

УДК 616.379-008.64-092.9:612.017.1
DOI: 10.24061/1727-0847.18.3.2019.19

В.П. Польовий, БілелКхоршані, І.Й. Сидорчук*, Р.І. Сидорчук, Ю.М. Мишковський, П.В. Кифяк**

*Кафедри загальної хірургії (зав. – проф. В.П. Польовий, *мікробіології та вірусології (зав. – проф. С.С. Дейнека), ** анестезіології та реаніматології (зав. – проф. В.М. Коновчук) Вищого державного навчального закладу України «Буковинський державний медичний університет», м. Чернівці*

ІМУНОСУПРЕСИВНА АНТИФАГОЦИТАРНА АКТИВНІСТЬ ЗБУДНИКІВ ГНІЙНО-НЕКРОТИЧНИХ ПРОЦЕСІВ М'ЯКИХ ТКАНИН ПРИ СИНДРОМІ ДІАБЕТИЧНОЇ СТОПИ

Резюме. Синдром діабетичної стопи (СДС) є одним з найпоширеніших хірургічних захворювань. Поза увагою більшості дослідників залишається негативний патогенетичний вплив факторів вірулентності збудників на систему неспецифічної резистентності та специфічної імунної реактивності організму, що зумовлює вивчення даних явищ у хворих на СДС. Мета дослідження. Дослідити супресивну дію збудників гнійно-некротичних ускладнень СДС на показники неспецифічної резистентності організму. Матеріал і методи. Дослідження базується на обстеженні 107 хворих на гнійно-некротичні процеси м'яких тканин при СДС. Застосовані стандартні мікробіологічні методи. Визначали вплив мікроорганізмів на фагоцитарну активність та фагоцитарне число в популяціях нейтрофільних гранулоцитів і моноцитів периферійної крові. Результати. Встановлено, що умовно патогенні бактерії – збудники гнійно-некротичних процесів м'яких тканин при СДС, проявляють супресивну дію на систему фагоцитозу нейтрофільних гранулоцитів, понижуючи фагоцитарну активність, фагоцитарне число і фагоцитарну ємність периферійної крові хворих. Висновок. Найвищий рівень пригнічення фагоцитарної активності встановлено у *S. aureus*, *S. pyogenes*, *P. melaninogenicus*, *P. aeruginosa*.

Ключові слова: синдром діабетичної стопи, гнійно-некротичні процеси м'яких тканин, таксономічний склад і популяційний рівень збудників, імуносупресивна активність.

Синдром діабетичної стопи (СДС) є одним з найпоширеніших хірургічних захворювань [1, 2]. В останній період перебіг цього захворювання набуває загрозливого характеру через суттєві труднощі у лікуванні та профілактиці гнійно-некротичних процесів м'яких тканин [3, 4]. Існуючі дослідження мікрофлори при СДС не дають повного розуміння, які саме збудники є основними – такими, що визначають тяжкість патологічного процесу [5, 6]. При цьому поза увагою більшості дослідників залишається негативний патогенетичний вплив факторів вірулентності збудників на систему неспецифічної резистентності та специфічної імунної реактивності організму [7, 8]. Необхідність вивчення мікробіоти гнійно-некротичних процесів м'яких тканин при СДС та інгібування ними фагоцитарної активності нейтрофільних гранулоцитів, моноцитів визначає актуальність цього дослідження.

Мета дослідження: дослідити супресивну дію збудників гнійно-некротичних ускладнень СДС на показники неспецифічної резистентності організму.

Матеріал і методи. Мікробіологічне обстеження патологічного матеріалу, взятого інтраопераційно чи під час перев'язок із вогнищ гнійно-некротичних процесів м'яких тканин 107 хворих на СДС. Патологічний матеріал піддавали мікробіологічному дослідженню не пізніше 2-х годин після його забору.

