

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ  
НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ  
імені П.Л. ШУПИКА

Кваліфікаційна наукова  
праця на правах рукопису

ЛИННИК Олександра Миколаївна

УДК: 616.717.001.17

**ДИСЕРТАЦІЯ**

ТРАНСФУЗІЙНА КОРЕКЦІЯ ЕНДОТЕЛІАЛЬНОЇ ДИСФУНКЦІЇ ТА  
РОЗВИТКУ ЗАПАЛЬНОЇ РЕАКЦІЇ ПРИ ХІРУРГІЧНОМУ ЛІКУВАННІ  
ОПІКОВИХ РАН

222 «Медицина»

22 Охорона здоров'я

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень.

Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

\_\_\_\_\_ Линник О.М.

Науковий керівник: Козинець Георгій Павлович, доктор медичних наук, професор

Київ - 2023

## АНОТАЦІЯ

**Линник О.М.** Трансфузійна корекція ендотеліальної дисфункції та розвитку запальної реакції при хірургічному лікуванні опікових ран. Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 222 «Медицина» (22 Охорона здоров'я), Національний університет охорони здоров'я України імені П.Л.Шупика, Київ, 2023.

У дисертації наведено теоретичне обґрунтування та вирішення актуального завдання, яке полягає у підвищенні ефективності лікування пацієнтів з опіками шляхом розробки та впровадження схем трансфузійної корекції ендотеліальної дисфункції та показників запалення при хірургічному лікуванні опікових ран.

В дослідження включені результати обстеження і лікування 71 пацієнта з опіковими ураженнями площею від 10 до 60% поверхні тіла, віком від 24 до 65 років. Всі пацієнти були розподілені на дві групи – основну та групу порівняння. Основна група включала 49 пацієнтів з термічними опіками загальною площею від 10 до 60%, яким на додаток до стандартної схеми трансфузійної терапії та хірургічного лікування застосовувались препарати ендотеліотропної, антипротеолітичної та антиоксидантної дії. В залежності від використовуваного додаткового препарату в схемах трансфузійної терапії пацієнти основної групи розподілені на три підгрупи. Підгрупа 1 включала 23 пацієнта, яким в схемі трансфузійної терапії при хірургічному лікуванні застосовувався препарат ендотеліотропної дії – левокарнітин та аргініну гідрохлорид, підгрупа 2 – 12 пацієнтів, яким застосовувався препарат інгібітора протеїназ – улінастатин та підгрупа 3 – 14 пацієнтів, яким застосовувався препарат антиоксидантної дії – етилметилгідроксипіридину сукцинат. Група порівняння включала 22 пацієнта з термічними опіками загальною площею понад 10% поверхні тіла, яким проводилась стандартна загальноприйнята схема трансфузійної терапії та хірургічного лікування без додаткових препаратів.

Результати застосування препаратів ендотеліотропної, антипротеолітичної та антиоксидантної дії досліджували та аналізували за динамікою змін як в периферичній крові, так і в капілярній крові зони термічного ураження, показників ендотеліальної дисфункції, показників про- та протизапальних цитокінів, показників протеолітичної активності та даних фагоцитарної активності клітин в пацієнтів кожної підгрупи основної групи та в пацієнтів групи порівняння. Морфологічне та імуногістохімічне підтвердження проводилось за показниками маркерів активації ангиогенезу, епідермізації та епітелізації. Критеріями клінічної успішності хірургічного лікування вважались: зменшення площ висічень та площ закриття ран, терміни проведення першої аутодермопластики, терміни повного остаточного закриття ранових поверхонь, кількість хірургічних втручань, частота виникнення інфекційно-запальних ускладнень, терміни перебування пацієнта в стаціонарі.

Встановлено, що на 2-3-тю добу після опікової травми в пацієнтів відбувалось підвищення рівнів маркерів ендотеліальної дисфункції: ендотеліну-1 (ЕТ-1) та гомоцистеїну в капілярній крові рани та в периферичній крові, причому рівні ЕТ-1 в крові опікової рани перевищували рівні ЕТ-1 у периферичній крові, що свідчило про переважання локальної вазоконстрикції в зоні опікового ураження, суттєво впливало на розвиток ранового процесу та строки проведення хірургічного лікування. При вивченні динаміки змін показників оксиду азоту (NO) в капілярній крові опікової рани встановлено, що в обох групах на 2-3-тю добу після опіку показники кінцевих метаболітів NO перевищували референтні показники, але на 7-8-му добу в капілярній крові рани в пацієнтів групи порівняння рівень NO становив  $3,48 \pm 0,2$  мкмоль/л, що було значно нижче як вихідних ( $8,68 \pm 0,08$  мкмоль/л), так і референтних показників ( $4,69 \pm 0,42$  мкмоль/л) ( $p < 0,05$ ), що свідчило про зниження біодоступності NO, його інактивацію активними формами кисню, недостатність субстрату для ендотеліальної NO-синтази (eNOS), що призводило до поглиблення розвитку ендотеліальної дисфункції та переважання вазоспазму в ділянці опікової рани.

Визначено, що застосування розроблених схем трансфузійної терапії в ранньому періоді опікової хвороби сприяло достовірному зменшенню показників вазоконстрикторного фактору ET-1 в крові, достовірному зниженню рівнів гомоцистеїну, особливо в капілярній крові опікової рани, що свідчило про зменшення цитотоксичного впливу на ендотелій. Застосування запропонованої трансфузійної терапії дозволило підтримати рівні NO на 7-8му добу на рівні вдвічі більшому за показник групи порівняння як за рахунок надання субстрату NO, так і через використання S-нітрозотіолів для синтезу NO.

Для оцінки процесів запалення проводили визначення динаміки змін показників таких цитокінів як інтерлейкіни (IL-1, IL-2, IL-6, IL-10) та туморонекротичного фактору  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) в периферичній крові. Визначено підвищення рівнів прозапальних цитокінів IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$ , зниження відносно вихідного рівня імуностимулюючого фактору, такого як IL-2, підвищення секреції імносупресивного фактору, такого як IL-10. Встановлене достовірне ( $p < 0,05$ ) зниження рівнів прозапальних цитокінів (TNF- $\alpha$  та IL-6) в крові пацієнтів основної групи, в той час як в групі порівняння рівні значно зросли на 7-8-му добу після опікової травми ( $p < 0,05$ ). В основній групі динаміка плейотропного цитокіну IL-2, а саме збереження його на рівні вище  $59,64 \pm 7,56$  на 13-14-ту добу, порівняно з  $49,53 \pm 4,15$  пг/мл в групі порівняння, сприяла створенню умов для проліферації клітин, росту ендотеліальних клітин і ангиогенезу. Також динаміка змін рівнів плейотропних цитокінів IL-2 та IL-10 сприяла зменшенню проявів ендотеліальної дисфункції, що призводило до покращення кровопостачання зони опікової рани, сприяло процесам репаративної регенерації. Динаміка змін прозапальних цитокінів свідчила про зменшення вираженості процесів системного запалення при застосуванні запропонованих схем трансфузійної терапії при ранньому хірургічному лікуванні пацієнтів з опіками.

Для оцінки стану протеолітичної-антипротеолітичної системи визначались показники кальпаїнів,  $\alpha 1$ -інгібіторів протеаз ( $\alpha 1$ ІП) та  $\alpha 2$ -макроглобулінів ( $\alpha 2$ МГ) в периферичній крові. Визначено, що на 2-3-тю добу після опіку в периферичній крові пацієнтів підвищений рівень кальпаїнів та  $\alpha 1$ ІП та знижений рівень  $\alpha 2$ МГ



відносно референтних показників, що свідчило про декомпенсацію активності системи протеази-інгібітори протеаз, посилення розвитку процесів запалення, у пацієнтів в гострому періоді опікової хвороби, що мало несприятливий вплив на розвиток ранового процесу. При застосуванні запропонованих схем трансфузійної терапії встановлене зниження рівнів кальпаїнів в крові, в більшій мірі в пацієнтів підгрупи 1 (з вихідного рівня  $57,22 \pm 1,86$  мкЕкв/хв до  $37,69 \pm 2,08$  мкЕкв/хв на 7-8-му добу та до  $33,24 \pm 2,42$  мкЕкв/хв на 13-14-ту добу, порівняно з показниками в групі порівняння:  $61,51 \pm 5,49$  мкЕкв/хв на 7-8-му добу та  $60,12 \pm 7,17$  мкЕкв/хв на 13-14-ту добу,  $p < 0,001$ ) при підтриманні більш високих рівнів  $\alpha$ -1П ( $79,95 \pm 1,93$  мкмоль/л на 7-8-му добу та  $74,26 \pm 3,05$  мкмоль/л на 13-14-ту добу порівняно з відповідними показниками в групі порівняння  $72,1 \pm 7,8$  мкмоль/л на 7-8-му добу та  $68,0 \pm 4,9$  мкмоль/л на 13-14-ту добу,  $p < 0,05$ ) та вищих рівнів  $\alpha$ -2МГ (на 13-14-ту добу  $2,63 \pm 0,2$  г/л порівняно з  $2,2 \pm 0,4$  в групі порівняння,  $p < 0,05$ ), що свідчило про зменшення вираженості протеолізу та покращення збалансованості протеолітичної-антипротеолітичної системи організму, збереження цитопротекторної дії інгібіторів протеаз.

Для оцінки стану прооксидантно-антиоксидантної системи визначений вміст первинних продуктів вільнорадикального перекисного окислення – дієнових кон'югатів, вторинних продуктів – ТБК-активних сполук, а також визначений вміст антиоксидантного ферменту супероксиддисмутази в крові у пацієнтів. Встановлено, що на 2-3-тю добу після опікової травми мав місце дефіцит антиоксидантної системи, що був виражений зниженням рівнів супероксиддисмутази та відбувався розвиток оксидативного стресу з підвищенням концентрації продуктів перекисного окислення ліпідів в периферичній крові пацієнтів. При застосуванні запропонованих схем трансфузійної терапії відмічене зниження рівнів продуктів перекисного окислення, в більшій мірі в пацієнтів підгрупи 3 (дієнових кон'югатів з вихідного рівня  $4,99 \pm 0,37$  у.о. до  $4,03 \pm 0,37$  у.о.,  $p < 0,001$ , ТБК-активних продуктів з  $1,54 \pm 0,16$  мкмоль/л до  $1,26 \pm 0,08$  мкмоль/мл,  $p < 0,01$ ), та підвищення рівнів супероксиддисмутази з вихідного  $0,15 \pm 0,03$  о.д./мг до  $0,26 \pm 0,04$  о.д./мг ( $p = 0,035$ ) на 13-14-ту добу, що свідчило про покращення

збалансування прооксидантно-антиоксидантної системи, покращення здатності цієї системи знешкоджувати продукти перекисного окислення та зменшення патологічних ефектів, пов'язаних з оксидантним стресом.

З метою визначення патоморфологічних змін ранового процесу в ділянках термічного ураження при застосуванні запропонованих схем трансфузійної терапії проведено патогістологічне та імуногістохімічне дослідження матеріалів punch-біопсії з опікових ран на 2-3-тю, 7-8-му та 13-14-ту добу після опікової травми з визначенням динаміки фактору росту ендотелію судин (VEGF), сполучнотканинного маркера – віментину, маркера ангиогенезу PECAM-1/CD31 та загальноепітеліального маркера – панцитокератину (PanCK, AE1/AE3). Встановлено, що при застосуванні запропонованої схеми трансфузійної терапії в зразках тканин зони опікового ураження в пацієнтів основної групи вже на 7-8-му добу після опікової травми відмічалось зменшення дегенеративних процесів у всіх шарах шкіри, виражені процеси неоангіогенезу (CD31-позитивно забарвлених ендотеліальних клітин  $21,0 \pm 2,3$ , VEGF-позитивних клітин 15,4%, розростання сполучної тканин в різних шарах шкіри: віментин-позитивних клітин до 55%), активувались процеси епідермізації та епітелізації опікової рани.

Отримані результати хірургічного лікування свідчили, що застосування запропонованих схем трансфузійного забезпечення в пацієнтів з опіками призвело до зменшення площі конверсії опікових ран, що виражене в зменшенні площі видалення некротичних тканин ( $5,84 \pm 2,71$  % п.т. порівняно з  $8,07 \pm 3,98$  % п.т. в групі порівняння), зменшенні обсягів закриття ран розщепленими аутодермотрансплантатами ( $3,48 \pm 1,52$ % п.т. в основній групі порівняно з  $4,08 \pm 2,06$ % п.т. в групі порівняння), та в зменшенні загальної кількості хірургічних втручань (2,98 в основній групі та 3,82 в групі порівняння). Застосування в ранньому періоді опікової хвороби препаратів ендотеліотропної, антиоксидантної та антипротеолітичної дії дозволило створити умови розвитку ранового процесу, які забезпечили можливість проведення першої аутодермопластики в більш ранні терміни (на 12,85-ту добу порівняно з 17-ю добою в групі порівняння), та зменшити терміни повного остаточного закриття ранових поверхонь до  $24,42 \pm 2,79$  доби, що

в 1,42 рази менше відносно пацієнтів групи порівняння, для якої даний показник складав  $34,79 \pm 4,26$  доби ( $p < 0,05$ ). Аналіз отриманих результатів проведених досліджень визначив, що застосування розробленої схеми трансфузійної терапії при ранньому хірургічному лікуванні пацієнтів з опіками призводить до зменшення загальних інфекційно-запальних ускладнень з 52% до 15% та до зменшення середнього терміну перебування пацієнта в стаціонарі в 1,5 раза: з  $63,73 \pm 5,4$  доби, до  $42,55 \pm 4,64$  доби ( $p < 0,05$ ).

Наукова новизна роботи полягає в тому, що вперше визначено вплив ендотеліальної дисфункції, системного запалення, протеолізу, оксидантного стресу на розвиток ранового процесу у пацієнтів з опіками та вперше обґрунтовані та розроблені схеми трансфузійної терапії при хірургічному лікуванні опікових уражень, що включають застосування препаратів ендотеліотропної, антипротеолітичної та антиоксидантної дії в гострому періоді опікової хвороби. Вперше розроблений спосіб лікування ендотеліальної дисфункції судин при опіковій хворобі з використанням комбінованого препарату ендотеліотропної дії. Доведений вплив розроблених схем трансфузійної терапії на зменшення ендотеліальної дисфункції, протеолітичної активності та на збалансування антиоксидантної системи. Морфологічно та імуногістохімічно доведений вплив розроблених схем трансфузійної терапії при хірургічному лікуванні в ранньому періоді опікової хвороби на активацію процесів неоангіогенезу, регенерації епідермісу та формування епітеліального шару в опікових ранах. Результати проведеного дослідження впроваджені в практику роботи хірургічних та опікових відділень України.

**Ключові слова:** опікова хвороба, опікові рани, дермальні опіки, рановий процес, системне запалення, ендогенна інтоксикація, нейтрофільні гранулоцити, ендотеліальна дисфункція, оксидантний стрес, антиоксидантна система, протеоліз, інгібітор протеїназ, цитокіни, трансфузійна терапія, морфологія опікових ран, імуногістохімічні маркери, VEGF, некректомія, конверсія рани, аутодермопластика, хірургічне лікування опіків.

## ANNOTATION

**Lynnyk O.M.** Transfusion correction of endothelial dysfunction and development of inflammatory response in the surgical treatment of burn wounds. Qualifying scientific work on manuscript rights.

Dissertation for obtaining the scientific degree of Doctor of Philosophy, specialty 222 "Medicine" (22 Health Care), Shupyk National Healthcare University of Ukraine, Kyiv, 2023.

The dissertation provides a theoretical justification and solution to the current problem, which consists in increasing the effectiveness of treatment of burn patients by developing and implementing schemes for transfusion correction of endothelial dysfunction and indicators of inflammation during surgical treatment of burn wounds.

The study included the results of the examination and treatment of 71 patients with burn lesions ranging from 10 to 60% of the total body surface area (TBSA), aged from 24 to 65 years. All patients were divided into two groups - the main group and the comparison group. The main group included 49 patients with thermal burns with TBSA from 10 to 60%, who, in addition to the standard scheme of transfusion therapy and surgical treatment, were treated with endotheliotropic, antiproteolytic and antioxidant drugs. Depending on the additional drug used in transfusion therapy schemes, the patients of the main group were divided into three subgroups. Subgroup 1 included 23 patients who were treated with an endotheliotropic drug – L-carnitine and arginine hydrochloride in the transfusion therapy scheme during surgical treatment, subgroup 2 - 12 patients who were treated with a proteinase inhibitor drug - ulinastatin, and subgroup 3 - 14 patients who were treated with an antioxidant drug - ethylmethylhydroxypyridine succinate. The comparison group included 22 patients who underwent a standard generally accepted scheme of transfusion therapy and surgical treatment without additional drugs.

The results of endotheliotropic, antiproteolytic and antioxidant drugs usage were studied according to the dynamics of changes indicators of endothelial dysfunction, indicators of pro- and anti-inflammatory cytokines, proteolytic activity indicators and cells phagocytic activity in peripheral blood and capillary blood of the thermal injury zone

in patients of each subgroup of the main group and in patients of the comparison group. Morphological and immunohistochemical confirmation was conducted based on markers of angiogenesis activation, epidermization, and epithelialization. Clinical success criteria for surgical treatment included: reduction in the area of excisions and wound closure, the timing of the first autodermoplasty, the timing of complete final wound closure, the number of surgical interventions, the frequency of infectious and inflammatory complications, and the duration of the patient's hospital stay.

It was observed that on the 2nd to 3rd day after burn trauma, there was an increase in the levels of markers of endothelial dysfunction, namely endothelin-1 (ET-1) and homocysteine, in the capillary blood of the wound and peripheral blood. The levels of ET-1 in the blood from the burn wound exceeded those in peripheral blood, indicating a prevalence of local vasoconstriction in the burn area, which significantly affected the development of the wound healing process and the timing of surgical treatment. When studying the dynamics of changes in nitric oxide (NO) indicators in the capillary blood of the burn wound, it was found that in both groups on the 2nd to 3rd day after the burn, the levels of NO metabolites exceeded reference values. However, on the 7th to 8th day, in the capillary blood of the wound in patients from the comparison group, the NO level was  $3.48 \pm 0.2 \mu\text{mol/L}$ , significantly lower than both the initial levels ( $8.68 \pm 0.08 \mu\text{mol/L}$ ) and reference values ( $4.69 \pm 0.42 \mu\text{mol/L}$ ) ( $p < 0.05$ ). This indicated a decrease in NO bioavailability, its inactivation by active oxygen species, insufficient substrate for eNOS, leading to the exacerbation of endothelial dysfunction and a prevalence of vasospasm in the burn wound area.

It was determined that the application of the elaborated transfusion therapy regimens in the early period of burn disease led to a significant reduction in the levels of the vasoconstrictor factor ET-1 in the blood and a significant decrease in homocysteine levels, especially in the capillary blood of the burn wound. This indicated a reduction in cytotoxic effects on the endothelium. The use of the proposed transfusion therapy allowed maintaining NO levels on the 7th to 8th day at twice the level of the comparison group, both through the provision of NO substrate and through the use of S-nitrothiols for NO synthesis.

To assess the inflammatory processes, the dynamics of cytokine changes, such as interleukins (IL-1, IL-2, IL-6, IL-10), and tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ), were determined in peripheral blood. An increase in the levels of pro-inflammatory cytokines IL-1, IL-6, and TNF- $\alpha$  was observed, along with a decrease in the immunostimulatory factor IL-2 relative to the baseline, and an increase in the secretion of the immunosuppressive factor IL-10. In the main group, there was a significant ( $p < 0.05$ ) decrease in the levels of pro-inflammatory cytokines (TNF- $\alpha$  and IL-6) in the blood, while in the comparison group, these levels significantly increased on the 7th to 8th day after burn trauma ( $p < 0.05$ ). The dynamics of the pleiotropic cytokine IL-2, specifically its preservation at levels above  $59.64 \pm 7.56$  on the 13th to 14th day compared to  $49.53 \pm 4.15$  pg/ml in the comparison group, contributed to the conditions for cell proliferation, growth of endothelial cells, and angiogenesis. The dynamics of changes in the levels of pleiotropic cytokines IL-2 and IL-10 contributed to the reduction of endothelial dysfunction manifestations, leading to improved blood supply in the burn wound area and promoting reparative regeneration processes. The dynamics of changes in pro-inflammatory cytokines indicated a reduction in the severity of systemic inflammation processes when the proposed transfusion therapy regimens were applied in the early surgical treatment of burn patients.

To assess the status of the proteolytic-antiproteolytic system, markers of calpains,  $\alpha$ 1-protease inhibitors ( $\alpha$ -1PI), and  $\alpha$ 2-macroglobulins ( $\alpha$ -2MG) in peripheral blood were determined. It was found that on the 2nd to 3rd day after burns, the levels of calpains and  $\alpha$ -1PI were elevated, while the level of  $\alpha$ -2MG was reduced relative to reference values. This indicated decompensation of the protease-inhibitor protease system, enhanced inflammatory processes, and had an adverse impact on wound healing in patients in the acute phase of burn disease. When applying the proposed transfusion therapy regimens, a decrease in the levels of calpains in the blood was observed, particularly in patients in subgroup 1 (from the initial level of  $57.22 \pm 1.86$   $\mu$ Eq/h to  $37.69 \pm 2.08$   $\mu$ Eq/h on the 7th to 8th day and to  $33.24 \pm 2.42$   $\mu$ Eq/h on the 13th to 14th day, compared to the values in the comparison group:  $61.51 \pm 5.49$   $\mu$ Eq/h on the 7th to 8th day and  $60.12 \pm 7.17$   $\mu$ Eq/h on the 13th to 14th day,  $p < 0.001$ ). This reduction in calpains was accompanied by maintaining

higher levels of  $\alpha$ -1PI ( $79.95 \pm 1.93$   $\mu\text{mol/L}$  on the 7th to 8th day and  $74.26 \pm 3.05$   $\mu\text{mol/L}$  on the 13th to 14th day, compared to the respective values in the comparison group:  $72.1 \pm 7.8$   $\mu\text{mol/L}$  on the 7th to 8th day and  $68.0 \pm 4.9$   $\mu\text{mol/L}$  on the 13th to 14th day,  $p < 0.05$ ), and higher levels of  $\alpha$ -2MG (on the 13th to 14th day,  $2.63 \pm 0.2$  g/L compared to  $2.2 \pm 0.4$  in the comparison group,  $p < 0.05$ ). This indicated a reduction in the severity of proteolysis and improvement in the balance of the body's proteolytic-antiproteolytic system, preserving the cytoprotective effects of protease inhibitors.

To assess the status of the pro-oxidant-antioxidant system, the levels of primary products of free radical peroxidation - diene conjugates, secondary products - TBARS (thiobarbituric acid-reactive substances), and the content of the antioxidant enzyme superoxide dismutase in the patients' blood were determined. It was found that on the 2nd to 3rd day after burn trauma, there was a deficit in the antioxidant system, characterized by a decrease in the levels of superoxide dismutase and the development of oxidative stress with an increase in the concentration of lipid peroxidation products in the peripheral blood of patients. When applying the proposed transfusion therapy regimens, a reduction in the levels of lipid peroxidation products was observed, especially in patients in subgroup 3 (diene conjugates decreased from the initial level of  $4.99 \pm 0.37$  c.u. to  $4.03 \pm 0.37$  c.u.,  $p < 0.001$ , and TBARS decreased from  $1.54 \pm 0.16$   $\mu\text{mol/L}$  to  $1.26 \pm 0.08$   $\mu\text{mol/L}$ ,  $p < 0.01$ ). There was also an increase in the levels of superoxide dismutase from  $0.15 \pm 0.03$  c.u./mg to  $0.26 \pm 0.04$  c.u./mg ( $p = 0.035$ ) on the 13th to 14th day, indicating an improvement in the balance of the pro-oxidant-antioxidant system, enhancing its ability to neutralize products of lipid peroxidation, and reducing pathological effects associated with oxidative stress.

With the aim of determining the pathomorphological changes in the wound healing process in the areas of thermal injury when using the proposed transfusion therapy regimens, a histopathological and immunohistochemical study was conducted on punch biopsy materials from burn wounds on the 2nd to 3rd, 7th to 8th, and 13th to 14th day after burn trauma, with a focus on the dynamics of endothelial growth factor (VEGF), the connective tissue marker vimentin, the angiogenesis marker PECAM-1/CD31, and the general epithelial marker pan-cytokeratin (PanCK, AE1/AE3). It was found that when

applying the proposed transfusion therapy scheme, tissue samples from the burn wound area in patients from the main group showed a reduction in degenerative processes in all layers of the skin as early as the 7th to 8th day after burn trauma. Marked neo-angiogenesis processes were observed (CD31-positive endothelial cells at  $21.0\pm 2.3\%$ , VEGF-positive cells at  $15.4\%$ ), proliferation of connective tissue in various layers of the skin (vimentin-positive cells up to  $55\%$ ), and activation of the processes of epidermization and epithelialization of the burn wound.

The results of surgical treatment indicated that the application of the proposed transfusion therapy regimens in patients with burns led to a reduction in the conversion area of burn wounds, which was evident in the decreased area of necrotic tissue removal ( $5.84\pm 2.71\%$  of total body surface area in the main group compared to  $8.07\pm 3.98\%$  in the comparison group), a decrease in the volume of wound closure with split-thickness autodermotransplants ( $3.48\pm 1.52\%$  of total body surface area in the main group compared to  $4.08\pm 2.06\%$  in the comparison group), and a reduction in the overall number of surgical interventions (2.98 in the main group and 3.82 in the comparison group). The use of endotheliotropic, antioxidant, and antiproteolytic drugs in the early stage of burn disease created conditions for the development of the wound healing process, allowing for the possibility of performing the first autodermoplasty at earlier intervals (on the 12.85th day compared to the 17th day in the comparison group) and reducing the time to complete wound closure to  $24.42\pm 2.79$  days, which is 1.42 times less compared to the patients in the comparison group, for whom this indicator was  $34.79\pm 4.26$  days ( $p<0.05$ ). An analysis of the results of the conducted research determined that the application of the developed transfusion therapy scheme in early surgical treatment of burn patients leads to a reduction in overall infectious and inflammatory complications from  $52\%$  to  $15\%$  and a decrease in the average length of patient hospitalization by 1.5 times, from  $63.73\pm 5.4$  days to  $42.55\pm 4.64$  days ( $p<0.05$ ).

The scientific novelty of this work lies in its groundbreaking approach to understanding the impact of endothelial dysfunction, systemic inflammation, proteolysis, and oxidative stress on the wound healing process in burn patients. This research has developed and justified transfusion therapy schemes for the surgical treatment of burn



injuries, which involve the use of drugs with endotheliotropic, anti-proteolytic, and antioxidant properties during the acute phase of burn disease. A novel method for treating vascular endothelial dysfunction in burn patients using a combined endotheliotropic drug has been introduced. The study has demonstrated the tangible effects of these transfusion therapy schemes in reducing endothelial dysfunction, proteolytic activity, and rebalancing the antioxidant system. Additionally, it has provided morphological and immunohistochemical evidence of the impact of these schemes in the early-stage surgical treatment of burn patients, including the activation of neoangiogenesis, epidermal regeneration, and the formation of the epithelial layer in burn wounds. Importantly, the results of this research have been successfully incorporated into the clinical practices of surgical and burn units in Ukraine.

**Keywords:** burn disease, burn wounds, dermal burns, wound healing process, systemic inflammation, endogenous intoxication, neutrophil granulocytes, endothelial dysfunction, oxidative stress, antioxidant system, proteolysis, protease inhibitor, cytokines, transfusion therapy, burn wound morphology, immunohistochemical markers, VEGF, necrectomy, wound conversion, autodermoplasty, burn treatment.

## СПИСОК ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Козинець Г.П., Осадча О. І., Линник О. М., Шматова О. О. Вплив препаратів ендотеліотропної дії на показники ранового процесу у хворих з опіками. *Modern Medical Technology*. 2018;4(39):14-18.

<https://zmapo-journal.com/downloads/archive/2018-4.pdf>

2. Козинець Г. П., Осадча О. І., Коваленко О. М., Линник О. М. Вплив ранового процесу на формування системної запальної відповіді та раннього сепсису у хворих з опіками в гострому періоді опікової хвороби. *Modern Medical Technology*. 2019 Aug;2(41)part 3:13-20.

<https://zmapo-journal.com/index.php/journal/issue/view/4/2-41-2019-3-pdf>

3. Линник О.М., Осадча О.І., Козинець Г.П., Янчій І.Р., Шматова О.О., Боярська Г.М. Особливості формування імунної відповіді на термічну травму. *Fiziol. Zh.* 2021; 67(6): 32-39

DOI: 10.15407/fz67.06.032

[https://fz.kiev.ua/journals/2021\\_V.67/6/2021-6-32-39.pdf](https://fz.kiev.ua/journals/2021_V.67/6/2021-6-32-39.pdf)

4. Линник О.М., Козинець Г.П., Осадча О.І. Результати застосування препарату інгібітора протеаз у пацієнтів в гострому періоді опікової хвороби/ *Modern Medical Technology*. 2022 Mar;1(52):56-61.

DOI: 10.34287/MMT.1(52).2022.10

<https://zmapo-journal.com/index.php/journal/article/view/180/177>

5. Козинець Г.П., Осадча О.І., Линник О.М., Жернов О.А. Особливості формування системної запальної відповіді у пацієнтів у гострий період опікової хвороби. *Український медичний часопис*. 2022 May;3(149):61-65.

DOI: 10.32471/umj.1680-3051.149.229080

<https://api.umj.com.ua/wp/wp-content/uploads/2022/05/5112.pdf>

6. Коваленко О.М., Осадча О.І., Коваленко А.О., Гриша А.С., Линник О.М., Белінська Н.Г. Особливості лікування сепсису у хворих з опіковою хворобою. *Perioperaciina Medicina*. 2020 June;3(1):14-20.

DOI: 10.31636/prmd.v3i1.3

<https://perioperative.org.ua/index.php/prtmdc/article/view/39/38>

7. Линник О.М., Козинець Г.П. Застосування етилметилгідроксипіридину сукцинату у пацієнтів з опіками. The Ukrainian Journal of Clinical Surgery. 2023 March/April; 90(2):29-33

DOI:10.26779/2786-832X.2023.2.29

<https://hirurgiya.com.ua/index.php/journal/article/view/1090/1069>

8. Патент України UA 137777U від 11.11.2019р., бюл.№21. Спосіб лікування ендотеліальної дисфункції судин при опіковій хворобі з використанням комбінованого амінокислотно-антиоксидантного препарату ендотеліотропної дії Тіворелю. Козинець Г.П., Осадча О.І., Линник О.М. ДУ «Інститут гематології та трансфузіології НАМН України»

<https://base.uipv.org/searchINV/search.php?action=viewdetails&IdClaim=262968>

9. Осадча О.І., Линник О.М., Боярська Г.М. Визначення ефективності застосування комбінованого амінокислотно-антиоксидантного препарату для оптимізації місцевих та загальних реакцій неспецифічної резистентності у хворих з опіками. Матеріали XVII міжнародної конференції «Клініко-технологічні виклики в етапній та реконструктивній хірургії. Вогнепальні та побутові рани, електрозварювання та з'єднання живих тканин, діабетична стопа» Київ, 30 листопада – 2 грудня 2017р. с.28-29.

10. Дядик О.О., Козлова К.С., Линник О.М. Вплив комбінованого амінокислотно-антиоксидантного препарату ендотеліотропної дії на імуногістохімічні показники біоптатів опікових ран. Матеріали міжнародної науково-практичної конференції «Сучасна патоморфологічна діагностика в клінічній практиці лікаря» Вінниця, 10-11 квітня 2019 р. с. 63-65.

11. Heorhii Kozynets, Oksana Osadcha, Oleksandra Lynnyk. The effects of the amino acid – antioxidant drug on the immunological parameters of the inflammatory process and the violation of protein metabolism in patients with burn disease. 29th Conference of the European Wound Management Association, EWMA 2019, Gothenburg, Sweden 5-7 June 2019. p.91.

<https://ewma.conference2web.com/#resources/the-effect-of-the-amino-acid-antioxidant-drug-on-the-immunological-parameters-of-the-inflammatory-process-and-the-violation-of-protein-metabolism-in-patients-with-burn-disease>

<https://distribute.m->

[anage.com/from.storage?image=khgrTwjty1PCfh3vdu8TqZ1XuvcpPyLFEyL3oar60m1lJh7LE8nE5xckJJ8XGMuP0](https://distribute.m-anage.com/from.storage?image=khgrTwjty1PCfh3vdu8TqZ1XuvcpPyLFEyL3oar60m1lJh7LE8nE5xckJJ8XGMuP0)

12. Козинець Г.П., Осадча О.І., Линник О.М. Ефективність застосування інгібітора протеаз у пацієнтів в гострому періоді опікової хвороби. Матеріали XIX Науково-практичної конференції з міжнародною участю «Клініко-технологічні виклики в етапній та реконструктивній хірургії. Вогнепальні та побутові рани, електрозварювання та з'єднання живих тканин, діабетична стопа» Київ, 28-29 листопада 2019. с.13-14.

<https://wounds.org.ua/wp-content/uploads/2020/02/ТЕЗИ.pdf>

13. Осадча О.І., Козинець Г.П., Линник О.М., Боярська Г.М., Коваленко О.М. Оксид азоту як фактор регуляції ранового процесу при термічній травмі. Матеріали XIX Науково-практичної конференції з міжнародною участю «Клініко-технологічні виклики в етапній та реконструктивній хірургії. Вогнепальні та побутові рани, електрозварювання та з'єднання живих тканин, діабетична стопа» Київ, 28-29 листопада 2019. с.31-32.

<https://wounds.org.ua/wp-content/uploads/2020/02/ТЕЗИ.pdf>

14. Коваленко О.М., Коваленко А.О., Осадча О.І., Линник О.М. Сучасні підходи до лікування поверхневих дермальних опіків. «Інфузія & Хіміотерапія» 3.1–2020. Матеріали IV Міжнародного конгресу з інфузійної терапії, Київ, 12-13 жовтня 2020 р. с. 40-41. DOI: 10.32902/2663-0338-2020-3.1-33 <https://infusion-chemotherapy.com/index.php/journal/article/view/56/52>

15. Коваленко О.М., Осадча О.І., Коваленко А.О., Гриша А.С., Линник О.М., Белінська Н.Г. Інфузійна терапія при опіковому сепсисі. «Інфузія & Хіміотерапія» 3.1–2020. Матеріали IV Міжнародного конгресу з інфузійної терапії, Київ, 12-13 жовтня 2020 р. с. 42-43. DOI: 10.32902/2663-0338-2020-3.1-34 <https://infusion-chemotherapy.com/index.php/journal/article/view/57/53>

16. Oleksandra Lynnyk, Heorgii Kozynets, Oksana Osadcha, Olha Kovalenko. The effect of the arginine-carnitine drug usage on immunological parameters and indicators of endothelial dysfunction in patients with burns. P.017. Eur. Burn J. 2022, 3. p.685.

DOI:10.26226/m.62df9e84b55c6b936e899396

[https://mdpi-res.com/d\\_attachment/ejb/ejb-03-00046/article\\_deploy/ejb-03-00046-v2.pdf?version=1670056473](https://mdpi-res.com/d_attachment/ejb/ejb-03-00046/article_deploy/ejb-03-00046-v2.pdf?version=1670056473)

17. Olga Kovalenko, Anton Kovalenko, Oleksandra Lynnyk, Natali Belinska, Andrew Grisha. Unintentional perioperative hypothermy in the burned. P.112. Eur. Burn J. 2022, 3. p.748-749.

DOI:10.26226/m.62df9e84b55c6b936e899408

[https://mdpi-res.com/d\\_attachment/ejb/ejb-03-00046/article\\_deploy/ejb-03-00046-v2.pdf?version=1670056473](https://mdpi-res.com/d_attachment/ejb/ejb-03-00046/article_deploy/ejb-03-00046-v2.pdf?version=1670056473)

## ЗМІСТ

<b>АНОТАЦІЯ.....</b>	<b>2</b>
<b>ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ .....</b>	<b>20</b>
<b>ВСТУП.....</b>	<b>22</b>
<b>РОЗДІЛ 1 СУЧАСНІ АСПЕКТИ ПАТОГЕНЕЗУ, ПЕРЕБІГУ ТА ЛІКУВАННЯ ОПІКОВОЇ ТРАВМИ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ).....</b>	<b>31</b>
1.1. ПРОБЛЕМА ОПІКОВОЇ ТРАВМИ В УКРАЇНІ ТА СВІТІ.....	31
1.2. ОСНОВНІ ПАТОГЕНЕТИЧНІ МЕХАНІЗМИ РОЗВИТКУ ОПІКОВОЇ ХВОРОБИ .....	33
1.3. ОСОБЛИВОСТІ РАНОВОГО ПРОЦЕСУ ОПІКОВОЇ ТРАВМИ. ....	43
1.4. ОСОБЛИВОСТІ ТРАНСФУЗІЙНОЇ ТЕРАПІЇ ОПІКІВ .....	47
1.5. ОСНОВНІ ПРИНЦИПИ ХІРУРГІЧНОГО ЛІКУВАННЯ ОПІКІВ.....	51
<b>РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....</b>	<b>57</b>
2.1. ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ОБСТЕЖЕНИХ ПАЦІЄНТІВ З ОПІКОВОЮ ТРАВМОЮ ....	57
2.2. ПРОВЕДЕННЯ РАННІХ ХІРУРГІЧНИХ ВТРУЧАНЬ ТА КОРЕКЦІЯ ГОМЕОСТАЗУ .....	65
2.3. МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	67
<b>РОЗДІЛ 3 ЗМІНИ ПОКАЗНИКІВ ЕНДОТЕЛІАЛЬНОЇ ДИСФУНКЦІЇ, ЗАПАЛЕННЯ, ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ У ПАЦІЄНТІВ В РАННЬОМУ ПЕРІОДІ ОПІКОВОЇ ХВОРОБИ ПРИ КОМПЛЕКСНОМУ ЛІКУВАННІ.....</b>	<b>71</b>
<b>3.1. РЕЗУЛЬТАТИ ЗАСТОСУВАННЯ КОМБІНОВАНОГО ПРЕПАРАТУ ЛЕВОКАРНІТИНУ ТА АРГІНІНУ ГІДРОХЛОРИДУ .....</b>	<b>71</b>
3.1.1 ЗМІНИ ПОКАЗНИКІВ ЕНДОТЕЛІАЛЬНОЇ ДИСФУНКЦІЇ .....	71
3.1.2 ЗМІНИ ПОКАЗНИКІВ ЦИТОКІНІВ .....	82
3.1.3 ЗМІНИ ПОКАЗНИКІВ ПРОТЕОЛІЗУ .....	89
3.1.4 ЗМІНИ ПОКАЗНИКІВ ФАГОЦИТАРНОЇ АКТИВНОСТІ НЕЙТРОФІЛЬНИХ ГРАНУЛОЦИТІВ ТА МАКРОФАГІВ .....	92
<b>3.2. РЕЗУЛЬТАТИ ЗАСТОСУВАННЯ ПРЕПАРАТУ УЛІНАСТАТИНУ.....</b>	<b>96</b>
3.2.1 ЗМІНИ ПОКАЗНИКІВ ПРОТЕОЛІЗУ ТА ЦИТОКІНІВ .....	98
3.2.2 ЗМІНИ ПОКАЗНИКІВ ЕНДОТЕЛІАЛЬНОЇ ДИСФУНКЦІЇ .....	105
3.2.3 ЗМІНИ ПОКАЗНИКІВ ФАГОЦИТАРНОЇ АКТИВНОСТІ НЕЙТРОФІЛЬНИХ ГРАНУЛОЦИТІВ ТА МАКРОФАГІВ .....	109
<b>3.3. РЕЗУЛЬТАТИ ЗАСТОСУВАННЯ ПРЕПАРАТУ ЕТИЛМЕТИЛГІДРОКСИПРИДИНУ СУКЦИНАТУ .....</b>	<b>113</b>
3.3.1 ЗМІНИ ПОКАЗНИКІВ ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ.....	114
3.3.2 ЗМІНИ ПОКАЗНИКІВ ЕНДОТЕЛІАЛЬНОЇ ДИСФУНКЦІЇ .....	116
3.3.3 ЗМІНИ ПОКАЗНИКІВ ЦИТОКІНІВ .....	119
3.3.4 ЗМІНИ ПОКАЗНИКІВ ПРОТЕОЛІЗУ .....	125
<b>РОЗДІЛ 4 РЕЗУЛЬТАТИ МОРФОЛОГІЧНОГО ТА ІМУНОГІСТОХІМІЧНОГО ДОСЛІДЖЕННЯ У ПАЦІЄНТІВ В РАННЬОМУ ПЕРІОДІ ОПІКОВОЇ ХВОРОБИ ПРИ КОМПЛЕКСНОМУ ЛІКУВАННІ.....</b>	<b>133</b>

<b>РОЗДІЛ 5 ВПЛИВ ТРАНСФУЗІЙНОЇ ТЕРАПІЇ НА РЕЗУЛЬТАТИ ХІРУРГІЧНОГО ЛІКУВАННЯ РАН У ПАЦІЄНТІВ З ОПІКАМИ.....</b>	<b>177</b>
<b>РОЗДІЛ 6 АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ.....</b>	<b>188</b>
<b>ВИСНОВКИ.....</b>	<b>204</b>
<b>СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....</b>	<b>207</b>
<b>ДОДАТКИ.....</b>	<b>238</b>
<b>Додаток А.....</b>	<b>238</b>
<b>Додаток Б.....</b>	<b>241</b>
<b>Додаток В.....</b>	<b>242</b>
<b>Додаток Г.....</b>	<b>247</b>

**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ**

α-1ІП	– альфа 1 інгібітор протеаз
α-2МГ	– альфа 2 макроглобулін
АДП	– аутодермопластика
АФК	– активні форми кисню
ГДН	– гостра дихальна недостатність
ГП	– група порівняння
ГЦ	– гомоцистеїн
ЕД	– ендотеліальна дисфункція
ЕТ	– ендотелін
ІГХД	– імуногістохімічне дослідження
ІТУ	– індекс тяжкості ураження
МДА	– малоновий діальдегід
МКА	– моноклональні антитіла
НГ	– нейтрофільні гранулоцити
НСТ-тест	– тест відновлення нітросинього тетразолію
ОГ	– основна група
ОДШ	– опік дихальних шляхів
ОТ	– опікова травма
ОХ	– опікова хвороба
ПОЛ	– перекисне окислення ліпідів
ТБК	– тіобарбітурова кислота
ЦВТ	– центральний венозний тиск
DAMP	– дистресасоційований молекулярний комплекс
eNOS	– ендотеліальна синтаза оксиду азоту
MIVF	– підтримуюча внутрішньовенна рідина
NF-κB	– нуклеарний фактор κB
NO	– оксид азоту
PAMP	– патогенасоційований молекулярний комплекс



PanCK	– панцитокератин
PDGF	– тромбоцитарний фактор росту
PECAM	– молекула адгезії ендотеліальних клітин та тромбоцитів
SIRS	– синдром системної запальної відповіді
TBSA	– загальна площа опікового ураження
TLRs	– толл-подібні рецептори
TNF- $\alpha$	– туморонекротичний фактор альфа
IL	– інтерлейкін
VEGF	– фактор росту ендотелію судин

## ВСТУП

**Обґрунтування вибору теми дослідження.** Опікове ураження становить значну медичну і соціальну проблему через свою розповсюдженість внаслідок травматизму, природніх катастроф, воєнних подій та впливає на життя мільйонів людей у всьому світі. За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я щорічно у світі відбувається 11 мільйонів опіків усіх типів, 180 000 з яких є летальними [1]. Незважаючи на те, що загалом у всьому світі спостерігається тенденція до зниження захворюваності на опіки, тяжкості опіків, тривалості перебування в лікарні та рівня смертності [2], опікова травма (ОТ) залишається глобальною проблемою охорони здоров'я. Відбулися значні зміни у світовому розподілі опікових травм у 21 столітті порівняно з минулими століттями, і на даний час відомо, що приблизно 90% опіків і 95% смертельних випадків трапляються в країнах із низьким і середнім рівнем доходу, в регіонах, де загалом бракує необхідної інфраструктури для зниження частоти та тяжкості опіків [2, 3]. В Україні за даними МОЗ України, летальність від опікового травматизму становить близько 1,5-2% від загальної кількості пацієнтів, які потрапляють до лікарні з опіками. За даними Global Burden of Disease, світова летальність від опікового травматизму складає 0,13% від загальної кількості смертей - це середній показник летальності, який може відрізнятись в залежності від регіону світу та доступності медичної допомоги. Військові опіки часто є більш руйнівними та важчими, ніж опіки, отримані в цивільних умовах, оскільки більшість з них виникає внаслідок підриву вибухового пристрою, що призводить до комбінованої травми, збільшення інгаляційних травм та більших площ повношарових опіків [4].

