

МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ИЗМЕНЕНИЙ МОРФОЛОГИЧЕСКОЙ И МЕСТНОЙ ИММУНОЛОГИЧЕСКОЙ КАРТИНЫ ДЛИТЕЛЬНО НЕЗАЖИВАЮЩИХ РАН



Арипова Тамара Уктамовна¹, Хамдамов Бахтиёр Зарифович², Умаров Бахтиёржон Ятгарович¹
1 - Институт иммунологии и геномики человека АНРУЗ, Республика Узбекистан, г. Ташкент;
2 - Бухарский государственный медицинский институт, Республика Узбекистан, г. Бухара

УЗОҚ МУДДАТ БИТМАЙДИГАН ЯРАЛАРНИНГ МОРФОЛОГИК ВА МАҲАЛЛИЙ ИММУНОЛОГИК ТАСВИРИ ЎЗГАРИШЛАРИНИНГ АНИҚЛАШ УСУЛИ

Арипова Тамара Уктамовна¹, Хамдамов Бахтиёр Зарифович², Умаров Бахтиёржон Ятгарович¹
1 – Ўзбекистон Республикаси фанлар академияси, иммунология ва инсон геномикаси институти, Тошкент ш.;
2 – Бухоро давлат тиббиёт институти, Ўзбекистон Республикаси, Бухоро ш.

METHODS FOR DETERMINING CHANGES IN THE MORPHOLOGICAL AND LOCAL IMMUNOLOGICAL PICTURE OF LONG-TERM NON-HEALING WOUNDS

Aripova Tamara Uktamovna¹, Khamdamov Bakhtiyor Zarifovich², Umarov Bakhtiyorjon Yatgarovich¹
1 - Institute of immunology and human genomics, academy of sciences of the Republic of Uzbekistan, Tashkent;
2 - Bukhara State Medical Institute, Republic of Uzbekistan, Bukhara

e-mail: info@bdti.uz

Резюме. Узоқ муддат битмайдиган ярларда лизоцим концентрациясининг бошлангич миқдордан кўп ишлаб чиқарилиши инфекция генерализациясининг мавжудлиги билан тавсифланади. Лизоцим миқдоридagi бундай ўзгаришлар инфекциянинг генерализацияланиши билан бевосита боғлиқ бўлиб, узоқ муддат битмайдиган жаралари мавжуд бўлган беморларда яллигланиш жараёнининг кечилиши башоратлаш учун ишлатилиши мумкин.

Калит сўзлар: узоқ муддат битмайдиган яра, иммунитет, инфекциянинг генерализацияси.

Abstract. The concentration of lysozyme in long-term non-healing wounds is characterized by a change in dynamics depending on the presence of generalization of infection in the form of an increase in production above the initial value. Such changes in lysozyme concentration are directly related to the presence of generalization of infection and can be used in predicting the course of the inflammatory process in patients with long-term non-healing wounds.

Key words: long-term non-healing wound, immunity, generalization of infection.

Актуальность. Актуальность проблемы лечения длительно незаживающих ран (ДНЗР) обусловлена не только медицинской значимостью, но и социальной и экономической важностью. ДНЗР – это тяжелое бремя как для пациентов, так и для членов их семьи. В связи с наличием болевого синдрома, инфицирования, потери функции зоны поражения, а также постоянных финансовых затрат не только снижается качество жизни и повышает количество инвалидов, но создаются условия для генерализации инфекции, развития хирургического сепсиса и смерти больного [1,3,15,16].

Длительный срок заживления ран способствует кумуляции численности таких больных, достигающей еще 10 лет назад более 40 млн человек во всем мире. Такой характер распространения ДНЗР был отмечен P. Driscoll [5,17] как «тихая эпидемия». Однако, уже через 5 лет, появились сообщения о достижении численности больных с ДНЗР до 500 млн [2,4,18]. Такая внушительная цифра приводит к росту финансовых затрат в системе здравоохранения [6] В частности, M. Olsson и соавт. [1,7,19] провели подсчет и показали, что в раз-

витых странах такие расходы составляют до 3% от общих расходов на здравоохранение.

Для 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 [8,9,20]. 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 [10,21].

Иммунные и структурные клетки активно экспрессируют и регулируют цитокины, хемокины и фак-

торы 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].

Однако в незаживающих ранах нарушаются определенные факторы, что частично отвечает за патогенез травмы. У мышей с дефицитом антагонистов рецепторов IL-36 наблюдалось замедленное заживление ран из-за перепродукции IL-36 γ , TGF- β и CXCL1, избыточной инфильтрации нейтрофилов и макрофагов и избыточного образования грануляционной ткани [5,9]. Кроме того, хемокиновый рецептор CCR4 негативно влияет на хронические раны, вызванные сахарным диабетом. У мышей с диабетом, истощенных CCR4, наблюдалось снижение экспрессии цитокинов, способствующих заживлению ран, таких как IL-6, IL-12, IL-1 β , TNF- α и IL-10 [3,5,22].