Популяції нейтрофільних гранулоцитів і моноцитів периферійної крові донорів одержували методом центрифугування на подвійному градієнті фікол-верографіну 1077/1093. Фагоцитарну активність нейтрофільних гранулоцитів і моноцитів периферійної крові досліджували чашковим методом [2]. При цьому необхідно підрахувати фагоцитарну активність (ФА) та фагоцитарне число (ФЧ). Статистична обробка – за методом варіаційної статистики з визначенням середньої величини і середнього квадратичного відхилення ($M \pm m$).

Результати дослідження та їх обговорення. У 107 хворих на гнійно-некротичні захворювання м'яких тканин дали можливість виділити (ізолювати) та ідентифікувати 120 штамів, що від-

носять до 18 різних токологічних груп факультативних анаеробних та аеробних, а також облигатних анаеробних, грампозитивних та грамотригативних бактерій. В асоціативних мікробіоценозах, що формують гнійно-некротичні процеси м'яких тканин при СДС, провідними збудниками патологічного процесу виступають *S. aureus*, *E. cloacae* та *B. fragilis*.

У всіх умовно патогенних грампозитивних бактерій – збудників гнійно-некротичного процесу м'яких тканин при СДС, виявлений популяційний рівень, який відповідає або перевищує критичний (5,00 IgKYO/г). Найвищий популяційний рівень встановлено у *S. pyogenes*, на 1,59 % нижчий у *S. aureus*, найнижчий (на 34.96% нижче, ніж у *S. pyogenes*) – в *E. coli*.

Вивчення провідних показників фагоцитарної активності нейтрофільних гранулоцитів має практичне значення у комплексному аналізі й діагностиці гнійно-некротичних процесів, у перебігу та лікуванні цих захворювань, а також в установленні імунодефіцит цих станів, схильності до післяопераційних ускладнень, тривало незагоєваних ран, часто рецидивуючих гнійно-запальних і гнійно-некротичних процесів тощо. Дослідження фаго-

цитозу допомагає у діагностиці вторинних імунодефіцитних станів, зумовлених як збудниками гнійно-некротичних процесів, так і лікувальним процесом у хворих на гнійно-некротичні захворювання м'яких тканин при СДС. Результати дослідження супресивної активності збудників на показники системи фагоцитозу нейтрофільних гранулоцитів периферійної крові наведені у таблиці.

Факультативні анаеробні та аеробні, грампозитивні і грамотригативні бактерії, а також облигатні анаеробні грампозитивні і грамотригативні бактерії у різному ступені пригнічують фагоцитарну активність нейтрофільних гранулоцитів на перших фазах процесу, що призводить до пониження кількості активних фагоцитуючих нейтрофільних гранулоцитів та фагоцитарної ємності периферійної крові. Супресія системи фагоцитозу залежить від таксону, що формує гнійно-некротичний процес.

Так, провідний збудник гнійно-некротичних процесів у м'яких тканинах коагулазопозитивний *S. aureus* призводить до зниження захоплюючої активності нейтрофільних гранулоцитів на 7,58%, фагоцитарної активності – на 65,54 %, що призво-

Таблиця

Вплив умовно патогенних бактерій – збудників гнійно-некротичних процесів м'яких тканин на фагоцитарну активність нейтрофільних гранулоцитів