Несмертельні опіки є основною причиною захворюваності, включаючи тривалу госпіталізацію, спотворення та інвалідність через хронічні рани, контрактури або ампутації. ОТ є і залишається серйозною проблемою здоров'я в Україні та у світі в цілому, і вимагає відповідних заходів, що спрямовані на попередження виникнення опіків, покращення медичної допомоги постраждалим від опіків та зменшення загальної втрати здоров'я від цього виду травматизму.

Провідними причинами смертності, пов'язаної з опіками, є підвищення ризику розвитку сепсису при опіковій травмі, його прогресування до септичного шоку та поліорганної дисфункції [5]. Важка опікова травма призводить як до місцевих, так і до загальних порушень у системі обміну речовин. Наявність в опіковій рані некротичних тканин слугує пусковим фактором синдрому системної запальної відповіді з перших годин після травми [6]. У зоні опіку медіатори запалення збільшують гідростатичний тиск судин, що призводить до розширення судин і загального набряку. Термічне пошкодження спричиняє вивільнення вазоактивних медіаторів, змінює реорганізацію та скорочення актину ендотеліальних клітин і індукує загальну гіперпроникність судин, спричиняє порушення цілісності ендотеліального бар'єру [7], відбувається розвиток ендотеліальної дисфункції та підвищення мікросудинної проникності, що призводить до утворення набряку.

Також до патофізіологічних механізмів, що лежать в основі розвитку набряку в опікових пацієнтів, відноситься активація фагоцитуючих клітин, утворення активних форм кисню (АФК), що призводить до перекисного окислення ліпідів. Існує тісний зв'язок між інтенсивністю перекисного окислення ліпідів і розвитком місцевих і системних ускладнень при опіках [8], у тому числі підвищення проникності судин [9] та ендотеліальної дисфункції. Внутрішньосудинні втрати рідини потребують постійного відновлення її об'єму для запобігання гіперперфузії та ішемії органів. Важкі термічні ушкодження на великій площі шкіри (>20 % площі поверхні тіла) вимагають інфузії рідини для стабілізації та підтримки перфузії органів за допомогою найменшої кількості необхідної рідини [10, 11, 12]. Без проведення реанімаційних заходів опіки понад 15–20% поверхні тіла можуть призвести до гіповолемічного шоку, дисфункції органів і зрештою до смерті потерпілого [13]. Незважаючи на широко відомі дослідження складу та обсягів ресусцитації [11], мало відомо про її вплив на загоєння опікових ран.

За останні роки було досягнуто прогресу в загальному розумінні опікової травми. Фундаментальні наукові дослідження поступово почали розкривати складні механізми, задіяні в системній реакції на опік, спостерігаються тенденції в

дослідженні окремих ланок патогенезу, лабораторної діагностики, методів корекції ендотеліальної дисфункції та їх вплив на перебіг ранового процесу у постраждалих з опіками [14].

Відомо, що хірургічне лікування опікових ран у вигляді видалення девіталізованих тканин в ранні терміни після опікової травми має певний обмежуючий ефект на медіатори запалення в системних запальних реакціях, спричинених великими опіками. Час і ступінь видалення некротизованих тканини є фактором, що найбільше впливає на модулювання імунних медіаторів [15]. Незважаючи на те, що раннє хірургічне втручання має важливе значення для зменшення надмірного запалення та сприяння кращому загоєнню ран, інші дослідження повідомляють про використання лікарських засобів для регуляції запалення при опіках [16], проте не запропоновані схеми застосування конкретних препаратів, які можуть покращити перебіг ранового процесу у пацієнтів з опіками.

Окремо досліджується вплив ендотеліотропних препаратів, інгібіторів протеаз [17, 18] на розвиток реакцій ранового запалення, але як саме змінюється запальний процес, а з ним і динаміка цитокінів при використанні в схемах інфузійної терапії ендотеліотропних препаратів, а саме аргініну гідрохлориду в поєднанні з левокарнітином, препарату інгібітора протеїнази (улінастатину), препарату етилметилгідроксипіридину сукцинату в гострому періоді опікової хвороби вивчено недостатньо. Вивчення цих питань дозволить суттєво підвищити ефективність лікування пацієнтів з опіковими ураженнями. До пріоритетних напрямків досліджень відносять визначення імунологічних, біохімічних, морфологічних змін одночасно і в рані і в організмі в цілому. Визначення взаємопов'язаних дій медіаторів та кінцевих точок їх докладання в патогенезі опікової хвороби дозволить розробити ефективні схеми лікування, потенційною мішенню яких є каскад реакцій запалення [19].

Таким чином, проблема пошуку ефективних методів лікування пацієнтів з опіковими ураженнями є та залишається актуальною. Первинне лікування опіків у формі активної рідинної ресусцитації, раннього видалення нежиттєздатних тканин та трансплантації у поєднанні з терапією, спрямованою на контроль запалення та

корекцію ендотеліальної дисфункції, не тільки рятує життя, але дає можливість попередити виникнення ускладнень і покращити деякі віддалені результати у постраждалих від опіків.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами.**

Дисертаційна робота є фрагментом науково-дослідної роботи Інституту гематології та трансфузіології НАМН України «Розробка та патогенетичне обґрунтування програми трансфузійного забезпечення лікування хворих з дермальними і глибокими опіками», УДК 616.717.001.17, номер державної реєстрації 0118U001034 (2018-2020 рр.).

Дисертаційна робота виконувалась в рамках науково-дослідницької роботи кафедри комбустіології та пластичної хірургії НУОЗ України імені П.Л.Шупика «Нові методи лікування опіків, ран та деформацій різних локалізацій» номер державної реєстрації: 0119U101148, коди тематичних рубрик НТІ: 76.29.39, Індекс УДК: 616-089; 617.5 (2019-2023рр). Одне з завдань: Розробити нові технологічні засоби застосування ендотеліотропних препаратів та інгібіторів протеїназ як передопераційний етап лікування.

Дисертаційна робота виконувалась в рамках науково-дослідницької роботи кафедри комбустіології та пластичної хірургії НУОЗ України імені П.Л.Шупика «Розробити та обґрунтувати програму трансфузійного забезпечення проведення ранніх хірургічних втручань та програми профілактики і хірургічного лікування великих рубцевих післяопікових трансформацій», номер державної реєстрації: 0121U114713 (2022-2024рр). Одне із завдань: Визначити особливості клінічного перебігу та динаміку змін показників ранового запалення у пацієнтів з дермальними поверхневими та глибокими опіками в ранньому періоді опікової хвороби.

Для спільного проведення наукових клінічних, морфологічних, експериментальних досліджень (в т.ч. для виконання фрагменту даної дисертаційної роботи) заключено угоду про наукову співпрацю між кафедрою

комбустиології та пластичної хірургії та кафедрою патологічної анатомії та судової медицини НУОЗ України імені П.Л.Шупика.

**Мета дослідження.** Підвищити ефективність лікування пацієнтів з опіками шляхом розробки та впровадження схем трансфузійної корекції ендотеліальної дисфункції та показників запалення при хірургічному лікуванні опікових ран.

Для досягнення поставленої мети поставлені наступні **завдання:**

1. Визначити зміни показників ендотеліальної дисфункції, запалення, протеолізу, перекисного окислення в крові в пацієнтів при застосуванні загальноприйнятої схеми трансфузійного лікування в ранньому періоді опікової хвороби, та їх вплив на розвиток ранового процесу та строки проведення хірургічного лікування.

2. Обґрунтувати та розробити схеми трансфузійної терапії для забезпечення корекції показників ендотеліальної дисфункції, системного запалення, оксидантного стресу та протеолітичної активності у пацієнтів в гострому періоді опікової хвороби.

3. Визначити вплив розроблених схем трансфузійної терапії на показники ендотеліальної дисфункції та системного запалення в крові у пацієнтів з опіками.

4. Визначити вплив розроблених схем трансфузійної терапії на показники системи протеолізу та оксидантного стресу в крові у пацієнтів з опіками.

5. Визначити морфологічні та імуногістохімічні особливості перебігу ранового процесу при застосуванні розроблених схем трансфузійної терапії у пацієнтів з опіками.

6. Провести порівняльний аналіз та визначити клінічну ефективність застосування запропонованих схем трансфузійної терапії при хірургічному лікуванні пацієнтів з опіковими ранами.

**Об'єкт дослідження:** глибокі та поверхневі опіки ІА, ІБ, ІІІ ступенів

**Предмет дослідження:** гістоструктура та морфологія опікових ран, біохімічні показники ендотеліальної дисфункції, оксидантного стресу та протеолізу, імунологічні показники ранового запалення.

**Методи дослідження:** загальноклінічні для оцінки загального стану пацієнту; для контролю за перебігом ранового процесу, за строками перших аутодермопластик; строками повного закриття ран; ступінь приживлення аутодермотрансплантатів; ускладнення опікової хвороби. Імунологічні та імуноферментні для визначення рівнів циркулюючих імунних комплексів, про- та протизапальних цитокінів та визначення показників ендотеліальної дисфункції, протеолізу, оксидантної активності. Мікроскопічні для проведення НСТ-тестів (спонтанного та індукованого) для визначення фагоцитарної активності нейтрофільних гранулоцитів та моноцитів. Імуногістохімічні для визначення показників віментину, VEGF, CD31 та панцитокератину. Статистичні - для статистичної оцінки отриманих результатів.

### **Наукова новизна отриманих результатів**

1. Вперше визначено вплив ендотеліальної дисфункції, системного запалення, протеолізу, оксидантного стресу на розвиток ранового процесу у пацієнтів з опіками.
2. Вперше обґрунтовані та розроблені схеми трансфузійної терапії при хірургічному лікуванні опікових уражень, які включають застосування препаратів ендотеліотропної, антипротеолітичної та антиоксидантної дії в гострому періоді опікової хвороби.
3. Вперше розроблений спосіб лікування ендотеліальної дисфункції судин при опіковій хворобі з використанням комбінованого препарату ендотеліотропної дії (аргініну гідрохлориду та левокарнітину), патент України на корисну модель №UA13777U.
4. Вперше визначено, що застосування розроблених схем трансфузійної терапії сприяє зменшенню ендотеліальної дисфункції за рахунок зниження рівнів ендотеліну-1 та гомоцистеїну в крові, протеолітичної активності за рахунок

зниження рівнів кальпаїнів та збереження рівнів  $\alpha 2$ -МГ та збалансування антиоксидантної системи за рахунок підвищення активності супероксиддисмутази до референтних значень.

5. Вперше морфологічно та імуногістохімічно доведений вплив розроблених схем трансфузійної терапії при хірургічному лікуванні пацієнтів в ранньому періоді опікової хвороби на активацію процесів неоангіогенезу, регенерації епідермісу та формування епітеліального шару в опікових ранах.

### **Практичне значення отриманих результатів**

Розроблені та впроваджені схеми із застосуванням препаратів ендотеліотропної, антипротеолітичної та антиоксидантної дії, що дозволяло скоригувати показники ендотеліальної дисфункції, протеолізу, оксидантного стресу та системного запалення для забезпечення оптимального перебігу ранового процесу при хірургічному лікуванні пацієнтів з опіками.

Впровадження схем трансфузійної терапії при хірургічному лікуванні опікових уражень призводило до зменшення обсягів висічення некротичних тканин в 1,38 рази, термінів проведення першої аутодермопластики на 4,15 доби, зменшення середньої площі АДП на 14,7%, скорочення термінів повного закриття ранових поверхонь на 10,37 доби, зменшення середньої кількості хірургічних втручань на 22% (2,98 в ОГ порівняно з 3,82 в ГП).

Застосування розроблених схем трансфузійної терапії забезпечувало зменшення кількості загальних інфекційних ускладнень з 52% до 15% та зменшення середньої тривалості перебування пацієнта в стаціонарі на 33,23% (до  $42,55 \pm 4,64$  доби порівняно з  $63,73 \pm 5,4$  доби в ГП).

Матеріали дисертаційної роботи впроваджено в практику лікування пацієнтів з опіками в центрі термічної травми та пластичної хірургії КНП «Київська міська клінічна лікарня №2», центрі термічної травми та пластичної хірургії Вінницької обласної лікарні імені М.І.Пирогова, опіковому відділенні КНП "Кременчуцька міська лікарня планового лікування", відділенні термічної травми та реконструктивної хірургії КНП «Запорізька міська лікарня екстреної та швидкої



медичної допомоги», опіковому відділенні, реконструктивно-відновної хірургії та хірургії китиці МО Луцької міської територіальної громади.

**Особистий внесок здобувача.** Безпосередньо авторкою був здійснений інформаційний пошук, проведений аналіз даних літератури за темою дисертації, відпрацьовані методики збору біологічних матеріалів, проведені загальноклінічні обстеження та виконані хірургічні втручання у постраждалих від опіків, здійснений аналіз і систематизація отриманих результатів, статистична обробка даних, підготовка результатів наукової роботи до друку. Разом з науковим керівником дисертаційної роботи д.мед.н., професором Г.П.Козинцем сформульовані напрямки, мета та завдання дослідження, узагальнення отриманих результатів та висновки роботи. Методична та консультативна допомога надана старшою науковою співробітницею ДУ «Інститут гематології та трансфузіології НАМН України» О.І. Осадчою. Консультативна допомога надана професоркою кафедри хірургії №1 НМУ імені О.О.Богомольця О.М.Коваленко. Проведення морфологічних досліджень виконано на кафедрі патологічної анатомії та судової медицини НУОЗ України імені П.Л.Шупика та з консультативною допомогою завідувачки кафедри, д.мед.н, професорки О.О. Дядик, за що авторка висловлює свою подяку.

Співавторами наукових праць є науковий керівник та науковці, спільно з якими проведені дослідження. У наукових працях, опублікованих у співавторстві, дисертанту належить фактичний матеріал і основний творчий доробок.

**Апробація матеріалів дисертації.** Основні положення роботи викладено та обговорено на науково-практичних конференціях різного рівня:

- XVII - XXI науково-практичні конференції з міжнародною участю «Клініко-технологічні виклики в етапній та реконструктивній хірургії, вогнепальні та побутові поранення, електрозварювання та з'єднання живих тканин, діабетична стопа», Київ, листопад 2018 р., листопад 2019р., листопад 2020р., листопад 2021р.

- Міжнародна науково-практична конференція «Сучасна патоморфологічна діагностика в клінічній практиці лікаря», Вінниця, квітень 2019 р.
- The 29th Conference of the European Wound Management Association, EWMA, 5-7 June, 2019, Gothenburg, Sweden.
- XI Міжнародний медичний форум. IX Міжнародний медичний конгрес. Симпозіум «Актуальні питання екстреної медицини та медицини катастроф», Київ, вересень 2020р.
- IV Міжнародний конгрес з інфузійної терапії, Київ, жовтень 2020 р.
- 2020 Virtual Conference of the European Wound Management Association, November 2020.
- XXII науково-практична конференція з міжнародною участю «Клініко-технологічні виклики в етапній та реконструктивній хірургії. Вогнепальні та побутові ускладнені рани, опіки, рубцеві трансформації, виразки та нориці, електрозварювання та з'єднання живих тканин», Київ, грудень 2022р.
- EWMA-Journées Cicatrisations, Paris, France, May 2022
- 19th European Burns Association Congress, Turin, Italy, September 2022
- 32-га Міжнародна медична виставка, семінар «Опіки та рани військового часу», Київ, жовтень 2023р.

**Публікації.** За матеріалами дисертаційного дослідження опубліковано 17 наукових робіт, з них 7 статей у наукових фахових виданнях України (в т.ч. 2 у виданні включеному до міжнародної наукометричної бази Scopus), в тезах міжнародних науково-практичних конференцій та конгресів – 9 робіт, зареєстрований 1 патент України на корисну модель.

**Структура та обсяг дисертації.** Дисертаційна робота викладена на 247 сторінках, складається з анотації, списку опублікованих праць, вступу, 6 розділів, загальних висновків, списку використаних джерел та 4 додатків. Обсяг основного тексту дисертації складає 185 сторінок друкованого тексту. Робота включає 33 таблиці та 83 рисунка. Список використаних джерел містить 270 найменувань.

## РОЗДІЛ 1 СУЧАСНІ АСПЕКТИ ПАТОГЕНЕЗУ, ПЕРЕБІГУ ТА ЛІКУВАННЯ ОПІКОВОЇ ТРАВМИ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

### 1.1. Проблема опікової травми в Україні та світі.

Опікові травми впливають на життя значної кількості людей у всьому світі: за різними оцінками, щорічно від 7 до 12 мільйонів (до 33 000 щодня) отримують опіки, що потребують медичної допомоги, призводять до тривалої непрацездатності або призводять до смерті [20]. З міждисциплінарного погляду, для уникнення ускладнень під час лікування опіків важливо звернутися по медичну допомогу якнайшвидше, оскільки без захисту покривної системи у таких пацієнтів збільшується ймовірність виникнення багатьох захворювань і летальних випадків. Пацієнти з опіками втрачають свій основний бар'єр для інфекції – шкіру, і тому ризик інфікування зберігається до тих пір, поки цей бар'єр відсутній [21]. Опіки призводять до довічних фізичних і психологічних наслідків, спричиняючи біль і впливаючи на психічне здоров'я, якість життя, здатність повернутися до роботи та подальшу смертність [22]. Соціальні, інфраструктурні, економічні й культурні аспекти життя ускладнюють загальні проблеми профілактики та лікування опіків [2, 23, 24]. Військові дії та теракти підвищують ризик опікового ураження. Незважаючи на значний прогрес у терапевтичних стратегіях, наприклад, удосконалення реанімаційних заходів, покращення покриття ран, відповідний інфекційний контроль та покращення лікування інгаляційних ушкоджень, опіки залишаються руйнівною травмою, яка вражає майже кожен систему органів і призводить до значної захворюваності та смертності [25].

Для розуміння масштабів проблеми вивчили статистичні дані з різних джерел. У Сполучених Штатах Америки опіки є значною проблемою, оскільки понад 500 000 людей звертаються за медичною допомогою, 40 000 госпіталізацій і 4000 смертей на рік. За оцінками, щорічні витрати на лікування цих опіків перевищують 1 мільярд доларів США, це не включаючи непрямі витрати на інвалідність та реабілітацію. Ці статистичні дані спонукали до багатьох

досліджень, які систематично почали розкривати складні механізми опіку та патофізіологію опікової травми [14].

За даними Центру громадського здоров'я Міністерства охорони здоров'я (МОЗ) України питома вага опіків становила 5,6–10,0% у 2018 році, що займало третє місце серед усіх видів травм мирного часу [26]. За даними Інституту показників і оцінки здоров'я (англ. Institute for Health Metrics and Evaluation, IHME) – незалежної дослідницької організації з питань здоров'я населення, яка знаходиться на базі Медичної школи Університету Вашингтона, – в Україні у 2019 році опіковий травматизм був на 8-ому місці серед усіх причин смертності, тоді як у світі цей показник складав 18-е місце серед усіх причин смертності [27]. За даними IHME в Україні смерть від ураження полум'ям, парою та гарячими субстанціями складала 0,29-0,35% від загальної кількості смертей в 2019 році, що складає 4,16-5,99 на 100 тис. населення. За даними Державної служби статистики в Україні кількість померлих від випадків, спричинених дією диму та полум'я за роками 2019, 2020 та 2021 складала відповідно 1252 (0,22% від загальної кількості померлих), 1133 (0,18%), 1121 (0,28%) [28, 29].

Загальноєвропейський систематичний огляд показав, що в Європі рівень смертності коливається від 1,4% до 18%, річна захворюваність на важкі опіки становить від 0,2 до 2,9/10 000 жителів із тенденцією до зниження з часом [30]. За статистичними даними, середній вік пацієнтів опікових відділень становить 24 роки, а середній розмір опікової рани – 19-20 % від загальної площі поверхні тіла [31]. Більшість зафіксованих випадків опікових травм викликані недбалістю, а решта випадків пов'язані з курінням, зловживанням алкоголем та наркотиками, неконструктивним використанням дозвілля [32]. В розвинених країнах виживаність після важкої опікової травми різко покращилася протягом десятиліть [2], тому сьогодні наголос робиться на відновленні функції, зовнішнього вигляду та впевненості шляхом застосування мультидисциплінарного підходу на всіх етапах лікування [33].

В Україні система надання медичної допомоги хворим з опіками поділяється на 4 етапи: догоспітальний (невідкладна допомога), госпітальний, спеціалізований

та високоспеціалізований та регламентується Наказами МОЗ України №838 від 30.09.2013 року та № 537 від 27.03.2022 «Про організацію надання комбустіологічної допомоги в умовах воєнного стану» [34, 35]. В Наказі №838 затверджена класифікація опікових ран за глибиною ураження: I ступінь – поверхневий опік, з ушкодженням тільки епідермісу, IIa – поверхневий частковий, з ушкодженням папілярного шару дерми, IIб – глибокий частковий, з ушкодженням ретикулярного шару дерми, III – глибокий, з ушкодженням повної товщини шкіри, а також підшкірної жирової клітковини або глибших структур.

## **1.2. Основні патогенетичні механізми розвитку опікової хвороби**

Розвиток опікової хвороби (ОХ) базується на комплексі патогенетичних механізмів, які взаємодіють після отримання опіку. Основні механізми включають: теплове пошкодження тканин, запальну реакцію, ендотеліальну дисфункцію, оксидативний стрес, гіперметаболічний стан, порушення регенерації тканин, водно-електролітні порушення, розвиток інфекції.

Специфічною особливістю опікової травми, що відрізняє її від інших видів травматичних ушкоджень, є те, що при первинному значному ушкодженні шкіри вторинна патологія розвивається практично у всіх органах та системах організму у вигляді ускладнень ОХ [36, 37]. Важка опікова травма призводить як до місцевих, так і до загальних порушень у системі обміну речовин. Ефекти, які проявляються в кожній системі органів, є як результатом опікової травми, так і відповіддю цієї системи органів на неї [38]. Зазвичай опікова травма призводить до дистрибутивного шоку, аномального фізіологічного стану, при якому порушується перфузія тканин і порушуються через значний капілярний витік рідини з внутрішньосудинного в інтерстиціальний простір, що сприяє глибокому набряку тканин і накопиченню рідини [39].

Головним фактором, що спричиняє опік, є вплив високої температури на тканини. Це призводить до коагуляції білків, некрозу клітин та тканин, а також

пошкодження клітинних мембран та структур. Наявність в опіковій рані некротичних тканин слугує пусковим фактором синдрому системної запальної відповіді з перших годин після травми [40]. Ушкодження тканин при опіковій травмі зумовлює значний викид активних речовин та медіаторів запалення – алармінів, також відомих як дистрес-асоційовані молекулярні патерни (англ. Damage-associated molecular pattern – DAMP), до яких відносяться позаклітинні нуклеотиди або протеїни теплового шоку, кристали сечової кислоти, продукти некрозу та апоптозу та інші маркери пошкодження клітин і тканин [41, 42]. Аларміни взаємодіють з клітинами природної резистентності через Toll-подібні рецептори (TLRs) [43, 44], що відносяться до сімейства трансмембранних рецепторних білків, здатних розпізнавати та реагувати на патогенасоційовані молекулярні комплекси (PAMP) та DAMP [45, 46], та активують реакції вродженого імунітету. На клітинному рівні TLR експресовані як на структурних клітинах (епітеліальних, фібробластах, ендотеліальних), так і на імунних клітинах – моноцитах, макрофагах, нейтрофільних гранулоцитах, антигенпрезентуючих дендритних клітинах, природних кілерах, і в меншій мірі на еозинофілах, лімфоцитах [42, 47].

Деякі з численних DAMP, що вивільняються після травми, запускають збірку внутрішньоклітинних мультибілкових комплексів, які називаються інфламмасомами. Активація інфламмасоми спостерігається переважно в макрофагах, про що судять по активації каспази-1 [48]. Активовані каспази дозволяють вивільняти зрілі форми інтерлейкіну-1 $\beta$  та інтерлейкіну-18 і викликають специфічну прозапальну загибель клітин, яка називається піроптозом [49]. Активація запалення в імунних клітинах, ендотеліальних клітинах і тромбоцитах сприяє мікроциркуляторним дисфункціям і відіграє вирішальну роль в ушкодженнях тканин після ішемії та реперфузії [50]. Після розпізнавання індукованого травмою DAMP(s) інфламмасоми різними способами беруть участь у розвитку надмірної системної та органоспецифічної запальної відповіді, сприяючи пошкодженню органів.

Системне запалення має вирішальне значення для загоєння ран, оскільки постачає фактори росту, цитокіни та хемокіни, необхідні для залучення імунних клітин, головним чином нейтрофільних гранулоцитів (НГ), моноцитів і макрофагів, до місця опікової травми. Добре організована імунна відповідь має важливе значення для належного процесу загоєння, в той час як тривала та нерегульована імунна реакція може негативно вплинути на закриття рани та відновлення тканин. Наприклад, гіперактивна імунна система може спричинити пошкодження тканин протеазами та кисневими радикалами, що вивільняються клітинами вродженого імунітету, а також ішемією, спричиненою гіперкоагуляцією [51, 52]. Великий за площею та глибиною опік може проявлятися хронічним стійким запаленням із продукцією надмірної кількості прозапальних медіаторів, що пов'язано з синдромом запальної відповіді, сепсисом і поліорганною недостатністю у пацієнтів [53]. Поріг для виклику системної відповіді оцінюється в 20% або більше загальної площі опікового ураження (TBSA) [38].

Синдром системної запальної відповіді (SIRS) – це стан, при якому імунна система посилено регулюється у відповідь на порушення рівноваги в клітинному середовищі. Критерії SIRS – підвищення частоти серцевих скорочень, підвищення (або зниження) температури тіла, збільшення частоти дихання, а також підвищення рівня лейкоцитів (або їх зниження) [54] – є поширеним проявом після опікової травми, особливо після важких опіків, які викликають системну реакцію. Існує пряма залежність: чим більша глибина ураження і чим більша площа ураженої поверхні, тим сильніша системна реакція організму на опікове ураження [25].

Нуклеарний фактор  $\kappa\text{B}$  (NF- $\kappa\text{B}$ ), білок-активатор транскрипції, активується одразу після важкого опіку і, як вважають, регулює індукцію кількох медіаторів запалення, включаючи туморонекротичний фактор альфа (TNF- $\alpha$ ) а також молекулу міжклітинної адгезії-1 [55]. Секвестровані лейкоцити в уражених тканинах також вважаються одним із основних джерел прозапальних медіаторів, які спричиняють мікросудинне пошкодження. Продукти, що вивільняються в результаті пошкодження тканин, призводять до двофазної реакції [56]. Першою фазою і є SIRS, важливим елементом якої є макрофаги, НГ та продукуювані ними

прозапальні медіатори: простагландин E2, TNF- $\alpha$ , інтерлейкін-6 (IL-6), реактивні проміжні сполуки азоту тощо. TNF- $\alpha$  частково відповідає за індукцію апоптозу різних клітинних елементів [57]. Друга фаза опікової травми супроводжується протизапальним каскадом, так званим синдромом компенсаторної протизапальної відповіді (CARS), яка здійснюється за рахунок ефektorних клітин адаптивного імунітету – Т- та В-лімфоцитів [42], і трьох основних медіаторів: цитокінів IL-4, IL-10 і трансформуючого фактору росту бета (TGF- $\beta$ ) [14, 57]. При опіковій травмі знижується функціональна активність лімфоцитів: специфічна імуносупресія в основному проявляється зниженням проліферації Т-клітин, зниженням секреції лімфоцитами імуностимулюючих факторів, таких як IL-2, підвищенням секреції імуносупресивних факторів, таких як IL-10, зниженням співвідношення CD4/CD8 [58]. Вміст імуноглобулінів G сироватки зменшується відразу після опікового ураження, що може бути пов'язано з більш низькою активністю В-лімфоцитів і плазматичних клітин [59]. Після термічного пошкодження переважає фенотип Т-клітин хелперів підтипу Th2 з підвищеними концентраціями IL-4, IL-2 і зменшенням продукції  $\gamma$ -інтерферону [48].

У той час як надмірне запалення сприяє розвитку та поширенню вторинних ушкоджень тканин за межі початкових травматичних вогнищ, протизапальна реакція призводить до порушення захисту організму, що проявляється у вигляді специфічного пригнічення імунної функції та неспецифічних запальних імунних реакцій, які змінюються відповідно до навколишнього середовища, перебігу захворювання та інших факторів [58, 60]. Неспецифічні імунні відповіді в основному включають хемотаксис, фагоцитоз і секрецію медіаторів запалення НГ та моноцитами/макрофагами. Запалення та імунна дисфункція після опікової травми вважаються основними причинами важкої інфекції, опікового сепсису, поліорганної дисфункції і навіть смерті пацієнтів [61].

Під впливом опіку відбувається пошкодження ендотелію – клітинного шару внутрішньої поверхні судин. Це може призводити до дисфункції судинного тонуусу, порушення регуляції кровотоку та проникності, а також впливати на виробництво оксиду азоту та інших сигнальних молекул. Дані процеси є результатом складної



взаємодії між прямим впливом тепла на мікроциркуляцію та дією хімічних медіаторів, у тому числі АФК, які пошкоджують ендотелій судин і викликають ендотеліальну дисфункцію (ЕД) [62]. ЕД характеризується незбалансованою вазодилатацією та вазоконстрикцією, підвищеним вмістом АФК і факторів запалення, а також дефіцитом біодоступності оксиду азоту (NO) [63]. Активована прозапальними цитокінами ендотеліальна клітина секретує білки теплового шоку, які, у свою чергу, посилюють продукцію прозапальних цитокінів [42]. При ОТ в плазмі крові підвищуються рівні ендотелінів – вазоконстрикторних пептидів, що регулюють системний кровообіг [64], це призводить до прогресуючої ішемії та некрозу тканин. Серед ендотелінів найбільшу вазоконстрикторну дію має ендотелін-1 (ЕТ-1). На додаток до впливу ЕТ-1 на клітини гладеньких м'язів судин, пептид також визнаний прозапальним цитокіном [65, 66]. Цей пептид стимулює моноцити до вироблення простагландину E2, TNF- $\alpha$ , IL-6 та IL-8, а також речовин, які стимулюють вироблення супероксиду нейтрофільними гранулоцитами. ЕТ-1 викликає агрегацію тромбоцитів і відіграє роль у підвищенні експресії молекул адгезії лейкоцитів, синтезі медіаторів запалення, що сприяє судинній дисфункції [67]. Конститутивний синтез NO ендотеліальними клітинами становить тонкий антагоністичний баланс між NO та ЕТ-1 за допомогою кількох механізмів, включаючи експресію, вивільнення, взаємодію з рецепторами та через системи вторинної сигналізації. Однак під час патофізіологічних умов порушення біодоступності NO вазоконстрикторні ефекти ЕТ-1 зрештою, призводять до судинної дисфункції [68].

Серед факторів, які можуть викликати ЕД, особливу роль займає гомоцистеїн (ГЦ) – сірковмісна непротеїногенна амінокислота, яка утворюється в процесі метаболізму незамінної амінокислоти метіоніну. Дослідження показують, що ГЦ перешкоджає виробленню NO (газоподібного головного регулятора ендотеліального гомеостазу), а також опосередковує втрату критичних ендотеліальних антиоксидантних систем і підвищує внутрішньоклітинну концентрацію АФК, що спричиняє окислювальний стрес [69-71]. Тому гомоцистеїнемія важлива не лише як фактор ушкодження ендотелію, а й як

негативний фактор, що спричиняє дисрегуляцію судинного тону, порушення ліпідного обміну та патологію судинно-тромбоцитарного та коагуляційного гемостазу [70].

Одним із важливих патофізіологічних елементів опіків є розвиток оксидативного стресу. Висока температура та запалення призводять до збільшення виробництва АФК та реактивних форм азоту, що може посилювати пошкодження клітин та тканин, сприяти запаленню та дисфункції ендотелію. Перфузія ішемізованих тканин після термічної травми призводить до дисбалансу між АФК і системою антиоксидантного захисту через надмірну продукцію вільних радикалів [72].

Складні реакції, коли після опікового ураження рівень аденозинтрифосфату в тканинах поступово падає, а збільшений аденозинмонофосфат перетворюється на гіпоксантин, забезпечуючи субстрат для ксантинооксидази, призводять до утворення вільних радикалів, таких як супероксид і пероксид водню [73]. Джерелом оксидантів є як ксантинооксидаза, так і активовані фагоцитуючі клітини крові (НГ, макрофаги, еозинофіли), які в активному стані продукують в 12 разів більше супероксиду кисню та перекису водню під дією інтерлейкінів, TNF- $\alpha$ ,  $\gamma$ -інтерферону та деяких факторів росту [74]. Встановлено, що вільні радикали сприятливо впливають на антимікробну дію та загоєння ран [75]. З іншого боку, підвищена секреція АФК пов'язана з імуносупресією, SIRS, інфекцією, сепсисом, пошкодженням тканин та поліорганною недостатністю [73]. Таким чином, клінічна відповідь на опік залежить від балансу між виробництвом вільних радикалів та їх детоксикацією. Посилення виробництва вільних радикалів відбувається паралельно з порушенням антиоксидантних механізмів, про що свідчить пов'язане з опіком зниження рівня супероксиддисмутази, каталази, глутатіону,  $\alpha$ -токоферолу та аскорбінової кислоти [14]. Окислювальний стрес є станом дисбалансу між дією АФК і біологічною здатністю швидко нейтралізувати реактивні проміжні продукти окислення. При опіковій травмі АФК є важливим фактором, який може підвищити проникність судин і перекисне окислення ліпідів плазматичної мембрани, а також може спричинити локальне або системне запалення. Перекисне окислення ліпідів

(ПОЛ) є провідним механізмом пошкодження клітин АФК через утворення альдегідів, таких як малоновий діальдегід (МДА) [76]. Ця сполука широко використовується як біомаркер перекисного окислення ліпідів завдяки її реакції з тіобарбітуровою кислотою (ТБК) [77].

Гіперметаболізм описується як комплекс клітинних явищ у відповідь на велику травму, спричинених складними гормональними та запальними взаємодіями та складаються зі змін у метаболізмі глюкози, білка та жирів. Гіперметаболізм залишається значною клінічною проблемою після опіку, оскільки кожна система органів зазнає метаболічних змін у відповідь на важку опікову травму [78].

Початкова реакція на опіки має 2 специфічні фази. Початкова фаза «відпливу» протягом перших 1-3 днів після опіку характеризується зниженням кровопостачання тканин і тимчасовим зниженням швидкості метаболізму. Після цього настає «фаза припливу», яка характеризується посиленням перфузії поверхневих тканин, посиленням адренергічного стресу, підвищенням рівня глюкокортикоїдів і підвищенням рівня запальних цитокінів, посиленням адренергічної та глюкокортикоїдної відповідей і зниження рівня гормону росту [79, 80]. Ця стадія може тривати до 2 років після опіку [81]. Зміни в рівнях гормонів і цитокінів керують багатьма енергозалежними біохімічними процесами у відповідь на важку опікову травму, що в сукупності призводить до гіперметаболічної відповіді. При важких опіках запальний процес може бути поширеним і стати неконтрольованим, призводячи до посилення запалення, яке викликає генералізований катаболічний стан і сповільнене загоєння. Виражена гіперметаболічна реакція пов'язана зі збільшенням випадків органної недостатності, інфекцій і навіть смерті [7, 22].

При опіковій хворобі мають місце значні зміни обміну речовин. Значні зміни спостерігаються в білковому обміні [82], вони відіграють важливу роль у розвитку опікового виснаження. Так, знижується рівень загального білка сироватки крові, що супроводжується виразною диспротеїнемією. Гіпопротеїнемія і диспротеїнемія зумовлені як втратою білку через опікову рану внаслідок підвищеної проникності

капілярів, так і зниженням синтезу білка плазми в печінці. Після опіку деградація м'язового білка відбувається швидше, ніж синтез нових м'язових білків, що призводить до хронічного чистого відтоку азоту та амінокислот зі скелетних м'язів і, зрештою, до м'язової кахексії [83]. Разом із розщепленням білка відбувається посилене транспортування амінокислот із м'язів назовні, для забезпечення амінокислотами процесів загоєння ран і глюконеогенезу в печінці [84].

У відповідь на опіки також збільшується обмін жирних кислот. Загалом ліпопротеїнова ліпаза з ендотеліальних клітин розщеплює міцели на вільні жирні кислоти (ВЖК), які потім можуть потрапляти в різні тканини та клітини. Поглинання ВЖК тканинами для подальшого окислення відбувається через плазматичну мембрану, і, потрапляючи в клітину, ВЖК етерифікуються до коензиму (КоА), який потім транспортується через внутрішню мембрану мітохондрій. Цей транспорт здійснюється за допомогою карнітину та ферменту карнітинпальмітоїлтрансферази-І. На етерифікований ацил-КоА в мітохондріальному матриксі впливають ферменти  $\beta$ -окислювального шляху, що призводить до утворення ацетил-КоА. Енергія, що виробляється при  $\beta$ -окисленні жирних кислот і окисленні ацетил-КоА в циклі трикарбонових кислот, використовується для генерації АТФ шляхом окисного фосфорилування, а у разі опіків це також використовується для генерації тепла [79, 85].

Значними змінами супроводжується вуглеводний обмін, порушуються різні його етапи. Безпосередньо після опіку і протягом декількох днів вміст глюкози в крові пацієнтів підвищений [86], що іноді супроводжується глюкозурією, при цьому поглинання глюкози шкірою і м'якими тканинами в області опіку падає відразу після травми і залишається пригніченим навіть через 24 години після опіку. В подальшому концентрація глюкози крові у більшості постраждалих знижується до нормальних величин і у частини хворих продовжує падати до гіпоглікемічного рівня, при цьому споживання глюкози в рані відновлюється, і через 3 тижні після травми стає в 3-4 рази вищим, ніж у неушкодженій шкірі. Ймовірно, це відображає збільшення потреби в енергії для підтримки загоєння [79]. В цілому, гліколіз, протеоліз і ліполіз викликають значний катаболізм, втрату маси тіла, фізіологічне

виснаження, затримку загоєння ран і дисфункцію імунної системи у пацієнтів з опіками.

Опікова травма призводить до втрати рідини через пошкоджені тканини, що може призвести до порушення водно-електролітного балансу. Це може викликати набряк, гіповолемію та інші патологічні стани. Прикладами є гіпонатріємія, метаболічна ацидемія та гіпервентиляція зі зниженням рівня  $\text{PaCO}_2$  [87]. У тих випадках, коли ОХ протікає без ускладнень, порушень кислотно-основної рівноваги у хворих з площею глибокого опіку у 20% поверхні тіла, як правило, не спостерігають [88].

Наслідком термічної травми є ослаблення захисних механізмів організму, що пов'язано з мікроциркуляторними розладами і порушеннями бар'єрних функцій шкіри. Пошкодження шкіри створює сприятливі умови для мікробної інвазії. Крім того, двофазна імунна відповідь, гостре гіперзапалення з наступним пригніченням імунітету, що спостерігається при опіках, не дозволяє пацієнту боротися з інфекцією [89]. Головна роль в розвитку інфекційних ускладнень при поширених опіках належить контамінації ран умовно-патогенною мікрофлорою та шпитальними штамами, які виявляються стійкими до сучасних антисептиків та більшості антибіотиків [90]. Крім того, в опікових пацієнтів спостерігається втрата бар'єрної функції шлунково-кишкового епітелію, і як наслідок, більш високі темпи бактеріальної транслокації та абсорбції ендотоксину через слизову оболонку шлунково-кишкового тракту можуть сприяти SIRS [91, 92].

Поверхня опікової рани є багатим денатурованим білком та ліпідами середовищем, що складається з безсудинної некротичної тканини (струп), яка забезпечує сприятливу нішу для мікробної колонізації та проліферації [93]. Хоча поверхні опікової рани є стерильними відразу після термічної травми, ці рани з часом колонізуються мікроорганізмами [94]. Аваскулярність струпа призводить до порушення міграції імунних клітин хазяїна та обмежує доставку системно введених антимікробних агентів до області, тоді як токсичні речовини, що вивільняються тканиною струпа, порушують місцеві імунні відповіді [91]. Грампозитивні бактерії, такі як стафілококи, розташовані глибоко в потових залозах і волосяних фолікулах,

виживають після опікового ураження. Протягом перших 48 годин вони першими колонізують поверхню рани, якщо не використовуються місцеві протимікробні засоби [91, 95]. В подальшому (в середньому через 5-7 днів) опікові рани колонізуються іншими мікроорганізмами, включаючи грампозитивні бактерії, грамнегативні бактерії та дріжджі, що походять із нормальної шлунково-кишкової флори та флори верхніх дихальних шляхів пацієнта та/або внутрішньолікарняною флорою, яка міститься в навколишньому середовищі або передається через руки медичних працівників. Екзогенні організми з лікарняного середовища, як правило, більш стійкі до антимікробних агентів, ніж ендogenous організми [91, 96-98]. Прогресування від колонізації рани до інфекції залежить не тільки від кількості бактерій або їх виду, але також від імунної відповіді господаря, кількості різних присутніх видів, вірулентності організмів і синергічної взаємодії між різними видами [99].

Інфекція опікової рани є серйозною проблемою, оскільки вона викликає затримку дозрівання епідермісу та призводить до додаткового утворення рубцевої тканини [100]. Вторгнення мікроорганізмів у шари тканини під дермою також може призвести до бактеріємії, сепсису та синдрому поліорганної дисфункції [91]. Таким чином, зрозумілою є необхідність проведення клінічної діагностики інфекції опікової рани шляхом регулярного моніторингу життєво важливих функцій та огляду всієї поверхні опікової рани під час кожної зміни пов'язки. Місцеві ознаки інфікування опікової рани з інвазією включають перетворення неповношарового ураження шкіри в рану повної товщини, швидке поширення целюліту оточуючої тканини, швидке відділення струпа та некроз тканини. Ефективне лікування інфекцій опікової рани поєднує збільшення частоти зміни пов'язок на опіковій рані з оптимізацією режиму антимікробної терапії пацієнта відповідно до результатів мікробіологічного посіву та результатів чутливості до антибіотиків.

Всі патогенетичні механізми опікової травми взаємодіють та підсилюють один одного, ведучи до розвитку опікової хвороби та її клінічних проявів. Лікування ОХ спрямоване на контроль та регуляцію цих механізмів для зменшення пошкоджень та покращення відновлення пошкоджених тканин. Зведення до

мінімуму та запобігання септичним ускладненням шляхом продовження вивчення механізмів розвитку, раннього виявлення біомаркерів запалення та ендотеліальної дисфункції, впровадження в практику лікувальної стратегії препаратів, що впливають на дані механізми, є важливим аспектом для покращення результатів лікування пацієнтів з опіковою травмою.

### **1.3. Особливості ранового процесу опікової травми.**

Існують різні моделі для оцінки опікової рани. Однією з найбільш часто використовуваних є модель Джексона, в якій виділяють 3 концентричні області на основі тяжкості пошкодження тканини та змін у кровотоці опікової рани [101, 102]. Перша зона – це зона коагуляції, де пошкодження є максимальним, з необоротною втратою тканини внаслідок коагуляції білків і некрозу тканини. Навколо зони коагуляції знаходиться зона стазу, яка характеризується зниженням перфузії. Це зона глибоких неповношарових опіків або опіків невизначеної глибини, де капіляри часто скомпрометовані набряком через гіповолемію та/або судинозвужувальні медіатори, що реагують на травму. Ішемічні зміни можуть бути зворотними за умови відновлення капілярного кровотоку, тому важливим пунктом в реанімації опіків є посилення перфузії тканин і запобігання будь-якому подальшому пошкодженню. Ця зона також піддається окислювальному стресу в результаті реперфузійного пошкодження, особливо після отримання великих опіків часткової товщини. Реперфузійне пошкодження призводить до переважно апоптотичної загибелі клітин [103]. Зовнішня зона опікової рани – це зона гіперемії, що характеризується значним локальним набряком, спричиненими негайною запальною реакцією на пошкодження [104], тканини цієї ділянки мають здатність до відновлення за умови відсутності важкого сепсису або тривалої гіперперфузії.

Конверсія опікової рани стосується явища, за якого поверхневі неповношарові опіки, які зберігають здатність до спонтанного загоєння, можуть

перетворитися на глибокі повношарові опіки, які потребують висічення. Апоптоз у зоні стазу може сприяти прогресуючій втраті тканин.

Таким чином, стає зрозумілою важливість запобігання конверсії зони стазу за умови належного лікування для обмеження прогресування глибини опіку, мінімізації кількості тканин, що потребує видалення, таким чином покращуючи загальні результати загоєння ран [105]. Численні дослідження визначають впливи на різні молекулярні механізми, що лежать в основі конверсії опікової рани [106]: ішемію та гіпоксію [107, 108], запалення [109], утворення активних форм кисню [110-112], апоптоз і аутофагію [113, 114], регідратацію рани [115], гіпотермію [116] з метою зменшення конверсії рани. Це свідчить про потребу в плейотропних агентах, які можуть одночасно впливати на різні механізми, що беруть участь у перетворенні опікової рани. Хоча жодне поточне лікування не може остаточно зупинити перетворення опікової рани, спроби уповільнити пошкодження тканин залишаються незадовільними, що виправдовує потребу в нових терапевтичних втручаннях.