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 отвечает за надлежащую эпителизацию и пролиферацию. Однако их дисрегуляция приводит к нарушению эпителизации и тесно связана с ДНЗР [4, 6, 8].

Таким образом, 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.

Давали оценку характеру раневого экссудата (серозный, геморрагический, гнойный), его цвету (без цвета, от розового до красного, белый, сливочный и зеленый), консистенции (прозрачная, водянистая, кро-

вянистая, водянистая и густая) и запах экссудата (имеется/не имеется).

Глубина раны оценивалась нами согласно классификации Найтона (2000). При данной классификации различали шесть степеней глубины поражения раной. Первая степень характеризовалась наличием поверхностной раны в пределах между эпидермальным и дермальным слоем кожи. Вторая степень характеризовалась поражением на уровне подкожной жировой клетчатки. При поражении фасциального пространства глубина раны приобретала третий уровень. При четвертой степени раневого процесса достигал до мышечного слоя тканей, а при поражении костно-сухожильных образований глубина раны приобретала пятую степень поражения. Шестая степень развития раневого процесса характеризовалось поражением полостных образований тела и внутренних органов.

Площадь ДНЗР определяли методом отпечатки раневого поверхности на подготовленную копировальную бумагу. Для этого использовалась специальная одноразовая стерильная бумага с миллиметровым делением на квадратики, которая используется для подсчета ожоговых поверхностей производства фирмы «N-Dess» (США). Миллиметровую бумагу накладывали на раневую поверхность и при помощи медицинского маркера обводили ее контуры. Полученное изображение переносили на масштабную миллиметровую бумагу с переносом скопированного изображения. Проводили подсчет миллиметровых квадратиков, которые приходились на внутреннюю часть ран. Затем проводили отдельный подсчет квадратиков, которые оказались на линии пересечения краев раны. Такой подсчет квадратиков позволял складывать их в сумму с разделением неполных квадратиков на число 2. В целом формула подсчета площади раны выглядела следующим образом: $PP = PK + NPK/2$, где PP – площадь раны (mm^2), PK – количество полных квадратиков, NPK – количество не полных квадратиков.

Для оценки течения раневого процесса важное значение имеет качественная и количественная характеристика микробной обсемененности раны. В связи с этим нами проводилось определение видового спектра микрофлоры, выделяемой из раны. Определяли чувствительность выделенных микроорганизмов к антибактериальным препаратам при помощи посева на специальные диски с питательной средой. Количественную бактериологическую характеристику давали из расчета числе колоний образующих единиц на 1 см^2 раневой поверхности (КОЕ/ cm^2).

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.

Отпечатки ран, окрашенные по Романовскому-Гимзе исследовались световым микроскопом с объективом увеличения 10x40. Подсчитывали гранулоциты (%), макрофаги (%), фибробласты (%) и лимфоциты (%). Наравне с подсчетом лейкоцитов, оценивали степень их дегенерации, число одноядерных и тучных клеток, клеточных и внеклеточных элементов ткани.

Оценка выраженности дегенеративных и регенеративных процессов в ране проводилась при помощи

подсчета регенеративно-дегенеративного индекса, который рассчитывали по формуле $RDI = (ПЯН + СЯН) / ДФН$, где ПЯН – количество палочкоядерных нейтрофилов, СЯН – количество сегментоядерных нейтрофилов, ДФН – количество дегенеративных форм нейтрофилов в поле зрения.

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

Специальные методы исследования в большей степени относились к иммунологическим и состояли из определения выборочных показателей клеточного и гуморального иммунитета в сыворотке крови и ране.

Для проведения иммунологических исследований забор крови осуществляли из локтевой вены в центрифужную пробирку, обработанную гепарином в количестве 5,0 мл. Нами 10 мкл были отобраны для подсчета лейкоцитов и лимфоцитов на камере Горяева с помощью краски Задорожного С.И. и Дозморова И.М. (1987). Мононуклеарные клетки из периферической крови получали путем выделения на градиенте плотности фиколл-верографина с плотностью 1,077 г/л по Voym (1968). Число клеток подсчитывали в камере Горяева общепринятым методом под микроскопом и довели концентрацию лимфоцитов до 2×10^6 в 1 мл, жизнеспособность лимфоцитов определяли в тесте с 0,1%-ной трипановой синью.

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).

Определение концентрации в сыворотке крови обследованных иммуноглобулинов основных трех классов М, А и G г/л проводили методом радиальной иммунодиффузии по Манчани (1963).

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 гиперкератизацией.

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 имеющих дистрифических 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.

На рисунке 2 представлена цитологическая картина ДНЗР больного на 7 сутки проводимого лечения, где на фоне белковых веществ и разрушенных лейкоцитарных клеток идентифицируются нейтрофилы и гистиоциты. При этом цитоплазма клеток расширена за счет гиперхроматизации их ядер.