Таксони мікробіоти	Фагоцитарне число (абс)	Фагоцитарна активність (%)	Кількість активних фагоцитів крові ($\times 10^9/\text{л}$)	Фагоцитарна ємність крові ($\times 10^9/\text{л}$)
Контроль	3,02 ± 0,11	5,72±1,87	3,29±0,67	18,82±0,55
1. Факультативні анаеробні та аеробні бактерії				
<i>1.1. Грампозитивні бактерії</i>				
<i>S. aureus</i>	1,72±0,88	33,08±1,27	1,99±0,37	11,38±0,81
<i>S. epiderm.</i>	2,19±0,12	42,97±1,97	2,58±0,39	14,78±0,87
<i>S. intermed.</i>	2,27±0,13	45,98±2,32	2,76±0,48	15,81±0,47
<i>S. haemolyt.</i>	2,21±0,14	46,45±2,11	2,79±0,43	15,98±0,91
<i>S. saproph.</i>	2,72±0,15	48,51±2,81	2,92±0,51	16,68±0,94
<i>S. pyogenes</i>	1,57±0,08	34,01±1,67	2,04±0,33	11,70±0,78
<i>1.2. Грамотригативні бактерії</i>				
<i>P. vulgaris</i>	2,15±0,11	41,89±2,12	2,52±0,43	14,41±0,94
<i>E. coli</i>	2,47±0,12	47,12±2,27	2,83±0,41	16,21±1,03
<i>E. cloacae</i>	2,27±0,14	46,22±2,33	2,78±0,54	15,90±0,99
<i>P. aerug.</i>	1,82±0,10	39,07±1,89	2,35±0,37	13,44±0,79
2. Облигатні анаеробні бактерії				
<i>2.1. Грампозитивні бактерії</i>				
<i>P. magnus</i>	2,47±0,14	42,13±2,05	2,53±0,43	14,49±1,21
<i>P. anaer.</i>	2,42±0,13	40,67±1,97	2,45±0,36	13,99±6,17
<i>2.2. Грамотригативні бактерії</i>				
<i>B. fragilis.</i>	2,04±0,99	40,03±1,78	2,41±0,33	13,77±1,21
<i>P. melanin.</i>	1,73±0,10	35,69±1,77	2,15±0,31	12,27±0,97

дить до суттєвого (на 65,33 %) зниження кількості активних фагоцитарних нейтрофільних гранулоцитів та фагоцитарної ємності периферійної крові на 65,38 %.

Усі збудники, що належать до облігатних і факультативних анаеробних та аеробних бактерій, пригнічують фагоцитоз на перших фазах ($P < 0,05 - 0,01$), знижуючи фагоцитарне число, фагоцитарну активність нейтрофільних гранулоцитів, що призводить до формування дефіциту фагоцитарної ємності периферійної крові. Найбільша інгібуюча дія процесу захоплення фагоцитуючих часточок виявлена у *S. pyogenes* (зниження фагоцитарного числа на 92,36 %), *S. aureus* (на 75,58 %), *P. melaninogenicus* (на 74,75 %), *P. aeruginosa* (на 65,93 %), *V. fragilis* (на 36,70 %), *P. anaerobius* (на 34,55 %). Низька супресивна дія на фагоцитарну активність нейтрофільних гранулоцитів встановлена в *E. coli* (на 16,13 %), *S. haemolyticus* (на 17,80 %), *E. cloacae* (на 18,39%), *S. intermedius* (на 19,01 %). У хворих на гнійно-некротичні процеси м'яких тканин при СДС збудники захворювання знижують фагоцитарну активність нейтрофільних гранулоцитів периферійної крові, фагоцитарне число і формують стійку тенденцію до зниження кількості активних нейтрофільних гранулоцитів у периферійній крові, що понижує фагоцитарну ємність периферійної крові, результатом чого є формування набутого імунодефіцитного

стану. Високий рівень пониження фагоцитарної ємності периферійної крові хворих на гнійно-некротичні процеси м'яких тканин відбувається за персистенції *S. aureus* (зниження на 65,38 %), та *S. pyogenes* – на 60,85 %, а також за *P. melaninogenicus* зниження фагоцитарної ємності відбувається на 53,38 %, *P. aeruginosa* – на 40,03 %, *P. anaerobius* – на 34,52%, *V. fragilis* – на 36,67 %. Зниження фагоцитарної ємності периферійної крові хворих на гнійно-некротичні процеси м'яких тканин відбувається за персистенції усіх таксонів, ізольованих із вогнищ запалення, за винятком персистенції у рановому біопаті *S. saprophyticus*. Персистенція останнього формує тенденцію до зниження на 12,83 %, $P > 0,05$ фагоцитарної ємності периферійної крові хворих.

Висновки. 1. Умовно патогенні бактерії-збудники гнійно-некротичних процесів м'яких тканин при СДС проявляють супресивну дію на систему фагоцитозу нейтрофільних гранулоцитів, понижуючи фагоцитарну активність, фагоцитарне число і фагоцитарну ємність периферійної крові хворих. 2. Найвищий рівень супресії фагоцитарної активності встановлено у *S. aureus*, *S. pyogenes*, *P. melaninogenicus*, *P. aeruginosa*.