Загоєння ран – це складний процес, який передбачає взаємодію між гормонами росту, цитокінами, хемокінами та різноманітними типами клітин [117, 118]. Після пошкодження шкіри кілька клітинних систем і сигнальних шляхів активуються в рані для захисту організму. Основну роль у загоєнні відіграє імунна система пацієнта. Після опікової травми негайно запускається каскад біологічних медіаторів запалення та факторів росту: інтерлейкінів (IL-1, IL-2, IL-4, IL-8, IL-10), фактора росту фібробластів, епідермального фактора росту, трансформуючого фактора росту, фактора росту ендотелію судин (VEGF),  $\gamma$ -інтерферон, TNF- $\alpha$ , TNF- $\beta$ , а також багатьох інших клітин імунної системи та елементів екстрацелюлярного матриксу [80, 119].

Найближчою метою після опікового ушкодження є відновлення і досягнення цілісності тканини та гомеостазу [117, 120]. Загоєння опікових пошкоджень є біологічним процесом, що включає чотири взаємопов'язані фази: гемостазу, запалення, проліферації та ремоделювання [121]. Не існує чіткої межі в часі між



цими фазами, процеси «накладаються» один на одного, утворюючи складний механізм взаємодії.

В перші хвилини після термічного ураження розпочинається початкова фаза як вегетативна реакція, спрямована на мінімізацію пошкодження. У цій фазі відбувається кілька явищ, включаючи агрегацію тромбоцитів, активацію імунітету, системи згортання крові та індукцію системи комплементу. Відразу після травми екстравазовані компоненти крові утворюють гемостатичну пробку. Тромбоцити та поліморфноядерні лейкоцити, захоплені та агреговані в згустку крові, вивільняють широкий спектр факторів, які підсилюють реакцію агрегації, ініціюють каскад коагуляції та/або діють як хемоаттрактанти для клітин, залучених у фазу запалення [122]. Згусток крові відновлює гемостаз, створює бар'єр проти проникнення мікроорганізмів і забезпечує тимчасовий позаклітинний матрикс для міграції клітин [123]. Тромбоцити не тільки сприяють утворенню гемостатичної пробки, але також виділяють кілька медіаторів загоєння ран, таких як тромбоцитарний фактор росту (PDGF), який залучає та активує макрофаги та фібробласти [120]. Кров'яний згусток включає вітронектин, фібронектин, фібрин і тромбоспондини, які постачають каркасну матрицю для міграції фібробластів, лейкоцитів, кератиноцитів і ендотеліальних клітин, а також спричиняють накопичення факторів росту [104]. Під час фази запалення, яка починає розвиватись з першого дня після опікової травми, агрегація тромбоцитів супроводжується інфільтрацією лейкоцитів у місці рани. Цю фазу можна розділити на дві підфази. У ранню підфазу протягом кількох годин після травми клітини запалення проникають у тканину рани: першими через кілька хвилин надходять НГ, потім моноцити та лімфоцити. У пізню підфазу через 1-3 дні після початку пошкодження моноцити перетворюються на макрофаги. НГ виробляють TNF- $\alpha$ , IL-1 та IL-6, які активують запальну відповідь і стимулюють VEGF та секрецію IL-8 для відновлення кровоносних судин. Макрофаги виробляють трансформуючі фактори росту (TGF- $\alpha$  і TGF- $\beta$ ), фактор росту фібробластів, PDGF і VEGF для стимулювання клітинної міграції та виробки молекул позаклітинного матриксу резидентними клітинами

шкіри [124, 125]. Адаптивний імунітет формується щонайменше через 4 дні після ініціації ушкодження за участю лімфоцитів (Т-клітин і В-клітин) [44].

Продовжує і доповнює фазу запалення фаза проліферації, яка включає три етапи; реепітелізація, ангіогенез і утворення грануляційної тканини. Фаза проліферації настає через 3–10 днів після початку ураження. При формуванні тканини епітеліальна та новоутворена грануляційна тканина, що складається з ендотеліальних клітин, макрофагів і фібробластів, починають покривати і заповнювати область рани для відновлення цілісності. Відсутність сусідніх клітин на краю рани (ефект «вільного краю») може бути сигналом як для міграції, так і для проліферації клітин епідермісу [120]. Місцеве вивільнення факторів росту та посилення експресії рецепторів факторів росту також можуть стимулювати ці процеси. Синтез, ремоделювання та відкладення структурних молекул позаклітинного матриксу є незамінними для початку відновлення та прогресування до стану загоєння.

Реєпітелізація індукується активацією цитокінів і факторів росту, провідними з яких є епідермальний фактор росту (EGF), трансформуючий фактор росту  $\alpha$ , фактор росту кератиноцитів, матричні металопротеїнази, інсуліноподібні фактори росту, які викликають розвиток і розростання кератиноцитів, епітеліальних клітин, стовбурових клітин та фібробластів [125, 126]. Деякі фібробласти диференціюються в міофібробласти; потім фібробласти та міофібробласти виробляють позаклітинний матрикс, зокрема колаген, який утворює зрілий рубець [104].

У фазі проліферації утворюються нові кровоносні судини (ангіогенез), при цьому задіяно кілька факторів росту, таких як VEGF, PDGF, FGF- $\beta$ , гранулоцитарно-макрофагальний колонієстимулюючий фактор і тромбін, які є основними активуючими молекулами для росту ендотеліальних клітин. Протеолітичні ферменти, що виділяються активованими ендотеліальними клітинами, розчиняють базальну пластинку і створюють середовище, в якому вони можуть проліферувати та мігрувати в рану [104, 125]. Останнім етапом фази проліферації є утворення грануляційної тканини, яка починає проникати в рановий

простір приблизно через чотири дні після травми [120]. Основними клітинами у фазі грануляції є фібробласти, які виробляють колаген та інші молекули ЕСМ. Макрофаги забезпечують постійне джерело факторів росту, необхідних для стимуляції фіброплазії та ангиогенезу. Позаклітинний матрикс постачає відповідний каркас для клітинної адгезії та організовує ріст і диференціацію клітин, включаючи фібробласти. Наприкінці цієї фази відбувається диференціація фібробластів у міофібробласти (утворення рубця) або апоптоз [125, 127].

Останнім етапом загоєння рани є фаза ремоделювання, яка починається через 2–3 тижні після опікового пошкодження та триває протягом року та більше; тут рубець рани виробляє більше колагену та еластину, а також фібробласти дозрівають у міофібробласти. Поява міофібробластів відповідає початку ущільнення сполучної тканини і звуження рани [128]. Окрім трансформації фібробластів, загибель кератиноцитів і запальних клітин (таких як Т-клітини та макрофаги) відіграють важливу роль у припиненні відповіді на пошкодження [125].

Протягом останніх десятиліть було виявлено численні фактори, які беруть участь в регуляції процесів між епідермальними та дермальними клітинами для полегшення загоєння ран [123]. Чутливий баланс між стимулюючими та інгібуючими медіаторами на різних стадіях відновлення має вирішальне значення для досягнення тканинного гомеостазу після травми. Під час загоєння ран відбуваються складні взаємодії факторів росту, інтерлейкінів, хемокінів, які слід враховувати для розробки нових стратегій лікування порушеного загоєння ран і оптимізації терапевтичних підходів.

#### **1.4. Особливості трансфузійної терапії опіків**

Визначення того, що опік супроводжується переміщенням внутрішньосудинної рідини у позасудинний простір і тим, що цю внутрішньосудинну втрату необхідно активно компенсувати внутрішньовенним введенням рідини, було одним із ключових досягнень у лікуванні опіків у

минулому столітті. Подальші дослідження в рідинній ресуститації після опікової травми продемонстрували покращення результатів для пацієнтів. Сучасна клінічна допомога при інфузійній ресуститації обпечених пацієнтів складається з визначення ступеня опікової травми, визначення обсягу або швидкості введення рідини на основі однієї з кількох перевірених формул та введення збалансованих сольових розчинів (з колоїдом або без нього) [129]. Оптимальна рідинна реанімація спрямована на підтримку перфузії органів за допомогою найменшої необхідної кількості рідини за мінімальних фізіологічних витрат. Недостатня ресуститація призводить до зниження перфузії, гострої ниркової недостатності та смерті [10]. Зокрема, при септичному шоці затримка рідинної ресуститації може бути пов'язана з мітохондріальною дисфункцією та може сприяти запаленню [130]. Подібно до того, як недостатня ресуститація пов'язана з поганим результатом, збільшення введення рідини також пов'язане з несприятливими наслідками, такими як посилення утворення набряку, гострий респіраторний дистрес-синдром (ГРДС) а також поліорганна дисфункція [10].

Розрізняють два етапи ресуститації опіків. Перший етап відповідає фазі «гіподинамії», або «фазі відпливу», триває приблизно від 24 до 72 годин [14, 55, 131]. Цей період характеризується підвищенням проникності судин, переміщенням рідини, що призводить до зменшення внутрішньосудинного об'єму, та формування набряку. Основною метою цієї фази є відновлення та збереження тканинної перфузії, щоб уникнути ішемії внаслідок гіповолемічного та клітинного шоку. Часто може розвинутися дисбаланс між онкотичними та гідростатичними силами [55]. Збільшення мікросудинної проникності відбувається внаслідок прямого термічного пошкодження судин і через вивільнення медіаторів запалення та прогресування ендотеліальної дисфункції. Внаслідок підвищеної судинної проникності відбувається перехід внутрішньосудинної рідини та білків плазми в інтерстиціальний простір, що призводить до зниження капілярного онкотичного тиску [55, 131] та переміщення додаткової рідини за онкотичним градієнтом спричиняє подальший розвиток набряку. Гіпопротеїнемія виникає через вихід білків у позасудинний простір а також втрату з пошкодженої поверхні шкіри.

Внутрішньосудинна гіповолемія та, як наслідок, гемоконцентрація виникають через формування масивного набряку протягом перших 12-24 годин після травми [14]. Втрата внутрішньосудинної рідини може швидко призвести до опікового шоку з порушенням перфузії тканин і органів. На відміну від неопікової травми, спричинена опіком втрата рідини відбувається за відсутності помітної втрати об'єму еритроцитів, що призводить до гемоконцентрації, а не до анемії. Опіковий шок виникає не тільки через зменшення внутрішньосудинного об'єму, але й через підвищений системний судинний опір (внаслідок вивільнення катехоламінів, антидіуретичного гормону та гемоконцентрації) і пригнічення серцевого викиду [132].

Другий етап ресуститації відповідає фазі гіпердинамічного та гіперметаболічного кровотоку, що починається приблизно через 24-72 години після травми та характеризується підвищеним споживанням кисню, втратою білка, зниженням проникності судин, збільшенням частоти серцевих скорочень і зниженням системного судинного опору, що призводить до збільшення серцевого викиду [132]. Початок сепсису додатково збільшує серцевий викид і знижує системний судинний опір [14].

Прийняті рекомендації для розрахунку обсягів рідинної ресуститації, такі як формула Паркленда, Еванса, модифіковані формули Паркленда та Брука, створюють основу для орієнтовних обсягів та залишаються основою початкової реанімації в усьому світі [11]. Існує багато досліджень, які вивчають зміни або коригування протоколів реанімації, які можуть призвести до покращення результатів, однак жодне з них не є остаточним і не замінює перевірених стандартів [133]. Проте навіть ретельне дотримання загальноприйнятих формул може не забезпечувати адекватну ресуститацію. Яку б формулу не використовували, важливо пам'ятати, що розрахована кількість рідини є лише орієнтиром. Необхідно контролювати життєво важливі показники пацієнта, психічний стан, наповнення капілярів і виділення сечі та відповідно регулювати швидкість рідини [134].

Адекватна ресуститація опіків – це та, яка ефективно відновлює об'єм плазми без побічних ефектів, для цього використовуються ізотонічні кристалоїди,

гіпертонічні розчини та колоїди, але кожен розчин має свої переваги та недоліки [11]. Найбільш доступним методом контролю щодо адекватності інфузійної терапії у пацієнтів з нормальною функцією нирок є погодинний темп сечовиділення, що складає у дорослих 0,5 мл/кг/год (або 30-50 мл/год), у дітей молодшого віку (масою  $\leq 30$  кг) 1 мл/кг/год; у дітей вагою  $> 30$  кг, до 17 років 0,5 мл/кг/год. Очікуваний об'єм сечі повинен ґрунтуватися на ідеальній масі тіла, а не на фактичній вазі до опіку.

Для ресуститації обираються нижченаведені види розчинів. Кристалоїди: зазвичай використовується розчин Рінгера лактат, розчин Гартмана і фізіологічний розчин. Проте є деякі побічні ефекти кристалоїдів: наприклад, введення великого об'єму фізіологічного розчину викликає гіперхлоремічний ацидоз [135], Рінгера лактат збільшує активацію НГ після ресуститації з приводу кровотечі [136], а також відомо, що d-лактат у розчині Рінгера, відповідає за збільшення виробництва АФК [137]. Побічні ефекти кристалоїдної реанімації великого об'єму включають загострення генералізованого набряку, плевральний і перикардальний випоти та кишкову непрохідність з абдомінальним компартмент-синдромом [132].

Колоїди як гіперосмотичні розчини, використовуються для підвищення внутрішньосудинної осмолярності та припинення екстравазації кристалоїдів [138], проте в перші 24 години після опіку не приносять клінічної користі [139]. Дебати про колоїди проти кристалоїдів у літературі відображають баланс думок; багато опікових клініцистів уникають використання колоїдів у ранньому післяопіковому періоді [11]. Колоїди залишаються у внутрішньосудинному просторі довше, ніж кристалоїди, хоча на їх гемодинамічний ефект впливає звичайний метаболізм колоїдних речовин; витік через ендотелій при станах з підвищеною проникністю, таких як сепсис та/або зовнішні втрати, такі як крововтрата та опіки [130].

Також аналіз результатів опікової ресуститації показав, що посилена 5% альбуміном реанімація вже через 8 годин після опікової травми у тих, кому за прогнозами буде проведена масивна реанімація (визначається як особа, яка потребує  $>1500$  мл на годину протягом 2 годин) або  $>250$  мл/кг протягом 24 годин)

дає можливість інфузії меншого загального об'єму кристалоїду протягом перших 24 годин [22].

Враховуючи успішність різних підходів до реанімації пацієнтів з тяжкими опіками, можна постулювати, що склад рідини, початкова швидкість введення та додавання колоїду є відносно неважливими — за умови, що клініцист старанно пристосовує інфузійну терапію до індивідуальних потреб пацієнта і контролює гемодинамічні кінцеві точки, пов'язані з адекватною перфузією тканин [10, 140]. Критеріями якості адекватної ресуситації є: відновлення адекватної свідомості; стабілізація гемодинаміки з нормалізацією артеріального тиску, центральний венозний тиск  $\geq 40$  мм вод. ст., серцевий індекс  $\geq 4,5$  л/хв/м<sup>2</sup>, індекс доставки кисню 540 мл/хв/м<sup>2</sup>; нормалізація дихання (Sat O<sub>2</sub>  $\geq 90\%$ ); гемодилуція (Ht = 35-38%); відновлення діурезу до 0,5 – 1 мл/кг/годину; нормалізація й підвищення шкірної температури; молочна кислота < 3 ммоль/л. Після ресуситації пацієнти, як правило, потребують більших, ніж очікувалося, темпів підтримуючої внутрішньовенної рідини (англ. Maintenance Intravenous Fluid – MIVF) [10, 11]. Це пов'язано з багатьма факторами, такими як збільшення невідчутної втрати через опікові рани і трансплантати, посилений метаболізм.

## 1.5. Основні принципи хірургічного лікування опіків

Лікування глибоких і поширених термічних ушкоджень змінювалось протягом багатьох десятиліть, відображаючи розробку та доступність місцевих антимікробних засобів у 1960-х роках, а також прийняття ранніх стратегій видалення в 1970-х роках. До широкого застосування раннього хірургічного висічення опікових ран практикувалося консервативне лікування [141, 142]. До того періоду глибокі опікові рани лікували місцевими антимікробними пов'язками, а нежиттєздатний струп залишали для бактеріальної колонізації з подальшим аутолізисом та очищенням. Рани залишали гранулюватися протягом декількох тижнів. Пересадка шкіри відбувалася лише після розвитку грануляційної тканини

на поверхні опікової рани. На жаль, ця практика призвела до високої смертності та захворюваності (наприклад, інфекції, рубці, тривала госпіталізація). Проте краще розуміння патофізіології опіків дозволило розвинути численні інтра- та післяопераційні медичні та хірургічні методи, що призвело до поступового зниження захворюваності та смертності [142-145]. Раннє хірургічне видалення разом із мультидисциплінарною підтримкою опікової групи покращило виживаність опікових пацієнтів [146]. Дедалі агресивніші хірургічні підходи з раннім тангенціальним висіченням і достатнім закриттям рани, ймовірно, є найбільш суттєвою зміною за останні роки, що призводить до зменшення рівня смертності постраждалих від опіків за значно менших витрат [147]. Раннє висічення девіталізованої тканини зменшує місцеві та системні ефекти медіаторів, що вивільняються з обпеченої тканини, таким чином зменшуючи прогресуючі патофізіологічні порушення. Тангенційне висічення видаляє некротичні тканини, зберігаючи при цьому якомога більше підлеглої життєздатної тканини [103].

Рання некректомія повношарових та неповношарових опіків відбувається протягом перших кількох днів після опікової травми (до 5-7-ї доби), одразу після гемодинамічної стабілізації пацієнта [91, 148-150]. Існує необхідність розробки відповідного плану лікування опіків, який включає графік хірургічного втручання для закриття рани, виходячи з клінічного стану пацієнтів, ступеня опікової травми, показників оксидантного стресу та ендотеліальної дисфункції. Основною метою ранньої некректомії є видалення нежиттєздатної тканини, яка стимулює SIRS, та запобігання інфекції шляхом тимчасового або постійного закриття опікової рани [151]. Крім того, скорочення періоду ранового запалення зменшує розвиток гіпертрофічних рубців, може оптимізувати результат лікування з точки зору функції та зовнішнього вигляду [152]. Це досягається раннім видаленням некротичної тканини і закриттям рани ауто-трансплантатом, алотрансплантатом або замінниками шкіри у пацієнтів [91, 153, 154]. Показано, що первинне очищення ран при дермальних поверхневих опіках з подальшим застосуванням сучасних ранових покриттів, на тлі медикаментозної терапії, дозволяє мінімізувати загибель тканин паранекротичної зони опікової рани і утворення некротичного струпу, захищає



рану від інфікування і тим самим забезпечує неускладнений перебіг ранового процесу [155].

Хірургічне висічення опікової рани може проводитися різними способами, але найпоширенішими методами є фасціальне та тангенційне висічення, за допомогою якого струп видаляється пошарово, доки не буде досягнута життєздатна тканина [156, 157]. Загальновідомо, що раннє висічення та негайне закриття рани допомагають послабити запальну реакцію опікової травми, зменшити ризик інфікування та призвести до кращих результатів загоєння, але некректомія часто супроводжується великою втратою крові та гіпотермією, що обмежує кількість тканини, яку можна вирізати за операцію. Методи зменшення крововтрати включають місцеве використання тромбінового спрею, змочену адреналіном марлю, тумесценцію (підшкірне введення вазоконстрикторів), джгути для кінцівок і коагуляцію [158]. Повний гемостаз необхідний перед застосуванням трансплантата шкіри, щоб запобігти утворенню гематоми, яка може призвести до неспроможності трансплантата [159].

В хірургічній практиці з метою очищення опікових поверхонь від нежиттєздатних тканин застосовуються також різноманітні фізичні та хімічні методи. До фізичних методів відноситься гідрохірургічна обробка санація рани, принципом якої полягає у випусканні під тиском стерильного 0,9% хлориду натрію в поєднанні з локалізованою вакуумною системою, яка одночасно очищає, зрошує та евакуює нежиттєздатні тканини [160, 161]. Порівняно з традиційними методами висічення цей метод є більше щадним для життєздатних тканин, зменшує крововтрату, забезпечує швидке та повне очищення, зручний для використання на ранах з нерівним контуром та нерівномірною товщиною струпа, проте метод гідрохірургічного очищення створює умови для аерозольного поширення бактерій в навколишньому середовищу та має обмеження використання при повношарових опіках, де більш доцільним є застосування традиційних методів висічення [160]. Також до фізичних методів очищення ран відноситься використання хірургічних лазерів, ультразвукової кавітації, плазмової абляції, які дозволяють зменшити

інтраопераційну крововтрату, покращити диссекцію рани та атравматичність, проте мають свої певні обмеження, наприклад, при видаленні сухого струпу.

Серед способів активного очищення опікових ран використовується ензиматичне очищення за допомогою колагеназ [162], бромелайну [163]. Якщо розташування опікової рани дозволяє провести регіонарну анестезію, то ферментативну обробку рани можна проводити поза межами операційної. Ензиматичне очищення є зручним методом для використання при опіках особливої локалізації: обличчя, кисті, статеві органи [164].

Закриття очищених ран відбувається за допомогою постійних чи тимчасових покриттів. До постійних покриттів відносяться розщеплені аутологічні трансплантати, які складаються з епідермісу та невеликої частини папілярної дерми. Проте, можливість аутодермопластики (АДП) обмежена при значних за площею опіках та дефіциті здорової неушкодженої шкіри, тяжкому загальному стані хворого, необхідність підготовки рани для АДП [165, 166]. Через мінімальну кількість дерми в ауто трансплантаті рани зазвичай гояться з деяким ступенем ретракції [167]. Для зменшення обсягів донорської ділянки з метою покриття рани мінімальною кількістю необхідної тканини виконується перфорація ауто трансплантата у відношеннях від 1:1 для невеликих опіків до 6:1 для великих опіків TBSA [168]. Однак використання ауто трансплантата з більшим розміром сітки підвищує ризик інфекції, ретракції та утворення рубців через довший час для повної реепітелізації більших інтерстиціальних просторів. Руки, шия та обличчя є зонами, де ретракція шкірного клаптя створює проблеми пов'язані з якістю життя, такі як втрата функцій і незадовільний косметичний результат, отже, для запобігання цьому зазвичай використовуються неперфоровані трансплантати. Товщина ауто трансплантата обернено корелює зі ступенем скорочення, яке відбувається [169], що може призвести до висновку про доцільність повношарового шкірного трансплантата, проте використання трансплантата повної товщини створює повношарову вторинну рану донорської ділянки, яка несе з собою посилення болю, більший ризик гіпертрофічного рубцювання, довший час загоєння та власну потребу в закритті рани [170].

Безумовно, кращим пластичним матеріалом є розщеплений перфорований власний шкірний клапот, однак при опіках великої TBSA може бути недоступна аутологічна шкіра через відсутність донорських ділянок. У цих випадках потрібне тимчасове закриття рани, наприклад, ксенотрансплантатом [91] або тимчасовими синтетичними рановими покриттями [171], доки донорське місце не буде готове до повторного збору. Тимчасові біологічні покриття захищають ложе рани від висихання, втрати тепла, мікробного забруднення та сприяють утворенню грануляційної тканини, сприятливої для розміщення аутоотрансплантата [89].

Традиційні перев'язувальні матеріали, які також називають інертними (марля, бинти), є найбільш широко використовуваними перев'язувальними матеріалами в клініці через їх низьку вартість і простий процес виготовлення. Проте існує широкий спектр сучасних ранових покриттів, які характеризуються кращою біосумісністю, здатністю до розкладання та збереженням вологи. Крім того, вони полегшують біль та потребують меншої кількості перев'язок. У клінічній практиці найчастіше використовують сучасні пов'язки – гідрогелі, гідроколоїди, альгінати, піни та плівки [119, 172].

В результаті багаторічних численних досліджень розуміння патофізіології опікової травми продовжує розширюватися. Проте краще знання цих клітинних механізмів призвело до відносно скромних покращень у клінічних методах лікування [14]. Спроби зменшити тяжкість опікового шоку шляхом блокування деяких хімічних медіаторів гострого запалення були зроблені з певним успіхом у клінічній реанімації опіків [166]. Існують дослідження, в яких вивчається вплив антиоксидантів, інгібіторів протеаз, донаторів NO на різні ланки протеолізу, оксидантного стресу та ендотеліальної дисфункції в процесі лікування опіків [173-180], також тривають дослідження біомаркерів гіперметаболізму, оксидантного стресу, ЕД з метою виявлення універсальних інформативних маркерів, що надають інформацію про відповідь на лікування та прогноз [181, 182]. Вивчення цих питань дозволить суттєво підвищити ефективність лікування пацієнтів з опіковими ураженнями. Визначення взаємопов'язаних дій медіаторів та кінцевих точок їх

докладання в патогенезі опікової хвороби дозволить розробити ефективні схеми лікування, потенційною мішенню яких є каскад реакцій запалення [19].

Таким чином, проблема пошуку ефективних методів лікування пацієнтів з опіковими ураженнями є та залишається актуальною. Первинне лікування опіків у формі активної рідинної ресуститації, раннього видалення нежиттєздатних тканин та трансплантації у поєднанні з терапією, спрямованою на контроль запалення, протеолізу та корекцію ендотеліальної дисфункції, не тільки рятує життя, але надає можливість запобігти виникненню ускладнень та покращити віддалені результати у постраждалих від опіків.

## РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

### 2.1. Загальна характеристика обстежених пацієнтів з опіковою травмою

Для досягнення мети роботи і вирішення завдань дослідження було обстежено 71 пацієнта з опіковими ураженнями площею від 10 до 60% поверхні тіла, віком від 24 до 65 років, які знаходились на лікуванні в КНП “Київська міська клінічна лікарня №2” протягом 2017-2023 рр. Критерії включення досліджуваних: пацієнти з поверхневими та глибокими термічними опіками загальною площею від 10% поверхні тіла, чоловіки та жінки віком від 18 до 65 років. Критерії невключення досліджуваних: відмова пацієнта від участі в дослідженні, наявність супутніх захворювань в стадії декомпенсації, онкологічні захворювання, вік до 18 років і понад 65 років, загальна площа опіків менше 10% поверхні тіла, хімічні опіки та загальна високовольтна електротравма, вагітність та лактація.

Всі пацієнти були розподілені на дві групи – основну та групу порівняння. Основна група – 49 пацієнтів з термічними опіками загальною площею від 10% до 60%, яким на додаток до стандартної схеми трансфузійної терапії та хірургічного лікування застосовувались препарати ендотеліотропної, метаболічної та антиоксидантної дії. Група порівняння – 22 пацієнта з термічними опіками загальною площею від 10% до 60% поверхні тіла, яким проводилась стандартна загальноприйнята схема інфузійної терапії та хірургічного лікування без додаткових препаратів.

В залежності від використовуваного додаткового препарату в схемах трансфузійної терапії пацієнти основної групи розподілені на три підгрупи. Підгрупа 1 – 23 пацієнта з термічними опіками загальною площею понад 10% поверхні тіла, яким в схемі трансфузійної терапії при хірургічному лікуванні застосовувався препарат ендотеліотропної дії – левокарнітин та аргініну гідрохлорид.

Підгрупа 2 – 12 пацієнтів з термічними опіками загальною площею понад 10% поверхні тіла, яким в схемі трансфузійної терапії при хірургічному лікуванні застосовувався препарат інгібітора протеїназ – улінастатин

Підгрупа 3 – 14 пацієнтів з термічними опіками загальною площею понад 10% поверхні тіла, яким в схемі трансфузійної терапії при хірургічному лікуванні застосовувався препарат антиоксидантної дії – етилметилгідроксипіридину сукцинат.

В пацієнтів підгрупи 1 застосування комбінованого препарату левокарнітину - аргініну гідрохлориду починалось з 2-3-ї доби з моменту опікової травми, протягом 5 днів, внутрішньовенно краплинно, зі швидкістю до 30 крапель на хвилину, в обсязі 100 мл 1 раз на добу. Комбінований препарат аргінін-карнітин містить 2,0 г левокарнітину та 4,2 г L-аргініну гідрохлориду в 100 мл. Препарат добре переносився пацієнтами, не викликав алергічних реакцій та місцевих чи загальних ускладнень.

В пацієнтів підгрупи 2 застосування препарату улінастатину проводилось з 2-3-ї доби з моменту опікової травми двічі на добу (один раз на 12 годин) протягом 5 діб. Вміст флакону 4мл, що містить 100000 МО улінастатину, відновлювали у 100 мл 0,9% розчину натрію хлориду і вводили внутрішньовенно краплинно протягом 1 години.

В пацієнтів підгрупи 3 застосування препарату етилметилгідроксипіридину сукцинату починалось з 2-3-ї доби з моменту опікової травми двічі на добу (один раз на 12 годин) протягом 5 діб. Вміст флакону 5 мл, що містить 250 мг діючої речовини, розводили у 200 мл 0,9% розчину натрію хлориду і вводили внутрішньовенно краплинно зі швидкістю 40-60 крапель за хвилину. Препарат добре переносився пацієнтами, не викликав алергічних реакцій та ускладнень місцевого чи загального характеру.

В підгрупі 1 основної групи було 19 чоловіків і 4 жінки, в підгрупі 2 було 11 чоловіків і 1 жінка, в підгрупі 3 було 14 чоловіків, в групі порівняння було 17 чоловіків і 5 жінок. Середній вік пацієнтів підгрупи 1 складав  $46,57 \pm 9,6$  років, підгрупи 2 –  $39,75 \pm 10,49$  років, підгрупи 3 –  $44,21 \pm 12,23$  років, групи порівняння –

47,77±7,78 років ( $p_{1-2}=0,634762$ ,  $p_{1-3}=0,880249$ ,  $p_{1-4}=0,884879$ ,  $p_{2-3}=0,784403$ ,  $p_{2-4}=0,543643$ ,  $p_{3-4}=0,807510$ ). Розподіл пацієнтів за віком серед досліджуваних груп не виявив статистично значущих розбіжностей ( $p>0,05$ ).

Розподіл пацієнтів за етіологічними чинниками отримання термічних уражень представлений на таблиці 2.1.

Таблиця 2.1

Етіологічні чинники термічних уражень у пацієнтів основної групи та групи порівняння

Чинник	Основна група								Група порівняння	
	підгрупа 1		підгрупа 2		підгрупа 3		Всього			
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Полум'я	18	78,3	10	83,33	13	92,86	41	83,67	21	95,7
Окріп/пара	2/0	8,7	1/0	8,33	0/1	7,14	4	8,16	1	4,3
Гаряча їжа/ контактний опік	2/1	13	1	8,33	0	0	4	8,16	0	0
Всього	23	100	12	100	14	100	49	100	22	100

Більшість пацієнтів як основної групи (57,14%), так і групи порівняння (68,2%), була доставлена до спеціалізованого відділення протягом перших двох годин з моменту отримання ОТ, в терміни від 2-х до 12-ти годин госпіталізовано 28,57% пацієнтів ОГ та 22,7% пацієнтів ГП, в терміни від 12-ти до 24-х годин – 8,16% пацієнтів ОГ і 9,1% пацієнтів ГП, і 6,12% пацієнтів ОГ доставлені в терміни більше 24-х годин. Розподіл пацієнтів за термінами госпіталізації представлений в таблиці 2.2.

Таблиця 2.2

Терміни госпіталізації пацієнтів основної групи та групи порівняння до спеціалізованого відділення

Період після травми, Години	Основна група								Група порівняння	
	підгрупа 1		підгрупа 2		підгрупа 3		Всього			
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
≤ 2	12	52,2	9	75	7	50	28	57,14	15	68,2
2-12	7	30,4	3	25	4	28,6	14	28,57	5	22,7
12-24	1	4,3	0	0	3	21,4	4	8,16	2	9,1
>24	3	13	0	0	0	0	3	6,12	0	0
Всього	23	100	12	100	14	100	49	100	22	100

У всіх пацієнтів спостерігалось клініка опікового шоку різного ступеня тяжкості. У 12 (24,5%) пацієнтів основної групи і 5 пацієнтів групи порівняння (22,7%) були опіки дихальних шляхів (ОДШ). Димова токсична інгаляція була у 8 пацієнтів основної групи та 5 пацієнтів групи порівняння. Ураження дихальних шляхів ускладнювало перебіг ОХ [22]. Для визначення тяжкості опікової травми визначали індекс тяжкості ураження (ІТУ) що враховує глибину та площу ураження, вік пацієнта та наявність опіку дихальних шляхів. При цьому:

1% опіку I ступеня приймали за 1 од. ІТУ,

1% опіку IIa ступеня приймали за 2 од. ІТУ,

1% опіку IIb ступеня приймали за 3 од. ІТУ,

1% опіку III ступеня приймали за 4 од. ІТУ,

На кожний рік понад 60 років додавали 1 од. ІТУ.

При наявності опіку дихальних шляхів (ОДШ) та гострої дихальної недостатності (ГДН) до отриманого результату додавали:

при ГДН легкого ступеня – 15 од. ІТУ,

при ГДН середнього ступеня – 30 од. ІТУ,

при ГДН важкого ступеня – 45 од. ІТУ.

Отримана після підрахунку сума одиниць ІТУ залежно від ступеня й площі опіків, віку потерпілого й наявності ОДШ була інтегральним вираженням тяжкості опікової травми і тяжкості перебігу опікової хвороби [183].

Розподіл пацієнтів за ІТУ представлений в таблиці 2.3.

Таблиця 2.3

Розподіл за індексами тяжкості ураження пацієнтів в досліджуваних групах

ІТУ	Основна група								Група порівняння	
	підгрупа 1		підгрупа 2		підгрупа 3		Всього		абс.	%
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%		
≤ 30 од.	9	39,13	7	58,33	3	21,43	19	38,78	8	36,36
31 - 60 од.	11	47,82	5	41,67	7	50	23	46,94	8	36,36
61-90 од.	2	8,70	0	0	4	28,57	6	12,24	6	27,27
> 90 од.	1	4,35	0	0	0	0	1	2,04	0	0
Всього	23	100	12	100	14	100	49	100	22	100



Нормальність розподілу за ІТУ (при  $n < 50$ ) оцінювалась за допомогою критерію Шапіро-Уїлка. Нормальність розподілу всіх груп дозволила використовувати t-критерій Стюдента для зв'язаних сукупностей (парний t-критерій Стюдента). В даному дослідженні середній ІТУ складав для підгрупи 1 43,36 од, для підгрупи 2 31 од, для підгрупи 3 48,79 од, для групи порівняння 43,36 од.

Дані розподілу пацієнтів за площею глибоких та поверхневих опікових уражень представлені в таблиці 2.4.

Таблиця 2.4

Розподіл за площею глибоких та поверхневих уражень пацієнтів основної групи ( $n=49$ ) та групи порівняння ( $n=22$ ),  $M \pm m$ , %

Опіки за глибиною	Основна група				Група порівняння ( $n=22$ )
	підгрупа 1 ( $n=23$ )	підгрупа 2 ( $n=12$ )	підгрупа 3 ( $n=14$ )	Всі ( $n=49$ )	
загальна площа опіків	26,57 $\pm$ 12,53 $p^*=0,807498$	18,5 $\pm$ 6,57 $p^*=0,733232$	35,93 $\pm$ 16,16 $p^*=0,489951$	27,26 $\pm$ 13,9 $p^*=0,7899$	22,67 $\pm$ 10,06
глибокі опіки	6,67 $\pm$ 5,70 $p^*=0,7531$	5,125 $\pm$ 4,6 $p^*=0,606742$	7,54 $\pm$ 5,75 $p^*=0,826037$	7,45 $\pm$ 5,16 $p^*=0,81$	9,59 $\pm$ 7,25

Примітка:  $p^*$  – відносно групи порівняння

У пацієнтів основної групи середня загальна площа опікового ураження складала 27,26  $\pm$  13,9% (глибокі опіки 7,45  $\pm$  5,16): в підгрупі 1 середня загальна площа опікового ураження складала 26,57  $\pm$  12,53% (глибокі опіки 6,67  $\pm$  5,70%), в підгрупі 2 загальна площа опікового ураження складала в середньому 18,5  $\pm$  6,57% (глибокі опіки 5,125  $\pm$  4,6%), в підгрупі 3 загальна площа опікового ураження складала 35,93  $\pm$  16,16% (глибокі опіки 7,54  $\pm$  5,75%). В пацієнтів групи порівняння загальна середня площа опікового ураження складала 22,67  $\pm$  10,06% (глибокі опіки 9,59  $\pm$  7,25%). Розподіл пацієнтів за площею ураження серед досліджуваних груп не виявив статистично значущих розбіжностей ( $p > 0,05$ ).

Пацієнти основної групи мали супутні патології: ішемічна хвороба серця у 8 осіб, гіпертонічна хвороба у 4, хронічний гастрит у 3, виразкова хвороба шлунка та/або ДПК в стадії ремісії у 6, хронічний холецистит у 7, хронічний панкреатит у 8, хронічні захворювання печінки у 2, варикозна хвороба вен нижніх кінцівок у 1,

хронічні захворювання нирок (уролітіаз, хронічний пієлонефрит, гломерулонефрит) у 3, хронічний алкоголізм у 4, ожиріння у 3, наркоманія у 1. Пацієнти групи порівняння мали наступні супутні патології: ішемічна хвороба серця у 6 осіб, гіпертонічна хвороба у 5, хронічний гастрит у 1, виразкова хвороба шлунка та/або ДПК в стадії ремісії у 1, хронічний холецистит у 3, хронічний панкреатит у 5, хронічні захворювання печінки у 3, хронічні захворювання нирок у 3, захворювання системи дихання (хронічний бронхіт, туберкульоз) у 2, хронічний алкоголізм у 2, епілепсія у 1, наркоманія у 1.

В основній групі було 2 летальні випадки: пацієнти віком 41 та 40 років, з опіками площею 55% та 30%, ІТУ 140 од. та 40 од. відповідно. Причинами смерті був розвиток важких ускладнень таких як сепсис та поліорганна недостатність (в обох пацієнтів), респіраторний дистрес синдром, реактивний панкреатит (в одного з пацієнтів), ДВЗ-синдром з розвитком гострого венозного тромбозу та шлунково-кишкових кровотеч, токсичний міокардит, токсичний гепатит, ниркова недостатність (в другого з пацієнтів). Смерть пацієнтів внаслідок зазначених ускладнень настала на 174-ту та 21-шу добу перебування в стаціонарі. В групі порівняння в пацієнта 48 років з опіками площею 20% та ІТУ 64 од. розвинувся сепсис з поліорганною недостатністю, ексудативним перикардитом, гідро- та пневмотораксом, енцефалопатією змішаного генезу, що призвело до смерті пацієнта на 112-й добі перебування в стаціонарі.

Всім пацієнтам при госпіталізації до відділення надавалась допомога згідно Наказів Міністерства охорони здоров'я України № 838 від 30.09.2013р. «Про порядок надання медичної допомоги хворим з опіками» та № 537 від 27.03.2022 «Про організацію надання комбустіологічної допомоги в умовах воєнного стану» [34, 35]. Одразу проводилось встановлення центрального судинного доступу, назогастрального зонду, сечового катетеру. Проводилась протишокова трансфузійна терапія, обсяги і темп інфузії визначались тяжкістю опікової травми, віком та супутньою соматичною патологією. При проведенні протишокової трансфузійної терапії дотримувались наступних правил:

1) темп інфузії та компонентність розчинів визначались часом від моменту ураження;

2) розрахунок об'єму інфузії в першу добу:

$$V_{\text{інфузії (мл)}} = 2\text{мл} \times \text{маса тіла (кг)} \times \% \text{ TBSA}$$

Також враховувалось, що при комбінованій термоінгаляційній травмі через опік дихальних шляхів можлива потреба в трансфузійних розчинах на 50% більше (до 4мл/кг на 1% TBSA). Дотримувались правил швидкості введення розчинів: 50% розрахованого добового обсягу вводились в перші 8 годин з моменту травми, 25% – в наступні 8 годин і ще 25 % – в наступні 8 годин.

Компонентність розчинів: в перші 8 годин використовувались лише кристалоїдні, в наступні 16 годин використовувались також колоїдні препарати в обсязі 20% від добового розрахованого обсягу. Серед кристалоїдних розчинів застосовувались розчини Рінгера, Рінгера лактат, Лактасол, Хартмана та ін. Швидке заповнення об'єму судинного русла сольовими розчинами ліквідувало спазм судин, зменшувало в'язкість крові, забезпечувало продуктивність міокарда.

Після ресусцитації пацієнтам з опіками проводилось введення підтримуючої внутрішньовенної рідини (MIVF, англ. Maintenance Intravenous Fluid) для компенсації втрати рідини через опікові рани і трансплантати, та втрат через посилений метаболізм. Початковий розрахунок проводився за формулою:

$$\text{MIVF} = (25 \text{ мл} + \% \text{TBSA}) \times \text{площа поверхні тіла (м}^2\text{)} + (1500 \text{ мл} \times \text{площа поверхні тіла (м}^2\text{)}) / 24 \text{ год.}$$

Раз на добу цей розрахунок за потреби підвищували або зменшували на 10% від початкового. Склад рідини доповнювався 5% декстрозою, розчином 5-10% глюкози з розчином Рінгера та іншими плазмозамінними та дезінтоксикаційними розчинами. Скорочення обсягу трансфузійної терапії проводилось під контролем водного балансу, темпу діурезу, центрального венозного тиску (ЦВТ), температури тіла, сатурації центральної венозної крові. Показниками адекватної протишокової трансфузійної терапії були: САТ > 90 мм Нг, серцевій індекс > 3л/хв/м<sup>2</sup>, тканинна оксигенація SO<sub>2</sub> > 90%, час капілярного заповнення («симптом плями») < 4с, темп

діурезу  $>1$  мл/кг/год, 40 мм вод.ст  $<ЦВТ < 180$  мм вод.ст, вміст загального білка  $>60$ г/л.

Для корекції гіпопротеїнемії, регулювання колоїдно-осмотичного тиску, для природного збільшення об'єму циркулюючої крові використовували препарати альбуміну 10-20%. Для забезпечення корекції згортально-антизгортальної системи крові застосовувались препарати нефракціонованого гепарину, в дозуванні 3000-5000 од. кожні 4–6 г (до 20 тис од. на добу). З метою корекції коагулопатії в післяшоковому періоді проводилось введення свіжозамороженої плазми крові в дозі 10-15 мл/кг маси на добу. З метою корекції метаболічного ацидозу застосовувались препарати натрію гідрокарбонату. В перші дні після опіку з метою стабілізації клітинних мембран та зменшення запалення застосовували дексаметазон в дозуванні 4 мг 2-3 рази на добу. Для оптимізації основного обміну і парентерального харчування з другої доби до терапії додавали розчини глюкози з інсуліном і калієм (20-30 мл 4% розчину КСІ на 400 мл 10% глюкози).

При термоінгаляційній травмі проводилась бронхоскопія з бронхосанацією та лаваж трахеобронхіального дерева, ШВЛ з позитивним тиском у кінці видиху, інгаляції зволоженого кисню. З метою пероральної дезінтоксикації, декомпресії верхніх відділів шлунково-кишкового тракту, з першого дня проводилось постійне зондове введення сорбентів, які поглинають, зв'язують та елімінують токсичні продукти як з просвіту кишківника, так і через кишкову стінку. При неможливості тяжкохворих пацієнтів приймати їжу перорально в найближчі 48 годин [184] налагоджувалось зондове харчування із застосуванням сумішей відповідно до потреб пацієнта.

Протягом всіх стадій опікової хвороби застосовувалась антибактеріальна терапія, частіше проводилась поєднанням 2х або 3х антибактеріальних препаратів широкого спектра дії в вищих добових дозах, а далі корегувалась в залежності від результатів бактеріологічних досліджень на мікрофлору і чутливість до антибактеріальних препаратів. При проведенні деескалаційної антибактеріальної терапії з першої доби при площі дермальних поверхневих опіків  $>30\%$  п.т. застосовувалась монотерапія карбапенемами або фторхінолонами. При глибоких

дермальних і субфасціальних опіках >20%п.т. та при опіках дихальних шляхів застосовувались карбапенеми разом з фторхінолонами та з додаванням похідних нітроїмідазолу. При використанні антибактеріальної терапії більше 8 діб порушувалась резистентність до колонізації шлунково-кишкового тракту, тому було показано призначення еубіотиків (пробіотиків) та протигрибкових препаратів.

## **2.2. Проведення ранніх хірургічних втручань та корекція гомеостазу**

Ранні хірургічні втручання у пацієнтів з опіками починались одразу після виведення із шоку – до розвитку тяжкої токсемії, тому протишокова терапія проводилась в повному обсязі. При цьому при наявності циркулярних опіків кінцівок, які спричиняють грубі порушення місцевого кровообігу і мікроциркуляції, чи опіків грудної клітки, що ускладнюють дихальні екскурсії, виконувались декомпресійні некротомії в період опікового шоку, на тлі протишокової терапії.