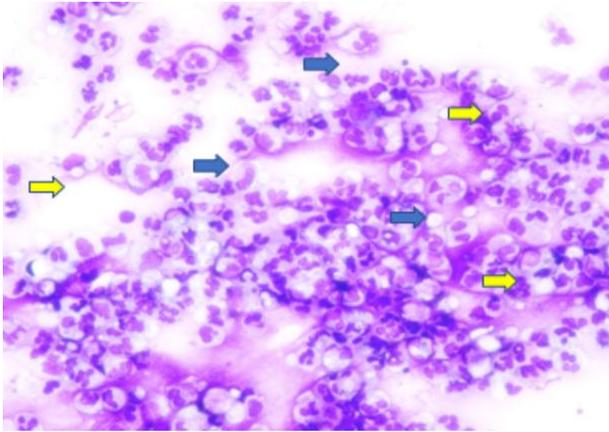


Рис. 1. Мазок отпечатки ДНЗР больного забор материала на 1 сутки проводимого лечения. Окраска по методу Романовского-Гимза. Увеличение: ок.10, об. 40

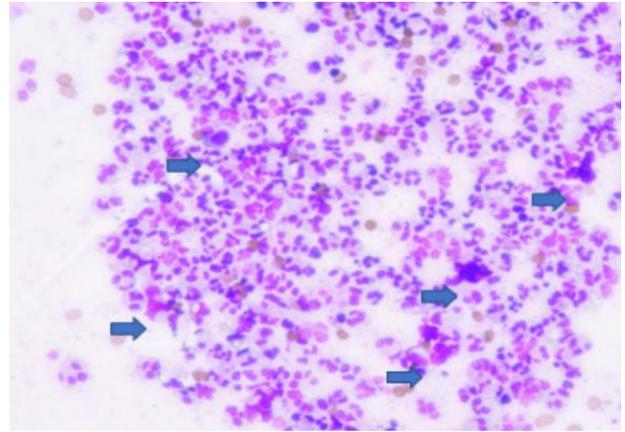


Рис. 2. Мазок отпечатки ДНЗР больного, забор материала на 7 сутки проводимого лечения. Окраска по методу Романовского-Гимза. Увеличение: ок.10, об. 40

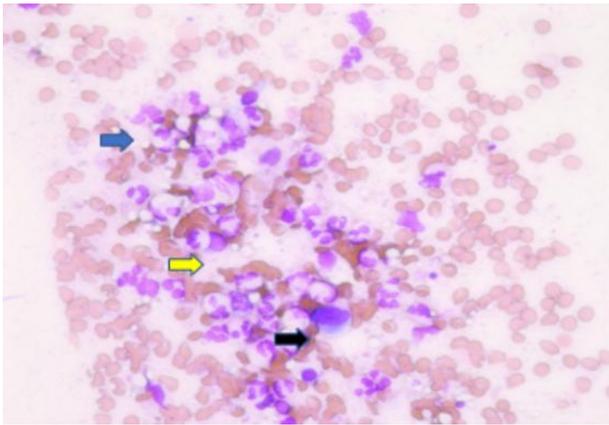


Рис. 3. Мазок отпечатки ДНЗР больного забор материала на 14 сутки проводимого лечения. Окраска по методу: Романовского-Гимза. Увеличение: ок.10, об. 40

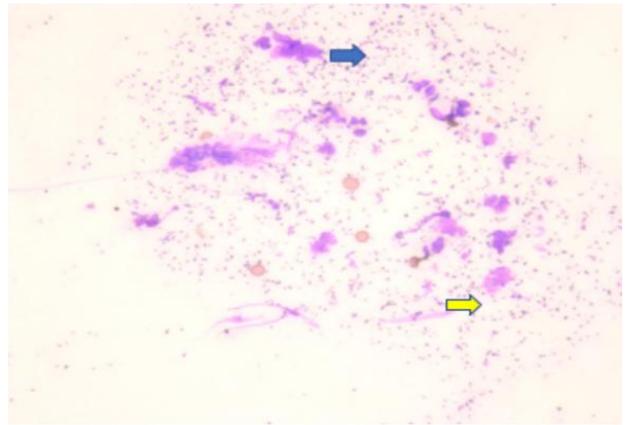


Рис. 4. Мазок отпечатки ДНЗР больного, забор материала на 14 сутки проводимого лечения. Окраска по методу: Романовского-Гимза. Увеличение: ок.10, об. 40

На 7 сутки течения гнойно-воспалительного процесса в цитологическом материале ДНЗР преобладали полинуклеарные лейкоциты. В ране все еще сохраняются нейтрофилы, преимущественно сегментоядерные типы клеток. Все они находятся в гиперхроматическом состоянии. Вокруг них определяются разрушенные лейкоциты и лимфоциты, которые расположены беспорядочно местами скученно, местами диффузно.

Рост капилляров был значительно снижен, что видимо было обусловлено продолжающимся процессом ремоделирования.

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 преимущества нейтрофилов, лимфоцитов и гистиоцитов (рис. 3).