Перспективи подальших досліджень. Полягає у розробці методів корекції визначених порушень неспецифічної резистентності.

Список використаної літератури

1. Сидорчук РІ, Хомко ОЙ, Рева ВБ, Полянський ОІ, Сидорчук ЛП, Попович АІ. Морфологія синдрому діабетичної стопи. *Клін. хірургія*. 2017;2:66-7.
2. Hingorani A, LaMuraglia GM, Henke P, Meissner MH, Loretz L, Zinszer KM, et al. The management of diabetic foot: A clinical practice guideline by the Society for Vascular Surgery in collaboration with the American Podiatric Medical Association and the Society for Vascular Medicine. *J Vasc Surg*. 2016;63(2 Suppl):3S-21S.
3. Іоффе ОЮ, Стець ММ, Цюра ЮП, Перепадя ВМ, Кривоустов МС, Білик ПІ, Сидорчук РІ. Сучасні підходи в хірургічному лікуванні заочеревинних флегмон. *Український журнал екстремальної медицини ім. Г.О. Можжаєва*. 2019;20(1):25-9.
4. Lipsky BA, Berendt AR, Cornia PB, et al. 2012 Infectious Diseases Society of America clinical practice guideline for the diagnosis and treatment of diabetic foot infections. *Clin Infect Dis*. 2012;54(12):e132-73.
5. Сидорчук ЛІ. Видовий склад, популяційний рівень та мікроскопічні показники і ступінь порушень мукозної мікробіоти товстої кишки білих щурів з експериментальним цукровим діабетом. *Заг. патологія та патологічна фізіологія*. 2013;8(2):98-104.
6. Сидорчук РІ, Хомко ОЙ, Плегуца ОМ, Ткачук ОВ, Кіфяк ПВ, Сидорчук Л.П. Динаміка змін видового складу провідних збудників та асоціантів біоплівки гнійно-некротичних процесів м'яких тканин. *Сучасні медичні технології*. 2018;1(36):66-9.
7. Сидорчук РІ, Хомко ОЙ, Кнут РП, Воляннюк ПМ, Сидорчук ЛІ, Плегуца ОМ, Райляну СІ, Сидорчук ІЙ. Таксономічний склад та мікроекологічні показники збудників гнійно-запальних процесів шкіри та підшкірної клітковини. *Хірургія України*. 2018;4:54-6.
8. Elfaki MG, Al-Hokail AA, Kambal AM. *Microbial Immunosuppression, Immunosuppression – Role in Health and Diseases*, Dr. Suman Kapur (Ed.), 2012. InTech. Available from: <http://www.intechopen.com/books/immunosuppression-role-in-health-and-diseases/microbial-immunosuppression>. Accessed 05.06.2019.