Втрата альбуміну й інших сироваткових білків у виді опікового ексудату спостерігалась по закінченню першої доби після травми і протягом 3-4-х тижнів після опіку залишалась значною. Раннє закриття опікових ран спеціальними рановими покриттями або аутодермотрансплантатами сприяло швидкому зниженню втрат рідини. Виконання першого хірургічного втручання проводилось після відновлення центральної і периферичної гемодинаміки, стабілізації водно-електролітного і білкового балансу в організмі. Досягнення достатнього рівня гідратації забезпечувало виведення хворого зі стану гіповолемії та значної гемоконцентрації. Мінімально адаптивний рівень загального білка, при якому хворим можливе було проведення великого висічення, дорівнював 55-60 г/л. Мінімально адаптивний рівень гемоглобіну, при якому можливо починати проведення раннього хірургічного лікування тяжкоопечених, складав не нижче 80 г/л. Операційну крововтрату заміщали переливанням відмитого еритроцитарного завису, обсяг трансфузії звичайно складав 3-5 мл/кг маси тіла хворого.

Показником достатності компенсації операційної крововтрати протягом операції був погодинний діурез. Зниження сечовиділення менш ніж до 0,5-1 мл/кг/година свідчило про недостатню швидкість компенсації операційних втрат. Для ефективності трансфузійної терапії в динаміці контролювались наступні показники: вміст гемоглобіну, еритроцитів, величина гематокриту, погодинний і добовий діурез, АТ і ЦВТ, ЧСС. Застосування даної тактики корекції операційної крововтрати і контролю над життєвими показниками дозволяло утримувати АТ на постійному рівні і не допускати його падіння, що, у свою чергу, забезпечувало достатню перфузію усіх внутрішніх органів і достатню оксигенацію тканин.

При хірургічному лікуванні дермальних опіків проводили ранні некректомії, коли висічення некрозу проводиться до 5-7-ї доби з моменту травми, до розвитку демаркаційного запалення; та етапні некректомії, як правило у пацієнтів з поширеними опіковими ураженнями, при яких висічення некрозу проводилось після 7-ї доби після травми, як при проведенні перев'язок, так і при запланованих операціях. За технікою виконання проводились тангенційні некректомії, при яких висічення некрозу виконувалось за допомогою технічних пристроїв (некротоми, дерматоми, тощо) пошарово і дозовано, товщиною від 0,1 мм до 2,0 мм, знімали некроз до появи ознак життєздатних тканин, та блочні некректомії які виконувались загальнохірургічними інструментами, як правило, при глибоких ураженнях, з висіченням дерми на всю товщину а також надфасціалью, єдиним блоком висічення некрозу дерми і гіподерми.

Закриття ран проводили розщепленими аутологічними дермотрансплантатами, товщиною 0,2-0,3 мм або одномоментно з некректомією, або після підготовки ранових поверхонь з використанням ранових покриттів (ліофілізованих ксенодермотрансплантатів або синтетичних матеріалів на поліуретановій губчастій основі та покриттів на гідрогелевій основі).

Пацієнти всіх досліджуваних груп та підгруп були репрезентативні за віком, площею та глибиною ураження, ІТУ.

### 2.3. Методи дослідження

При проведенні дослідження застосовувались загальноклінічні, імунологічні та імуноферментні, мікроскопічні, імуногістохімічні, статистичні методи. Загальноклінічні методи для оцінки загального стану пацієнту; для контролю за перебігом ранового процесу. Враховувалась кількість та обсяги хірургічних втручань (томій, некректомій, аутодермопластик), строки повного закриття ран; ступінь приживлення аутодермотрансплантатів, строки епітелізації, ускладнення опікової хвороби, загальний ліжко-день.

Для проведення лабораторних досліджень у пацієнтів в гострому періоді ОХ брались раньові відбитки, капілярна кров зони термічного ураження, периферична кров на 2-3-тю добу після опікової травми (вихідні показники, до початку застосування препаратів), на 7-8-му добу після травми (під час застосування препаратів) та на 13-14-ту добу (після завершення курсу застосування препаратів).

Рівні гомоцистеїну та ендотеліну-1 в сироватці крові з трилоном-В визначали методом ІФА за допомогою набору «Homocystein EIA kit 110-AXH00001» (Axis-Shield, Великобританія) та з використанням сорбційних колонок Ampreg на автоматичному ІФА-аналізаторі Immulaite-2000 [185-187]. Концентрацію оксиду азоту з визначали за вмістом кінцевого продукту оксиду азоту, нітриту натрію, за реакцією з реактивом Гріса після осадження білків ацетонітрилом [188, 189]. Вміст S-нітрозотіолів визначали в безбілкових фракціях плазми крові за приростом нітрит іонів після гідролізу S-N зв'язків ацетатом ртуті (мкмоль/л) [190].

Дослідження рівнів цитокінів (TNF- $\alpha$ , інтерлейкінів IL-1, IL-2, IL-6, IL-10) проводили за допомогою імуноферментного аналізатора Sunrise (Tecan, Австрія) відповідно до протоколу, що додається до діагностичної тест-системи з використанням ELISA-kit [191, 192].

Для визначення активності кальпаїнів,  $\alpha$ -1-інгібітора протеаз в якості субстрату використовували альбумін сироватки бика (БСА), для визначення  $\alpha$ -2-МГ – протамінсульфат [193]. Визначення вмісту кальпаїнів проводилось за допомогою протеолітичної реакції: досліджувані зразки вносили в лунки

полістиролової плашки з іммобілізованим комплексом пероксидази хрину і БСА в дублікаті, потім до одного додавали  $\text{CaCl}_2$  та цистеїн з отриманням кінцевої концентрації 5мМ, до другого – етилендіамінтетраацетат з отриманням кінцевої концентрації 10мМ. Для визначення вмісту  $\alpha$ -2-МГ після проведення реакції утворення комплексу протеаза-інгібітор протеази до реакційної суміші додавали 1:1 за об'ємом соєвий інгібітор трипсину (150 мкг/мл) та інкубували 5 хвилин при 37°C для зв'язування вільних протеаз. Рівень  $\alpha$ -2-МГ у зразках розраховували за остаточною активністю трипсину, зв'язаного з  $\alpha$ -2-МГ. Оцінку показників проводили в мікроеквівалентах задіяних хімічних зв'язків за хвилину, що відповідає активності 1 мг/л трипсину в 1 хв [194-196].

Функціональну активність фагоцитуючих клітин оцінювали за допомогою НСТ-тесту (тест з нітросинім тетразолієм), спонтанного та індукованого, що заснований на цитохімічному виявленні темно-синіх гранул диформаза, які утворюються в цитоплазмі НГ та моноцитів в результаті відновлення нітросинього тетразолію в мазках крові, забарвлених за Паппенгеймом. У готовому мазку підраховували загальну кількість клітин (НГ та моноцитів) і число клітин, що містять зерна формаза. Результат виражали у відсотковому відношенні числа активованих клітин до 100 клітин у мазку. Для індукованого НСТ-тесту використовували стимуляцію мікробним ліпополісахаридом *E.coli* за методом В.Park [197].

Досліджуваним матеріалом були також фрагменти шкіри з підлеглою підшкірною клітковиною, взяті в ділянці опікового ураження за допомогою одноразових пристроїв для punch-біопсії EPITHEASY діаметром 6,00 - 8,00 мм. Патоморфологічне дослідження проводилось на базі кафедри патологічної анатомії та судової медицини НУОЗ України імені П.Л.Шупика (завідувачка кафедри професор Дядик О.О.). Зразки шкіри фіксували в 10%-му розчині нейтрального забуференого формаліну протягом 24-36 годин. Після фіксування матеріалу була проведена стандартна обробка матеріалу в апараті Excelsior AS (Thermo Fisher Scientific, Велика Британія). Матеріал потім заливали в парафін на апараті HistoStar (Thermo Fisher Scientific, Велика Британія). З отриманих парафінових блоків на



ротаційному мікроскопі HM 325 (ThermoShandon, Велика Британія) виготовляли серійні гістологічні зрізи товщиною 2-3 мкм [198, 199]. Використовували комплекс патоморфологічних методів: забарвлення гематоксиліном та еозином, пікрофуксином за Ван Гізоном.

Проведено імуногістохімічне дослідження (ІГХД), яке виконували на адгезивних скельцях Super Frost Plus ("Menzel", Німеччина). Використовували систему детекції Master Polymer Plus Detection (Peroxidase, хромоген ДАБ) (Master Diagnostica, Spain), для високотемпературної обробки епітопів антигенів цитратний буфер (pH 6,0), EDTA буфер (pH 8,0).

ІГХД проводилось:

- для визначення наявності, розповсюдженості та кількості судин використовували мишачі моноклональні антитіла (МКА) до CD31 Ab-1 (Clone JC/70, Cultere Sup., Thermo Scientific);

- для визначення активності ангиогенеза досліджували судинний ендотеліальний фактор росту VEGF з кролячим поліклональним антитілом (Thermo Scientific);

- як критерій ефективності регенераційних процесів в дермі використовували сполучнотканинний маркер – кролячі МКА до віментину Ab-2 (Vimentin, Clone V9, Thermo Scientific);

- для встановлення особливостей процесів епідермізації та епітелізації пошкоджених ділянок використовували МКА мишачі антитіла до загально-епітеліального цитокератину PanCK (AE1/AE3, Clone Ab-1, Master Diagnostica, Spain).

Оцінку вираженості експресії маркерів проводили напівкількісним методом [200]. Морфометричне дослідження включало підрахунок середнього значення % позитивно забарвлених клітин від загальної площі поля зору (розраховується як середнє арифметичне % позитивно забарвлених клітин від загальної площі поля зору в 10 полях зору при збільшенні x200) та підрахунок середньої кількості судин в полі зору (розраховується як середнє арифметичне позитивно-забарвлених клітин в 10 полях зору при збільшенні x200).

Мікроскопічне дослідження та фотоархівування проводили із використанням світлооптичних мікроскопів «ZEISS» (Німеччина) з системою обробки даних «Axio Imager. A2» при збільшені об'єктивів 5x, 10x, 20x, 40x, біноккулярної насадки 1,5 та окулярів 10 з камерою ERc 5s. та «ZEISS» (Німеччина) з системою обробки даних Primo Star з планохроматичними об'єктивами ZEISS "Plan-Achromat" 4x, 10x, 40x з камерою AxioCam 105color.

Статистичну обробку отриманих даних проведено за допомогою структурного та порівняльного аналізу з використанням комп'ютерних програм Microsoft Excel та Statistica 64. Визначення нормальності вибірок відбувалося шляхом проведення тесту Шапіро-Вілкса (при  $n < 50$ ). Дані подавалися шляхом обчислення середнього значення та його похибки ( $M \pm m$ ). Результати обробляли з застосуванням методу варіаційної статистики за критерієм t Стьюдента для вибірок з нормальним розподілом з обчисленням показника довірчої ймовірності  $p$  (параметричний критерій). Для порівняння середніх значень використовували t-тест для двох залежних середніх, для порівняння середніх значень двох незалежних вибірок використовували t-тест для двох незалежних середніх значень. Достовірними вважали результати при  $p < 0,05$ . Для оцінки взаємозв'язку між досліджуваними показниками використовувався метод лінійної кореляції з використанням коефіцієнта кореляції Пірсона.

### **РОЗДІЛ 3 ЗМІНИ ПОКАЗНИКІВ ЕНДОТЕЛІАЛЬНОЇ ДИСФУНКЦІЇ, ЗАПАЛЕННЯ, ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ У ПАЦІЄНТІВ В РАНЬОМУ ПЕРІОДІ ОПІКОВОЇ ХВОРОБИ ПРИ КОМПЛЕКСНОМУ ЛІКУВАННІ**

#### **3.1. Результати застосування комбінованого препарату левокарнітину та аргініну гідрохлориду**

##### **3.1.1 Зміни показників ендотеліальної дисфункції**

Відомо, що опікове ураження призводить до розвитку ендотеліальної дисфункції внаслідок порушення клітинної цілісності, що призводить до порушення ендотелій-залежної релаксації головним чином через зниження біодоступності NO. В ендотеліальних клітинах оксид азоту необхідний для судинного гомеостазу, і зменшення біодоступності NO в результаті зниження його продукції та/або збільшення розпаду NO супероксидним аніоном означає початок ендотеліальної дисфункції [201]. NO також виконує життєво важливу роль у виживанні клітин шляхом поглинання вільних радикалів та інгібування бактеріальної інвазії. Оскільки АФК можуть взаємодіяти та інактивувати NO, судинний окислювальний стрес може призвести до зниження біодоступності NO. Оксид азоту виробляється з його попередника L-аргініну ендотеліальною синтазою оксиду азоту (eNOS) у реакції, яка включає перенесення електронів від нікотинамідаденіндинуклеотидфосфату (НАДФ) – через флавінаденіндинуклеотид (ФАД) і флавінмононуклеотид (ФМН) у домені С-кінцевої редуктази – до гему в N-кінцевому домені оксигенази, де субстратний аргінін окислюється до цитруліну та NO [202]. У фізіологічних умовах після вироблення NO дифундує через мембрану ендотеліальних клітин у клітини гладких м'язів судин для активації гуанілатциклази, що призводить до подальшої вазодилатації. В патологічних станах ендотеліальні клітини та клітини гострого запалення, такі як макрофаги,

можуть експресувати аргінази, які локально зменшують пули L-аргініну та позбавляють eNOS субстрату [203].

Аргінін (L-аргінін) є амінокислотою, яка бере участь у ряді біологічних процесів, включаючи біосинтез білків, цикл сечовини та виробництво оксиду азоту, бере участь у проліферації T-клітин та імунній відповіді господаря [202]. Це напівнезамінна або умовно незамінна амінокислота, оскільки вона може бути синтезована здоровими людьми, але під час стресу чи хвороби ця амінокислота стає незамінною. Оскільки L-аргінін діє як субстрат для eNOS, введення аргініну може посилити утворення NO та запобігти ендотеліальній дисфункції. Додавання аргініну в схеми лікування було випробувано при багатьох серцево-судинних захворюваннях а також при лікуванні хронічних ран як потенційна терапевтична стратегія [204-206], проте недостатньо інформації про застосування аргініну в лікуванні опікових уражень.

Карнітин є гідрофільним четвертинним аміном, який відіграє важливу роль в енергетичному метаболізмі шляхом перенесення довголанцюгових жирних кислот через внутрішню мітохондріальну мембрану для подальшого  $\beta$ -окислення [207]. L-карнітин також відіграє важливу роль у захисті клітинних мембран, запобіганні накопиченню жирних кислот, модулюванні кетогенезу та глікогенезу та у виведенні токсичних метаболітів [207]. Існують експериментальні та клінічні дослідження, які показують, що мітохондріальна дисфункція, спричинена порушенням гомеостазу карнітину, може відігравати певну роль у зниженні сигналізації NO та розвитку ендотеліальної дисфункції [208]. Недавні дослідження почали проливати світло на сприятливий вплив L-карнітину при використанні в різних клінічних методах лікування. Оскільки L-карнітин і його ефіри допомагають зменшити окислювальний стрес, вони були запропоновані для лікування багатьох станів, включаючи спричинене опіком клітинне та мітохондріальне пошкодження гепатоцитів і ниркових клітин тощо [209-211].

На основі вивчених літературних даних досліджені параметри запалення, ендотеліальної дисфункції та порушення білкового обміну у пацієнтів з опіковими травмами. Відповідно до необхідності підвищення якості трансфузійної терапії при

здійсненні хірургічного лікування в гострому періоді опікової хвороби розроблена патогенетично обґрунтована схема лікування з використанням сучасного аргінін-карнітинового трансфузійного препарату, що була застосована в пацієнтів підгрупи 1 основної групи. Застосування препарату починалось з 2ї-3ї доби з моменту опікової травми, протягом 5 днів, внутрішньовенно краплинно, зі швидкістю до 30 крапель на хвилину, в обсязі 100 мл 1 раз на добу. Комбінований препарат аргінін-карнітин містить 2,0 г левокарнітину та 4,2 г L-аргініну гідрохлориду в 100 мл, допоміжна речовина – вода для ін'єкцій.

Вивчена динаміка рівня такого показника ендотеліальної дисфункції як ET-1 у периферичній крові та капілярній крові опікової рани як при проведенні стандартної терапії (група порівняння), так і при додатковому застосуванні запропонованої схеми з аргінін-карнітиновим препаратом (підгрупа1), рис. 3.1.

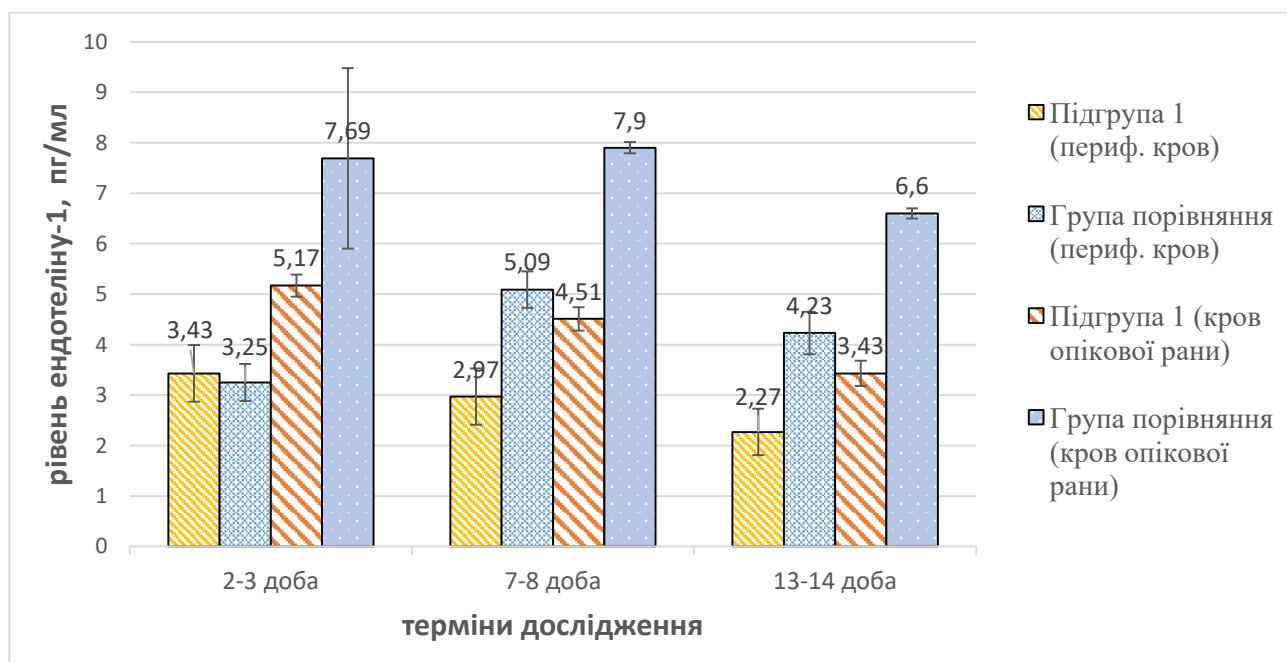


Рисунок 3.1 Динаміка рівня ендотеліну-1 у периферичній крові та капілярній крові опікової рани в пацієнтів підгрупи 1 та групи порівняння

З наведених даних видно, що вихідний рівень ET-1 в опіковій рані перевищує вихідний рівень у периферичній крові як в підгрупі 1, так і в групі порівняння, що свідчить про переважання локальної вазоконстрикції в зоні опікового ураження. В подальшому при застосуванні аргінін-карнітинового препарату спостерігалася виражена динаміка зниження ET-1 як у периферичній крові, так і в капілярній крові

опікової рани, тоді як у пацієнтів групи порівняння, де застосовувалася лише базисна терапія, таких змін не спостерігалось.

Рівень ET-1 у периферичній крові в підгрупі 1 мав виражену достовірну тенденцію до зниження з вихідного рівня на 2-3-тю добу  $3,43 \pm 0,56$  пг/мл до  $2,97 \pm 0,56$  пг/мл ( $p < 0,05$ ) на 7-8-му добу після опікової травми та продовжував знижуватися на 13-14-ту добу до  $2,27 \pm 0,46$  пг/мл, тоді як у групі порівняння рівень ET-1 на 7-8-му добу достовірно підвищився до  $5,9 \pm 0,36$  пг/мл порівняно з вихідним рівнем  $3,25 \pm 0,37$  пг/мл ( $p < 0,05$ ), та залишався достовірно підвищеним і на 13-14-ту добу, складаючи  $4,23 \pm 0,42$  пг/мл (Табл. 3.1).

Таблиця 3.1

Показники вмісту ендотеліну-1 у периферичній та капілярній крові ураженої ділянки у пацієнтів підгрупи 1 ( $n=23$ ) та групи порівняння ( $n=22$ ),  $M \pm m$

Показники, пг/мл	Підгрупа 1			Група порівняння			Референтні значення
	Доба після опікової травми						
	2-3	7-8	13-14	2-3	7-8	13-14	
Ендотелін-1, периферична кров	$3,43 \pm 0,56$ *	$2,97 \pm 0,56$ *, ***, ***	$2,27 \pm 0,46$ *, ***, ***	$3,25 \pm 0,37$ *	$5,09 \pm 0,36$ *, ***	$4,23 \pm 0,42$ *, ***	$0,22 \pm 0,9$
Ендотелін-1, капілярна кров з опікової рани	$5,17 \pm 0,22$ *	$4,51 \pm 0,23$ *, ***, ***	$3,43 \pm 0,25$ *, ***, ***	$7,69 \pm 1,79$ *	$7,9 \pm 0,11$ *	$6,6 \pm 0,1$ *	$0,9 \pm 0,1$

Примітка: \* - вірогідно порівняно з референтними показниками ( $p < 0,05$ );  
\*\* - вірогідно порівняно з показниками групи порівняння ( $p < 0,05$ );  
\*\*\* - вірогідно порівняно з вихідними показниками ( $p < 0,05$ ).

Вихідні рівні ET-1 в капілярній крові на 2-3-тю добу після травми в підгрупі 1 та групі порівняння не мали статистично достовірної відмінності ( $p = 0,16966$ ). Рівень ET-1 у капілярній крові ділянки ураження в підгрупі 1 достовірно знижувався з вихідного рівня  $5,17 \pm 0,22$  пг/мл до  $4,51 \pm 0,23$  пг/мл на 8-10-ту добу та до  $3,43 \pm 0,25$  пг/мл на 13-14-ту добу ( $p < 0,05$ ), тоді як у групі порівняння рівень ЕД-1 мав тенденцію до підвищення з вихідного рівня  $7,69 \pm 1,79$  пг/мл до  $7,9 \pm 0,11$  пг/мл на 7-8-му добу порівняно з вихідним рівнем. В подальшому, на 13-14-ту добу після опіку рівень ET-1 в капілярній крові рани в ГП мав деяку тенденцію до зниження

до рівнів  $6,6 \pm 0,1$  пг/мл, проте залишався достовірно вищим за показники даного періоду підгрупи 1 ( $p < 0,05$ ).

Таким, чином, після використання аргінін-карнітинового препарату в пацієнтів підгрупи 1 на 13-14-ту добу після опікової травми рівень ET-1 в периферичній крові знизився в 1,51 раза відносно вихідного рівня 2-3-ї доби і був в 1,86 раза нижчим за відповідний показник групи порівняння. Рівень ET-1 в капілярній крові опікової рани в пацієнтів підгрупи 1 на 13-14-ту добу знизився в 1,5 раза відносно вихідного рівня і був в 1,92 рази нижчим за відповідний рівень ET-1 в пацієнтів групи порівняння. Зниження рівнів даного вазоконстрикторного та прозапального пептиду сприяло зменшенню ішемічних проявів в ділянці опікової рани, корекції ендотеліальної дисфункції, що в подальшому мало позитивний вплив на перебіг ранового процесу та репаративної регенерації.

Проведене дослідження рівнів такого показника ендотеліальної дисфункції як гомоцистеїн, в периферичній крові та капілярній крові зони термічного ураження у пацієнтів підгрупи 1 (Табл. 3.2). Підвищення рівнів ГЦ погіршує здатність ендотелію регулювати тонус судин (шляхом зниження біодоступності вазодилатора NO), посилює окислювальний стрес і його сигнальні шляхи, а також викликає пошкодження судин через стрес ендоплазматичного ретикулуму [212].

Таблиця 3.2

Показники вмісту гомоцистеїну в периферичній крові та в капілярній крові зони ураження у пацієнтів підгрупи 1,  $M \pm m$ ,  $n=23$

Досліджувані показники, мкмоль/л	Доба після опікової травми			Референтні значення
	2-3	7-8	13-14	
Гомоцистеїн, периферична кров	$43,17 \pm 8,10$ $p=0,0001^*$	$34,94 \pm 5,63$ $p=0,0001^*$ $p < 0,0001^{**}$ $p=0,00676^{****}$	$25,12 \pm 6,45$ $p=0,0274^*$ $p < 0,0001^{**}$ $p < 0,0001^{***}$ $p=0,0088^{****}$	$10,2 \pm 0,5$
Гомоцистеїн, рана	$44,36 \pm 4,89$ $p < 0,0001^*$	$30,29 \pm 6,70$ $p < 0,0001^*$ $p < 0,001^{**}$	$22,22 \pm 3,46$ $p=0,001^*$ $p=0,0009^{**}$ $p < 0,0001^{***}$	$10,2 \pm 0,5$

Примітка: \* - вірогідно порівняно з референтними показниками ( $p < 0,05$ );

\*\* - вірогідно порівняно з вихідними показниками ( $p < 0,05$ );

\*\*\* - вірогідно порівняно з показниками на 7-8-му добу ( $p < 0,05$ );

\*\*\*\* - вірогідно порівняно з показниками в рані ( $p < 0,05$ ).

На 2-3-тю добу після опікової травми в пацієнтів підгрупи 1 рівень ГЦ периферичної крові становив  $43,17 \pm 8,10$  мкмоль/л, капілярної крові рани  $34,94 \pm 5,63$  мкмоль/л, що перевищувало референтні показники більше ніж в 4 рази. Відомо, що підвищені рівні ГЦ мають цитотоксичний ефект. Гіпергомоцистеїнемія переважно індукує піроптоз ендотеліальних клітин через каспазу-1-залежну активацію запалення, що призводить до ендотеліальної дисфункції [213]. ГЦ окислюється в плазмі периферичної крові, при цьому утворюється велика кількість кисневих радикалів, які посилюють агрегацію тромбоцитів, що не тільки сприяє пошкодженню ендотелію, але має вплив на формування та підтримку системної запальної відповіді та пов'язано з підвищенням концентрації в крові основних маркерів запалення.

На 7-8-му добу рівні ГЦ як в периферичній крові, так і в капілярній крові рани, достовірно знизились відносно вихідних показників до  $34,94 \pm 5,63$  мкмоль/л, та  $30,29 \pm 6,70$  мкмоль/л відповідно, при чому рівень ГЦ в зоні ураження був нижчим ніж в периферичній крові ( $p < 0,05$ ). В подальшому, на 13-14-ту добу, показники ГЦ периферичної крові і капілярної крові рани достовірно знизились як відносно вихідних показників, так і відносно показників на 7-8-му добу становили  $25,12 \pm 6,45$  мкмоль/л та  $22,22 \pm 3,46$  мкмоль/л відповідно, і також рівень ГЦ в опіковій рані був менше за рівень ГЦ в периферичній крові.

Вивчена динаміка рівня ГЦ у капілярній крові опікової рани як при проведенні стандартної терапії в групі порівняння, так і при застосуванні препарату аргінін-карнітину в підгрупі 1, (рис. 3.2)



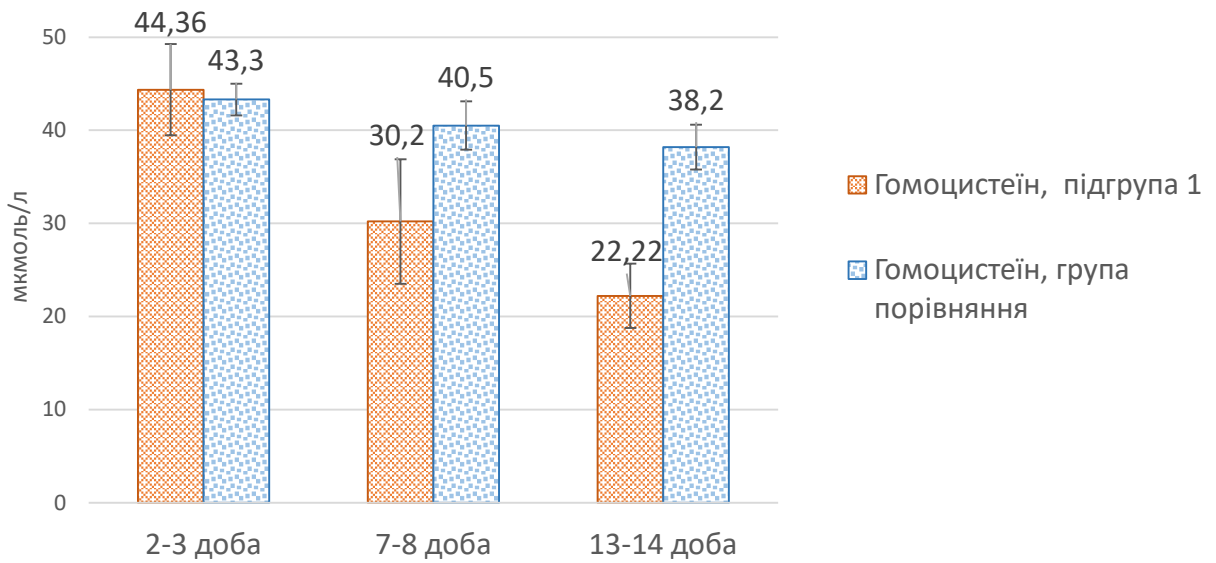


Рис.3.2 Показники гомоцистеїну в капілярній крові зони ураження у пацієнтів підгрупи 1 та групи порівняння

При визначенні в пацієнтів підгрупи 1 вмісту ГЦ в капілярній крові опікової рани на 7-8-му добу після травми встановлено зниження його концентрації у 1,46 рази з  $44,36 \pm 4,89$  мкмоль/л (вихідний рівень) до  $30,29 \pm 6,70$  мкмоль/л ( $p < 0,05$ ). При цьому у пацієнтів групи порівняння показники вмісту ГЦ в капілярній крові зони опіку зменшились незначно з  $43,3 \pm 1,7$  мкмоль/л до  $40,5 \pm 2,6$  мкмоль/л ( $p = 0,5163$ ) і на 7-8-му добу перевищували значення підгрупи 1 в 1,34 рази ( $p < 0,05$ ). На 13-14-ту добу після травми в пацієнтів підгрупи 1 спостерігалось подальше достовірне зниження вмісту ГЦ в капілярній зони ураження до  $22,22 \pm 3,46$  мкмоль/л, що було в 2 рази нижче від вихідних значень ( $p < 0,05$ ). В групі порівняння показник ГЦ на 13-14-ту добу складав  $38,2 \pm 2,4$  мкмоль/л, що не мало достовірної різниці з вихідними показниками ( $p = 0,13$ ) і було в 1,72 рази більше відповідного показника підгрупи 1 ( $p < 0,05$ ). Зменшення рівня гомоцистеїнемії в пацієнтів підгрупи 1 в периферичній крові та в капілярній крові опікової рани означає зменшення індукції прозапального фенотипу, зменшення активації ендотеліальних адгезивних молекул (в т.ч. ендотеліну-1), послаблення маніфестації судинних ускладнень в зоні термічного ураження.

При визначенні вмісту оксиду азоту за рівнем його кінцевого продукту, нітриту натрію, встановлено, що у пацієнтів з опіками досліджувані показники перевищували референтні значення як в підгрупі 1, так і в групі порівняння ( $p < 0,05$ ), (табл. 3.3).

Таблиця 3.3

Показники вмісту нітриту натрію та ендотеліну-1 в периферичній крові у пацієнтів підгрупи 1 ( $n=23$ ) та групи порівняння ( $n=22$ ),  $M \pm m$

Досліджувані показники, одиниці виміру	Підгрупа 1			Група порівняння			Референтні значення
	Доба після опікової травми						
	2-3	7-8	13-14	2-3	7-8	13-14	
Нітрит натрію, мкмоль/л	8,5±0,29 *	7,37±0,38 *,**,****	6,28±0,45 *,**	8,68±0,08 *	3,48±0,2 *,**	6,71±0,45 *,**	4,69±0,42
Ендотелін-1, пг/мл	3,43±0,56 *	2,97±0,56 *,**,****	2,27±0,46 *,**,****	3,25±0,37 *	5,09±0,36 *,**	4,23±0,42 *,**	0,22±0,9

Примітка: \* - вірогідно порівняно з референтними показниками ( $p < 0,05$ );  
 \*\* - вірогідно порівняно з вихідними показниками ( $p < 0,05$ );  
 \*\*\* - вірогідно порівняно з показниками на 7-8-му добу ( $p < 0,05$ );  
 \*\*\*\* - вірогідно порівняно з групою порівняння ( $p < 0,05$ )

На 7-8-му добу після опікової травми у пацієнтів підгрупи 1 встановлено достовірне зниження у 1,15 рази показників вмісту кінцевих продуктів оксиду азоту з вихідних показників  $8,5 \pm 0,29$  мкмоль/л до  $7,37 \pm 0,38$  мкмоль/л ( $p < 0,05$ ). В групі порівняння рівень даного показника значно знизився у 2,49 рази з  $8,68 \pm 0,08$  мкмоль/л до  $3,48 \pm 0,2$  мкмоль/л ( $p < 0,05$ ) та був достовірно нижчим у 2,12 раза за відповідні показники підгрупи 1. В подальшому на 13-14-ту добу рівень вмісту кінцевих продуктів NO в крові пацієнтів підгрупи 1 становив  $6,28 \pm 0,45$  мкмоль/л, що було в 1,35 рази нижче за вихідний рівень ( $p < 0,05$ ). В пацієнтів групи порівняння на 13-14-ту добу даний показник склав  $6,71 \pm 0,45$  мкмоль/л, що було в 1,29 раза достовірно нижче за вихідний рівень ( $p < 0,05$ ), та в 1,07 раза вище за відповідний рівень в пацієнтів підгрупи 1, проте без достовірної різниці ( $p > 0,05$ ). Як видно з таблиці 3.3, в підгрупі 1 відбувалось достовірне зниження рівня ET-1 протягом всього періоду дослідження, в той час як в групі порівняння на 7-8-му добу відбулось як значне підвищення рівня ET-1, так і різке зниження продуктів NO, що свідчить про виснаженість субстратів для продукування оксиду азоту NO-

синтазами. Відомо, що NO має антагоністичну дію відносно ET-1 за рахунок пригнічення його вивільнення через цГМФ-залежний механізм, а також NO зменшує тривалість взаємодії між ET-1 і його рецепторами [68], що призводить до послаблення вазоконстрикції, викликаній підвищеним рівнем ET-1. Застосування аргінін-карнітинового препарату в підгрупі 1 дозволило підтримати вміст NO на рівні, достатньому для достовірного зниження рівнів ET-1 в периферичній крові у пацієнтів з опіками.

Для вивчення можливих зв'язків між рівнями вмісту досліджуваних маркерів ендотеліальної дисфункції в різні терміни раннього періоду ОХ проведено кореляційний аналіз між показниками NO та ET-1 і ГЦ в периферичній крові та капілярній крові опікової рани в пацієнтів підгрупи 1 (табл. 3.4).

Таблиця 3.4

Результати кореляційного аналізу показників гомоцистеїну (ГЦ), ендотеліну-1 (ET-1) та оксиду азоту (NO) в пацієнтів підгрупи 1 в ранньому періоді опікової хвороби, r

Показники	NO, 2-3-тя доба	NO, 7-8-ма доба	NO, 13-14-та доба
ГЦ кров	-0,663649	-0,040498	-0,333333
ГЦ рана	<b>-0,944635*</b>	<b>-0,779629*</b>	-0,396059
ET-1 кров	<b>-0,712430*</b>	0,000000	<b>0,968496*</b>
ET-1 рана	<b>0,811155*</b>	-0,146756	-0,878310

Примітка: \*-достовірність даних при  $p < 0,05$

Встановлено, що на 2-3-тю добу після опікової травми рівень NO має сильний зворотній кореляційний зв'язок з показниками ГЦ в капілярній крові рани та зберігається до 7-8-ї доби, що може вказувати на підвищене споживання NO, який використовується для нейтралізації ГЦ. Відомо, що ГЦ має як пряму цитотоксичну дію на ендотелій, так і здатність пошкоджувати опосередковано через інші молекули. Він провокує ПОЛ під дією вільних радикалів і пошкодження апопротейнів, окислені ліпіди стимулюють експресію прозапальних цитокінів, безпосередньо інактивують NO і є цитотоксичними для ендотеліальних клітин. При цьому зростає споживання NO, який використовується для нейтралізації ГЦ.

На 2-3-тю добу після травми встановлений прямий сильний кореляційний зв'язок між показниками NO та ET-1 в периферичній крові та зворотній сильний кореляційний зв'язок між рівнями NO та ET-1 капілярній крові рани. В подальшому на 13-14-ту добу відмічений достовірний прямий сильний кореляційний зв'язок між показниками NO та ET-1 в периферичній крові. Наявність різнонаправленого сильного кореляційного зв'язку між показниками NO та ET-1 в капілярній крові й NO та ET-1 в периферичній крові підтверджує порушення судинної проникності та наявність ендотеліальної дисфункції в 2-3-тю добу після опікової травми. Проте в подальших термінах дослідження, на 7-8-му добу в показниках пацієнтів підгрупи 1 дана кореляція не простежується, а на 13-14-ту добу має місце прямий сильний кореляційний зв'язок між показниками NO та ET-1 в периферичній крові, що може свідчити про зменшення проявів ендотеліальної дисфункції.

Відомо, що NO є газотрансмітером із дуже коротким періодом напіврозпаду, і для забезпечення його фізіологічної ролі потребує зберігання та транспортування до місця його дії. S-нітрозотіоли являють собою основну форму зберігання NO в судинній системі. Запас NO, утворений S-нітрозотіолами, є біодоступним для ініціювання вазорелаксації [214-216]. При визначенні вмісту S-нітрозотіолів в периферичній крові як в пацієнтів підгрупи 1, так і групи порівняння, на 2-3-тю добу після травми зафіксовано підвищення показників відносно референтних більше ніж у 2 рази ( $p < 0,001$ ), (табл. 3.5).

Таблиця 3.5

Показники вмісту S-нітрозотіолів в периферичній крові у пацієнтів підгрупи 1 (n=23) та групи порівняння (n=22),  $M \pm m$

Досліджувані показники, нмоль/мл	Підгрупа 1			Група порівняння			Референтні значення
	Доба після опікової травми						
	2-3	7-8	13-14	2-3	7-8	13-14	
S-нітрозотіоли	1,89±0,02 *	1,79±0,02 ***,****	1,64±0,05 ***,****,****	1,89±0,04 *	1,94±0,23 **	1,82±0,2 ***,****	0,857 ±0,142

Примітка: \* - вірогідно порівняно з референтними показниками ( $p < 0,05$ );  
 \*\* - вірогідно порівняно з вихідними показниками ( $p < 0,05$ );  
 \*\*\* - вірогідно порівняно з показниками на 7-8-му добу ( $p < 0,05$ );  
 \*\*\*\* - вірогідно порівняно з групою порівняння ( $p < 0,05$ )

В другому періоді досліджень (на 7-8-му добу після травми) у пацієнтів підгрупи 1 відмічене достовірне зниження показника S-нітрозотіолів з вихідного

рівня  $1,89 \pm 0,02$  нмоль/мл до  $1,79 \pm 0,02$  нмоль/мл, в той час як в групі порівняння даний показник зріс з  $1,89 \pm 0,04$  до  $1,94 \pm 0,23$  нмоль/мл і був достовірно вищим за показник підгрупи 1. Відомо, що надмірне утворення S-нітрозотіолів може викликати незворотну блокаду внутрішньоклітинного дихання і токсичне ушкодження клітин [217]. В подальшому, на 13-14-ту добу після травми, в підгрупі 1 визначається достовірно зниження рівня S-нітрозотіолів відносно вихідного рівня ( $p=0,019$ ) до значень  $1,64 \pm 0,05$  нмоль/мл, в групі порівняння також відзначається зниження даного показника як відносно рівня на 7-8 день, так і відносно вихідних рівнів, проте залишався достовірно вищим в 1,11 раза за відповідний показник підгрупи 1. Зниження вмісту S-нітрозотіолів свідчить про їх значне використання для синтезу NO, який в свою чергу використовується для нейтралізації гомоцистеїну. Оскільки неутілізований ГЦ підлягає аутоокисленню з утворенням  $H_2O_2$ , супероксидних та гідроксильних радикалів, що ушкоджують ендотелій, його нейтралізація є необхідним фактором для корекції ендотеліальної дисфункції.

При проведенні кореляційного аналізу між показниками ГЦ в капілярній крові опікової рани та рівнями S-нітрозотіолів встановлений сильний прямий кореляційний зв'язок,  $r=0,75624$  ( $p<0,05$ ), рис. 3.3.

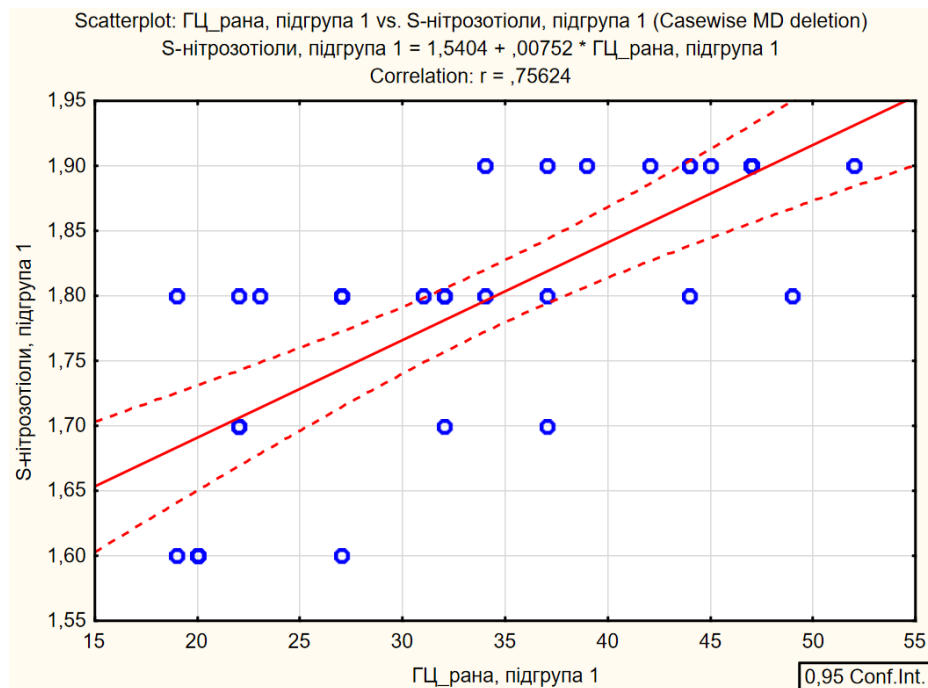


Рис 3.3 Кореляція між показниками S-нітрозотіолів та гомоцистеїну в капілярній крові рани в пацієнтів підгрупи 1

Зниження вмісту S-нітрозотіолів, яке спостерігається в підгрупі 1, свідчить про їх значне використання для синтезу NO, який використовується при нейтралізації ГЦ, і важливим є також те, що S-нітрозотіоли здатні виділяти NO у місцях їхньої фізіологічної необхідності [218], а саме – в ділянці опікової рани. Також зниження рівнів S-нітрозотіолів зменшує ризик формування незворотної блокади внутрішньоклітинного дихання та токсичного ушкодження клітин.

Таким чином, достовірне зниження рівнів ЕД-1 в периферичній крові та капілярній крові опікової рани, достовірне зниження вмісту гомоцистеїну в капілярній крові зони термічного ураження, динаміка змін показників вмісту S-нітрозотіолів та NO свідчить про значну ендотеліотропну дію застосовуваного аргінін-карнітинового препарату.