В случае, когда среди клеточных элементов обнаруживали слабоокрашенные белковые суспензияльные 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 наличии некротического вещества жиролипоидной природы. Характер детрита и белковой массы в составе цитологического препарата определял вид бактерий. При наличии бесструктурных масс жиролипоидной природы, инфекция была вызвана грамположительными кокками, которые, естественно, снаружи покрывается липосахаридной оболочкой.

На рисунке 4 видно, что 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 гранулярный состав приобретал активную форму, что проявлялось разрыва и растворения, а местами еще и излития содержимого в околкеклеточную 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 (таблица 1). 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 [CI: 50,8; 64,8] приходилось в отдаленные периоды проводимого лечения ($p < 0,05$). В противовес этому, минимальное количество фибробластов [CI: 6; 8,2] и макрофагов [CI: 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 (рис. 5).

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 $11,3 \pm 2,1\%$.

Таблица 1. Динамика изменения морфометрической картины отпечатков поверхности ДНЗР

Динамика	Количество клеток в отпечатках раны (%)			
	Гранулоциты	Макрофаги	Фибробласты	Лимфоциты
1-сутки	$70,0 \pm 12,85$	$12,2 \pm 1,6$	$7,1 \pm 1,1$	$10,7 \pm 1,6$
7-сутки	$65,55 \pm 10,5$	$15 \pm 2,2$	$11,5 \pm 2,35$	$7,5 \pm 2,35$
14-сутки	$60,65 \pm 9,8$	$17,15 \pm 2,55^*$	$14,75 \pm 2,8^*$	$14,75 \pm 2,8^*$
28-сутки	$60 \pm 9,5^*$	$19,8 \pm 2,9^*$	$15,3 \pm 3,2^*$	$15,3 \pm 3,2^*$
> 28 суток	$57,8 \pm 7^*$	$22,7 \pm 3,85^*$	$16,2 \pm 3,8^*$	$16,2 \pm 3,8^*$

Примечание: * $p < 0,05$ – достоверно по отношению к 1 суткам проводимого лечения

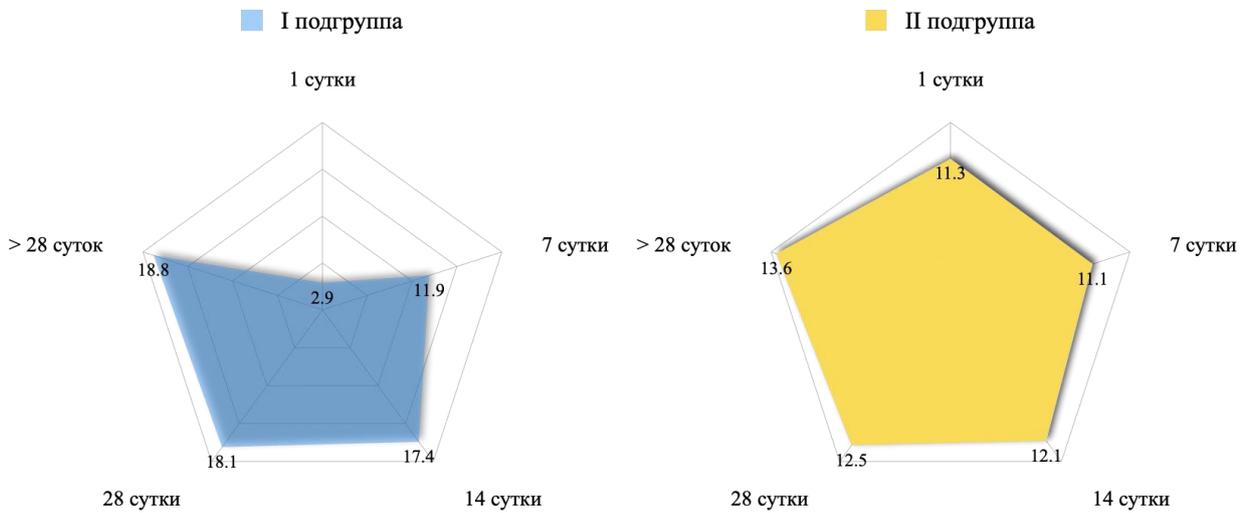


Рис. 5. Сравнительный характер динамики изменения количества фибробластов в отпечатках поверхности ДНЗР