References

1. Sydorhuk RI, Khomko OY, Reva VB, Polyans'kyy OI, Sydorhuk LP, Popovych AI. Morfolohiya syndrome diabetychnoyi stopy [Morphology of diabetic foot syndrome]. *Klinicheskaiia khirurgiia*. 2017;2:66-7. (In Ukrainian).
2. Hingorani A, LaMuraglia GM, Henke P, Meissner MH, Loretz L, Zinszer KM. The management of diabetic foot: A clinical practice guideline by the Society for Vascular Surgery in collaboration with the American Podiatric Medical Association and the Society for Vascular Medicine. *J Vasc Surg*. 2016 Feb;63(2 Suppl):3S-21S. doi: 10.1016/j.jvs.2015.10.003.
3. Ioffe OYu, Stets' MM, TsyuraYuP, Perepadya VM, Kryvopustov MS, Bilyk II, Sydorhuk RI. Suchasnip-idkhody v khirurhichnomu likuvanni zaocherevnykh flehmon [Modern approaches in surgical treatment of retroperitoneal phlegmon]. *Ukrayins'kyy zhurnal ekstremal'noyi medytsyny im. H.O. Mozhayeva*. 2019;20(1):25-9. (In Ukrainian).
4. Lipsky BA, Berendt AR, Cornia PB, Pile JC, Peters EJ, Armstrong DG, et al. 2012 Infectious Diseases Society of America clinical practice guideline for the diagnosis and treatment of diabetic foot infections. *Clin Infect Dis*. 2012 Jun;54(12):e132-73. doi: 10.1093/cid/cis346.
5. Sydorhuk LI. Vydovyy sklad, populyatsiynny riven' ta mikroskopichni pokaznyky i stupin' porushen' mukoznoy i mikrobiotyovstoyi kyshky bilykh shchuriv z eksperymental'nym tsukrovym diabetom [Species composition, population level and microscopic indices and degree of disorders of white rat colon mucosal microbiota with experimental diabetes mellitus]. *Zah. patolohiya ta patolohichna fiziolohiya*. 2013;8(2):98-104. (in Ukrainian).
6. Sydorhuk RI, Khomko OY, Plehutsa OM, Tkachuk OV, Kifiak PV, Sydorhuk LP. Dynamika zmin vydovoho skladu providnykh zbudnykiv ta asotsiantiv bioplivky hniyno-nekrotichnykh protsesiv myakyykh tkanyn [Dynamics species composition changes of leading pathogens and associates in biofilm of the purulent necrotic processes soft tissues]. *Suchasni medychni tekhnolohiyi*. 2018;1(36):66-9. (in Ukrainian).
7. Sydorhuk RI, Khomko OY, Knut RP, Volyanyuk PM, Sydorhuk LI, Plehutsa OM, et al. Taksonomichnyy sklad ta mikroekolohichni pokaznyky zbudnykiv hniyno-zapal'nykh protsesiv shkiry ta pidshkirnoy iklitkovyny [Taxonomic composition and microecological indices of skin and subcutaneous tissue purulent-inflammatory processes]. *Surgery of Ukraine*. 2018;4:54-6. (in Ukrainian).
8. Dr. Suman Kapur, editor. *Immunosuppression - Role in Health and Diseases*. InTech; 2012. Chapter 11, *Microbial Immunosuppression* [Internet]. [cited 2019 Jun 5]. 470 p. Available from: <https://www.intechopen.com/books/immunosuppression-role-in-health-and-diseases/microbial-immunosuppression>

ИММУНОСУПРЕССИВНАЯ АНТИФАГОЦИТАРНАЯ АКТИВНОСТЬ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ГНОЙНО-НЕКРОТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ МЯГКИХ ТКАНЕЙ ПРИ СИНДРОМЕ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ СТОПЫ

Резюме. Синдром диабетической стопы (СДС) один из распространенных хирургических заболеваний. Поза вниманием большинства исследователей остается отрицательное патогенетическое влияние факторов вирулентности возбудителей на систему неспецифической резистентности и специфической иммунной реактивности организма, что предрасполагает изучение данных явлений в больных на СДС. Цель исследования – изучить супрессивное воздействие возбудителей гнойно-некротических осложнений СДС на показатели неспецифической резистентности организма. Материал и методы. Исследование базируется на обследовании 107 больных с гнойно-некротическими процессами мягких тканей при СДС. Используются стандартные микробиологические методы. Определяли влияние микроорганизмов на фагоцитарную активность и фагоцитарное число в популяциях нейтрофильных гранулоцитов и моноцитов периферической крови. Результаты. Установлено, что условнопатогенные бактерии – возбудители гнойно-некротических процессов м'яких тканей при СДС, проявляют супрессивное воздействие на систему фагоцитоза нейтрофильных гранулоцитов, понижая при этом фагоцитарную активность, фагоцитарное число и фагоцитарную емкость периферической крови больных. Вывод. Наибысший уровень угнетения фагоцитарной активности установлено в *S. aureus*, *S. pyogenes*, *P. melaninogenicus*, *P. aeruginosa*.