### 3.1.2 Зміни показників цитокінів

Ушкодження тканин при опіковій травмі зумовлює значний викид активних речовин та медіаторів запалення – алармінів, які ініціюють активацію внутрішньоклітинних сигнальних шляхів, в результаті чого відбувається експресія генів цитокінів (TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6, IL-12, інтерферонів  $\alpha/\beta$  та інших) у відповідь на пошкодження. Експресія IL-1 та TNF- $\alpha$  найбільшою мірою виражена в моноцитах, тканинних макрофагах і дендритних клітинах, В-лімфоцитах, НК та епітеліальних клітинах. Відомо, що запалення є життєво важливим для успішного загоєння опікової рани, а медіатори запалення забезпечують імунні сигнали для залучення мієлоїдних клітин і різних субпопуляцій Т-клітин, які ініціюють проліферативну фазу [219]. Мієлоїдні клітини, такі як НГ, моноцити та тучні клітини, рекрутуються з кровотоку, їх функція регулюється цитокінами та факторами росту, які стимулюють активність фібробластів і кератиноцитів у фазах проліферації та ремоделювання під час процесів загоєння опікових ран. Проте якщо запалення надмірне і пролонговане, то стимуляція прозапальними медіаторами мієлоїдних клітин, що беруть участь у загоєнні рани, призведе до утворення нефункціональної надмірної рубцевої тканини [220].

Центральним елементом прозапальних явищ є макрофагальна клітина і цитокіни TNF- $\alpha$  та IL-6. TNF- $\alpha$  є сильним фактором, що активує пероксидацію ліпідів, активізує систему згортання крові, посилює тромбогенну та судинозвужувальну активність, знижує синтез NO, частково відповідає за індукування апоптозу різних клітинних елементів. Термічна травма збільшує продукцію прозапальних медіаторів (простагландин E2, реактивні проміжні продукти азоту, IL-6, TNF- $\alpha$ ) основними їх продуцентами — макрофагами. Теплове пошкодження також призводить до тривалого та глибокого гіперметаболізму, який включає збільшення продукції прозапальних цитокінів, а також утворення АФК, таких як супероксидний аніон, гідроксильний радикал, перекис водню та реакційноздатні форми азоту.

Проведене дослідження цитокінового статусу у пацієнтів підгрупи 1 показало, що на 2-3-тю добу після опікової травми спостерігається різке підвищення прозапальних цитокінів (табл. 3.6)

Таблиця 3.6  
Показники цитокінів у сироватці периферичної крові пацієнтів підгрупи 1,  
M  $\pm$  m, n =23

Досліджувані показники, пг/мл	Доба після опікової травми			Референтні значення
	2-3	7-8	13-14	
Інтерлейкін-1 $\beta$	138,59 $\pm$ 5,01 p<0,0001*	135,35 $\pm$ 4,51 p<0,0001* p<0,01**	129,31 $\pm$ 9,70 p<0,0001* p<0,01**	26,0 $\pm$ 8,1
Інтерлейкін -2	65,29 $\pm$ 4,21 p<0,0001*	62,53 $\pm$ 4,33 p<0,0001* p<0,01**	60,19 $\pm$ 4,42 p<0,0001* p<0,01**	12,75 $\pm$ 1,25
Інтерлейкін -6	84,88 $\pm$ 3,41 p<0,0001*	83,65 $\pm$ 1,58 p<0,0001* p=0,04592**	82,31 $\pm$ 1,35 p<0,0001* p=0,0154** p=0,00634***	42,7 $\pm$ 6,5
Інтерлейкін -10	68,82 $\pm$ 2,48 p=0,846*	72,88 $\pm$ 1,69 p=0,024* p<0,0001**	74,69 $\pm$ 1,89 p=0,0046* p<0,0001** p=0,00279***	68,3 $\pm$ 0,97
TNF- $\alpha$	260,24 $\pm$ 6,98 p<0,0001*	255,35 $\pm$ 6,19 p<0,0001* p=0,00035**	248,88 $\pm$ 8,19 p<0,0001* p=0,00041** p=0,00051***	24,2 $\pm$ 6,0

Примітка: \* - відносно референтних показників;  
 \*\* - відносно показників на 2-3-тю добу  
 \*\*\* - відносно показників на 7-8-му добу

Визначене різке підвищення рівнів прозапальних інтерлейкінів ІЛ-1 та TNF- $\alpha$  відносно референтних показників в 5,33 ( $p < 0,05$ ) та 10,7 ( $p < 0,05$ ) рази відповідно. Цей факт є свідченням вираженої запальної реакції. Рівень ІЛ-2 визначався підвищеним в 5,12 рази ( $p < 0,05$ ), ІЛ-6 вищим в 1,98 рази ( $p < 0,05$ ) відносно референтних показників. Відомо, що прозапальні цитокіни TNF- $\alpha$ , ІЛ-1 а також ІЛ-6 можуть індукувати розвиток ендотеліальної дисфункції, наслідком якої є адгезія НГ, моноцитів, лімфоцитів, що призводить до запальної інфільтрації судинної стінки, що потенційно сприяє розвитку ішемії в зоні термічного ураження [221]. ІЛ-1 стимулює нейтрофілію та білки гострої фази, індукує продукцію протеолітичних ферментів і простагландинів фібробластами, хондроцитами та іншими клітинами, посилює експресію та продукцію хемокінів (ІЛ-8, MCP-1) і запальних цитокінів (TNF- $\alpha$ , ІЛ-6, власне ІЛ-1), індукує вироблення АФК [222]. На 7-8 добу після опікової травми в пацієнтів підгрупи 1 спостерігалась тенденція до зниження рівня ІЛ-1 з  $138,59 \pm 5,01$  пг/мл до  $135,35 \pm 4,51$  пг/мл, а в подальшому, на 13-14-ту добу, достовірне зниження до  $129,31 \pm 9,70$  пг/мл ( $p < 0,05$ ).

ІЛ-2 є плейотропним цитокіном, який взаємодіючи з іншими цитокінами впливає на розвиток та активацію імунних клітин, і ці взаємодії між ними можуть впливати на загоєння ран. Відомо, що на ранових ділянках ІЛ-2 активує макрофаги та НК і сприяє проліферації В- і Т-лімфоцитів [223]. Крім того, існують дані, що ІЛ-2 синергізує з інтерфероном- $\alpha$  та сприяє локальному росту ендотеліальних клітин і ангиогенезу, що необхідно для ревазуляризації місця рани [224, 225]. Дослідження вмісту ІЛ-2 в периферичній крові пацієнтів підгрупи 1 показало, що його рівень на 2-3-тю добу після травми становив  $65,29 \pm 4,21$  пг/мл, в подальшому мав тенденцію до зниження на рівень  $62,53 \pm 4,33$  пг/мл на 7-8-му добу та достовірне зниження на 13-14-ту добу до  $60,19 \pm 4,42$  пг/мл ( $p < 0,05$ ), проте лишався достовірно вищим за референтні показники.

Проведений кореляційний аналіз між показниками цитокінів в різні періоди дослідження (табл. 3.7) показав наявність прямого кореляційного зв'язку середньої



сили між рівнями ІЛ-1 та ІЛ-2 на 2-3тю добу ( $r=0,568799$ ,  $p<0,05$ ) та на 7-8-му добу після опікової травми ( $r=0,689982$ ,  $p<0,05$ ), а на 13-14-ту добу даний зв'язок є прямим та сильним ( $r=0,960531$ ,  $p<0,05$ ).

Таблиця 3.7

Результати кореляційного аналізу показників цитокінів в периферичній крові пацієнтів підгрупи 1, r

Показники	ІЛ-1	ІЛ-2	ІЛ-6	ІЛ-10	TNF- $\alpha$	
Доба 2-3-тя	ІЛ-1	1,000000	0,568799*	0,406775	0,340544	-0,425852
	ІЛ-2	0,568799*	1,000000	-0,084583	0,460123	<b>-0,751463*</b>
	ІЛ-6	0,406775	-0,084583	1,000000	-0,475810	-0,019792
	ІЛ-10	0,340544	0,460123	-0,475810	1,000000	-0,235741
	TNF- $\alpha$	-0,425852	<b>-0,751463*</b>	-0,019792	-0,235741	1,000000
Доба 7-8-ма	ІЛ-1	1,000000	0,689982*	0,413298	0,554409*	-0,145588
	ІЛ-2	0,689982*	1,000000	0,495096*	<b>0,751236*</b>	-0,296233
	ІЛ-6	0,413298	0,495096*	1,000000	0,100512	-0,037594
	ІЛ-10	0,554409*	<b>0,751236*</b>	0,100512	1,000000	-0,103179
	TNF- $\alpha$	-0,145588	-0,296233	-0,037594	-0,103179	1,000000
Доба 13-14-та	ІЛ-1	1,000000	<b>0,960531*</b>	0,581077*	0,120182	0,562709*
	ІЛ-2	<b>0,960531*</b>	1,000000	0,525289*	0,068831	0,510847
	ІЛ-6	0,581077*	0,525289*	1,000000	0,033408	0,555958*
	ІЛ-10	0,120182	0,068831	0,033408	1,000000	-0,328099
	TNF- $\alpha$	0,562709*	0,510847	0,555958*	-0,328099	1,000000

Примітка: \*-достовірність даних при  $p<0,05$

Відомий широкий спектр ефектів, що опосередковані ІЛ-6: зміна проникності судин, залучення імунних клітин, дисфункція ендотелію, а також судинна гіпертрофія та фіброз, що потенційно зумовлює розвиток ішемії в зоні термічного ураження. ІЛ-6 чинить прямий вплив на активність та експресію eNOS, а також на збільшення судинного супероксиду, який швидко інактивує NO, тим самим обмежуючи біодоступність NO [221]. При визначені вмісту ІЛ-6 в периферичній крові в пацієнтів підгрупи 1 встановлено, що на 2-3-тю добу він становив  $84,88\pm 3,41$  пг/мл, на 7-8-му добу знизився до  $83,65\pm 1,58$  пг/мл та мав тенденцію до зниження до  $82,31\pm 1,35$  пг/мл на 13-14-ту добу. В групі порівняння вихідний рівень ІЛ-6 становив  $85,30\pm 13,10$  пг/мл, на 7-8-му добу значно зріс до  $131,0\pm 11,21$  пг/мл ( $p<0,05$ ) відносно вихідних показників та перевищував відповідний показник

підгрупи 1 в 1,57 раза. На 13-14-ту добу рівень ІЛ-6 становив  $131,2 \pm 9,25$  пг/мл, що в 1,54 раза вище за вихідний рівень та в 1,59 раза вище за відповідний показник підгрупи 1 ( $p < 0,05$ ), (рис 3.4). За результатами кореляційного аналізу визначено, що між ІЛ-6 та ІЛ-1 й ІЛ-2 існує прямий кореляційний зв'язок середньої сили на 7-8-му та на 13-14-ту добу після опікової травми (табл. 3.7).

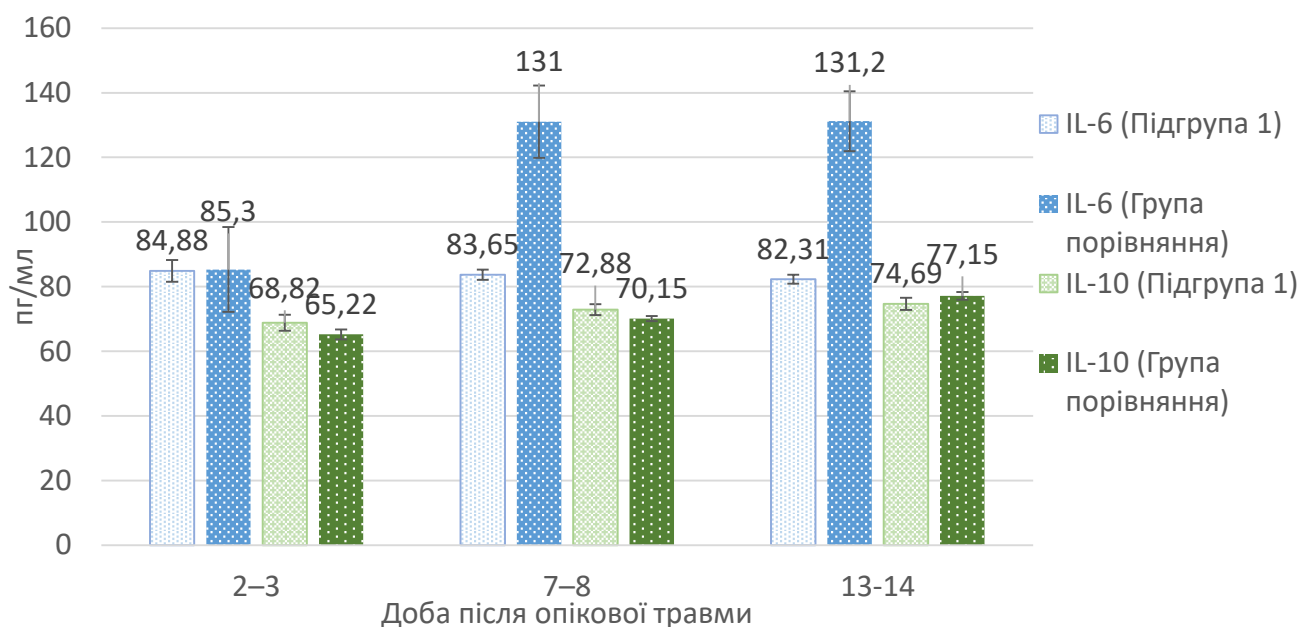


Рис.3.4 Динаміка показників інтерлейкіну-6 та інтерлейкіну-10 в периферичній крові пацієнтів підгрупи 1 та групи порівняння

Таким чином, в пацієнтів підгрупи 1 застосування комбінованого препарату до загальноприйнятої схеми лікування призвело до запобігання зростання рівнів ІЛ-6, збереження доступності NO, зменшенню можливих проявів ендотеліальної дисфункції, запобігання розвитку ішемії в зоні термічного ураження.

ІЛ-10 є плейоморфним цитокіном з різноманітними фенотиповими ефектами, виробляється майже всіма видами активованих імунних клітин, включаючи В-клітини, гранулоцити, макрофаги, дендритні клітини та множинні підгрупи Т-клітин. ІЛ-10 є одним з ключових цитокінів, що стимулюють перехід макрофагів від прозапального фенотипу М1 до протизапального або альтернативно активованого фенотипу М2. Цитокіни, які продукуються протизапальними М2, стимулюють клітинну міграцію та проліферацію кератиноцитів, фібробластів та ендотеліальних клітин для відновлення дерми, епідермісу та судинної системи

[226]. Фактори росту, такі як васкулярний VEGF і TGF- $\beta$ , які сприяють проліферації клітин і синтезу білка, також секретуються макрофагами M2. Фактори росту, що вивільняються макрофагами, сприяють міграції фібробластів у рану [227], де вони проліферують і починають виробляти елементи позаклітинного матриксу, такі як колаген [228].

При дослідженні показників IL-10 в периферичній крові пацієнтів підгрупи 1 встановлено, що вихідний рівень цитокіну становить  $68,82 \pm 2,48$  пг/мл, та не відрізняється від референтних значень ( $p > 0,05$ ), проте на 7-8й день після опікової травми визначене достовірне зростання рівня IL-10 до  $72,88 \pm 1,69$  пг/мл ( $p < 0,05$ ) та зростання даного показника до  $74,69 \pm 1,89$  пг/мл на 13-14-ту добу ( $p < 0,05$ ) (табл. 3.6). В пацієнтів групи порівняння вихідний рівень IL-10 складав  $65,22 \pm 1,56$  пг/мл та в подальшому мав тенденцію до зростання до  $70,15 \pm 0,8$  пг/мл на 7-8-му добу та до  $77,15 \pm 1,22$  пг/мл на 13-14-ту добу, (рис.3.4), тим самим достовірно перевищуючи як вихідні показники, так і референтні ( $p < 0,05$ ). На 13-14 добу рівень IL-10 в групі порівняння був достовірно вищим за відповідний показник підгрупи 1. При проведенні кореляційного аналізу встановлений прямий сильний кореляційний зв'язок між IL-10 та IL-2 в періоді 7-8-ї доби після опікової травми ( $r = 0,75$ ), (табл. 3.7). Підвищення вмісту IL-10 в периферичній крові в пацієнтів групи порівняння свідчить про розвиток реакції пригнічення імунної відповіді (імунодепресивної фази SIRS) у пацієнтів із опіками.

TNF- $\alpha$  є одним із прозапальних цитокінів, що виділяються макрофагами та лімфоцитами у відповідь на пошкодження клітин, його головною роллю є регуляція імунних клітин, які генерують гострофазову реакцію на опікові ушкодження. Відомо, що TNF- $\alpha$  здатний здійснювати складну регуляцію подій, що призводять до запальної відповіді, він викликає вивільнення IL-1 та IL-6, таким чином посилюючи неспецифічну імунну відповідь на опікове ураження. Крім того, TNF- $\alpha$  сприяє імунній гіперреактивності після опіків, збільшує утворення АФК, посилює апоптоз у печінці, м'язах і жирових клітинах, діє як потужніший катаболічний цитокін [80, 229].

При визначенні рівнів TNF- $\alpha$  в периферичній крові пацієнтів підгрупи 1 встановлено, що на 2-3 добу рівень складав  $260,24 \pm 6,98$  пг/мл, на 7-8-му добу достовірно знизився відносно вихідних показників до  $255,35 \pm 6,19$  пг/мл ( $p < 0,05$ ), і на 13-14-ту добу також продовжував достовірно знижуватись до рівня  $248,88 \pm 8,19$  пг/мл ( $p < 0,05$ ), (табл. 3.6). В пацієнтів групи порівняння вихідний рівень TNF- $\alpha$  становив  $265,0 \pm 15,5$  пг/мл, а в подальшому, на 7-8-му добу відмічене достовірне відносно вихідного рівня зростання до  $281,75 \pm 4,10$  пг/мл ( $p < 0,05$ ), що було в 1,10 раза вище за відповідний показник підгрупи 1 (рис 3.5). В подальшому, на 13-14-ту добу в пацієнтів групи порівняння відмічене достовірне зниження рівня TNF- $\alpha$  відносно показників 7-8-ї доби та становило  $256,35 \pm 15,70$  пг/мл ( $p < 0,05$ ), проте даний рівень був достовірно вищим за відповідні значення підгрупи 1 ( $p < 0,05$ ).

При проведенні кореляційного аналізу встановлений сильний зворотній кореляційний зв'язок між рівнем TNF- $\alpha$  та IL-2 на 2-3-тю добу після опіку ( $r = -0,75$ ,  $p < 0,05$ ), а на 13-14-ту добу відмічений прямий кореляційний зв'язок між TNF- $\alpha$  та IL-1 ( $r = 0,56$ ) та TNF- $\alpha$  і IL-6 ( $r = 0,55$ ) (табл. 3.7).

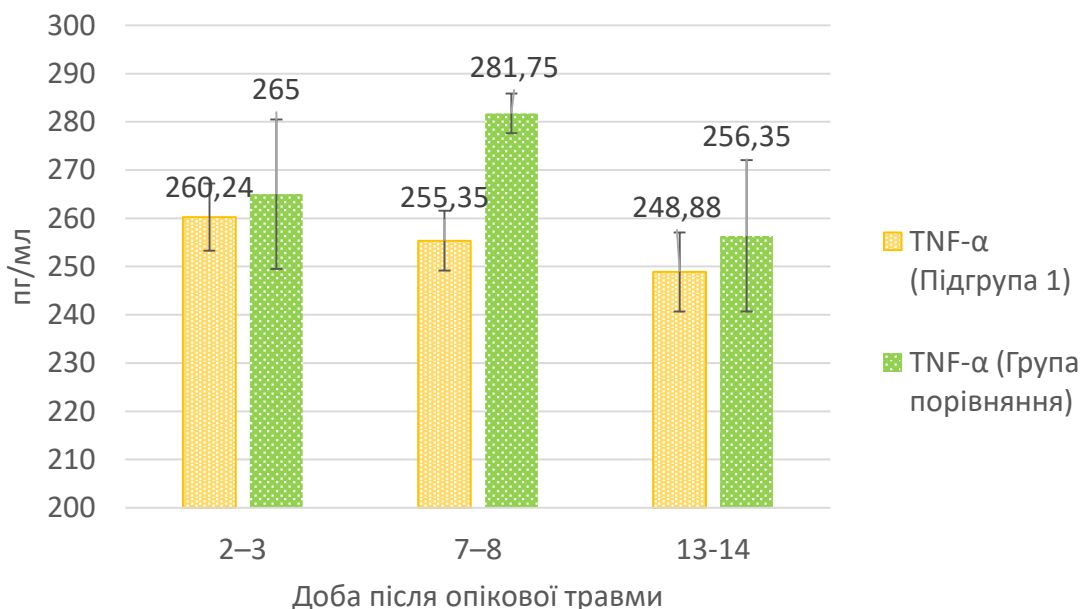


Рис.3.5 Динаміка показників TNF- $\alpha$  в периферичній крові пацієнтів підгрупи 1 та групи порівняння

Результати дослідження вказують, що реактивність неспецифічної імунної відповіді посилюється після опікової травми. За таких умов вроджені імунні

клітини набувають активності щодо патогенасоційованих та дистресасоційованих молекулярних патернів (PAMP і DAMP), виробляючи високий вміст цитокінів, відбувається розбалансування імунної відповіді, що є однією з ознак розвитку системної запальної відповіді. Встановлено, що при застосуванні комбінованого препарату аргініну-карнітину існує достовірна тенденція до зниження рівнів ІЛ-1, ІЛ-2. Рівні ІЛ-6 мали більш виражену динаміку до зниження відносно групи порівняння. Підвищення вмісту ІЛ-10 свідчило про розвиток реакцій пригнічення імунної відповіді, проте динаміка його зростання була менш вираженою ніж в пацієнтів групи порівняння.

### 3.1.3 Зміни показників протеолізу

Проведено дослідження динаміки системи протеази-інгібітори протеаз за рівнями кальпаїнів,  $\alpha$ -1-інгібітора протеаз ( $\alpha$ -1ІІ) та  $\alpha$ -2-макроглобуліну ( $\alpha$ -2МГ) в периферичній крові пацієнтів підгрупи 1 та групи порівняння на 2-3-тю, 7-8-му та 13-14-ту добу після опікової травми (табл. 3.8).

Таблиця 3.8

Показники протеолітичної активності в периферичній крові пацієнтів підгрупи 1 (n=23) та групи порівняння (n=22), М  $\pm$  m

Показники, одиниці вимірю- вання	Підгрупа 1			Група порівняння			Рефе- рентні значення
	Доба після опікової травми						
	2-3	7-8	13-14	2-3	7-8	13-14	
Кальпаїни, мкЕкв/хв	57,22 $\pm$ 1,86 p<0,001*	37,69 $\pm$ 2,08 p<0,001* p<0,001** p<0,001****	33,24 $\pm$ 2,42 p<0,001* p<0,001** p<0,001*** p<0,001****	59,22 $\pm$ 3,26 p<0,001*	61,51 $\pm$ 5,49 p<0,001*	60,12 $\pm$ 7,17 p<0,001*	10,9 $\pm$ 1,7
$\alpha$ -1ІІ, мкмоль/л	85,19 $\pm$ 1,12 p<0,001*	79,95 $\pm$ 1,93 p<0,001* p<0,001**	74,26 $\pm$ 3,05 p<0,001* p<0,001** p<0,001***	87,7 $\pm$ 7,9 p<0,001*	72,1 $\pm$ 7,8 p<0,001* p<0,001**	68,0 $\pm$ 4,9 p<0,001* p<0,001** p<0,001***	7,4 $\pm$ 0,3
$\alpha$ -2МГ, г/л	2,93 $\pm$ 0,13 p<0,001*	2,67 $\pm$ 0,15 p=0,004* p<0,001**	2,63 $\pm$ 0,2 p=0,014* p<0,001**	3,1 $\pm$ 0,45 p=0,02*	3,0 $\pm$ 0,5 p=0,048*	2,2 $\pm$ 0,4 p<0,05** p<0,05***	1,9 $\pm$ 0,2

Примітка: \* - відносно референтних показників;

\*\* - відносно показників на 2-3-тю добу

\*\*\* - відносно показників на 7-8-му добу

\*\*\*\*-відносно відповідних показників групи порівняння

Кальпаїни – це внутрішньоклітинні кальційзалежні цистеїнові протеази, які беруть участь у широкому діапазоні клітинних функцій. Відомо, що вони беруть участь в апоптозі НГ, що призводить до вивільнення протеолітичних молекул із загиблих НГ, таких як протеаза та гідролази, які можуть викликати пошкодження місцевих тканини. Також кальпаїни негативно впливають на синтез NO шляхом зниження рівня eNOS [230]. При дослідженні вмісту кальпаїнів у периферичній крові як у пацієнтів підгрупи 1, так і пацієнтів групи порівняння, встановлено підвищення показників відносно референтних значень більше ніж в 5,2 рази ( $p < 0,001$ ). Підвищення рівнів кальпаїнів пов'язане з їх виходом з ушкоджених опіковою травмою клітин. На 7-8-му добу в пацієнтів підгрупи 1 показники достовірно знизились з вихідних  $58,83 \pm 3,62$  мкЕкв/хв до  $37,69 \pm 2,08$  мкЕкв/хв ( $p < 0,05$ ), в той час як в групі порівняння рівень активності кальпаїнів мав тенденцію до зростання з вихідних  $59,22 \pm 3,26$  мкЕкв/хв до  $61,51 \pm 5,49$  мкЕкв/хв. В подальшому, на 13-14-ту добу, в підгрупі 1 показники кальпаїнів склали  $33,24 \pm 2,41$  мкЕкв/хв, що було достовірно нижче в 1,72 раза за вихідні показники та достовірно нижче в 1,81 раза відповідних показників групи порівняння ( $p < 0,05$ ), які становили на 13-14-ту добу  $60,12 \pm 7,17$  мкЕкв/хв. Виражене пригнічення активності кальпаїнів в пацієнтів підгрупи 1 сприяло гальмуванню розвитку дисфункції ендотелію, послаблювало реакції запалення.

Дослідження рівнів інгібіторів протеаз ( $\alpha$ -1ІІ і  $\alpha$ -2МГ) показало, що в як в підгрупі 1, так і в групі порівняння, їхній вміст в периферичній крові перевищує референтні значення протягом всього періоду дослідження. Зокрема, вміст  $\alpha$ -1-ІІ протягом усього періоду дослідження залишається підвищеним більш ніж в 9 разів відносно референтних значень як в пацієнтів підгрупи 1, так і в пацієнтів групи порівняння. Вихідні рівні  $\alpha$ -1-ІІ становили  $85,19 \pm 1,12$  мкмоль/л в підгрупі 1 та  $81,96 \pm 1,83$  мкмоль/л в групі порівняння. На 7-8-му добу після травми рівень  $\alpha$ -1-ІІ в групі порівняння знизився в 1,22 рази до значень  $72,1 \pm 7,8$  мкмоль/л, а в підгрупі 1 в 1,06 раза до рівня  $79,31 \pm 1,54$  мкмоль/л. В подальшому, на 13-14-ту добу рівень

$\alpha_1$ -ІІІ в групі порівняння становив  $68,0 \pm 4,9$  мкмоль/л, що було в 1,29 раза достовірно нижче за вихідний рівень ( $p < 0,05$ ) та в 1,09 раза нижче за відповідні показники підгрупи 1, проте не мало статистичної достовірності ( $p > 0,05$ ).

Вихідний рівень  $\alpha$ -2МГ на 2-3-тю добу після травми в пацієнтів як підгрупи 1 так і групи порівняння становили  $2,93 \pm 0,13$  г/л та  $3,1 \pm 0,45$  г/л відповідно, що достовірно перевищувало референтні показники ( $p < 0,05$ ). В пацієнтів підгрупи 1 показники  $\alpha$ -2МГ на 7-8-му добу достовірно зменшились до  $2,67 \pm 0,15$  г/л на ( $p < 0,05$ ), а в основній групі становили  $3,0 \pm 0,5$  г/л. В подальшому, на 13-14-ту добу рівень  $\alpha$ -2МГ підгрупи 1 залишився на сталому рівні  $2,63 \pm 0,24$  г/л, в той час як в групі порівняння достовірно зменшився до  $2,2 \pm 0,4$  г/л відносно вихідних рівнів та рівнів на 7-8-му добу ( $p < 0,05$ ).

Як видно з вищенаведених даних, в пацієнтів як підгрупи 1, так і групи порівняння має місце підвищений рівень протеаз та інгібіторів протеаз. В обох групах відбувається достовірне зниження рівнів  $\alpha$ -1ІІІ та  $\alpha$ -2МГ відносно вихідних протягом всього терміну дослідження і відсутня достовірна різниця між показниками підгрупи 1 та ГІІ як на 7-8-му, так і на 13-14-ту добу. В групі порівняння на фоні зниження рівнів  $\alpha$ -1ІІІ та  $\alpha$ -2МГ не відбувалось зниження рівнів кальпаїнів, що свідчить про виснаження механізмів антипротеолітичної активності та їхню декомпенсацію, в той час як в підгрупі 1 відбувалось істотне достовірне зниження рівнів кальпаїнів як відносно вихідних рівнів в 1,72 раза, так і відносно групи порівняння в 1,81 раза ( $p < 0,05$ ).

Для вивчення можливих зв'язків між показниками системи протеаз-інгібітори протеаз в різні терміни раннього періоду опікової хвороби проведено кореляційний аналіз між даними показниками кальпаїнів,  $\alpha$ -1ІІІ та  $\alpha$ -2МГ в периферичній крові в пацієнтів підгрупи 1. Визначено, що на 2-3-тю добу між показниками  $\alpha$ -1ІІІ та  $\alpha$ -2МГ існує зворотній сильний кореляційний зв'язок ( $r = -0,712$ ,  $p < 0,05$ ), який на 7-8-му добу змінюється на прямий зв'язок середньої сили ( $r = 0,694$ ,  $p < 0,05$ ). Між рівнями кальпаїнів та  $\alpha$ -2МГ спостерігається прямий сильний зв'язок на 7-8-му добу ( $r = 0,799$ ,  $p < 0,05$ ) та прямий зв'язок середньої сили на 13-14-ту добу після опікової травми ( $r = 0,601$ ,  $p < 0,05$ ).

Таким чином, згідно вищенаведених даних встановлено істотне достовірне зниження рівнів кальпаїнів в пацієнтів підгрупи 1 як відносно вихідних рівнів в 1,72 раза, так і відносно групи порівняння в 1,81 раза ( $p < 0,05$ ), що свідчить про зменшення явищ протеолізу, запобігання зниженню eNOS що, відповідно, призводить до покращення синтезу NO в пацієнтів підгрупи 1 при застосуванні препарату аргінін-карнітину в комплексному лікуванні в ранньому періоді ОХ.

### 3.1.4 Зміни показників фагоцитарної активності нейтрофільних гранулоцитів та макрофагів

Загальний процес фагоцитозу здійснюється НГ та макрофагами. Основною функцією НГ є ініціація запальної реакції. Біологічно активні речовини, які ініціюються НГ, завжди мають прозапальну спрямованість, працюють в осередках гострого запалення і беруть участь у регуляції ланцюга взаємодій при запаленні (IL-6, TGF- $\beta$ ). У пацієнтів з опіками визначена функціональна активність фагоцитуючих клітин за допомогою спонтанного НСТ-тесту, як показника їх загальної активності, та індукованого, як показника потенційної здатності фагоцитозу, в зразках периферичної крові та капілярної крові зони термічного ураження, (табл. 3.9).

Таблиця 3.9

Показники функціональної активності нейтрофільних гранулоцитів (НГ) та моноцитів (МЦ) в периферичній крові та в капілярній крові рани пацієнтів підгрупи 1, %,  $M \pm m$ .

Показники	НСТ спонтанний			Референтні значення	НСТ індукований			Референтні значення
	Доба після травми				Доба після травми			
	2-3	7-8	13-14		2-3	7-8	13-14	
НГ, периферична кров	24,50 $\pm 3,79$ $p < 0,001^*$	22,50 $\pm 3,70$ $p < 0,001^*$ $p = 0,038^{**}$	19,24 $\pm 2,54$ $p < 0,001^*$ $p < 0,001^{**}$ $p < 0,001^{***}$	10,21 $\pm 0,34$	5,67 $\pm 1,08$ $p < 0,001^*$	6,78 $\pm 1,00$ $p < 0,001^*$ $p < 0,001^{**}$	9,29 $\pm 0,85$ $p = 0,035^*$ $p < 0,001^{**}$ $p < 0,001^{***}$	11,7 $\pm 0,7$



НГ, капіляр -на кров рани	32,67 ±3,79 p<0,001* p<0,001 ****	25,43 ±2,56 p<0,001* p<0,001* * p<0,01 ****	19,88 ±0,64 p<0,001* p<0,001** p=0,25 ****	10,21 ±0,34	9,13 ±1,08 p<0,001 ****	8,07 ±1,27 p=0,016* p=0,0015 ****	9,38 ±0,74 p=0,0282* p=0,01*** p=0,41****	11,7 ±0,7
МЦ, перифе -рична кров	5,67 ±1,75	5,39 ±0,70 p=0,001*	7,24 ±0,97 p=0,002**	8,9 ±0,7	2,22 ±1,00 p<0,001*	4,06 ±0,42 p<0,001*	5,76 ±1,20 p<0,001* p=0,0285 **	12,05 ±0,8
МЦ, капіляр на кров рани	3,53 ±1,68 p=0,007* p=0,0006 ****	4,14 ±1,67 p=0,015* p=0,018* * p=0,003* ***	5,25 ± 1,82 p=0,0008 ****	8,9 ±0,7	2,00 ± 0,65 p<0,001* p=0,2336 ****	3,29 ±0,83 p<0,001* p<0,001** p=0,00085 ****	4,50 ±1,41 p<0,0001* p=0,00253 ** p=0,01466 ****	12,05 ±0,8

Примітка: \*-відносно референтних показників;

\*\* -відносно вихідних показників на 2-3-тю добу;

\*\*\*-відносно показників на 7-8-му добу;

\*\*\*\*-відносно показників периферичної крові

У пацієнтів підгрупи 1 на 2-3-тю добу після травми встановлено збільшення показників загальної функціональної активності НГ периферичної крові у спонтанному НСТ-тесті, які становили  $24,50 \pm 3,79$  %. Дані значення в 2,75 рази ( $p < 0,05$ ) перевищували референтні показники. Додаткова стимуляція НГ ліпополісахаридом E.Coli приводила до зниження показників функціональної активності НГ до  $5,67 \pm 1,08$  %, що в 2,06 рази нижче референтних значень ( $p < 0,05$ ). В капілярній крові опікової рани на 2-3-тю добу показники НСТ-тесту становили  $32,67 \pm 3,79$  %, що в 3,19 рази вище референтних значень ( $p < 0,05$ ) і в 1,33 рази вище за відповідний показник периферичної крові ( $p < 0,05$ ), а показники індукованого НСТ-тесту склали  $9,13 \pm 1,08$  % та перевищували в 1,61 рази ( $p < 0,05$ ) показники периферичної крові в цьому періоді.

На 7-8-му добу з моменту травми виявлено зниження показників функціональної активності НГ в периферичній крові до  $22,50 \pm 3,70$  %, що було нижче в 1,09 рази за вихідні показники, проте перевищувало референтні значення

в 2,2 раза. В цей же період показники спонтанного тесту НГ в капілярній крові рани достовірно знизились відносно вихідного рівня до  $25,43 \pm 2,56\%$ , а дані індукованого НСТ тесту знизились незначно і склали  $8,07 \pm 1,27\%$ , що було в 1,45 рази нижче за референтні значення.

В подальшому, на 13-14-ту добу, показник спонтанного НСТ тесту НГ периферичної крові складав  $19,24 \pm 2,54\%$ , що було достовірно нижче за вихідний рівень в 1,27 раза та перевищувало референтні значення в 1,88 раза ( $p < 0,05$ ). В цей період показник індукованого тесту НГ периферичної крові дорівнював  $9,29 \pm 0,85\%$ , що було достовірно вище за вихідні дані ( $p < 0,05$ ). Показники спонтанного тесту НГ капілярної крові на 13-14-ту добу склали  $19,88 \pm 0,64\%$ , що було нижче за вихідний рівень в 1,64 раза ( $p < 0,05$ ) та вище референтних значень в 1,95 раза ( $p < 0,05$ ), і не мали достовірної різниці з показниками периферичної крові в даний період ( $p = 0,25$ ).

Динаміка зміни показників активності НГ у спонтанному НСТ-тесті як периферичної крові, так і капілярної крові рани, свідчить про високий ступінь функціонального подразнення НГ *in vivo*. В капілярній крові зони термічного ураження визначається активація функціональної активності НГ, яка перевищує відповідні показники периферичної крові на 2-3-тю добу та 7-8-му добу після опіку ( $p < 0,05$ ), що відображається в значних показниках спонтанного НСТ-тесту.

Зниження показників функціональної активності НГ при стимульованому НСТ-тесті як периферичної, так і капілярної крові зони ураження в терміни 2-3-ї доби та 7-8-ї доби після опіку свідчило про декомпенсацію функції фагоцитуючих клітин і зниження їх потенційної можливості до завершення фагоцитозу, проте відмічалась позитивна динаміка до збільшення показників індукованого НСТ тесту НГ периферичної крові як на 7-8-му добу, так і на 13-14-ту добу, що достовірно перевищувало вихідні показники ( $p < 0,05$ ). Рівень активності НГ в капілярній крові рани достовірно перевищував показники периферичної крові на 2-3-тю та 7-8-му добу, і на 13-14-ту добу достовірно перевищував вихідні показники ( $p < 0,05$ ). Підвищення активності фагоцитів в індукованому НСТ-тесті свідчить про залучення в рану НГ з високою функціональною та метаболічною активністю.

При визначенні активності моноцитів в периферичній крові в спонтанному НСТ-тесті на 2-3-тю добу показник становив  $5,67 \pm 1,75\%$  (табл. 3.9), проте не був достовірно нижчим за референтні. На 7-8-му добу активність складала  $5,39 \pm 0,70\%$ , що було достовірно нижче за референтні в 1,65 раза, а на 13-14-ту добу показник склав  $7,24 \pm 0,07\%$ , що достовірно перевищувало вихідні значення в 1,28 раза ( $p < 0,05$ ), та не мало достовірної різниці з референтними ( $p > 0,05$ ). Показники активності моноцитів периферичної крові в індукованому тесті на 2-3-тю, 7-8-му та 13-14-ту добу після травми склали відповідно  $2,22 \pm 1,00\%$ ,  $4,06 \pm 0,42\%$  та  $5,76 \pm 1,20\%$  і були нижчими за референтні протягом всього періоду дослідження. При цьому відмічена позитивна достовірна динаміка до збільшення потенційної здатності до фагоцитозу в 2,59 раза на 13-14-ту добу відносно вихідних показників ( $p < 0,05$ ).

Визначення функціональної активності моноцитів в капілярній крові рани в спонтанному НСТ-тесті показало, що на 2-3-тю добу та на 7-8-му добу рівні становили  $3,53 \pm 1,68\%$  та  $4,14 \pm 1,67\%$ , що відповідно було нижче референтних значень в 2,52 та 2,15 рази ( $p < 0,05$ ). На 13-14-ту добу активність підвищилась до значень  $5,25 \pm 1,82\%$ , але була достовірно нижче за відповідний показник периферичної крові в 1,38 раза. Показники індукованого НСТ тесту моноцитів капілярної крові рани склали у три періоди дослідження  $2,00 \pm 0,65\%$ ,  $3,29 \pm 0,83\%$  та  $4,50 \pm 1,41\%$  і були достовірно нижчими як за референтні значення, так і за відповідні показники периферичної крові ( $p < 0,05$ ). Проте відмічена позитивна динаміка до збільшення потенційної активності моноцитів капілярної крові рани в 1,64 раза на 7-8-му добу та в 2,25 раза на 13-14-ту добу ( $p < 0,05$ ).

Таким чином, при визначенні активності моноцитів в НСТ-тесті встановлено зниження показників спонтанної реакції протягом всього періоду дослідження, причому показники активності моноцитів в рані були нижчими за відповідні показники периферичної крові. Стимуляція ліпополісахаридом *E.coli* призводила до подальшого зниження функціональної активності моноцитів. Проте в пацієнтів підгрупи 1 відстежувалась позитивна динаміка до підвищення функціональної активності та потенційної здатності до фагоцитозу в моноцитів протягом всього

періоду дослідження, і показники індукованого НСТ-тесту в периферичній крові та капілярній крові рани на 13-14-ту добу були достовірно вищими за вихідні значення ( $p < 0,05$ ), таким чином, при застосуванні адекватного комплексного лікування зберігається функціональна активність фагоцитуючих клітин.

### **3.2. Результати застосування препарату улінастатину.**

Відомо, що активація токсичних медіаторів запалення, оксидантів і протеаз може додатково пошкодити ендотеліальні клітини. На молекулярному рівні як активація комплементу, так і внутрішньосудинна стимуляція НГ призводять до виробництва цитотоксичних АФК. Підвищена активність гістаміну, посилена каталітичними властивостями ксантиноксидази, спричиняє прогресуюче локальне підвищення проникності судин. Токсичні побічні продукти ксантиноксидази, включаючи перекис водню і гідроксильний радикал, очевидно, безпосередньо пошкоджують дермальні структури [73].

Відомо, що в таких патофізіологічних процесах запалення та проліферації як апоптоз, адгезія та рухливість позаклітинного матриксу беруть участь кальпаїни. Вони належать до сімейства кальційзалежних цистеїнових протеаз, поширені в різних тканинах і пов'язані з багатьма важливими клітинними патофізіологічними процесами. Активованій кальцієм кальпаїн спричиняє пошкодження клітин шляхом вибіркової деградації внутрішньоклітинних білків, включаючи сигнальні білки (наприклад, циклін-залежну кіназу, протеїнкіназу С), цитоскелетні білки та фактори транскрипції [231]. Кальпаїни знаходяться виключно внутрішньоклітинно, за винятком патологічних або пошкоджених тканин. Вони беруть участь у адгезії та міграції запальних клітин, вивільненні прозапальних медіаторів та резистентності до протизапальних факторів [232, 233], можуть сприяти апоптозу шляхом протеолізу різних субстратів [234, 235]. Активація судинних кальпаїнів спричинює дисфункцію ендотелію з підвищенням взаємодії лейкоцитів з ендотелієм. Кальпаїни беруть участь у гострих запальних процесах через активацію нуклеарного фактора каппа В (NF- $\kappa$ B) [231].

Регуляція активності протеаз в організмі здійснюється їх інгібіторами, серед яких особливо важливу роль відіграють  $\alpha$ -1-інгібітор протеаз ( $\alpha$ -1ІП) і  $\alpha$ -2-макроглобулін ( $\alpha$ -2МГ). Основна фізіологічна функція білка гострої фази  $\alpha$ -1ІП полягає в інгібуванні нейтрофільних протеаз, що вивільняються при активації та руйнуванні гранулоцитів, а отже в гальмуванні тканинного протеолізу [236]. Альфа-2-макроглобулін – це позаклітинна макромолекула, відома головним чином своєю роллю інгібітора протеази широкого спектру дії, першим серед інгібіторів включається у пригнічення надлишкової активності протеїназ. Під час запалення  $\alpha$ 2-МГ захищає від структурних пошкоджень шляхом інгібування протеаз, що вивільняються активованими лейкоцитами (наприклад, НГ) [237]. У той час як більшість інгібіторів протеаз безпосередньо впливають на активний центр протеази, інгібуючий механізм  $\alpha$ 2-МГ працює через утворення тетрамерної клітини навколо активних протеаз, тим самим фізично перешкоджаючи взаємодії між протеазами та субстратами [237]. АФК, такі як гіпохлорит, продукований НГ, можуть зменшити здатність  $\alpha$ -2МГ захоплювати та інгібувати протеолітичні ферменти, проте ця окислювальна модифікація збільшує спорідненість  $\alpha$ -2МГ до TNF- $\alpha$ , IL-2 та IL-6 але зменшує зв'язування TGF- $\beta$ 1 і TGF- $\beta$ 2 та ін. [238]. Таким чином, зрозуміло, що окислення зменшує прогресування гострого запалення шляхом секвестрації TNF- $\alpha$ , IL-2 та IL-6, одночасно регулюючи розвиток процесів відновлення тканин шляхом вивільнення факторів, важливих для загоєння.