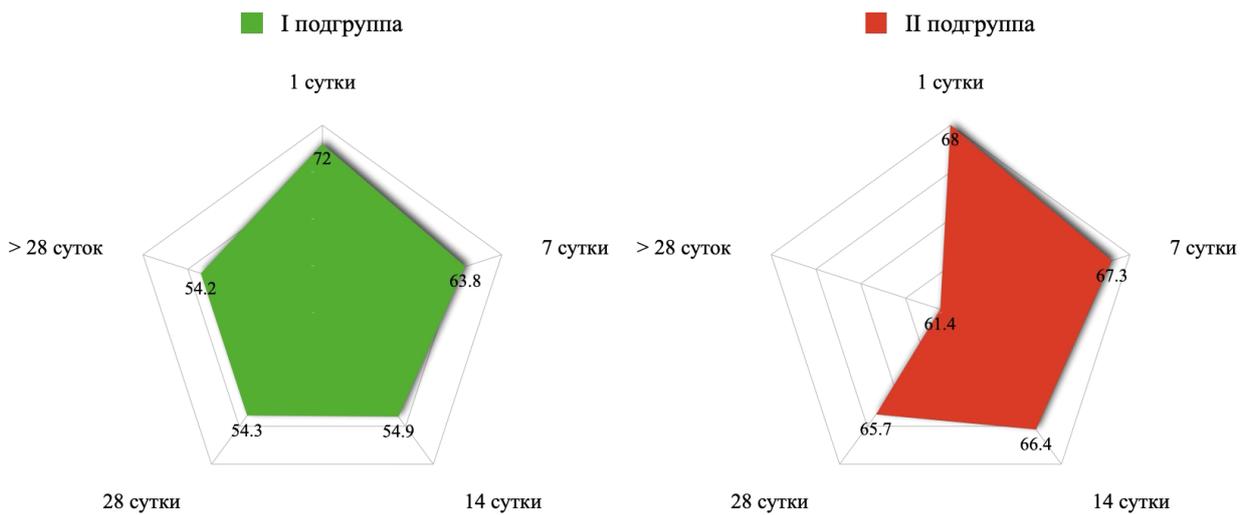


Рис. 6. Сравнительный характер динамики изменения количества гранулоцитов в отпечатках поверхности ДНЗР

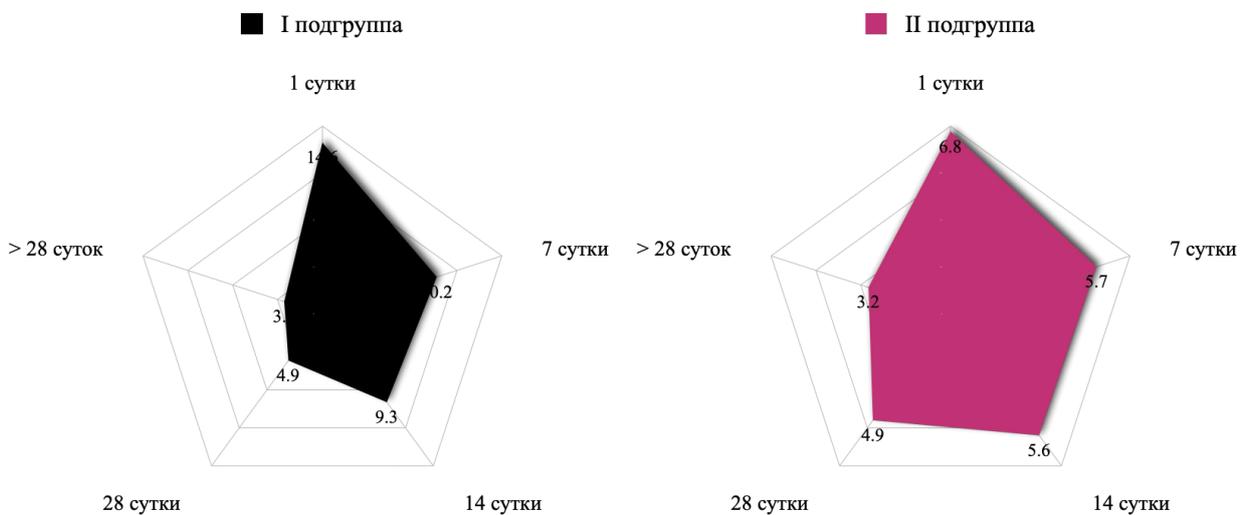


Рис. 7. Сравнительный характер динамики изменения количества лимфоцитов в отпечатках поверхности ДНЗР

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 сро-

ками, 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 характеризовалась 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 6). 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 сутки

проводимого традиционного лечения. Хотя последний срок исследования имел разный период пролонгации, тем не менее динамика было относительно выраженной (рисунок 7).

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 приравнивалось $17,86 \pm 3,72\%$, то среди больных второй подгруппы оно составило $16,88 \pm 1,52\%$. Однако раздельный динамический контроль выявил неоднозначную картину изменения количества лимфоцитов в длительно незаживающих ранах (рис. 8).

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 приравнивалось $10,5 \pm 2,3\%$, 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 приравнивалось $13,9 \pm 0,9\%$, 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 (таб-

лица 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.