Ключевые слова: синдром диабетической стопы, гнойно-некротические процессы м'яких тканей, таксономический состав и популяционный уровень возбудителей, иммуносупрессивная активность.

IMMUNOSUPPRESSIVE ANTIPHAGOCYtic ACTIVITY OF AGENTS PROMOTING PURULENT-NECROTIC PROCESSES IN THE SOFT TISSUES WITH DIABETIC FOOT SYNDROME

Abstract. Diabetic foot syndrome (DFS) is one of the most common surgical diseases. A negative pathogenic

effect of virulent pathogenic factors on the non-specific resistance and specific immune reactivity remains outside of attention of the majority of investigators, stipulating the need to study these issues in DFS patients. The objective of the study is to investigate a suppressive action of causative agents of purulent-necrotic complications of DFS on the parameters of non-specific resistance of the organism. Material and methods. The study is based on examination of 107 patients with purulent-necrotic soft tissue processes and DFS. Standard microbiological methods were applied. The influence of microorganisms on phagocytic activity and phagocytic index in neutrophil granulocytes and monocytes of the peripheral blood was studied. Results. Opportunistic bacteria, pathogens of purulent-necrotic processes of the soft tissues with DFS, were found to demonstrate their suppressive effect on the phagocytosis of neutrophil granulocytes system, decreasing phagocytic activity, phagocytic quantity and phagocytic capacity of the peripheral blood of patients. Conclusions. The highest level of suppression of phagocytic activity was associated with *S. aureus*, *S. pyogenes*, *R. melaninogenicus*, and *P. aeruginosa*.

Keywords: diabetic foot syndrome, purulent-necrotic processes of the soft tissues, taxonomic composition and population level of pathogens, immunosuppressive activity.

Відомості про авторів:

Польовий Віктор Павлович – доктор медичних наук, професор, завідувач кафедри загальної хірургії Вищого державного навчального закладу України «Буковинський державний медичний університет», м. Чернівці;

Білеп Кхоршані – очний аспірант кафедри загальної хірургії Вищого державного навчального закладу України «Буковинський державний медичний університет», м. Чернівці;

Сидорчук Ігор Йосипович – доктор медичних наук, професор кафедри мікробіології та вірусології Вищого державного навчального закладу України «Буковинський державний медичний університет», м. Чернівці;

Сидорчук Руслан Ігорович – доктор медичних наук, професор кафедри загальної хірургії Вищого державного навчального закладу України «Буковинський державний медичний університет», м. Чернівці;

Мишковський Юрій Миколайович – асистент кафедри загальної Вищого державного навчального закладу України «Буковинський державний медичний університет», м. Чернівці;

Кифяк Петро Васильович – асистент кафедри анестезіології та реаніматології Вищого державного навчального закладу України «Буковинський державний медичний університет», м. Чернівці.

Information about authors:

Polyovyy Victor P. – M.D., Professor, Head of the Department of General Surgery of the Higher State Educational Establishment of Ukraine «Bukovinian State Medical University», Chernivtsi;

Bilel Khorshani – Postgraduate Student Department of General Surgery of the Higher State Educational Establishment of Ukraine «Bukovinian State Medical University», Chernivtsi;

Sydorchuk Igor Yo. – M.D., Professor of the Department of Microbiology and Virology of the Higher State Educational Establishment of Ukraine «Bukovinian State Medical University», Chernivtsi;

Sydorchuk Ruslan I. – M.D., Professor of the Department of General Surgery of the Higher State Educational Establishment of Ukraine «Bukovinian State Medical University», Chernivtsi;

Mishkovsky Yuriy M. – Assistant professor of the Department of General Surgery of the Higher State Educational Establishment of Ukraine «Bukovinian State Medical University», Chernivtsi;

Kyfiak Petro V. – Assistant professor of the Department of Anesthesiology and Reanimatology of the Higher State Educational Establishment of Ukraine «Bukovinian State Medical University», Chernivtsi.

Надійшла 22.03.2019 р.

Рецензент – проф. Дзюбановський І.Я. (Тернопіль)