З метою впливу на протеолітичні процеси, корекції запалення та ендотеліальної дисфункції пацієнтам підгрупи 2 на додаток до стандартної схеми хірургічного та трансфузійного лікування застосовували препарат інгібітора протеаз в ранньому періоді опікової хвороби. Улінастатин є інгібітором протеаз широкого спектру дії, отриманим із сечі та крові людини, який пригнічує численні ендогенні протеази [239]. Відомо, що улінастатин пригнічує активацію інфламмасом (внутрішньоклітинних мультибілкових комплексів, які активують каскад запалення через запуск каспази-1, що призводить до виробництва та секреції зрілого IL-1 $\beta$ ) [48, 240]. Також улінастатин послаблює активацію NF- $\kappa$ B (білок-активатор транскрипції, що активується одразу після важкого опіку та регулює

індукцію кількох медіаторів запалення, включаючи TNF- $\alpha$  [55, 241]. Було показано, що він має протизапальну дію шляхом пригнічення продукції прозапальних цитокінів таких як IL-1, IL-6, IL-8, IL-11, TNF- $\alpha$  та ін. [242]. Він інгібує коагуляцію та фібриноліз і сприяє мікроперфузії, має властивість стабілізувати лізосомальну мембрану та скорочувати виробництво вільних кисневих радикалів, таким чином скорочувати перекисне окислення ліпідів та послаблювати розвиток системної запальної відповіді [16, 17, 243, 244]. Таким чином, для запобігання розвитку процесів патологічного запалення та апоптозу і пов'язаних з цим змін досліджена можливість регуляції протеолізу а також корекції ендотеліальної дисфункції із застосуванням інгібітора протеаз в структурі комплексного лікування пацієнтів в гострому періоді опікової хвороби.

### 3.2.1 Зміни показників протеолізу та цитокінів

Досліджена динаміка протеолітичної активності за рівнями кальпаїнів,  $\alpha$ -1ІІІ та  $\alpha$ -2МГ в периферичній крові пацієнтів підгрупи 2 та групи порівняння на 2-3-тю, 7-8-му та 13-14-ту добу після опікової травми (табл. 3.10).

Таблиця 3.10

Показники протеолітичної активності в периферичній крові пацієнтів підгрупи 2 (n=12) та групи порівняння (n=22), М  $\pm$  m

Досліджувані показники, одиниці виміру	Підгрупа 2			Група порівняння			Референтні значення
	Доба після опікової травми						
	2-3	7-8	13-14	2-3	7-8	13-14	
Кальпаїни, мкЕкв/хв	58,83 $\pm$ 3,62 p<0,001*	59,22 $\pm$ 3,26 p<0,001*	50,51 $\pm$ 10,32 p<0,001* p=0,015** p=0,005*** p<0,05****	59,22 $\pm$ 3,26 p<0,001*	61,51 $\pm$ 5,49 p<0,001*	60,12 $\pm$ 7,17 p<0,001*	10,9 $\pm$ 1,7
$\alpha$ -1ІІІ, мкмоль/л	81,96 $\pm$ 1,83 p<0,001*	87,7 $\pm$ 7,9 p<0,001*	75,34 $\pm$ 5,13 p<0,001* p=0,0015** p=0,005*** p<0,05****	87,7 $\pm$ 7,9 p<0,001*	72,1 $\pm$ 7,8 p<0,001* p<0,001**	68,0 $\pm$ 4,9 p<0,001* p<0,001** p<0,001***	7,4 $\pm$ 0,3
$\alpha$ -2МГ, г/л	2,91 $\pm$ 0,08 p<0,001*	3,1 $\pm$ 0,45 p=0,02*	2,63 $\pm$ 0,24 p=0,026* p=0,0043**	3,1 $\pm$ 0,45 p=0,02*	3,0 $\pm$ 0,5 p=0,048*	2,2 $\pm$ 0,4 p<0,05** p<0,05***	1,9 $\pm$ 0,2

Примітка: \* - відносно референтних показників;  
 \*\* - відносно показників на 2-3-тю добу  
 \*\*\* - відносно показників на 7-8-му добу  
 \*\*\*\* - відносно відповідних показників групи порівняння

При дослідженні вмісту кальпаїнів у периферичній крові на 2-3-тю добу після травми як у пацієнтів підгрупи 2, так і пацієнтів групи порівняння встановлено підвищення показників відносно референтних значень в 5,4 рази ( $p < 0,001$ ). Підвищення рівнів кальпаїнів пов'язане з їх виходом з ушкоджених опіковою травмою клітин. На 7-8-му добу в пацієнтів підгрупи 2 показники достовірно знизились з вихідних  $58,83 \pm 3,62$  мкЕкв/хв до  $52,93 \pm 7,51$  мкЕкв/хв ( $p < 0,05$ ), в той час як в групі порівняння рівень активності кальпаїнів мав тенденцію до зростання з вихідних  $59,22 \pm 3,26$  мкЕкв/хв до  $61,51 \pm 5,49$  мкЕкв/хв. В подальшому, на 13-14-ту добу, в підгрупі 2 показники кальпаїнів склали  $50,51 \pm 10,32$  мкЕкв/хв, що було достовірно нижче за вихідні показники та достовірно нижче в 1,19 раза відповідних показників групи порівняння ( $p < 0,05$ ), які становили на 13-14-ту добу  $60,12 \pm 7,17$  мкЕкв/хв.

Як свідчать отримані дані, у постраждалих з опіками відзначається високий рівень вмісту білків гострої фази – інгібіторів протеаз –  $\alpha$ -1ІІІ і  $\alpha$ -2МГ. Відомо, що  $\alpha$ -1ІІІ є реактантом гострої фази, що виділяється переважно гепатоцитами під час запалення. Одна з його основних функцій полягає в інгібуванні еластази (серинової протеази), що виділяється НГ, крім того, він має антиапоптозну та цитопротекторну функції [12, 245]. Відомо, що  $\alpha$ -1ІІІ збільшує продукцію ІЛ-10 і зменшує продукцію ІЛ-6, блокує інфільтрацію НГ і макрофагів і зменшує транслокацію ядерного фактора до ядра (NF- $\kappa$ B регулює велику кількість генів, котрі беруть участь у формуванні імунної та запальної реакцій, та генів, які координують активність ІЛ-1, ІЛ-2, ІЛ-6, ІЛ-12, TNF- $\alpha$ , iNOS та ін.) [246].

Зокрема, вміст  $\alpha$ -1ІІІ протягом усього періоду дослідження залишається підвищеним більш ніж в 9 разів відносно референтних значень як в пацієнтів підгрупи 2, так і в пацієнтів групи порівняння. Незважаючи на більш високий вихідний рівень  $\alpha$ -1ІІІ в пацієнтів групи порівняння ( $87,7 \pm 7,9$  мкмоль/л) порівняно

з підгрупою 2 ( $81,96 \pm 1,83$  мкмоль/л), на 7-8-му добу рівень  $\alpha$ -1ПІ в групі порівняння знизився в 1,22 рази до значень  $72,1 \pm 7,8$  мкмоль/л, а в підгрупі 2 в 1,03 раза до рівня  $79,31 \pm 1,54$  мкмоль/л. В подальшому, на 13-14-ту добу рівень  $\alpha$ -1ПІ в групі порівняння становив  $68,0 \pm 4,9$  мкмоль/л, що було в 1,29 раза достовірно нижче за вихідний рівень та в 1,11 раза достовірно нижче за відповідні показники підгрупи 2 ( $p < 0,05$ ). Більш виражене зниження рівнів  $\alpha$ -1-ПІ в групі порівняння може бути пов'язане з підсиленням утворенням окисних речовин під дією протеолітичних ферментів. В пацієнтів підгрупи 2 збереження показників  $\alpha$ -1ПІ на більш високому рівні в порівняно з ГП свідчить про більшу цитопротекторну спроможність та протизапальний вплив даного інгібітора протеаз.

Вихідний рівень  $\alpha$ -2МГ на 2-3-тю добу після травми в пацієнтів як підгрупи 2 так і групи порівняння перевищував референтні показники ( $p < 0,05$ ). В пацієнтів підгрупи 2 показники  $\alpha$ -2МГ достовірно зменшились з вихідних  $2,91 \pm 0,08$  г/л до  $2,63 \pm 0,14$  г/л на 7-8-му добу ( $p < 0,05$ ), а в основній групі становили  $3,0 \pm 0,5$  г/л на 7-8-му добу. В подальшому, на 13-14-ту добу рівень  $\alpha$ -2МГ підгрупи 2 залишився на сталому рівні  $2,63 \pm 0,24$  г/л, в той час як в групі порівняння достовірно зменшився до  $2,2 \pm 0,4$  г/л відносно вихідних рівнів та рівнів на 7-8-му добу ( $p < 0,05$ ). Збереження вищих рівнів  $\alpha$ 2-МГ в периферичній крові пацієнтів підгрупи 2 на порівняно з ГП свідчить про збереження антипротеолітичної активності на більш високому рівні, та більш виражену захисну дію від протеаз на ендотелій судин.

Відомо, що  $\alpha$ 2-МГ є ефективним інгібітором кальпаїнів [247], проте в пацієнтів ГП на 7-8-му добу, незважаючи на більш високий (в 1,14 раза) рівень  $\alpha$ 2-МГ порівняно з підгрупою 2, не відбувалось зниження рівня кальпаїнів відносно вихідних рівнів, і в подальшому, на 13-14-ту добу показники кальпаїнів в ГП не мали тенденції до зниження, а рівень  $\alpha$ 2-МГ знизився в 1,41 відносно вихідного, що може свідчити про виснаження ресурсів інгібіторної системи при незмінно високому рівні протеаз, що призводить до поглиблення розвитку ендотеліальної дисфункції та процесів запалення та погіршення умов розвитку ранового процесу даної групи. В той же час у пацієнтів підгрупи 2 в результаті застосування препарату інгібітора протеаз відмічене збереження показників інгібіторів протеаз



( $\alpha$ -1-ІІ та  $\alpha$ 2-МГ) на функціонально активному рівні та достовірне зниження рівня кальпаїнів на 13-14-ту добу як відносно вихідного рівня, так і відносно ГП ( $p < 0,05$ ), що свідчило про збереження цитопротекторної дії інгібіторів протеаз, зменшення процесів апоптозу, гальмування розвитку ендотеліальної дисфункції, послаблення запалення, що сприяє оптимізації розвитку ранового процесу.

Досліджена динаміка цитокінового статусу за рівнями TNF- $\alpha$ , ІЛ-2 та ІЛ-6 в периферичній крові пацієнтів підгрупи 2 та групи порівняння на 2-3-тю, 7-8-му та 13-14-ту добу після опікової травми (табл. 3.11)

Таблиця 3.11

Показники цитокінового статусу в периферичній крові пацієнтів підгрупи 2 (n=12) та групи порівняння (n=22),  $M \pm m$

Досліджувані показники, пг/мл	Підгрупа 2			Група порівняння			Референтні значення
	Доба після опікової травми						
	2-3	7-8	13-14	2-3	7-8	13-14	
TNF- $\alpha$	252,68 $\pm 11,97$ $p < 0,001^*$	245,33 $\pm 10,36$ $p < 0,001^*$ $p = 0,0056^{**}$ $p = 0,014^{****}$	236,60 $\pm 8,78$ $p < 0,001^*$ $p < 0,001^{**}$ $p = 0,002^{***}$ $p < 0,001^{****}$	265,0 $\pm 11,55$ $p < 0,001^*$	281,2 $\pm 13,67$ $p < 0,001^*$	256,35 $\pm 15,79$ $p < 0,001^*$	24,2 $\pm 6,0$
ІЛ-2	66,5 $\pm 6,65$ $p < 0,001^*$	63,08 $\pm 7,77$ $p < 0,001^*$	62,4 $\pm 8,33$ $p < 0,001^*$ $p < 0,05^{**}$ $p < 0,001^{***}$ $p < 0,05^{****}$	54,35 $\pm 10,50$ $p < 0,001^*$	65,31 $\pm 8,45$ $p < 0,001^*$	49,53 $\pm 4,15$ $p < 0,001^*$	12,75 $\pm 1,25$
ІЛ-6	85,75 $\pm 2,26$ $p < 0,001^*$	82,08 $\pm 3,12$ $p < 0,001^*$ $p < 0,001^{****}$	79,9 $\pm 3,07$ $p < 0,001^*$ $p < 0,001^{**}$ $p < 0,001^{****}$	85,30 $\pm 13,10$ $p < 0,001^*$	131,0 $\pm 11,2$ $p < 0,001^*$ $p = 0,012^{**}$	131,2 $\pm 9,25$ $p < 0,001^*$ $p = 0,011^{**}$	42,7 $\pm$ 8,5

Примітка: \* - відносно референтних показників;

\*\* - відносно показників на 2-3-тю добу

\*\*\* - відносно показників на 7-8-му добу

\*\*\*\* - відносно відповідних показників групи порівняння

Показники вмісту TNF- $\alpha$  на 2-3-тю добу після травми у пацієнтів підгрупи 2 були  $252,68 \pm 11,97$  пг/мл, а в групі порівняння  $265,0 \pm 11,55$  пг/мл. На 7-8-му добу рівень TNF- $\alpha$  в підгрупі 2 достовірно знизився до  $245,33 \pm 10,36$  пг/мл ( $p < 0,05$ ), в той час як в групі порівняння рівень TNF- $\alpha$  зріс до  $281,2 \pm 13,67$  пг/мл (Рис. 3.6). При порівнянні показників TNF- $\alpha$  підгрупи 2 та групи порівняння встановлено, що значення підгрупи були достовірно нижчі у 1,15 разів на 7-8-му добу ( $p < 0,05$ ). В подальшому, на 13-14-ту добу рівень TNF- $\alpha$  в підгрупі 2 продовжував достовірно знижуватись до  $236,60 \pm 8,78$  пг/мл ( $p < 0,05$ ), а рівень даного цитокіну в групі порівняння хоч і мав тенденцію до зниження до  $256,35 \pm 15,70$  пг/мл, всеодно був достовірно вищим в 1,08 раза за відповідний показник підгрупи 2 ( $p < 0,05$ ).

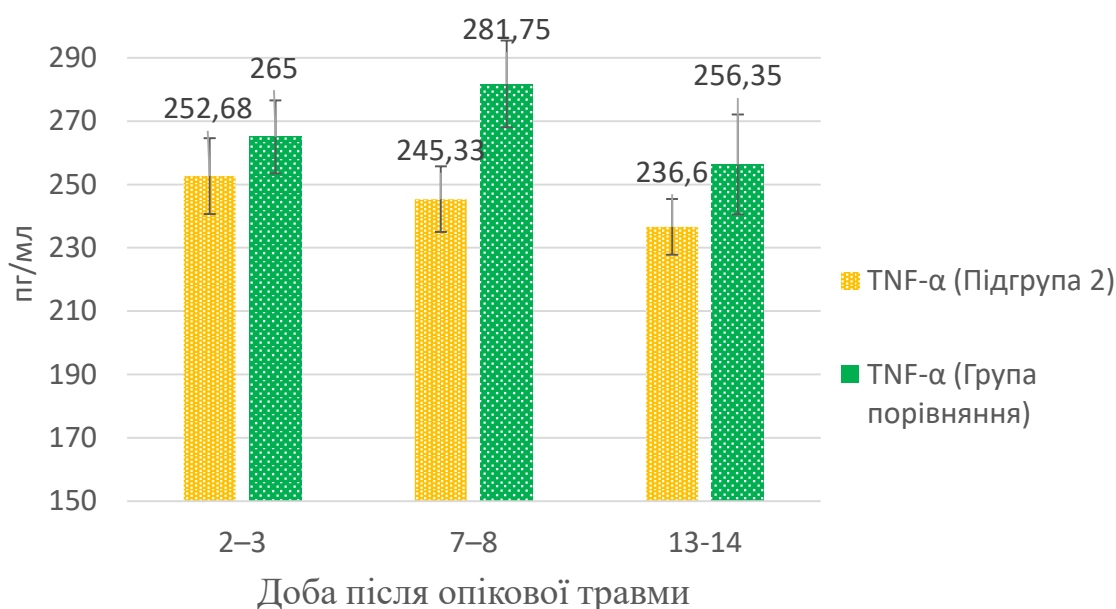


Рис.3.6 Динаміка показників TNF- $\alpha$  в периферичній крові пацієнтів підгрупи 2 та групи порівняння

Досліджена динаміка змін рівнів IL-6 та IL-2 в пацієнтів підгрупи 2 та групи порівняння представлена на Рис. 3.7. Відомо, що IL-6 відіграє одну з ключових ролей в запаленні та ССЗВ поруч з IL-1 та TNF- $\alpha$ . Також відома роль прозапальних цитокінів у загоєнні ран [123]: у той час як зниження рівнів IL-6 спричиняє порушення загоєння ран, надмірні рівні IL-6 пов'язані з посиленням розвитку процесів запалення, що має несприятливий вплив на розвиток ранового процесу, і в подальшому призводить до надмірного рубцювання на шкірі [17, 248]. Визначено, що вихідні рівні IL-6 в підгрупі 2 та ГП становили  $85,75 \pm 2,26$  пг/мл та

85,30±13,10 пг/мл відповідно, та перевищували референтні значення в 2 рази ( $p<0,05$ ), (табл. 3.11). На 7-8-му добу рівень ІЛ-6 в підгрупі 2 мав достовірну тенденцію до зниження і становив 82,08±3,12 пг/мл ( $p<0,05$ ), в той час як в групі порівняння рівень даного показника достовірно зріс відносно вихідного в 1,54 рази ( $p<0,05$ ) і становив 131,0±11,2 пг/мл. В подальшому, на 13-14-ту добу в пацієнтів підгрупи 2 спостерігалось подальше достовірне зниження рівня ІЛ-6 відносно вихідних показників, і становило 79,9±3,07 пг/мл ( $p<0,05$ ), в той час як в групі порівняння рівень ІЛ-6 був 131,2±9,25 пг/мл, перевищуючи показник підгрупи 2 в 1,64 рази ( $p<0,05$ ), (рис.3.7).

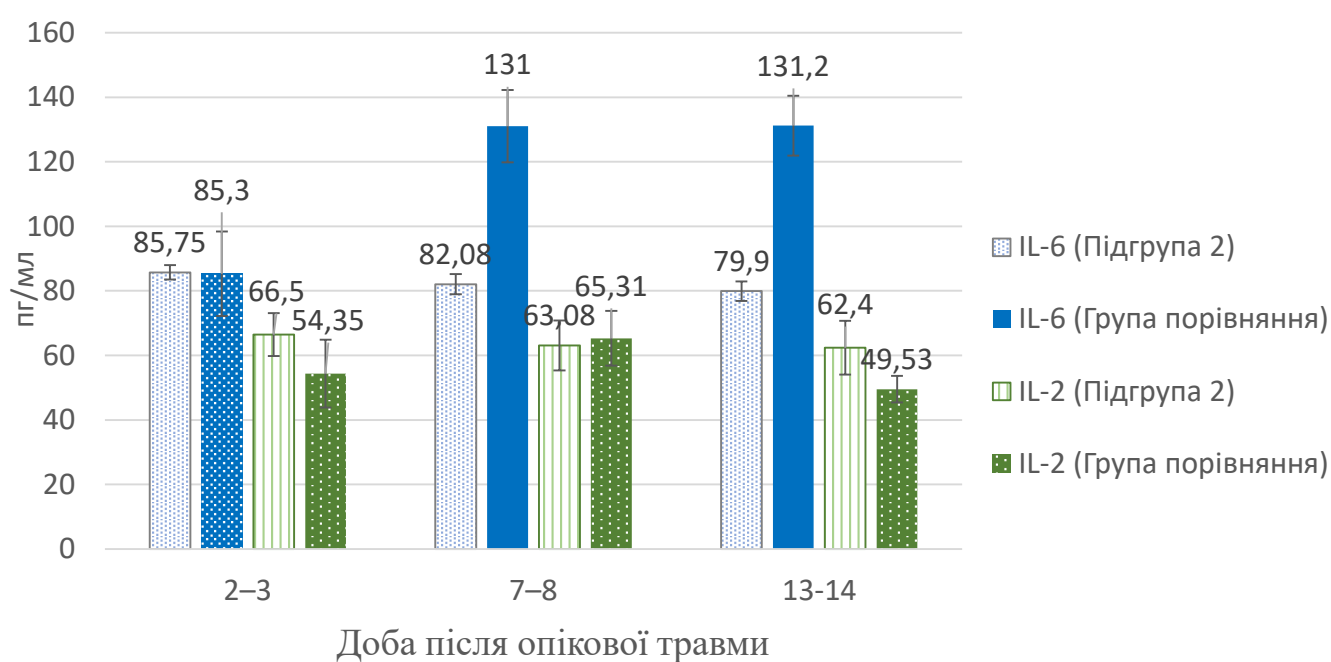


Рис.3.7 Динаміка показників інтерлейкінів ІЛ-6 та ІЛ-2 в периферичній крові пацієнтів підгрупи 2 та групи порівняння

Досліджувані рівні ІЛ-2 на 2-3-тю добу після травми становили 66,5±6,65 пг/мл в підгрупі 2 та 54,35±10,50 пг/мл в групі порівняння, що достовірно перевищувало референтні. На 7-8-му добу показники рівнів ІЛ-2 підгрупи 2 дещо знижувались відносно вихідних і становили 63,08±7,77 пг/мл, в той час як в групі порівняння рівень ІЛ-2 підвищився в 1,2 рази і складав 65,31±8,45 пг/мл. В подальшому, на 13-14-ту добу рівень ІЛ-2 в підгрупі 2 становив 62,4±8,33 пг/мл, достовірно перевищуючи показники групи порівняння (49,53±4,15 пг/мл) в 1,26

раза ( $p < 0,05$ ), (табл. 3.11, рис 3.7). Відомо, що різні типи клітин, включаючи фібробласти, що відповідальні за загоєння ран, експресують рецептор ІЛ-2 і тому можуть реагувати на ІЛ-2. Рівні ІЛ-2 в організмі загалом можуть впливати на місцеве середовище рани, оскільки системна передача сигналів ІЛ-2 допомагає залучати клітини, в т.ч. імунні, мігрувати до ран та сприяє виробленню факторів росту. Таким чином, системне виробництво ІЛ-2 є важливим для організації процесу загоєння ран [225]. Отже, збереження підвищеного рівня ІЛ-2 на 13-14-ту добу в пацієнтів підгрупи 2 (в 1,26 разі вище за показники ГП,  $p < 0,05$ ) сприяло подальшому процесу загоєння опікових ран.

Для вивчення можливих зв'язків між рівнями вмісту досліджуваних протеолітичної активності та цитокінового статусу в різні терміни раннього періоду ОХ проведено кореляційний аналіз між даними показниками в периферичній крові в пацієнтів підгрупи 2. Визначено, що на 2-3-тю добу після опікової травми існує прямий сильний кореляційний зв'язок між рівнями кальпаїнів та ІЛ-2 ( $r = 0,799$ ,  $p < 0,5$ ) та зворотній сильний зв'язок між рівнями кальпаїнів та TNF- $\alpha$  ( $r = -0,744$ ,  $p < 0,5$ ). В подальшому, на 7-8-му добу та на 13-14-ту зберігається прямий сильний кореляційний зв'язок між кальпаїнами та ІЛ-2 ( $r = 0,884$  та  $r = 0,811$  відповідно) та зникає кореляція між рівнем кальпаїнів та TNF- $\alpha$ . Рівні  $\alpha$ -1ІІ лише на 13-14-ту добу після травми мали прямий сильний кореляційний зв'язок з кальпаїнами ( $r = 0,79$ ,  $p < 0,5$ ),  $\alpha$ -2МГ ( $r = 0,764$ ,  $p < 0,5$ ) та прямий зв'язок середньої сили з показниками ІЛ-2 ( $r = 0,64$ ,  $p < 0,5$ ). Рівні  $\alpha$ -2МГ мають зворотній зв'язок середньої сили з показниками ІЛ-6 ( $r = -0,697$ ,  $p < 0,5$ ) на 2-3-тю добу після травми, сильний прямий зв'язок з показниками кальпаїнів ( $r = 0,737$ ,  $p < 0,5$ ) на 7-8-му добу, та прямий зв'язок середньої сили з показниками TNF- $\alpha$  ( $r = 0,666$ ,  $p < 0,5$ ) на 13-14-ту добу після опіку. Також відмічений прямий зв'язок середньої сили між TNF- $\alpha$  та ІЛ-6 ( $r = 0,65$ ,  $p < 0,5$ ) на 2-3-тю та 7-8-му добу та сильний прямий зв'язок ( $r = 0,715$ ,  $p < 0,5$ ) на 13-14-ту добу після опікової травми.

Таким чином, визначено, що на 2-3-й день після опікової травми в пацієнтів підгрупи 2 та ГП підвищений вміст в периферичній крові білків - інгібіторів протеаз

проте їх кількість була недостатньою, внаслідок чого мав місце виражений запальний процес, високий протеоліз як в підгрупі 2, так і в групі порівняння. Зростання рівня TNF- $\alpha$ , та активація кальпаїнів в пацієнтів ГП на 7-8-му добу сприяло прогресуванню вазоконстрикторних реакцій, апоптозу ендотеліальних клітин, підвищенню агрегації тромбоцитів і відповідно підсиленню прокоагулянтних властивості судин. Відмічено, що на 7-8-му добу в пацієнтів групи порівняння визначається підвищення показників TNF- $\alpha$ , IL-6 та кальпаїнів на фоні динаміки до зниження рівнів інгібіторів протеолізу  $\alpha$ -1ПІ та  $\alpha$ -2МГ, що свідчило про декомпенсацію активності системи протеаза-інгібітори протеаз, посилення розвитку процесів запалення, поглиблення ендотеліальної дисфункції у пацієнтів в гострому періоді опікової хвороби, що мало несприятливий вплив на розвиток ранового процесу в пацієнтів ГП. В цей же час в пацієнтів підгрупи 2 при застосуванні препарату інгібітора протеаз улінастатину відбувалось достовірне зниження вмісту кальпаїнів, TNF- $\alpha$ , та IL-6, що свідчило про покращення збалансованості протеолітичної-антипротеолітичної системи організму, збереження цитопротекторної дії інгібіторів протеаз, послаблення запалення та гальмування розвитку ендотеліальної дисфункції, що сприяло оптимізації розвитку ранового процесу.

### 3.2.2 Зміни показників ендотеліальної дисфункції

Вивчена динаміка рівня показника ендотеліальної дисфункції ET-1 у периферичній крові та капілярній крові опікової рани як при проведенні стандартної терапії (група порівняння), так і при додатковому застосуванні схеми лікування препаратом інгібітора протеаз улінастатином (підгрупа 2), рис. 3.8.

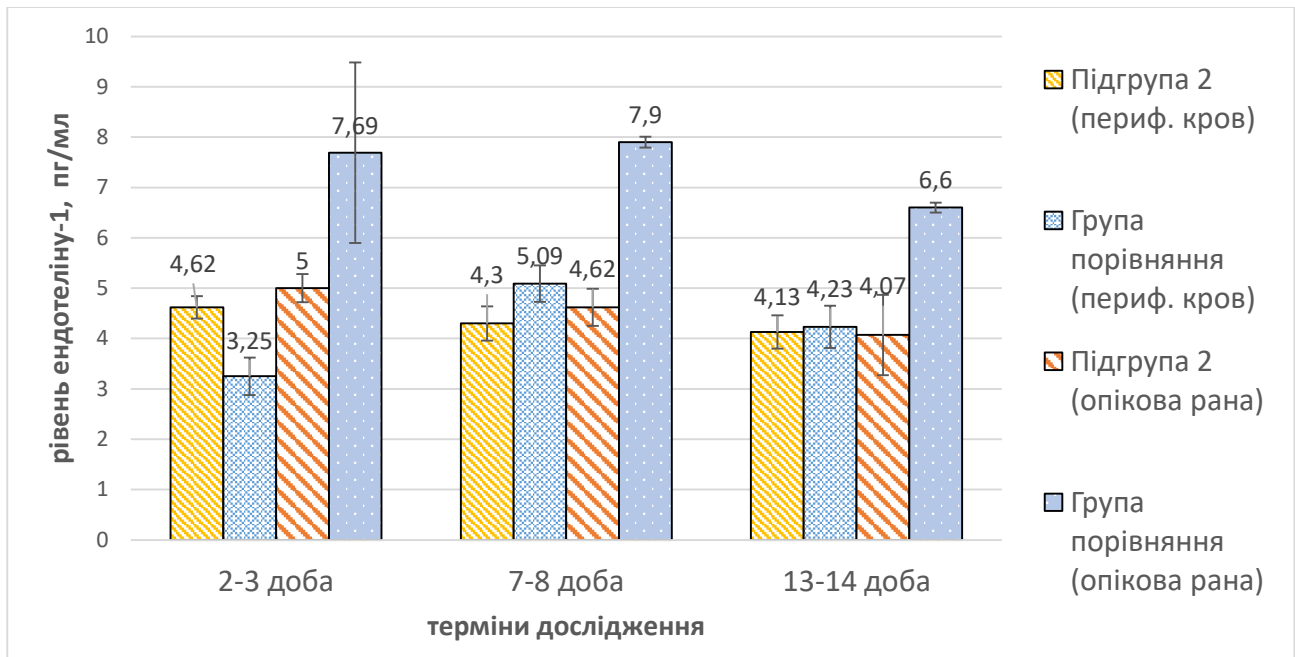


Рисунок 3.8 Динаміка рівнів ендотеліну-1 у периферичній крові та капілярній крові опікової рани в пацієнтів підгрупи 2 та групи порівняння

З наведених даних видно, що вихідний рівень ET-1 в опіковій рані перевищував вихідний рівень у периферичній крові як в підгрупі 2, так і в групі порівняння, що свідчить про переважання локальної вазоконстрикції в зоні опікового ураження. Вихідний рівень ET-1 у периферичній крові в підгрупі 2 становив  $4,62 \pm 0,22$  пг/мл, перевищуючи даний показник групи порівняння, що складав  $3,25 \pm 0,37$  пг/мл (табл. 3.12). В подальшому, на 7-8-му добу після травми, рівень ET-1 в периферичній крові в підгрупі 2 мав тенденцію до зниження і складав  $4,30 \pm 0,34$  пг/мл, в той час як рівень ET-1 периферичної крові в групі порівняння достовірно зріс в 1,57 раза відносно своїх вихідних значень і складав  $5,09 \pm 0,36$  пг/мл, перевищуючи відповідний показник підгрупи 2 в 1,18 раза ( $p < 0,05$ ). На 13-14-ту добу рівень ET-1 в периферичній крові в підгрупі 2 достовірно знизився відносно вихідних показників до рівня  $4,13 \pm 0,33$  пг/мл. В цей же період рівень ET-1 в периферичній крові в ГП хоч і мав достовірне зниження відносно показників 7-8-ї доби і складав  $4,23 \pm 0,42$  пг/мл, проте достовірно перевищував свій вихідний рівень в 1,3 раза ( $p < 0,05$ ).

Таблиця 3.12

Показники вмісту ендотеліну-1 у периферичній та капілярній крові опікової рани у пацієнтів підгрупи 2 (n=12) та групи порівняння (n=22), M±m

Показники, пг/мл	Підгрупа 2			Група порівняння			Рефе- рентні зна- чення
	Доба після опікової травми						
	2-3	7-8	13-14	2-3	7-8	13-14	
Ендотелін-1, периферична кров	4,62±0,22 *	4,30±0,34 *,**	4,13±0,33 *,***	3,25±0,37 *	5,09±0,36 *,***	4,23±0,42 *,***	0,22±0,9
Ендотелін-1, капілярна кров	5,0±0,28 *	4,22±0,37 *,**,***	4,07±0,8 *,**,***	7,69±1,79 *	7,9±0,11 *	6,6 ±0,1 *	0,9±0,1

Примітка: \* - вірогідно порівняно з референтними показниками ( $p < 0,05$ );  
\*\* - вірогідно порівняно з показниками групи порівняння ( $p < 0,05$ );  
\*\*\* - вірогідно порівняно з вихідними показниками ( $p < 0,05$ )

З наведених даних видно, що вихідний рівень ЕТ-1 в опіковій рані перевищує вихідний рівень у периферичній крові як в підгрупі 2, так і в групі порівняння, що свідчить про переважання локальної вазоконстрикції в зоні опікового ураження. Вихідні рівні ЕТ-1 в капілярній крові рани на 2-3-тю добу після травми в підгрупі 2 та групі порівняння не мали статистично достовірної відмінності між собою ( $p = 0,173$ ). Рівень ЕТ-1 у капілярній крові ділянки ураження в підгрупі 2 достовірно знижувався з вихідного рівня  $5,0 \pm 0,28$  пг/мл до  $4,22 \pm 0,37$  пг/мл на 8-10-ту добу та до  $4,07 \pm 0,8$  пг/мл на 13-14-ту добу ( $p < 0,05$ ), тоді як у групі порівняння рівень ЕД-1 мав тенденцію до підвищення з вихідного рівня  $7,69 \pm 1,79$  пг/мл до  $7,9 \pm 0,11$  пг/мл на 7-8-му добу. В подальшому, на 13-14-ту добу після опіку рівень ЕТ-1 в капілярній крові рани в ГП мав деяку тенденцію до зниження до рівнів  $6,6 \pm 0,1$  пг/мл, проте залишався достовірно вищим в 1,62 раза за показники даного періоду підгрупи 2 ( $p < 0,05$ ), що свідчило про більш виражену вазоконстрикцію в зоні опікової рани в пацієнтів давньої групи. Зниження рівнів даного вазоконстрикторного та прозапального пептиду в периферичній крові та в капілярній крові опікової рани при використанні препарату улінастатину в пацієнтів підгрупи 2 сприяло зменшенню ішемічних проявів в ділянці опікової

рани, корекції ендотеліальної дисфункції, що в подальшому мало позитивний вплив на перебіг ранового процесу та репаративної регенерації.

Вивчена динаміка рівня показника ендотеліальної дисфункції ГЦ у капілярній крові опікової рани як при проведенні стандартної терапії в групі порівняння, так і при застосуванні улінастатину в підгрупі 2, (рис. 3.9).

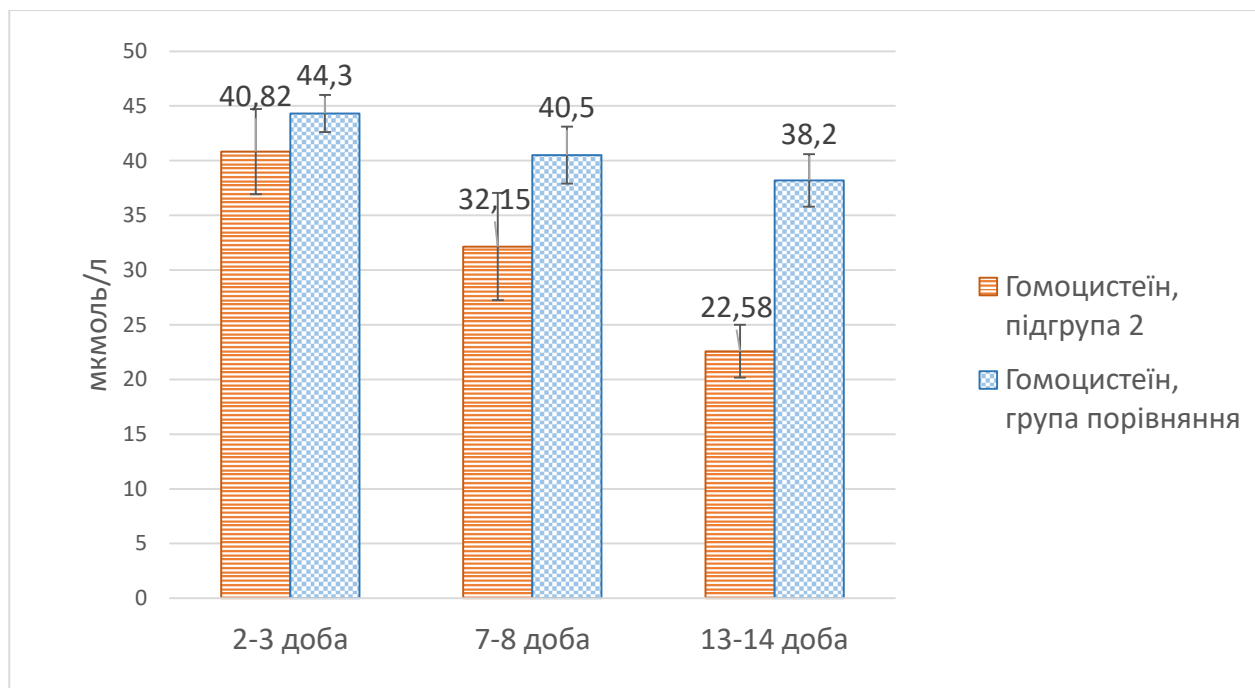


Рис.3.9 Показники гомоцистеїну в капілярній крові зони ураження у пацієнтів підгрупи 2 та групи порівняння

Вихідні рівні ГЦ на 2-3-тю добу в капілярній крові опікової рани в пацієнтів підгрупи 2 та ГП становили  $40,82 \pm 3,89$  мкмоль/л та  $44,3 \pm 1,7$  мкмоль/л відповідно, що перевищувало референтні значення більше ніж в 4 рази ( $p < 0,05$ ). На 7-8-му добу після травми встановлено достовірне зниження концентрації ГЦ в пацієнтів підгрупи 2 до значень  $32,15 \pm 4,91$  мкмоль/л, що було в 1,27 рази нижче за вихідний рівень ( $p < 0,05$ ) та в 1,26 рази нижче за показник групи порівняння, який на 7-8-му добу складав  $40,5 \pm 2,6$  мкмоль/л.

На 13-14-ту добу після травми в пацієнтів підгрупи 2 спостерігалось подальше достовірне зниження вмісту ГЦ в капілярній крові зони ураження до  $22,58 \pm 2,41$  мкмоль/л, що було в 1,81 рази нижче від вихідних значень ( $p < 0,05$ ). В групі порівняння показник ГЦ на 13-14-ту добу складав  $38,2 \pm 2,4$  мкмоль/л, що не мало достовірної різниці з вихідними показниками ( $p = 0,13$ ) і було в 1,69 рази



більше відповідного показника підгрупи 1 ( $p < 0,05$ ).

Зменшення рівня гомоцистеїнемії в пацієнтів підгрупи 2 в периферичній крові та в капілярній крові опікової рани призводило до зменшення його цитотоксичного впливу на ендотелій та зменшення експресії прозапальних цитокінів, що разом зі зменшенням рівнів ET-1 призводило до покращення здатності ендотелію регулювати тонус судин, послаблювало прояви судинних ускладнень в зоні термічного ураження, що в подальшому мало позитивний вплив на перебіг ранового процесу.

### 3.2.3 Зміни показників фагоцитарної активності нейтрофільних гранулоцитів та макрофагів

З метою визначення функціональної активності фагоцитуючих клітин у пацієнтів підгрупи 2 проведений спонтанний на індукований НСТ-тест, в зразках периферичної крові та капілярної крові зони термічного ураження, (табл. 3.13).

Таблиця 3.13

Показники функціональної активності нейтрофільних гранулоцитів (НГ) та моноцитів в периферичній крові та в капілярній крові рани пацієнтів підгрупи 2, %,  $M \pm m$ .

Показники	НСТ спонтанний			Референтні значення	НСТ індукований			Референтні значення
	Доба після травми				Доба після травми			
Доба після травми	2-3-тя	7-8-ма	13-14-та		2-3-тя	7-8-ма	13-14-та	
НГ, периферична кров	23,25 ±3,11 $p < 0,001^*$	20,08 ±2,71 $p < 0,001^*$ $p = 0,017^*$	19,40 ±1,78 $p < 0,001^*$ $p = 0,01^{**}$	10,21 ±0,34	6,08 ±1,44 $p < 0,001^*$	6,50 ±1,09 $p < 0,001^*$	8,30 ±0,82 $p = 0,0037^*$ $p = 0,0026^{**}$ $p = 0,0035^{***}$	11,7 ±0,7
НГ, капілярна кров рани	35,91 ±4,70 $p < 0,001^*$ $p < 0,001^{****}$	27,33 ±2,74 $p < 0,001^*$ $p = 0,002^*$ $p < 0,01^{****}$	20,17 ±0,75 $p < 0,001^*$ $p = 0,006^{**}$ $p = 0,169^{****}$	10,21 ±0,34	5,27 ±1,19 $p < 0,001^*$ $p = 0,08^{****}$	9,17 ±1,19 $p = 0,077^*$ $p < 0,001^{****}$	9,83 ±0,75 $p = 0,08^*$ $p = 0,064^{**}$ $p = 0,001^{****}$	11,7 ±0,7

Моноцити, периферична кров	5,08 ±1,00 p=0,004*	5,00 ±1,21 p=0,01*	6,50 ±0,85 p=0,0376* p=0,0026** p=0,0035** *	8,9 ±0,7	1,92 ±0,9 p<0,001*	5,00 ±0,74 p<0,001* p<0,001* *	6,10 ±1,10 p=0,001* p<0,001** p=0,0087** *	12,05 ±0,8
Моноцити, капілярна кров рани	2,73 ± 1,19 p<0,001* p=0,5****	4,58 ± 1,00 p<0,01* p=0,183****	6,00 ± 1,26 p=0,0535* p=0,0065**	8,9 ± 0,7	2,18 ± 0,75 p<0,0001*	3,25 ± 1,06 p<0,001* p<0,001* * p<0,001****	4,83 ± 1,47 p<0,001* p<0,001** p=0,035****	12,05 ± 0,8

Примітка: \*-відносно референтних показників;  
\*\*-відносно вихідних показників на 2-3-тю добу;  
\*\*\*-відносно показників на 7-8-му добу;  
\*\*\*\*-відносно показників периферичної крові

У пацієнтів підгрупи 2 на 2-3-тю добу після травми встановлено збільшення показників загальної функціональної активності НГ периферичної крові у спонтанному НСТ-тесті, які становили  $23,25 \pm 3,11\%$ , що в 2,28 рази ( $p < 0,05$ ) перевищувало референтні показники. В стимульованому тесті відбувалось зниження показників функціональної активності НГ до  $6,08 \pm 1,44\%$ , що в 1,92 раза нижче референтних значень ( $p < 0,05$ ). В капілярній крові опікової рани на 2-3-тю добу показники НСТ-тесту становили  $35,91 \pm 4,70\%$ , що в 3,52 раза вище референтних значень ( $p < 0,05$ ) і в 1,54 раза вище за відповідний показник периферичної крові ( $p < 0,05$ ), а показники індукованого НСТ-тесту склали  $5,27 \pm 1,19\%$  та не мали достовірної різниці з показником периферичної крові в цьому періоді ( $p = 0,0794$ ).

На 7-8-му добу з моменту травми виявлено зниження показників функціональної активності НГ в периферичній крові до  $20,08 \pm 2,71\%$ , що було достовірно нижче в 1,16 раза за вихідні показники, проте перевищувало референтні значення в 1,97 раза. Показники індукованого тесту НГ периферичної крові на 7-8-му добу склали  $6,50 \pm 1,09\%$ , що не мало суттєвої відмінності з вихідним показником. В цей же період показники спонтанного тесту НГ в капілярній крові

рани достовірно знизились відносно вихідного рівня до  $27,33 \pm 2,74\%$ , а показники індукованого НСТ тесту підвищились в 1,74 раза до  $9,17 \pm 1,19\%$  що вже не мало достовірної різниці з референтними значеннями ( $p=0,077$ ).

В подальшому, на 13-14-ту добу, показник спонтанного НСТ тесту НГ периферичної крові складав  $19,40 \pm 1,78\%$ , що було достовірно нижче за вихідний рівень в 1,20 раза та перевищувало референтні значення в 1,9 раза ( $p<0,05$ ). В цей період показник індукованого тесту НГ периферичної крові дорівнював  $8,30 \pm 0,82\%$ , що було достовірно вище за вихідні дані ( $p<0,05$ ). Показники спонтанного тесту НГ капілярної крові на 13-14-ту добу склали  $20,17 \pm 0,75\%$ , що було нижче за вихідний рівень в 1,78 раза ( $p<0,05$ ), вище референтних значень в 1,98 раза ( $p<0,05$ ), та не мало достовірної різниці з показниками периферичної крові в даний період ( $p=0,169$ ). Показники індукованого тесту НГ капілярної крові рани становили  $9,83 \pm 0,75\%$ , що перевищувало вихідні показники в 1,87 раза, достовірно перевищувало відповідні показники периферичної крові в 1,18 раза ( $p<0,05$ ) та не мало достовірної відмінності з референтними значеннями ( $p=0,0786$ ).

Динаміка зміни показників активності НГ у спонтанному НСТ-тесті як периферичної крові, так і капілярної крові рани, свідчить про високий ступінь функціонального подразнення НГ. В капілярній крові зони термічного ураження визначається активація функціональної активності НГ, яка перевищує відповідні показники периферичної крові на 2-3-тю добу та 7-8-му добу після опіку ( $p<0,05$ ).

Зниження показників функціональної активності НГ при стимульованому НСТ-тесті як периферичної, так і капілярної крові зони ураження в терміни 2-3-ї доби після опіку свідчило про зниження потенційної можливості клітин до завершення фагоцитозу, проте в капілярній крові опікової рани відмічене достовірне значне збільшення показників індукованого НСТ тесту НГ на 7-8-му добу, і на 13-14-ту добу до рівнів референтних, що свідчить про залучення в рану НГ з високою функціональною активністю.

