood leucocytes of these patient groups in environment 199 with 15% embryonic veal serum essential differences in average value of IPTM were not revealed,  $p = 0.14$ . Substitutions of embryonic veal serum into autoserum lead to essential change of IPTM. It ( $P < 0.01$ ) increased in culture of blood leucocytes of patients with purulent wounds. The reverse result was achieved in form of reduction in IPTM ( $P < 0.01$ ) that was registered in culture of blood leucocytes of patients with diabetes mellitus. In case of increase in environment 199 autoserum of patients with diabetes mellitus and insulin in concentration 1U/ml average value of IPTM was determined at the level  $53.11 \pm 0.64\%$  that is higher statistically than that one on cultivation blood leucocytes of patients with diabetes mellitus in environment 199 with embryonic veal serum ( $48.83 \pm 0.66$ ;  $P < 0.01$ ) and autoserum ( $41.31 \pm 0.51$ ;  $P < 0.01$ ). The obtained results can be used to develop technique of wound process correction directed to reduction in terms of purulent wounds cicatrization.

**Key words:** purulent wound, blood mononuclears, transformation.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Абаев Ю.К. Справочник хирурга. Раны и раневая инфекция/ Ю.К. Абаев// Ростов н/Д: Феникс, 2006.-427с.
2. Абаев Ю.К. Заживление ран при сахарном диабете/ Ю.К. Абаев // Вестник хирургии.-2005.-Т.164, №4.-С.109-111.
3. Гайдышев И. Анализ и обработка данных./ И. Гайдышев.- Питер, 2001.-752с.
4. Демченко Т.А. Определение феномена макрофагальной трансформации мононуклеарных клеток в культуре лейкоцитов крови для оценки иммунологического состояния организма. Методические рекомендации. Ленинград, 1980.14с.
5. Ерюхин И.А. Хирургические инфекции: новый уровень познания и новые проблемы/И.А. Ерюхин// Инфекции в хирургии.-2003.-№1.-С.2-7.
6. Жадинский Н.В., Ельский В.Н., Жадинский А.Н., Гюльмамедов Ф.И., Пшеничная О.А. Разработка новых подходов к местному лечению гнойных ран //Вісник Української медичної стоматологічної академії.-2006.-Т.6, №1-2.-С.248-252.
7. Краснов О.Г. Місцеве лікування гнійно-некротичних уражень «діабетичної ступні» /О.Г. Краснов// Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії.-2006.-Т.6, №1-2.-С.179-182.
8. Манграм А. Дж. Профилактика инфекций в области хирургического вмешательства/ [А. Дж. Манграм, Т.К. Хоран, М.Л. Пирсон, Л.К. Сильвер, В.Р. Джарвис]// Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия.-2003.-Т.5, №1.-С.74-101.
9. Павлов Ю.И. Распространенность гнойно-некротических осложнений синдрома диабетической стопы и преимущества специализированной помощи/ Ю.И. Павлов// Вестник хирургии.-2005.-Т.164, №5.-С.19-22.
10. Сапа С.А. Хірургічне лікування хворих з синдромом діабетичної стопи, ускладненим гнійно-некротичним процесом: автореф.дис.канд.мед.наук: (14.01.21) /С.А. Сапа; -ін-т травматології та ортопедії.-К., 2006.-17с.
11. Хирургические инфекции: Руководство/Под ред. И.А. Ерюхина, Б.Р. Гельфанда, С.А. Шляпникова.-СПб.: Питер, 2003.-864с.