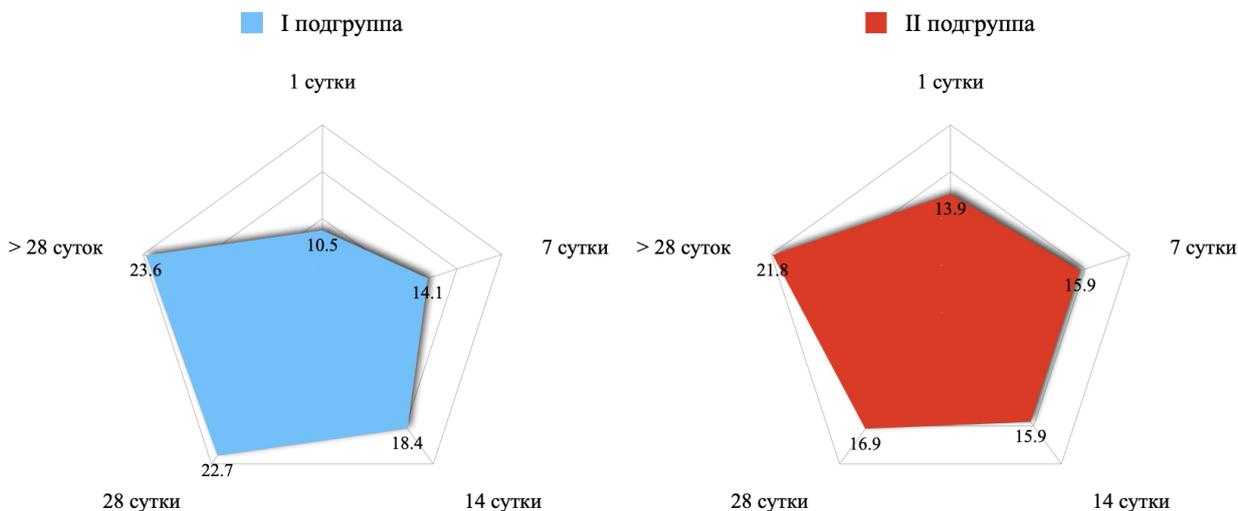


Рис. 8. Сравнительный характер динамики изменения количества макрофагов в отпечатках поверхности ДНЗР

Таблица 2. Характер изменения нейтрофилов раны

Показатели	Динамика лечения (сутки)			
	1	7	14	28
Палочкоядерные	$4,52 \pm 0,3$	$4,53 \pm 0,4$	$4,67 \pm 0,2$	$4,95 \pm 0,3^*$
Сегментоядерные	$21,4 \pm 2,6$	$24,6 \pm 2,5$	$29,7 \pm 2,8^*$	$31,9 \pm 3,1^*$
Дегенеративные формы	$15,8 \pm 1,9$	$15,75 \pm 2,1$	$15,7 \pm 2,3$	$15,2 \pm 2,45$
РДИ	$1,64 \pm 0,2$	$1,85 \pm 0,4$	$2,19 \pm 0,2^*$	$2,42 \pm 0,4^*$

Примечание: $*p < 0,05$ – достоверное значение по отношению к 1-суткам лечения

Таблица 3. Динамика изменения концентрации иммуноглобулинов (мкг/мл) в смывах поверхности ДНЗР

Динамика	Иммуноглобулины					
	IgG		IgA		IgM	
	М	м	М	м	М	м
1-сутки	31,3	6,45	12,0	3,05	7,2	0,45
7-сутки	31,8	4,75	16,25	4,15*	13,2	2,45*
14-сутки	41,9	4,65	8,0	1,8*	7,65	1,5
28-сутки	23,4	4,1*	7,7	1,65*	3,3	0,6*
> 28 суток	20,7	2,95*	8,15	1,7*	3,05	0,35*

Примечание: $*p < 0,05$ – достоверно по отношению к 1 суткам проводимого лечения

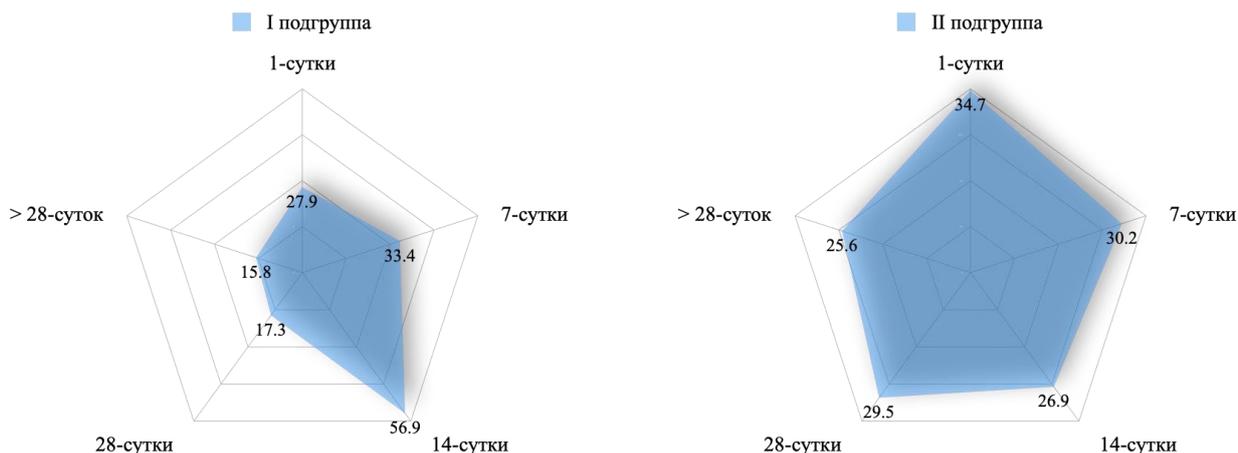


Рис. 9. Сравнительный характер динамики изменения концентрации IgG в смывах поверхности ДНЗР