При визначенні активності моноцитів в периферичній крові в спонтанному НСТ-тесті на 2-3-тю добу показник становив  $5,08 \pm 1,0\%$  (табл. 3.13) та на 7-8-му добу активність складала  $5,00 \pm 1,21\%$ , що було достовірно нижче за референтні

відповідно в 1,75 та 1,78 разів, а на 13-14-ту добу показник склав  $6,50 \pm 0,85\%$ , що достовірно перевищувало вихідні значення в 1,28 разів ( $p < 0,05$ ), проте залишався достовірно нижче референтних значень. Показники активності моноцитів периферичної крові в індукованому тесті на 2-3-тю, 7-8-му та 13-14-ту добу після травми склали відповідно  $1,92 \pm 0,9\%$ ,  $5,0 \pm 0,74\%$  та  $6,10 \pm 1,0\%$  і були нижчими за референтні протягом всього періоду дослідження. При цьому відмічена позитивна достовірна динаміка до збільшення потенційної здатності до фагоцитозу в 3,18 разів на 13-14-ту добу відносно вихідних показників ( $p < 0,05$ ).

Визначення функціональної активності моноцитів в капілярній крові рани в спонтанному НСТ-тесті показало, що на 2-3-тю добу та на 7-8-му добу рівні становили  $2,73 \pm 1,19\%$  та  $4,58 \pm 1,00\%$ , що було достовірно нижче референтних значень в 3,26 та 1,94 рази ( $p < 0,05$ ). На 13-14-ту добу активність моноцитів в НСТ тесті капілярної крові зони ураження підвищилась до значень  $6,00 \pm 1,26\%$ , що було достовірно вище за вихідні дані в 2,20 разів ( $p < 0,05$ ) та не мало достовірної різниці з референтними показниками ( $p > 0,05$ ).

Показники індукованого НСТ тесту моноцитів капілярної крові рани склали у три періоди дослідження  $2,18 \pm 0,75\%$ ,  $3,25 \pm 1,06\%$  та  $4,83 \pm 1,47\%$  і були достовірно нижчими як за референтні значення, проте відмічена позитивна динаміка до збільшення потенційної активності моноцитів капілярної крові рани в 1,49 разів на 7-8-му добу та в 2,22 разів на 13-14-ту добу ( $p < 0,05$ ) відносно вихідних значень.

Таким чином, при визначенні активності моноцитів в НСТ-тесті встановлено зниження показників спонтанної реакції протягом всього періоду дослідження. Стимульований тест показував подальше зниження функціональної активності моноцитів. Проте в пацієнтів даної підгрупи відстежувалась позитивна динаміка до підвищення функціональної активності та потенційної здатності до фагоцитозу в моноцитів протягом всього періоду дослідження як в периферичній крові, так і в капілярній крові рани, що вказує на часткове збереження та підвищення функціональної активності фагоцитуючих клітин при застосуванні в комплексному лікуванні препарату інгібітора протеїназ.

### 3.3. Результати застосування препарату етилметилгідроксипіридину сукцинату

Одним з патофізіологічних механізмів після опікової травми є активація процесів вільнорадикального перекисного окислення та наступна за ним реакція тканин та систем організму, що називається оксидативним стресом. Відомо, що збільшене виробництво АФК служить захистом від патогенів та є необхідним для запобігання інфекції в області рани [249], проте тривалий вплив високих концентрацій АФК викликає окисний стрес, що викликаний дисбалансом між виробництвом і накопиченням АФК у клітинах і тканинах і здатністю біологічної системи знешкоджувати ці продукти. Процес перекисного окислення ліпідів, в т.ч. елементів клітинної мембрани вільними радикалами активує накопичення цитотоксичних продуктів, які є причиною багатьох патологічних ефектів, пов'язаних з окисним стресом у клітинах і тканинах: порушення синтезу білків, зміни судинної проникності й характеру запальної реакції [250]. Також відомо, що деякі прозапальні цитокіни, такі як IL-6 та TNF- $\alpha$ , вивільняють хемокіни, що призводить до безперервного каскаду АФК і серйозних пошкоджень клітин [7, 219, 251]. З метою мінімізації ушкоджень при окисному стресі та для покращення результатів хірургічного лікування у пацієнтів з опіками проведено застосування антиоксидантного препарату в комплексному лікуванні пацієнтів підгрупи 3.

Етилметилгідроксипіридин володіє антиоксидантною активністю [252, 253], за рахунок інактивації вільних радикалів, наслідками чого є пригнічення перекисного окислення ліпідів, яке реалізується в доведеній універсальній мембранопротекторній дії [254]. Сукцинат є проміжним продуктом і регулятором тканинного дихання в мітохондріях [255] та неконкурентним інгібітором активності проліндегідрогенази і оксидази, інгібує секрецію АФК [256]. Оскільки окислювальне пошкодження є одним із механізмів, відповідальних за локальні та віддалені патофізіологічні явища, що спостерігаються після опіку, то інгібування надмірного виробництва АФК за допомогою антиоксидантної терапії відіграє

важливу роль у процесі мінімізації ушкоджень та покращення результатів хірургічного лікування у пацієнтів з опіками.

### 3.3.1 Зміни показників прооксидантно-антиоксидантної системи

Для оцінки стану прооксидантно-антиоксидантної системи у пацієнтів підгрупи 3 визначений вміст первинних продуктів вільнорадикального перекисного окислення – дієнових кон'югатів, вторинних продуктів – ТБК-активних сполук, а також визначений вміст антиоксидантного ферменту – супероксиддисмутази (СОД) в сироватці крові (табл. 3.14).

Таблиця 3.14

Показники прооксидантно-антиоксидантної системи в периферичній крові у пацієнтів підгрупи 3,  $M \pm m$ ,  $n=14$

Досліджувані показники, одиниці вимірювання	Доба після травми			Референтні показники
	2-3-тя	7-8-ма	13-14-та	
Дієнові кон'югати, у.о.	4,99 ± 0,53 $p < 0,0001^*$	4,31 ± 0,36 $p < 0,0001^*$ $p < 0,001^{**}$	4,03 ± 0,37 $p < 0,0001^*$ $p < 0,001^{**}$ $p = 0,004^{***}$	0,8 ± 0,1
ТБК-активні продукти, мкмоль/мл	1,54 ± 0,16 $p < 0,01^*$	1,34 ± 0,12 $p = 0,01^*$	1,26 ± 0,08 $p < 0,01^*$ $p < 0,01^{**}$ $p = 0,043^{***}$	1,01 ± 0,02
СОД, о.д./мг	0,15 ± 0,03 $p < 0,01^*$	0,19 ± 0,04 $p = 0,19^*$	0,26 ± 0,04 $p = 0,66^*$ $p = 0,035^{**}$	0,25 ± 0,02

Примітка: \* - відносно референтних показників;

\*\* - відносно показників на 2-3-тю добу

\*\*\* - відносно показників на 7-8-му добу

Визначено, що рівень дієнових кон'югатів на 2-3-тю добу після опіку складає  $4,99 \pm 0,53$  у.о. що в 6,24 раза вище референтних показників ( $p < 0,05$ ). В подальшому, на 7-8-му добу відзначається зниження в 1,16 раза відносно вихідних значень до рівня  $4,31 \pm 0,36$  у.о. На 13-14-ту добу вміст дієнових кон'югатів

достовірно знижується до  $4,03 \pm 0,37$  у.о., що в 1,24 раза нижче за вихідний рівень ( $p < 0,05$ ).

При визначенні вмісту ТБК-активних продуктів в периферичній крові у пацієнтів підгрупи 3 на 2-3-тю добу після опікової травми показник становить  $1,54 \pm 0,16$  у.о., що вище референтних значень в 1,52 раза ( $p < 0,05$ ). На 7-8-му добу встановлена тенденція до зниження показників вмісту ТБК-активних продуктів в периферичній крові відносно вихідних значень у 1,15 раза, при цьому вони перевищували референтні в 1,33 рази ( $p = 0,01$ ). На 13-14-ту добу вміст ТБК-активних продуктів становив  $1,26 \pm 0,08$  мкмоль/мл, що було нижче вихідних показників в 1,22 раза ( $p < 0,05$ ).

При визначенні вихідного рівня активності СОД периферичної крові у пацієнтів підгрупи 3 до початку застосування в комплексному лікуванні етилметилгідроксипіридину сукцинату встановлено зниження активності СОД відносно референтних значень у 1,67 раза ( $p < 0,05$ ), показник становив  $0,15 \pm 0,03$  о.д./мг (Табл.3.16). На 7-8-му добу (під час застосування препарату) показник підвищився до  $0,19 \pm 0,04$  о.д./мг, що перевищувало вихідний рівень в 1,27 раза ( $p < 0,05$ ), але нижче референтних 1,32 раза. В подальшому, на 13-14-ту добу після опікової травми, встановлено достовірне підвищення активності СОД відносно початкових показників у 1,73 раза ( $p < 0,05$ ) до значень  $0,26 \pm 0,04$  о.д./мг, що вже відповідало рівню референтних значень ( $p > 0,05$ ).

Таким чином, як видно з вищенаведених даних, дефіцит антиоксидантної системи, що виражений зниженням супероксиддисмутази, та розвиток оксидативного стресу зумовлюють значне підвищення концентрації первинних та вторинних продуктів перекисного окислення в периферичній крові пацієнтів на 2-3-тю добу після опікової травми. Захист від АФК заснований головним чином на ефективній елімінації первинних АФК, у цих процесах бере участь фермент СОД [257]. На 7-8-му та на 13-14-ту добу після травми у пацієнтів підгрупи 3 відмічається зниження рівня продуктів ПОЛ та достовірне підвищення СОД до рівня референтних значень, що свідчить про покращення збалансування прооксидантно-антиоксидантної системи. Таким чином, доведено, що основна дія

препарату етилметилгідроксипіридину сукцинату реалізується через участь у пригніченні вільнорадикального окислення та підвищенні активності супероксидисмутази.

### 3.3.2 Зміни показників ендотеліальної дисфункції

Відомо, що АФК можуть спричинити порушення синтезу NO через механізм роз'єднання eNOS та поглинання супероксидом NO з утворенням пероксинітриду, викликаючи таким чином вазомоторну дисфункцію [258]. АФК можуть регулювати експресію прозапальних цитокінів (наприклад IL-1), таким чином опосередковуючи участь ендотеліальних клітин у запальних реакціях. Крім того, АФК можуть викликати загибель ендотеліальних клітин через різні молекулярні механізми, включаючи піроптоз [259].

З метою вивчення стану системи продукції, депонування та транспортування NO при застосуванні антиоксидантного препарату етилметилгідроксипіридину сукцинату проведено визначення вмісту оксиду азоту за рівнем його кінцевого продукту, нітриду натрію та вмісту S-нітрозотіолів в пацієнтів підгрупи 3 та групи порівняння (табл. 3.15)

Таблиця 3.15

Показники вмісту нітриду натрію та S-нітрозотіолів в периферичній крові у пацієнтів підгрупи 3 (n=14) та групи порівняння (n=22),  $M \pm m$

Показники, пг/мл	Підгрупа 3			Група порівняння			Референтні значення
	Доба після опікової травми						
	2-3	7-8	13-14	2-3	7-8	13-14	
нітрит натрію, мкмоль/л	7,81±0,52 p<0,001*	7,11±0,57 p=0,002* p<0,01** p<0,001****	6,7±0,63 p=0,015* p<0,001** p=0,009***	8,68±0,08 p<0,001*	3,48±0,2 p=0,013* p<0,001**	6,71±0,45 p<0,001* p<0,001** p<0,001***	4,69±0,42
S-нітрозотіоли, нмоль/мл	1,83±0,05 p<0,001*	1,68±0,08 p<0,001* p<0,01**	1,57±0,09 p<0,001* p<0,001** p<0,001****	1,89±0,04 p<0,001*	1,94±0,23 p<0,001*	1,82±0,2 p<0,001* p<0,05***	0,857±0,142

Примітки: \* - вірогідно порівняно з референтними показниками (p<0,05);  
 \*\* - вірогідно порівняно з вихідними показниками (p<0,05);  
 \*\*\* - вірогідно порівняно з показниками на 7-8-му добу (p<0,05);  
 \*\*\*\* - вірогідно порівняно з групою порівняння (p<0,05)



Вихідні показники нітриту натрію в обох групах достовірно перевищували референтні значення ( $p < 0,05$ ). На 7-8-му добу після опікової травми у пацієнтів підгрупи 3 встановлено незначне зниження показників вмісту кінцевих продуктів оксиду азоту з вихідних показників  $7,81 \pm 0,52$  мкмоль/л до  $7,11 \pm 0,57$  мкмоль/л. В групі порівняння рівень даного показника значно знизився у 2,49 рази з  $8,68 \pm 0,08$  мкмоль/л до  $3,48 \pm 0,2$  мкмоль/л ( $p < 0,05$ ) та був достовірно нижчим у 2,04 рази за відповідні показники підгрупи 3. В подальшому на 13-14-ту добу рівень вмісту кінцевих продуктів NO в крові пацієнтів підгрупи 3 становив  $6,7 \pm 0,63$  мкмоль/л, що було в 1,17 рази нижче за вихідний рівень ( $p < 0,05$ ). В пацієнтів групи порівняння на 13-14-ту добу даний показник склав  $6,71 \pm 0,45$  мкмоль/л, що було в 1,29 рази достовірно нижче за вихідний рівень ( $p < 0,05$ ), проте без достовірної різниці з показниками підгрупи 3 в даний період ( $p > 0,05$ ).

При визначенні вмісту S-нітрозотіолів в периферичній крові як в пацієнтів підгрупи 3, так і групи порівняння, на 2-3-тю добу після травми зафіксовано підвищення показників відносно референтних більше ніж у 2 рази ( $p < 0,05$ ), (табл. 3.17). На 7-8-му добу після травми у пацієнтів підгрупи 3 відмічене достовірне зниження показника S-нітрозотіолів з вихідного рівня  $1,83 \pm 0,05$  нмоль/мл до  $1,68 \pm 0,08$  нмоль/мл ( $p < 0,05$ ), в той час як в групі порівняння даний показник зріс з  $1,89 \pm 0,04$  до  $1,94 \pm 0,24$  нмоль/мл. При чому підвищення рівня S-нітрозотіолів відбулось одночасно зі зниженням кінцевих продуктів NO в даному періоді в пацієнтів ГП, що свідчить про блокування виділення NO з депо. В подальшому, на 13-14-ту добу після травми, в підгрупі 3 визначається достовірне зниження рівня S-нітрозотіолів відносно вихідного рівня ( $p < 0,05$ ) до значень  $1,57 \pm 0,09$  нмоль/мл, в групі порівняння також відзначається зниження даного показника як відносно рівня на 7-8 день, так і відносно вихідних рівнів, проте був достовірно вищим в 1,16 рази за відповідний показник підгрупи 3 ( $p < 0,05$ ).

Таким чином, при використанні в комплексному лікуванні пацієнтів з опіками препарату етилметилгідроксипіридину сукцинату динаміка показників S-нітрозотіолів та кінцевих продуктів NO свідчить про використання S-нітрозотіолів

для синтезу NO. Зниження рівнів S-нітрозотіолів також знижує ризик блокади внутрішньоклітинного дихання та токсичного ушкодження клітин [217].

Відомо, що NO використовується для нейтралізації гомоцистеїну, який є одним з провідних чинників розвитку ендотеліальної дисфункції. При визначенні динаміки показників ГЦ в периферичній крові та в капілярній крові опікової рани отримані наступні дані (табл.3.16)

Таблиця 3.16

Показники вмісту гомоцистеїну в периферичній крові та в капілярній крові зони ураження у пацієнтів підгрупи 3,  $M \pm m$ ,  $n=14$

Досліджувані показники, мкмоль/л	Доба після опікової травми			Референтні значення
	2-3-тя	7-8-ма	13-14-та	
Гомоцистеїн, периферична кров	29,0±7,38 $p < 0,05^*$	26,82±8,32 $p = 0,046^{**}$	24,67±10,1 $p = 0,027^{**}$	10,2±0,5
Гомоцистеїн, капілярна кров зони ураження	33,09±4,72 $p < 0,0001^*$	26,1±6,31 $p = 0,017^*$ $p = 0,015^{**}$	23,42±4,7 $p = 0,009^*$ $p = 0,0008^{**}$ $p = 0,03^{***}$	10,2±0,5

Примітка: \* - вірогідно порівняно з референтними показниками ( $p < 0,05$ );

\*\* - вірогідно порівняно з вихідними показниками ( $p < 0,05$ );

\*\*\* - вірогідно порівняно з показниками на 7-8-му добу ( $p < 0,05$ );

На 2-3-тю добу після опікової травми в пацієнтів підгрупи 3 рівень ГЦ периферичної крові становив 29,0±7,38 мкмоль/л, капілярної крові рани 33,09±4,72 мкмоль/л, що перевищувало референтні показники більше ніж в 2,8 рази. На 7-8-му добу рівні ГЦ як в периферичній крові, так і в капілярній крові рани, достовірно знизились відносно вихідних показників до 26,82±8,32 мкмоль/л, та 26,1±6,31 мкмоль/л відповідно, при чому рівні ГЦ в зоні ураження та в периферичній крові не мали між собою достовірної різниці. В подальшому, на 13-14-ту добу, показники ГЦ периферичної крові і капілярної крові рани достовірно ( $p < 0,05$ ) знизились відносно вихідних показників і становили 24,67±10,1 мкмоль/л та 23,42±4,7 мкмоль/л відповідно, і також не мали статистично достовірної різниці між собою.

Відомо, що ГЦ окислюється в плазмі периферичної крові з утворенням значної кількості кисневих радикалів, сприяє пошкодженню ендотелію та має

вплив на підтримку системної запальної відповіді [213]. Достовірне зниження рівнів ГЦ як в периферичній крові, так і в капілярній крові рани в пацієнтів підгрупи 3, свідчить про зниження цитотоксичного впливу ГЦ, зменшення проявів оксидантного стресу, запальної відповіді та ендотеліальної дисфункції як системно, так і в місці опікової рани.

### 3.3.3 Зміни показників цитокінів

Проведене дослідження цитокинового статусу у пацієнтів підгрупи 3 показало, що на 2-3-тю добу після опікової травми спостерігається різке підвищення рівнів прозапальних цитокінів (табл. 3.17).

Таблиця 3.17

Показники рівнів цитокінів у периферичній крові пацієнтів підгрупи 3,  
M ± m, n =14

Досліджувані показники, пг/мл	Доба після опікової травми			Референтні значення
	2-3	7-8	13-14	
IL-1	133,54±3,62 p<0,0001*	130,46±5,04 p<0,0001* p<0,01**	125,31±6,84 p<0,0001* p<0,01** p<0,01***	26,0±8,1
IL-2	66,44±4,21 p<0,0001*	62,29±7,19 p<0,0001* p<0,01**	59,64±7,56 p<0,0001* p<0,01** p=0,01***	12,75±1,25
IL-6	84,21±2,55 p<0,0001*	80,71±3,60 p<0,0001* p=0,0006**	76,79±4,69 p=0,0002* p<0,0001** p=0,0004***	42,7±6,5
IL-10	67,43±2,79	70,93±2,81 p<0,01**	72,57±2,93 p<0,01** p=0,04***	68,3±0,97
TNF-α	253,14 ±11,40 p<0,0001*	245,29 ±11,17 p<0,0001* p<0,01**	238,43 ±11,46 p<0,0001* p<0,01** p<0,01***	24,2±6,0

Примітка: \* - відносно референтних показників;  
\*\* - відносно показників на 2-3-тю добу;  
\*\*\* - відносно показників на 7-8-му добу

Визначене різке підвищення рівнів прозапальних інтерлейкінів IL-1 та TNF- $\alpha$  відносно референтних показників в 5,14 ( $p<0,05$ ) та 10,46 ( $p<0,05$ ) рази відповідно. Цей факт є свідченням вираженої запальної реакції та індукції ЕД з розвитком запальної інфільтрації судинної стінки, що потенційно сприяє розвитку ішемії в зоні опіку. Рівень IL-2 визначався підвищеним в 5,21 рази ( $p<0,05$ ), IL-6 вищим в 1,97 рази ( $p<0,05$ ) відносно референтних показників. На 7-8 добу після опікової травми в пацієнтів підгрупи 3 спостерігалось зниження рівня IL-1 з  $133,54\pm 3,62$  пг/мл до  $130,46\pm 5,04$  пг/мл, а в подальшому, на 13-14-ту добу, достовірне зниження до  $125,31\pm 6,84$  пг/мл ( $p<0,05$ ).

Дослідження вмісту плейотропного цитокіну IL-2 в периферичній крові пацієнтів підгрупи 3 показало, що його рівень на 2-3-тю добу після травми становив  $66,44\pm 4,21$  пг/мл, в подальшому знизився до рівня  $62,29\pm 4,33$  пг/мл на 7-8-му добу та мав достовірне зниження на 13-14-ту добу до  $59,64\pm 7,56$  пг/мл ( $p<0,05$ ), проте лишався достовірно вищим за референтні показники.

Проведений кореляційний аналіз між показниками цитокінів в різні періоди дослідження, який показав наявність прямого кореляційного зв'язку середньої сили між рівнями IL-1 та IL-2 на 2-3-тю добу та 13-14-му добу після опікової травми ( $r=0,585$  та  $r=0,665$  відповідно), а на 7-8-му добу даний зв'язок є прямим та сильним ( $r=0,835$ ,  $p<0,05$ ).

В групі порівняння на 2-3-тю добу рівень IL-2 в периферичній крові становив  $54,35\pm 10,50$  пг/мл, на 7-8-му добу підвищився до  $65,31\pm 8,45$  пг/мл ( $p<0,05$ ), а в подальшому, на 13-14-ту добу достовірно знизився до  $49,53\pm 4,15$  пг/мл ( $p<0,05$ ) (рис 3.10). Відомо, що IL-2 через взаємодію з іншими цитокінами впливає на проліферацію лімфоцитів та сприяє локальному росту ендотеліальних клітин і ангиогенезу [224, 225]. В підгрупі 3 підтримання рівня  $59,64\pm 7,56$  пг/мл на 13-14-ту добу порівняно з рівнем  $49,53\pm 4,15$  пг/мл в ГП є більш сприятливим для реваскуляризації місця рани.

При визначенні вмісту IL-6 в периферичній крові в пацієнтів підгрупи 3 встановлено, що на 2-3-тю добу він становив  $84,21\pm 2,55$  пг/мл, на 7-8-му добу достовірно знизився до  $80,71\pm 1,58$  пг/мл та продовжував зниження до  $76,79\pm 4,69$

пг/мл на 13-14-ту добу ( $p<0,05$ ). В групі порівняння вихідний рівень ІЛ-6 становив  $85,30\pm 13,10$  пг/мл, на 7-8-му добу значно зріс до  $131,0\pm 11,21$  пг/мл ( $p<0,05$ ) відносно вихідних показників та перевищував відповідний показник підгрупи 1 в 1,57 раза. На 13-14-ту добу рівень ІЛ-6 становив  $131,2\pm 9,25$  пг/мл, що в 1,54 раза вище за вихідний рівень та в 1,59 раза вище за відповідний показник підгрупи 1 ( $p<0,05$ ), (рис. 3.10).

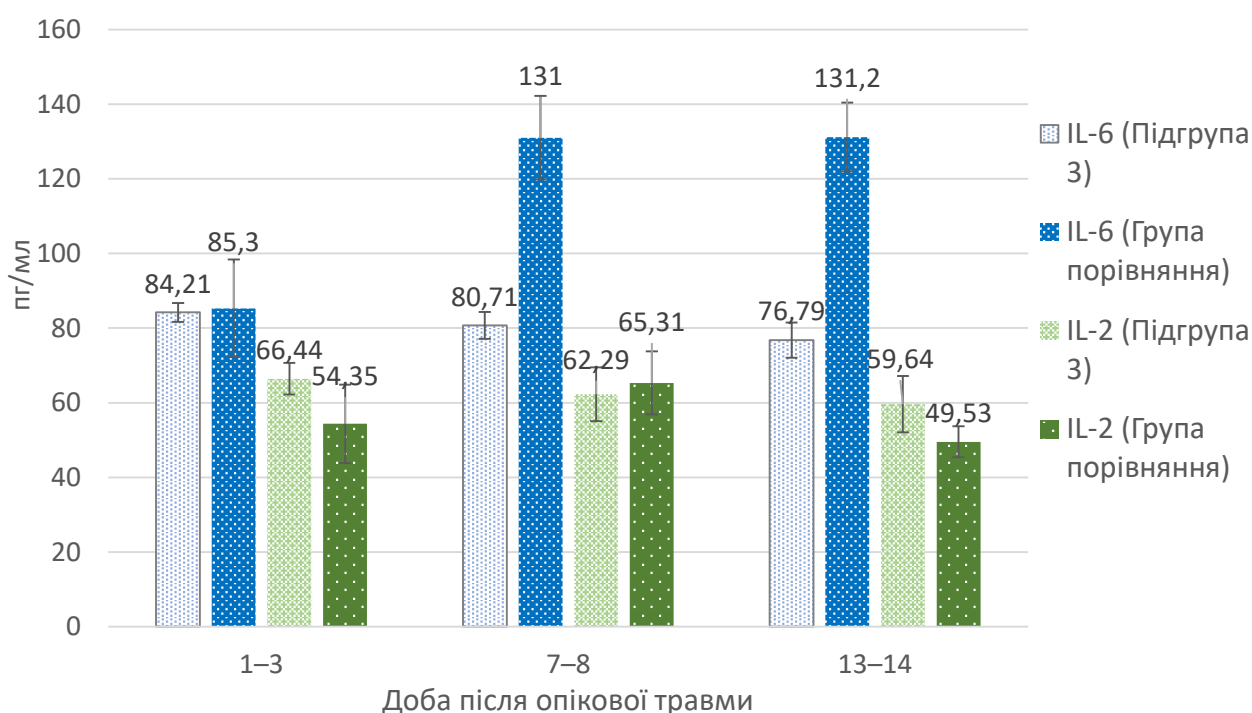


Рис.3.10 Динаміка показників інтерлейкіну-6 та інтерлейкіну-2 в периферичній крові пацієнтів підгрупи 3 та групи порівняння

Відомо, що ІЛ-6 опосередковує численні ефекти, має прямий вплив на активність та експресію eNOS, а також на збільшення судинного супероксиду, який швидко інактивує NO, тим самим обмежуючи біодоступність NO, підсилюючи прояви ендотеліальної дисфункції [221]. Проведене визначення кореляційних зв'язків між показниками кінцевих продуктів NO та ІЛ-6 в периферичній крові в пацієнтів підгрупи 3 та групи порівняння (табл. 3.18, рис 3.11). Визначено, що в підгрупі 3 між даними показниками існує прямий зв'язок середньої сили ( $r=0,45$ ,

$p < 0,05$ ), в той час як в ГП зв'язок між NO та IL-6 зворотній та сильний ( $r = -0,74$ ,  $p < 0,05$ ).

Таблиця 3.18

Показники вмісту нітриту натрію та цитокінів IL-6, IL-10 та TNF- $\alpha$  в периферичній крові у пацієнтів підгрупи 3 ( $n = 14$ ) та групи порівняння ( $n = 22$ ),

$M \pm m$

Показники, одиниці виміру	Підгрупа 3			Група порівняння			Референтні значення
	Доба після опікової травми						
	2-3	7-8	13-14	2-3	7-8	13-14	
нітрит натрію, мкмоль/л	7,81 $\pm$ 0,52 $p < 0,001^*$	7,11 $\pm$ 0,57 $p = 0,002^*$ $p < 0,01^{**}$ $p < 0,001^{****}$	6,7 $\pm$ 0,63 $p = 0,015^*$ $p < 0,001^{**}$ $p = 0,009^{***}$	8,68 $\pm$ 0,08 $p < 0,001^*$	3,48 $\pm$ 0,2 $p = 0,013^*$ $p < 0,001^{**}$	6,71 $\pm$ 0,45 $p < 0,001^*$ $p < 0,001^{**}$ $p < 0,001^{***}$	4,69 $\pm 0,42$
IL-6, пг/мл	84,21 $\pm$ 2,55 $p < 0,001^*$	80,71 $\pm$ 3,60 $p < 0,001^*$ $p = 0,0006^{**}$ $p < 0,0001^{****}$	76,79 $\pm$ 4,69 $p = 0,0002^*$ $p < 0,0001^{**}$ $p = 0,0004^{***}$ $p < 0,0001^{****}$	85,30 $\pm$ 13,10 $p < 0,001^*$	131,0 $\pm$ 11,2 $p < 0,001^*$ $p = 0,0113^{**}$	131,2 $\pm$ 9,25 $p < 0,001^*$ $p < 0,007^{**}$	42,7 $\pm 6,5$
IL-10, пг/мл	67,43 $\pm$ 2,79	70,93 $\pm$ 2,81 $p < 0,01^{**}$	72,57 $\pm$ 2,93 $p < 0,01^{**}$ $p = 0,04^{***}$ $p < 0,05^{****}$	65,1 $\pm$ 0,72 $p < 0,05^*$	70,15 $\pm$ 0,8 $p < 0,0001^*$ $p < 0,0001^{**}$	77,15 $\pm$ 1,22 $p < 0,0001^*$ $p < 0,0001^{**}$ $p < 0,0001^{***}$	68,3 $\pm$ 0, 97
TNF- $\alpha$ , пг/мл	253,14 $\pm 11,40$ $p < 0,0001^*$	245,29 $\pm 11,17$ $p < 0,0001^*$ $p < 0,01^{**}$ $p < 0,0001^{****}$	238,43 $\pm 11,46$ $p < 0,0001^*$ $p < 0,01^{**}$ $p < 0,01^{***}$ $p < 0,001^{****}$	265,0 $\pm$ 6,5 9 $p < 0,0001^*$	281,75 $\pm 4,10$ $p < 0,0001^*$ $p < 0,01^{**}$	256,35 $\pm$ 15, 7 $p < 0,0001^*$ $p < 0,001^{***}$	24,2 $\pm 6,0$

Примітки: \* - вірогідно порівняно з референтними показниками ( $p < 0,05$ );  
 \*\* - вірогідно порівняно з вихідними показниками ( $p < 0,05$ );  
 \*\*\* - вірогідно порівняно з показниками на 7-8-му добу ( $p < 0,05$ );  
 \*\*\*\* - вірогідно порівняно з групою порівняння ( $p < 0,05$ )

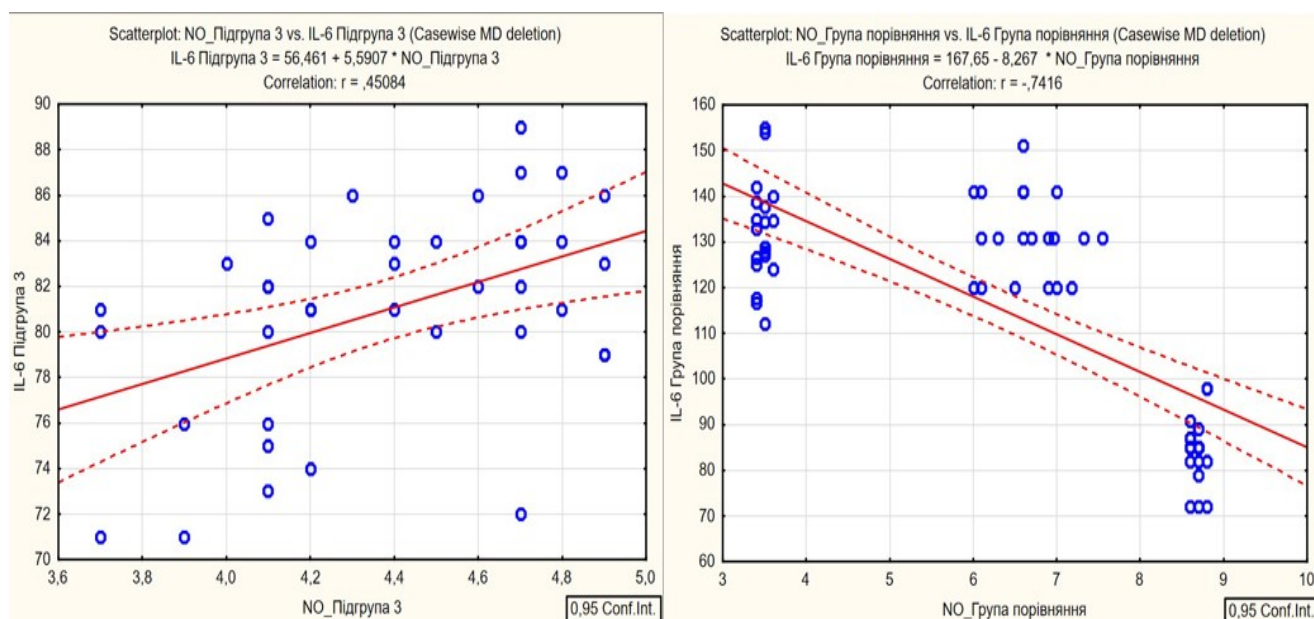


Рис 3.11 Кореляція між показниками кінцевих продуктів NO та IL-6 в периферичній крові в пацієнтів підгрупи 3 та групи порівняння

При дослідженні показників IL-10 в периферичній крові пацієнтів підгрупи 3 встановлено, що вихідний рівень цитокіну становить  $67,43 \pm 2,79$  пг/мл, та не відрізняється від референтних значень ( $p > 0,05$ ), проте на 7-8-й день після опікової травми рівень достовірно зростав до  $70,93 \pm 2,81$  пг/мл ( $p < 0,05$ ) та продовжував зростати до  $72,57 \pm 2,93$  пг/мл на 13-14-ту добу ( $p < 0,05$ ) (табл. 3.18). В пацієнтів групи порівняння вихідний рівень IL-10 складав  $65,22 \pm 1,56$  пг/мл та не мав достовірної різниці з показниками в підгрупі 3, в подальшому мав тенденцію до зростання до  $70,15 \pm 0,8$  пг/мл на 7-8-му добу та до  $77,15 \pm 1,22$  пг/мл на 13-14-ту добу, (табл. 3.19, табл. 3.20), тим самим достовірно перевищуючи як вихідні показники, так і референтні ( $p < 0,05$ ). На 13-14 добу рівень IL-10 в групі порівняння був вищим за відповідний показник підгрупи 3 в 1,06 раза. При проведенні кореляційного аналізу встановлений зворотній середньої сили кореляційний зв'язок між IL-10 та IL-6 в періоді 7-8-ї доби після опікової травми ( $r = -0,595$ ,  $p < 0,05$ ), та зворотній зв'язок середньої сили IL-10 та IL-2 в періоді 13-14-ї доби ( $r = -0,584$ ,  $p < 0,05$ ).

При визначенні рівнів TNF- $\alpha$  в периферичній крові пацієнтів підгрупи 3 встановлено, що на 2-3 добу рівень складав  $253,14 \pm 11,40$  пг/мл, на 7-8-му добу достовірно знизився відносно вихідних показників до  $245,29 \pm 11,17$  пг/мл ( $p < 0,05$ ),

і на 13-14-ту добу також продовжував достовірно знижатись до рівня  $238,43 \pm 11,46$  пг/мл ( $p < 0,05$ ), (табл. 3.18). В пацієнтів групи порівняння вихідний рівень TNF- $\alpha$  становив  $265,0 \pm 15,5$  пг/мл, а в подальшому, на 7-8-му добу відмічене достовірне відносно вихідного рівня зростання до  $281,75 \pm 4,10$  пг/мл ( $p < 0,05$ ), що було в 1,10 раза вище за відповідний показник підгрупи 1 (рис 3.12). В подальшому, на 13-14-ту добу в пацієнтів групи порівняння відмічене достовірне зниження рівня TNF- $\alpha$  відносно показників 7-8-ї доби та становило  $256,35 \pm 15,70$  пг/мл ( $p < 0,05$ ), проте даний рівень був достовірно вищим за відповідні значення підгрупи 1 ( $p < 0,05$ ). При проведенні кореляційного аналізу встановлений зворотній кореляційний зв'язок середньої сили між рівнем TNF- $\alpha$  та IL-2 на 2-3-тю та 7-8-му добу після опіку ( $r = -0,6655$  та  $r = -0,5773$  відповідно,  $p < 0,05$ ).

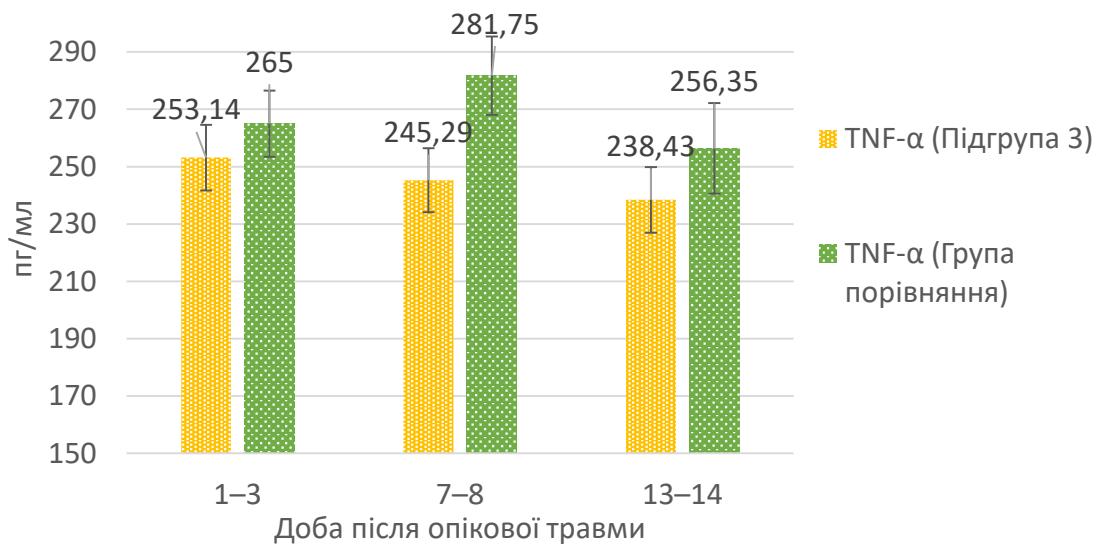


Рис.3.12 Динаміка показників TNF- $\alpha$  в периферичній крові пацієнтів підгрупи 1 та групи порівняння

Встановлено, що при застосуванні препарату етилметилгідроксипіридину сукцинату в пацієнтів підгрупи 3 рівні прозапальних цитокінів достовірно знизились відносно вихідних показників, в той час як в групі порівняння відбувалось підвищення рівнів IL-6, TNF- $\alpha$  на 7-8-му добу після травми. Динаміка плейотропних цитокінів (IL-2, IL-10) сприяла створенню умов для проліферації клітин, росту ендотеліальних клітин і ангіогенезу. Також динаміка змін рівнів цитокінів сприяла покращенню біодоступності NO та зменшенню проявів ендотеліальної дисфункції, що призводить до покращення кровопостачання зони



опікової рани, сприяє процесам репаративної регенерації.

### 3.3.4 Зміни показників протеолізу

Досліджена динаміка протеолітичної активності за рівнями кальпаїнів,  $\alpha$ -1П,  $\alpha$ -2МГ в периферичній крові пацієнтів підгрупи 3 та групи порівняння на 2-3-тю, 7-8-му та 13-14-ту добу після опікової травми (Табл. 3.19).

Таблиця 3.19

Показники протеолітичної активності в периферичній крові пацієнтів підгрупи 3 (n=14) та групи порівняння (ГП) (n=22),  $M \pm m$

Показники, одиниці вимірю- вання	Доба після опікової травми						Рефе- рентні значення
	2-3		7-8		13-14		
	Підгрупа 3	ГП	Підгрупа 3	ГП	Підгрупа 3	ГП	
Кальпаїни, мкЕкв/хв	57,06 $\pm 4,46$ $p < 0,001^*$	59,22 $\pm 3,26$ $p < 0,001^*$	49,78 $\pm 7,64$ $p < 0,001^*$ $p < 0,001^{**}$	61,51 $\pm 5,49$ $p < 0,001^*$	45,52 $\pm 7,97$ $p < 0,001^*$ $p < 0,001^{**}$ $p < 0,001^{***}$ $p < 0,05^{****}$	60,12 $\pm 7,17$ $p < 0,001^*$	10,9 $\pm$ 1,7
$\alpha$ -1П, мкмоль/л	81,7 $\pm 2,86$ $p < 0,001^*$	87,7 $\pm 7,9$ $p < 0,001^*$	78,51 $\pm 2,35$ $p < 0,001^*$ $p < 0,001^{**}$	72,1 $\pm 7,8$ $p < 0,001^*$ $p < 0,001^{**}$	75,06 $\pm 4,95$ $p < 0,001^*$ $p < 0,001^{**}$ $p < 0,001^{***}$ $p < 0,05^{****}$	68,0 $\pm 4,9$ $p < 0,001^*$ $p < 0,001^{**}$ $p < 0,001^{***}$	7,4 $\pm$ 0,3
$\alpha$ -2МГ, г/л	2,9 $\pm 0,21$ $p = 0,002^*$	3,1 $\pm 0,45$ $p = 0,02^*$	2,55 $\pm 0,29$ $p < 0,001^{**}$	3,0 $\pm 0,5$ $p = 0,048^*$	2,36 $\pm 0,36$ $p = 0,0043^{**}$	2,2 $\pm 0,4$ $p < 0,05^{**}$ $p < 0,05^{***}$	1,9 $\pm$ 0,2

Примітка: \* - відносно референтних показників;

\*\* - відносно показників на 2-3-тю добу

\*\*\* - відносно показників на 7-8-му добу

\*\*\*\* - відносно відповідних показників групи порівняння

При дослідженні вмісту кальпаїнів у периферичній крові як у пацієнтів підгрупи 3, так і пацієнтів групи порівняння встановлено підвищення показників відносно референтних значень більше ніж в 5,2 рази ( $p < 0,05$ ). Підвищення рівнів кальпаїнів пов'язане з їх виходом з ушкоджених опіковою травмою клітин. На 7-8-му добу в пацієнтів підгрупи 3 показники достовірно знизились в 1,15 разів з

вихідних  $57,06 \pm 4,46$  мкЕкв/хв до  $49,78 \pm 7,64$  мкЕкв/хв ( $p < 0,05$ ), в той час як в групі порівняння рівень активності кальпаїнів мав тенденцію до зростання з вихідних  $59,22 \pm 3,26$  мкЕкв/хв до  $61,51 \pm 5,49$  мкЕкв/хв. В подальшому, на 13-14-ту добу, в підгрупі 3 показники кальпаїнів склали  $45,52 \pm 7,97$  мкЕкв/хв, що було достовірно нижче в 1,25 раза за вихідні показники та достовірно нижче в 1,32 раза відповідних показників групи порівняння ( $p < 0,05$ ), які становили на 13-14-ту добу  $60,12 \pm 7,17$  мкЕкв/хв. Пригнічення активності кальпаїнів в пацієнтів підгрупи 3 сприяло гальмуванню розвитку дисфункції ендотелію, послаблювало реакції запалення [230, 232-235].

Вміст  $\alpha$ -1ІІІ протягом усього періоду дослідження залишається підвищеним більш ніж в 9 разів відносно референтних значень як в пацієнтів підгрупи 3, так і в пацієнтів ГП. Незважаючи на більш високий вихідний рівень  $\alpha$ -1ІІІ в пацієнтів групи порівняння ( $87,7 \pm 7,9$  мкмоль/л) порівняно з підгрупою 3 ( $81,7 \pm 2,86$  мкмоль/л), на 7-8-му добу рівень  $\alpha$ -2ІІІ в групі порівняння знизився в 1,22 рази до значень  $72,1 \pm 7,8$  мкмоль/л, а в підгрупі 3 в 1,04 раза до рівня  $78,51 \pm 2,35$  мкмоль/л. В подальшому, на 13-14-ту добу рівень  $\alpha$ -1ІІІ в групі порівняння становив  $68,0 \pm 4,9$  мкмоль/л, що було в 1,29 раза достовірно нижче за вихідний рівень та в 1,10 раза достовірно нижче за відповідні показники підгрупи 3 ( $p < 0,05$ ). Більш виражене зниження рівнів  $\alpha$ -1ІІІ в групі порівняння може бути пов'язане з підсиленням утворенням окисних речовин під дією протеолітичних ферментів.

Вихідний рівень  $\alpha$ -2МГ на 2-3-тю добу після травми в пацієнтів як підгрупи 3 так і групи порівняння перевищував референтні показники ( $p < 0,05$ ). В пацієнтів підгрупи 3 показники  $\alpha$ -2МГ достовірно зменшились з вихідних  $2,9 \pm 0,21$  г/л до  $2,55 \pm 0,29$  г/л на 7-8-му добу ( $p < 0,05$ ), а в основній групі становили  $3,0 \pm 0,5$  г/л на 7-8-му добу. В подальшому, на 13-14-ту добу рівень  $\alpha$ -2МГ підгрупи 3 достовірно зменшився відносно вихідних показників до рівня  $2,36 \pm 0,36$  г/л, в групі порівняння достовірно зменшився до  $2,2 \pm 0,4$  г/л відносно вихідних рівнів та рівнів на 7-8-му добу ( $p < 0,05$ ). Рівні  $\alpha$ -2МГ в обох групах на 7-8-му та 13-14-ту добу після травми не мали достовірної різниці з референтними показниками ( $p > 0,05$ ).