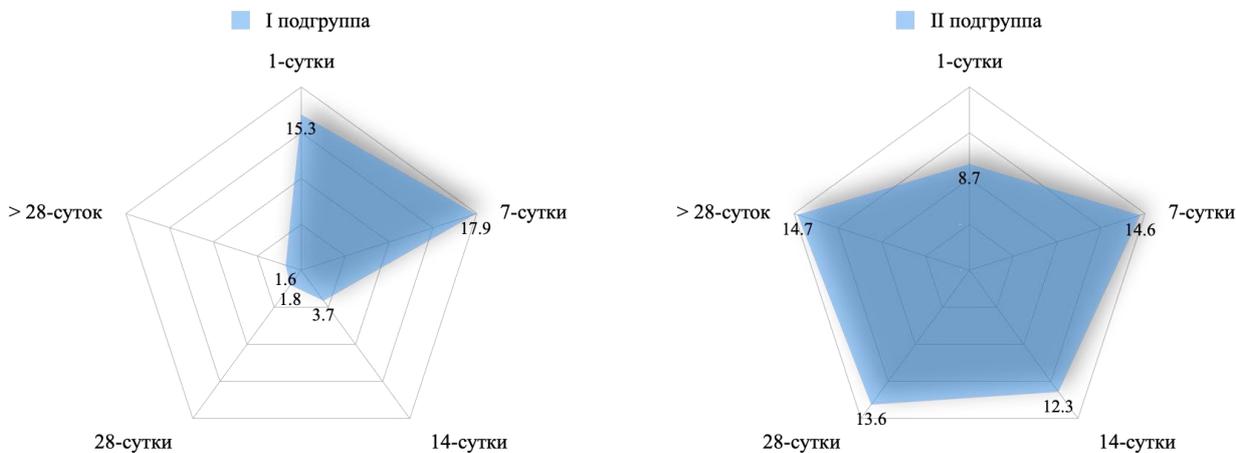


Рис. 10. Сравнительный характер динамики изменения концентрации IgA в смывах поверхности ДНЗР

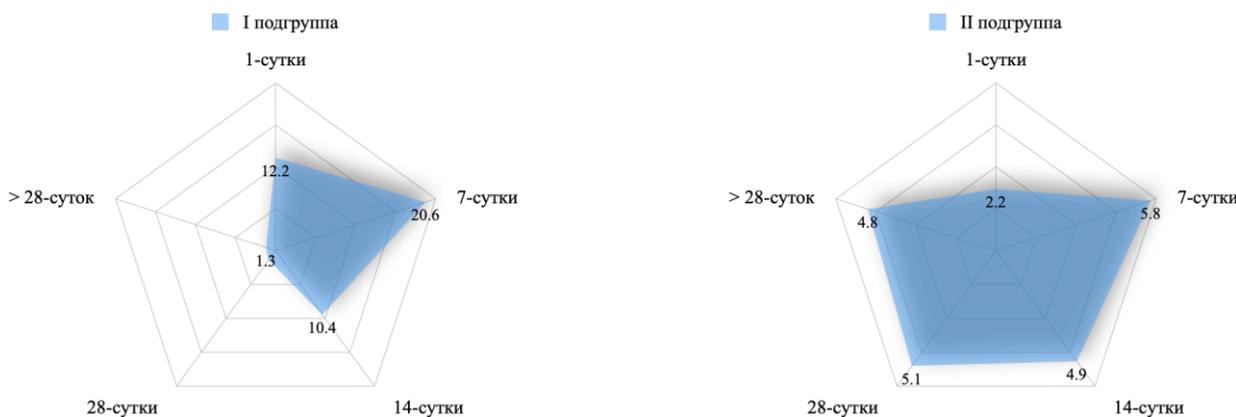


Рис. 11. Сравнительный характер динамики изменения концентрации IgM в смывах поверхности ДНЗР

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 приравнялось 50,5±9,8 мкг/мл. При этом в 62% случаев они были представлены IgG, в 23,8% случаев – IgA, и в 14,3% случаев – IgM (табл. 3).

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±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±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±6,1 мкг/мл и до 31,9±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 раз-

личия и приравнялся $30,26 \pm 3,86$ 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 (рисунок 9).

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 (рисунок 10). В отдаленные сроки проведенного исследования нами было выявлено расхождение динамики кривой концентрации IgA в смывах поверхности ДНЗР, которая среди больных первой подгруппы характеризовалась 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 (рисунок 11).

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.

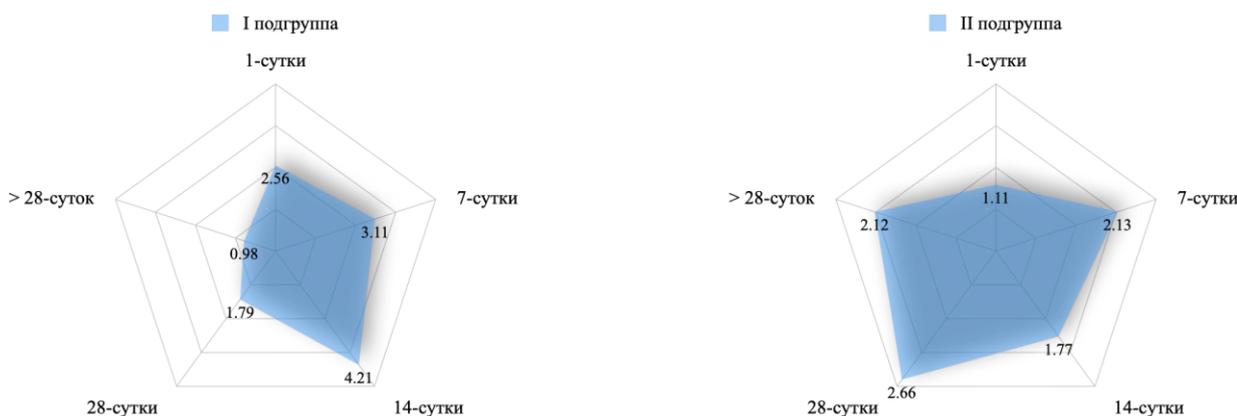


Рис. 12. Сравнительный характер динамики изменения концентрации лизоцима в смывах поверхности ДНЗР

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) – рисунок 12. В ранние сроки проведения лечения раны концентрация лизоцима в ране постепенно повышалась 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 снижалась 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. 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.
11. Goldberg S.R., Diegelmann R.F. What makes wounds chronic. // Surg. Clin. New Am. 2020;100:681–693.
12. 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.
13. 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.
14. 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.
15. Хамдамов Б.З, Дехконов А.Т. Перспективы использования препаратов серебра для локального лечения раневой инфекции // Тиббиётда янги кун. - Бухара, 2021. - № 2 (34) 202. - С. 141-145.

16. Хамдамов Б.З., Дехконов А.Т., Хамдамов А.Б., Хақимбоева К. А. Характеристика иммунного профиля при раневой инфекции у больных на фоне сахарного диабета // Биология ва тиббиёт муаммолари. - Самарканд, 2022. - № 3 (136). - С. 112-117.

17. Дехконов А.Т. Экспериментальная разработка диагностических критериев фаз течения раневого процесса у подопытных животных сахарным диабетом. Journal of MEDISINE and INNOVATIONS. №4(8) декабрь, 2022й. -С.97-112.

18. Khamdamov B.Z. Dekhkonov A.T. Gaziev K.U. Khakimboyeva K.A. Characteristics of the Immune Profile in Wound Infection in Patients with Diabetes Mellitus // American Journal of Medical Sciences 2022, 12 (4):432-436.

19. Khamdamov B.Z. Dekhkonov A.T. Clinical and Laboratory Parameters Of The Wound Process Complicated by the Systemic Inflammatory Response Syndrome in Patients With Diabetes Mellitus. Тошкент тиббиёт академияси. Journal of Educational and Scientific Medicine. Issue 3 (2) 2022. -P.25-29.

20. Khamdamov B.Z., Dekhkonov A.T. Development of diagnostic criteria for wound process phases in experimental animals with diabetes mellitus and systemic inflammatory reaction syndrome // Art of Medicine. International Medical Scientific Journal. - 2022. April - Volume 2. Issue 3. - P. 218-234.

21. Дехконов А.Т. Improvement of methods of local

treatment of wound infection complicated by systemic inflammatory syndrome in patients with diabetes mellitus // Тиббиётда янги кун. - Бухара, 2023. - № 3 (53) - С. 107-118.

22. Хамдамов Б.З. Дехконов А.Т., Хақимбоева К.А. Характеристика иммунного профиля при раневой инфекции у больных на фоне сахарного диабета «Воҳидовские чтения-2022». // Хирургия Узбекистана №2 (94) 2022, - С. 275.

**МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ИЗМЕНЕНИЙ
МОРФОЛОГИЧЕСКОЙ И МЕСТНОЙ
ИММУНОЛОГИЧЕСКОЙ КАРТИНЫ
ДЛИТЕЛЬНО НЕЗАЖИВАЮЩИХ РАН**

Арипова Т.У., Хамдамов Б.З., Умаров Б.Я.

Резюме. Концентрация лизоцима в длительно незаживающих ранах 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 длительно незаживающими ранами.

Ключевые слова: длительно незаживающая рана, иммунитет, генерализация инфекции.