Таким чином, в пацієнтів підгрупи 3 та групи порівняння рівень  $\alpha$ -2МГ знизився до референтних значень на 7-8-му добу після опіку (підгрупа 3) та на 13-14-ту добу (підгрупа 3 та ГП). Рівні  $\alpha$ -1П в обох групах також достовірно знизились відносно вихідних показників, проте в підгрупі 3 рівні активності протеолітичної системи призводить до достовірного зниження вмісту кальпаїнів як відносно вихідних рівнів так і відносно ГП, що сприяє гальмуванню розвитку ендотеліальної дисфункції та може свідчити про покращення збалансованості протеолітичної-антипротеолітичної системи при застосуванні препарату етилметилгідроксипіридину сукцинату.

Встановлено, що на 2-3-тю добу після опікової травми в пацієнтів основної групи та групи порівняння відбувалось підвищення рівня ендотеліну-1 в капілярній крові рани та в периферичній крові, причому рівні ET-1 в крові опікової рани перевищували рівні ET-1 у периферичній крові, що свідчило про переважання локальної вазоконстрикції в зоні опікового ураження. В подальшому, при застосуванні запропонованих схем трансфузійної терапії спостерігалась виражена динаміка зниження ET-1 на 7-8-му та 13-14-ту добу як у периферичній крові, так і в капілярній крові опікової рани у пацієнтів основної групи, тоді як у пацієнтів групи порівняння, де застосовувалася лише базисна терапія, таких змін не спостерігалось. Зниження рівнів даного вазоконстрикторного та прозапального пептиду сприяло зменшенню ішемічних проявів в ділянці опікової рани, корекції ендотеліальної дисфункції, що в подальшому мало позитивний вплив на перебіг ранового процесу та репаративної регенерації.

Встановлено, що на 2-3-тю добу після опікової травми в пацієнтів ОГ та ГП відбувалось підвищення рівнів гомоцистеїну в периферичній крові та капілярній крові зони термічного ураження, що свідчило про розвиток ендотеліальної дисфункції. На 7-8-му та на 13-14-ту добу після травми в пацієнтів основної групи відмічалось достовірне зниження показників ГЦ в периферичній крові відносно

вихідних рівнів та достовірне зниження ГЦ в капілярній крові опікової рани порівняно вихідних рівнів та порівняно з ГП. Зменшення рівня гомоцистеїнемії в пацієнтів ОГ в периферичній крові та в капілярній крові опікової рани призводило до зменшення його цитотоксичного впливу на ендотелій та зменшення експресії прозапальних цитокінів, що разом зі зменшенням рівнів ET-1 призводило до покращення здатності ендотелію регулювати тонус судин, послаблювало прояви судинних ускладнень в зоні термічного ураження, що в подальшому мало позитивний вплив на перебіг ранового процесу.

При вивченні динаміки змін показників NO в капілярній крові рани в пацієнтів основної групи та групи порівняння встановлено, що в обох групах на 2-3-тю добу після опіку показники кінцевих метаболітів NO перевищували референтні показники, але на 7-8-му добу в капілярній крові рани в пацієнтів ГП рівень NO значно знизився як відносно вихідних, так і референтних показників, що свідчило про зниження біодоступності NO, його інактивацію активними формами кисню, недостатність субстрату для eNOS, що призводило до поглиблення розвитку ендотеліальної дисфункції та переважання вазоспазму в ділянці опікової рани. Застосування схем трансфузійної терапії в хірургічному лікуванні в ранньому періоді опікової хвороби дозволило підтримати вміст NO на рівні, достатньому для достовірного зниження рівнів ET-1 та ГЦ в периферичній крові та крові зони ураження у пацієнтів з опіками. Механізми реалізації даного ефекту в ОГ відбувались за рахунок використання аргініну як субстрату для продукції NO ендотеліальною NOS, за рахунок антипротеолітичної дії на кальпаїни улінастатину, та завдяки підвищенню рівня супероксиддисмутази при використанні етилметилгідроксипіридину сукцинату.

При дослідженні рівнів показників S-нітрозотіолів встановлено, що в пацієнтів ОГ відбувається достовірне зниження показників на 7-8-му та на 13-14-ту добу після травми як відносно вихідних рівнів, так і відносно показників ГП, що свідчило про значне використання S-нітрозотіолів для синтезу NO (який в свою чергу нейтралізує гомоцистеїн) у місцях фізіологічної необхідності (в ділянці опікової рани), а також зниження рівнів S-нітрозотіолів зменшувало ризик

токсичного ушкодження клітин, що сприятливо впливало на корекцію ендотеліальної дисфункції.

Таким чином, достовірне зниження рівнів ЕД-1 в периферичній крові та капілярній крові опікової рани, достовірне зниження вмісту гомоцистеїну в капілярній крові зони термічного ураження, динаміка змін показників вмісту S-нітрозотіолів та NO свідчило про значну ендотеліотропну дію застосовуваних схем трансфузійного забезпечення хірургічного лікування в ранньому періоді ОХ.

При дослідженні показників цитокінів в периферичній крові пацієнтів ОГ та ГП було визначене значне підвищення рівнів прозапальних інтерлейкінів IL-1, IL-6 та TNF- $\alpha$  відносно референтних показників, що свідчило про виражену запальну реакцію та індукцію ЕД з розвитком запальної інфільтрації судинної стінки, що потенційно сприяло розвитку ішемії в зоні опіку. Встановлено, що при застосуванні запропонованих схем трансфузійної терапії в пацієнтів основної групи рівні прозапальних цитокінів достовірно знизились відносно вихідних показників, в той час як в групі порівняння відбувалось підвищення рівнів IL-6 та TNF- $\alpha$  на 7-8-му добу після травми. На 13-14-ту добу показники даних цитокінів в групі порівняння хоч і мали тенденцію до зниження, проте були достовірно вищими за показники підгруп основної групи. Динаміка плейотропних цитокінів (IL-2, IL-10) сприяла створенню умов для проліферації клітин, росту ендотеліальних клітин і ангиогенезу. Також динаміка змін рівнів цитокінів сприяла покращенню біодоступності NO та зменшенню проявів ендотеліальної дисфункції, що призводило до покращення кровопостачання зони опікової рани, сприяло процесам репаративної регенерації.

При дослідженні показників протеолізу встановлено, що на 2-3-тю добу після опіку в периферичній крові пацієнтів ОГ та ГП підвищений рівень кальпаїнів та  $\alpha$ -1ІІІ та знижений рівень  $\alpha$ -2МГ відносно референтних показників. На 7-8-му добу в пацієнтів групи порівняння визначалось підвищення показників кальпаїнів на фоні динаміки до зниження рівнів інгібіторів протеолізу  $\alpha$ -1ІІІ та  $\alpha$ -2МГ, що свідчило про декомпенсацію активності системи протеаза-інгібітори протеаз, посилення розвитку процесів запалення, поглиблення ендотеліальної дисфункції у пацієнтів в

гострому періоді опікової хвороби, що мало несприятливий вплив на розвиток ранового процесу в пацієнтів ГП. В той же час в пацієнтів основної групи при застосуванні трансфузійних схем відбувалось достовірне зниження вмісту кальпаїнів при підтриманні більш високих рівнів  $\alpha$ -1ПІ та  $\alpha$ -2МГ відносно показників ГП, що свідчило про покращення збалансованості протеолітичної-антипротеолітичної системи організму, збереження цитопротекторної дії інгібіторів протеаз, послаблення процесів запалення та гальмування розвитку ендотеліальної дисфункції, що сприяло оптимізації розвитку ранового процесу.

Встановлено, що на 2-3-тю добу після опікової травми мав місце дефіцит антиоксидантної системи, що був виражений зниженням рівнів супероксиддисмутази, та відбувався розвиток оксидативного стресу з підвищенням концентрації первинних та вторинних продуктів перекисного окислення в периферичній крові пацієнтів. При застосуванні запропонованих схем трансфузійної терапії у пацієнтів основної групи на 7-8-му та на 13-14-ту добу після травми відмічалось зниження рівня продуктів ПОЛ та достовірне підвищення СОД до рівня референтних значень, що свідчило про покращення збалансування прооксидантно-антиоксидантної системи, покращення здатності цієї системи знешкоджувати продукти перекисного окислення, що зменшувало патологічні ефекти, пов'язані з окисним стресом у клітинах і тканинах.

Таким чином, доведено позитивний вплив запропонованих схем трансфузійного забезпечення на розвиток ранового процесу при опіках і забезпечення раннього хірургічного відновлення шкірного покриву за рахунок зменшення вазоконстрикторного впливу ендотеліну та ішемічних проявів в ділянці опікової рани, зменшення цитотоксичного впливу гомоцистеїну, корекції ендотеліальної дисфункції, покращення біодоступності NO, що призводило до покращення кровопостачання зони опікової рани; за рахунок зниження експресії прозапальних цитокінів, покращення збалансованості протеолітичної-антипротеолітичної системи, збереження цитопротекторної дії інгібіторів протеаз та покращення здатності антиоксидантної системи знешкоджувати продукти

перекисного окислення, що сприяло процесам репаративної регенерації в опікових ранах.

Результати досліджень даного розділу наведено в публікаціях

1. Козинець Г.П., Осадча О. І., Линник О. М., Шматова О. О. Вплив препаратів ендотеліотропної дії на показники ранового процесу у хворих з опіками. *Modern Medical Technology*. 2018;4(39):14-18.
2. Козинець Г. П., Осадча О. І., Коваленко О. М., Линник О. М. Вплив ранового процесу на формування системної запальної відповіді та раннього сепсису у хворих з опіками в гострому періоді опікової хвороби. *Modern Medical Technology*. 2019 Aug;2(41)part 3:13-20.
3. Линник О.М., Осадча О.І., Козинець Г.П., Янчій І.Р., Шматова О.О., Боярська Г.М. Особливості формування імунної відповіді на термічну травму. *Fiziol. Zh.* 2021; 67(6): 32-39. DOI: 10.15407/fz67.06.032
4. Линник О.М., Козинець Г.П., Осадча О.І. Результати застосування препарату інгібітора протеаз у пацієнтів в гострому періоді опікової хвороби/ *Modern Medical Technology*. 2022 Mar;1(52):56-61. DOI: 10.34287/MMT.1(52).2022.10
5. Козинець Г.П., Осадча О.І., Линник О.М., Жернов О.А. Особливості формування системної запальної відповіді у пацієнтів у гострий період опікової хвороби. *Український медичний часопис*. 2022 May;3(149):61-65. DOI: 10.32471/umj.1680-3051.149.229080
6. Линник О.М., Козинець Г.П. Застосування етилметилгідроксипіридину сукцинату у пацієнтів з опіками. *The Ukrainian Journal of Clinical Surgery*. 2023 March/April; 90(2):29-33. DOI: 10.26779/2786-832X.2023.2.29.
7. Коваленко О.М., Осадча О.І., Коваленко А.О., Гриша А.С., Линник О.М., Белінська Н.Г. Особливості лікування сепсису у хворих з опіковою хворобою. *Perioperaciina Medicina*. 2020 June;3(1):14-20. DOI: 10.31636/prmd.v3i1.3
8. Осадча О.І., Линник О.М., Боярська Г.М. Визначення ефективності застосування комбінованого амінокислотно-антиоксидантного препарату для оптимізації місцевих та загальних реакцій неспецифічної резистентності у хворих з опіками. *Матеріали XVII міжнародної конференції «Клініко-технологічні*

виклики в етапній та реконструктивній хірургії. Вогнепальні та побутові рани, електрозварювання та з'єднання живих тканин, діабетична стопа» Київ, 30 листопада – 2 грудня 2017р. с.28-29.

9. Heorhii Kozynets, Oksana Osadcha, Oleksandra Lynnyk. The effects of the amino acid – antioxidant drug on the immunological parameters of the inflammatory process and the violation of protein metabolism in patients with burn disease. 29th Conference of the European Wound Management Association, EWMA 2019, Gothenburg, Sweden 5-7 June 2019. p.91.

10. Козинець Г.П., Осадча О.І., Линник О.М. Ефективність застосування інгібітора протеаз у пацієнтів в гострому періоді опікової хвороби. Матеріали XIX Науково-практичної конференції з міжнародною участю «Клініко-технологічні виклики в етапній та реконструктивній хірургії. Вогнепальні та побутові рани, електрозварювання та з'єднання живих тканин, діабетична стопа» Київ, 28-29 листопада 2019. с.13-14.

11. Осадча О.І., Козинець Г.П., Линник О.М., Боярська Г.М., Коваленко О.М. Оксид азоту як фактор регуляції ранового процесу при термічній травмі. Матеріали XIX Науково-практичної конференції з міжнародною участю «Клініко-технологічні виклики в етапній та реконструктивній хірургії. Вогнепальні та побутові рани, електрозварювання та з'єднання живих тканин, діабетична стопа» Київ, 28-29 листопада 2019. с.31-32.

12. Коваленко О.М., Коваленко А.О., Осадча О.І., Линник О.М. Сучасні підходи до лікування поверхневих дермальних опіків. «Інфузія & Хіміотерапія» 3.1–2020. Матеріали IV Міжнародного конгресу з інфузійної терапії, Київ, 12-13 жовтня 2020 р. с. 40-41. DOI: 10.32902/2663-0338-2020-3.1-33

13. Oleksandra Lynnyk, Heorhii Kozynets, Oksana Osadcha, Olha Kovalenko. The effect of the arginine-carnitine drug usage on immunological parameters and indicators of endothelial dysfunction in patients with burns. P.017. Eur. Burn J. 2022, 3. p.685. DOI:10.26226/m.62df9e84b55c6b936e899396



## РОЗДІЛ 4 РЕЗУЛЬТАТИ МОРФОЛОГІЧНОГО ТА ІМУНОГІСТОХІМІЧНОГО ДОСЛІДЖЕННЯ У ПАЦІЄНТІВ В РАНЬОМУ ПЕРІОДІ ОПІКОВОЇ ХВОРОБИ ПРИ КОМПЛЕКСНОМУ ЛІКУВАННІ

Проведене патоморфологічне дослідження фрагментів шкіри з підлеглою підшкірною клітковиною, взятих в ділянці парацентральної зони опікового ураження на 2-3-тю, 7-8-му та 13-14-ту добу після травми. В препаратах шкіри пацієнтів основної групи дослідження на 2-3-тю добу після термічної травми при стандартному забарвленні гематоксиліном та еозином визначались великі зони пошкодження епідермісу з зонами коагуляційного некрозу, виражені дегенеративні зміни в епітеліальних клітинах (Рис.4.1). На частині ділянок відмічалась повна втрата епідермісу – наявна «оголена дерма», виражений набряк та дезорганізація структур дерми (Рис 4.2).

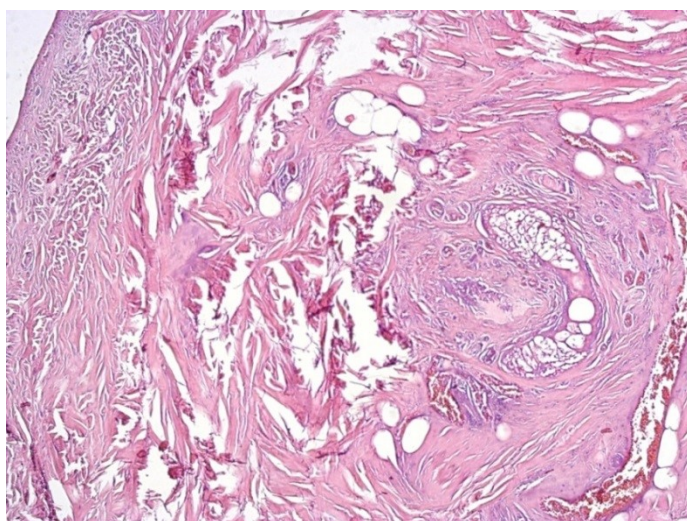


Рис.4.1. Основна група, 3-тя доба. В шкірі виражені альтеративні зміни в епідермісі, дерма з ознаками вираженого набряку, ділянками перифокальних некротів навколо придатків шкіри, гомогенізовані ділянки. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Збільшення x50.

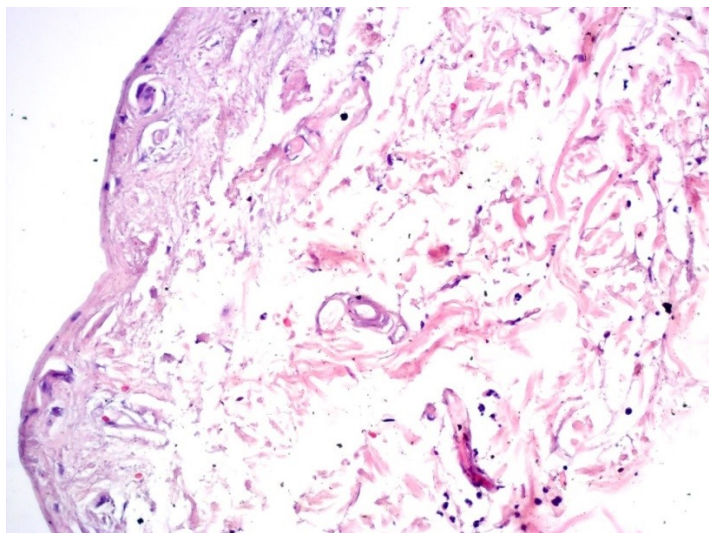


Рис. 4.2. Основна група, 3-тя доба: дерма «оголена», набряк та дезорганізація структур дерми. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Збільшення x100.

Поряд з поверхневими альтеративними змінами відмічались перифокальні некрози навколо придатків шкіри, на частині ділянок повний некроз придатків (Рис.4.3).

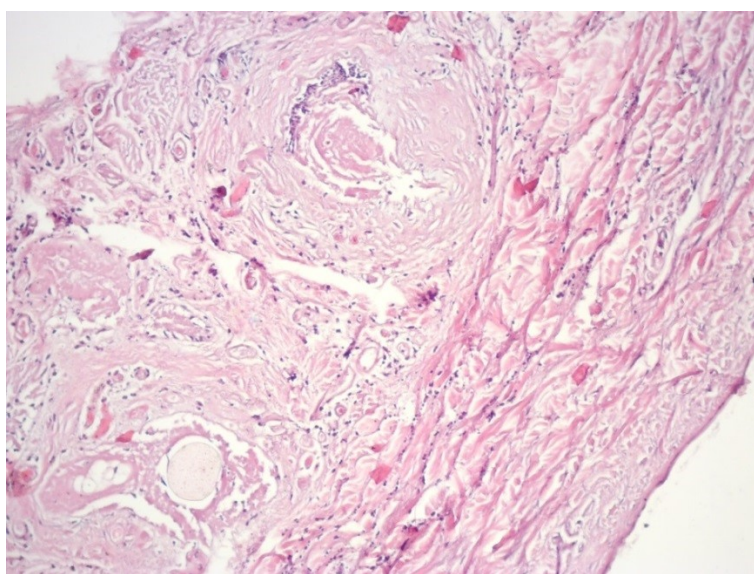


Рис.4.3. Основна група, 3-тя доба. Дерма з ознаками набряку; некроз придатків шкіри, вогнищева коагуляція колагенових волокон. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Збільшення x100.

В більш глибоких шарах дерми відмічався набряк, дифузна та/або вогнищева, в тому числі й периваскулярна, лейкоцитарна та/або лейко-лімфоцитарна клітинна інфільтрація, ознаки каріорексису та каріолісису лейкоцитів; вогнища коагуляційного некрозу (Рис.4.4).

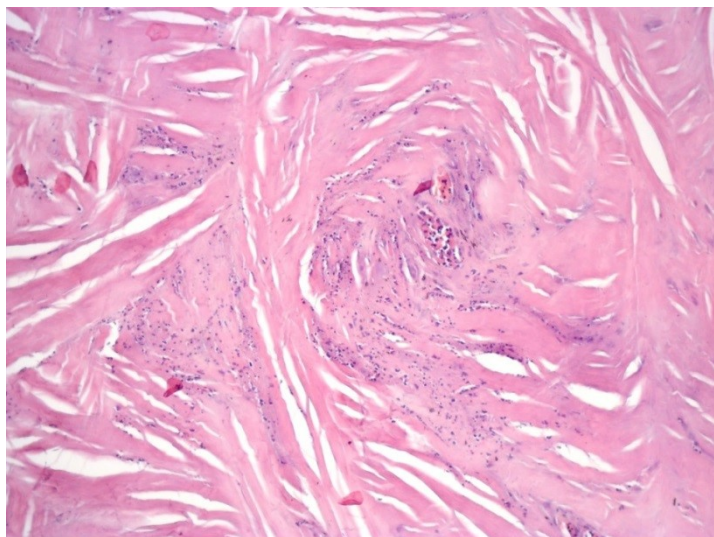


Рис. 4.4. Основна група, 3-тя доба. В дермі набряк, вогнищева лейкоцитарна інфільтрація, ознаки каріорексису та каріолісису лейкоцитів; вогнище коагуляційного некрозу. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Збільшення x100.

Виражені зміни в дермі асоціювались з вогнищевою лейкоцитарною клітинною інфільтрацією, некрозом навколо придатків шкіри та/або повним некрозом останніх (Рис. 4.5). В судинах – повнокрів'я, стаз, частина судин різко розширена, в стінках судин – дисмукоїдоз (Рис. 4.5, 4.6).

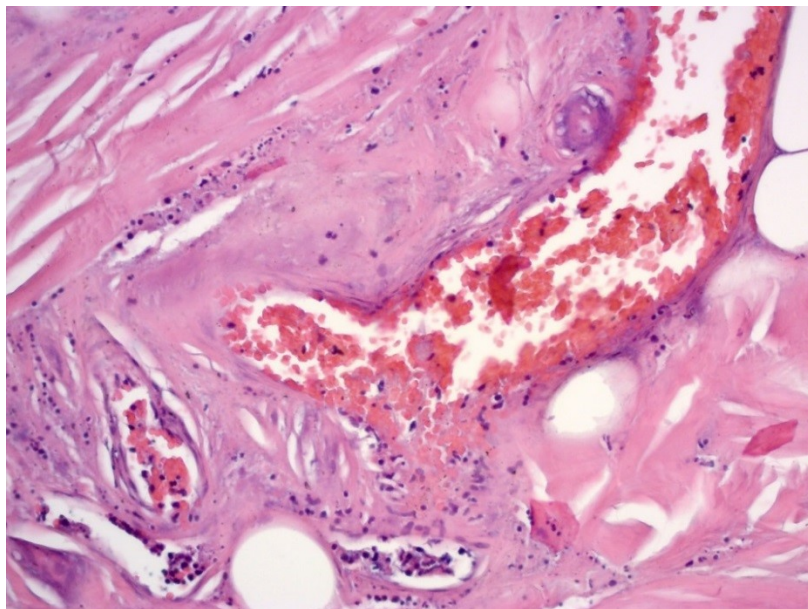


Рис. 4.5. Основна група, 3-тя доба. В дермі набряк, дисмукоїдоз волокон, периваскулярно виражені коагуляційні зміни, вогнищева лейкоцитарна інфільтрація, ознаки каріорексису та каріолісису лейкоцитів. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Збільшення x200.

В судинах мікроциркуляторного русла повнокрів'я, дисмукоїдоз, периваскулярний набряк, явища еритростазу та лейкостазу, сладжу (Рис. 4.6).



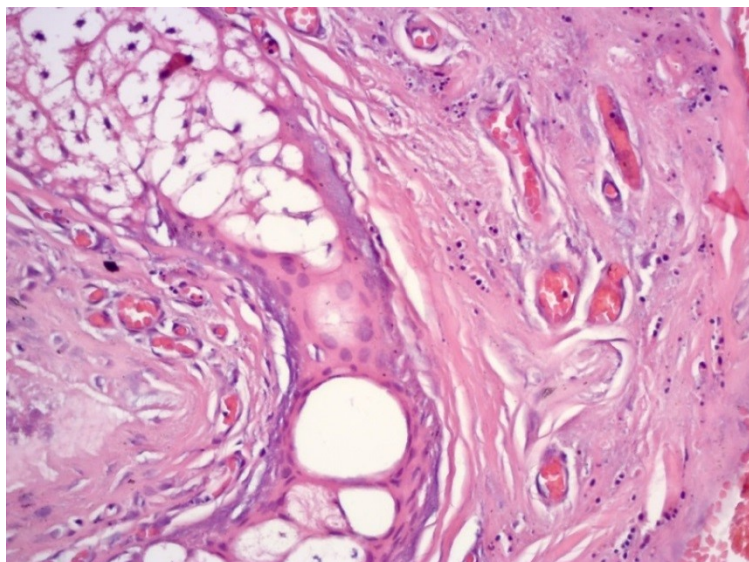


Рис. 4.6. Основна група, 3-тя доба. Судини мікроциркуляторного русла з явищами еритростазу, сладжу; перифокальна лейкоцитарна інфільтрація, ознаки каріорексису та каріолізису лейкоцитів. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Збільшення x200.

Окрім дисциркуляторних розладів в стінках судин дрібного калібру виражений набряк, дегенеративні зміни у вигляді фібриноїдного некрозу. Різко виражені альтеративні зміни в ендотелію – некроз та злущування у просвіт судин (Рис. 4.7).

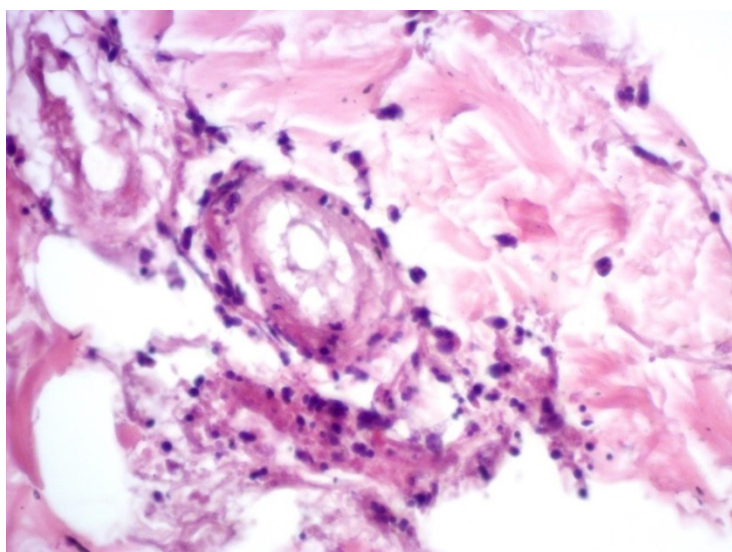


Рис.4.7. Основна група, 3-тя доба: судини мікроциркуляторного русла з явищами фібриноїдного набряку стінки судини, периваскулярна лейкоцитарна інфільтрація; явища каріорексису, каріолізису лейкоцитів. Збільшення x400.

При гістохімічному забарвленні за ван Гізоном виявлено, що колагенові волокна в поверхневому субепітеліальному відділі дерми та вогнищево в більш глибоких ділянках зруйновані, коагульовані, гомогенізовані, в глибоких відділах – набряклі, розшаровані (Рис. 4.8, 4.9).

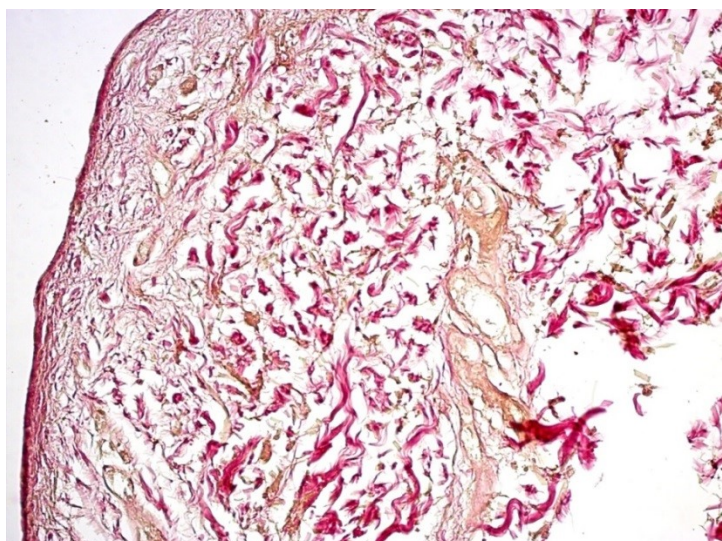


Рис.4.8. Основна група, 3-тя доба: виражений набряк дерми, коагуляція колагенових волокон. Забарвлення за ван Гізоном. Збільшення x100.

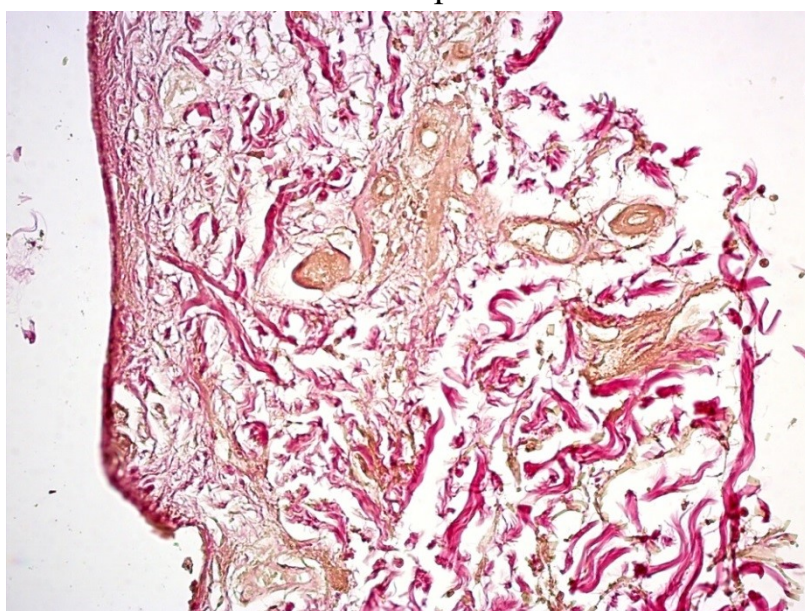


Рис.4.9. Основна група, 3-тя доба: коагуляція і гомогенізація поверхневих відділів. Виражений набряк дерми, коагуляція колагенових волокон. Вогнищеві некрози. набряк стінки дрібних судин. Забарвлення ван Гізоном. Збільшення x200.

В препаратах шкіри пацієнтів групи порівняння дослідження на 2-3-й день після опікової травми визначені виражені альтеративні зміни в епідермісі, дермі та підлеглих м'яких тканинах: коагуляційний некроз, на більшій частині досліджуваних фрагментів шкіри повна деструкція епідермісу, виражений набряк, дезорганізація волокон, великі ділянки коагуляції та коагуляційного некрозу в дермі та підлеглих м'яких тканинах, повнокрів'я, стаз в судинах різного калібру (Рис. 4.10).



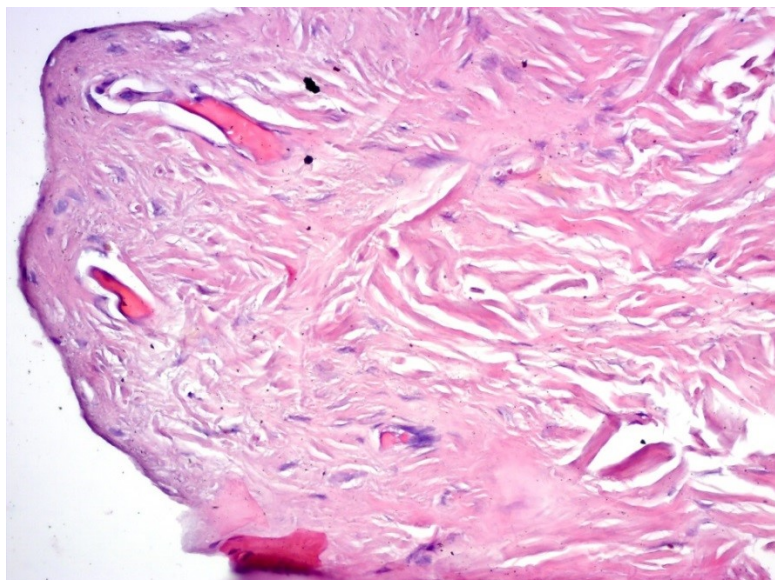


Рис. 4.10. Група порівняння, 3-тя доба. В шкірі в епідермісі коагуляційний некроз, дезорганізація, гомогенізація структур дерми, ознаки вираженого набряку, повнокрів'я судин. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Збільшення x200.

В поверхневому субепітеліальному відділі дерми у вигляді великих «острівців» наявний некротизований, коагульований епідерміс, представлений безструктурними рихлими масами (Рис. 4.11). Субепітеліально виражена дезорганізація в структурах дерми, набряк, ділянки коагуляційного некрозу.

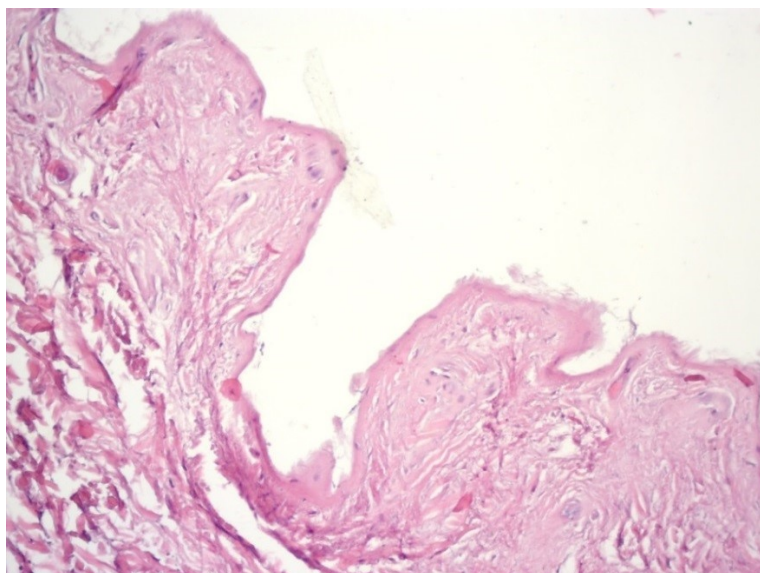


Рис. 4.11. Група порівняння, 3-тя доба. На поверхні дерми нашарування рихлих мас некротизованого епідермісу. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Збільшення x100.

Відмічались некрози та цілі придатки шкіри навколо них в стромі (Рис. 4.12).

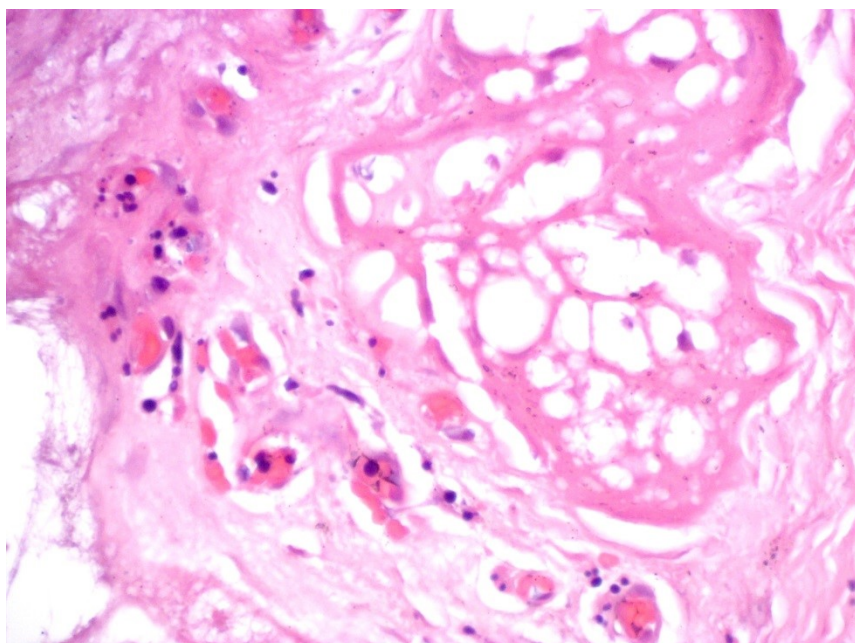


Рис. 4.12. Група порівняння, 3-тя доба. Некроз придатків шкіри, каріорексис та каріолізіс клітин інфільтрату. Зabarвлення гематоксиліном та еозином. Збільшення x400.

Навколо зон коагуляції, придатків шкіри, судин різного калібру відмічалась лейкоцитарна клітинна інфільтрація, ознаки каріорексису та каріолізісу лейкоцитів (Рис. 4.13).

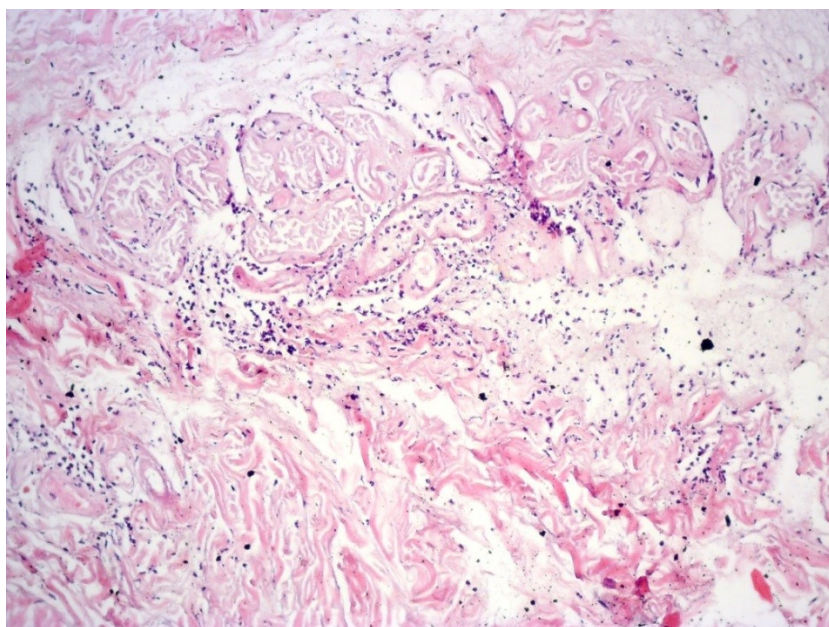


Рис. 4.13. Група порівняння, 3-тя доба. В шкірі в дермі виражений набряк, некроз придатків шкіри, перифокальна лейкоцитарна інфільтрація, ознаки каріорексису та каріолізісу лейкоцитів; вогнищевий коагуляційний некроз. Зabarвлення гематоксиліном та еозином. Збільшення x100.

В дермі відмічалась виражена дезорганізація, набряк різного ступеню вираженості та розповсюженості, в тому числі й периваскулярна, переважно



лейкоцитарна клітинна інфільтрація, ознаки каріорексису та каріолізису лейкоцитів (Рис. 4.14).

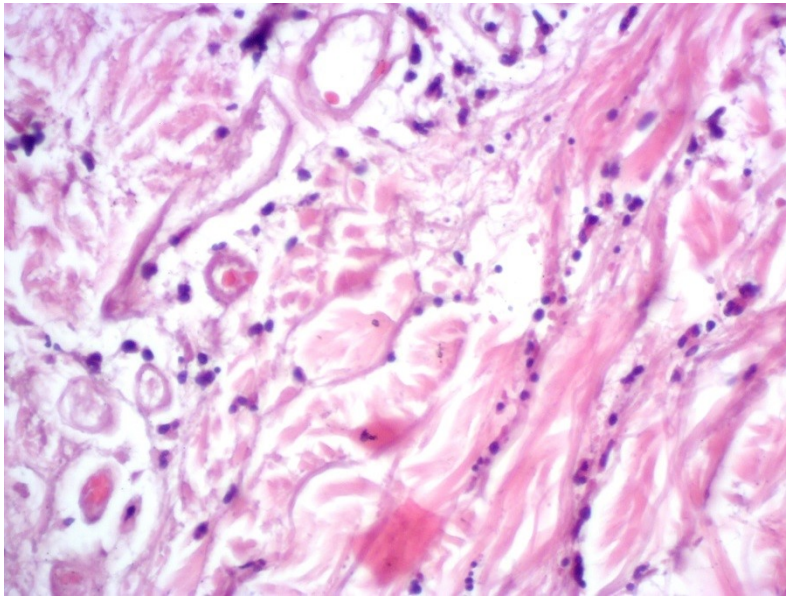


Рис. 4.14. Група порівняння, 3-тя доба. В дермі набряк, перифокальна лейкоцитарна інфільтрація, каріорексис, каріолізис лейкоцитів. Фібриноїдний некроз в стінках судин мікроциркуляторного русла. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Збільшення x400.

В судинах мікроциркуляторного русла виражене повнокрів'я, дисмукоїдоз, периваскулярний набряк, явища еритростазу та лейкостазу, сладжу (Рис. 4.15).

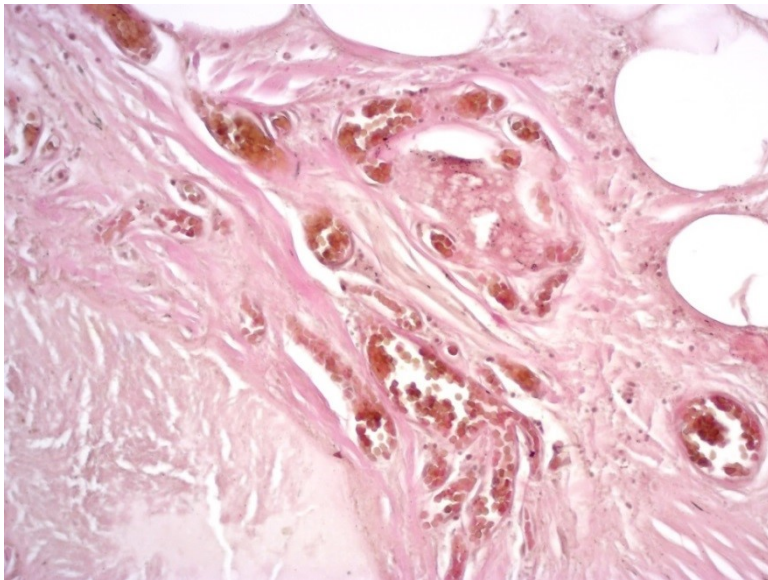


Рис. 4.15. Група порівняння, 3-тя доба. Судини мікроциркуляторного русла з вираженим еритростазом, сладжем; набряк та некроз м'яких тканин. Забарвлення за ван Гізоном. Збільшення x200.



В стінках судин мікроциркуляторного русла виражені альтеративні зміни, фібриноїдний некроз, еритроцитарні стази, периваскулярно – лейкоцитарні інфільтрати, каріорексис клітин інфільтрату (Рис. 4.16)

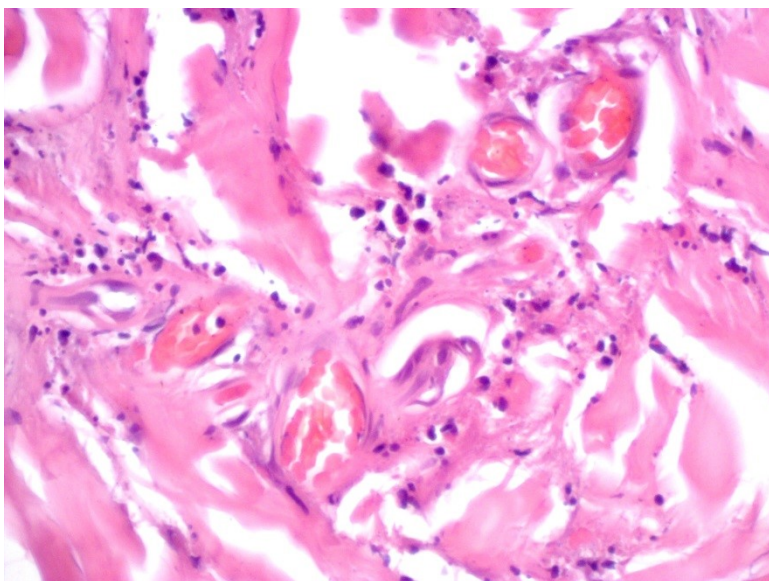


Рис. 4.16. Група порівняння, 3-тя доба. В дермі в судинах мікроциркуляторного русла фібриноїдний некроз, еритроцитарні стази, периваскулярно лейкоцитарні інфільтрати, каріорексис. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Збільшення x400.

При гістохімічному забарвленні за ван-Гізоном встановлено виражені альтеративні зміни в дермі – виражений набряк, колагенові волокна безструктурні, коагульовані, гомогенізовані (Рис. 4.17).

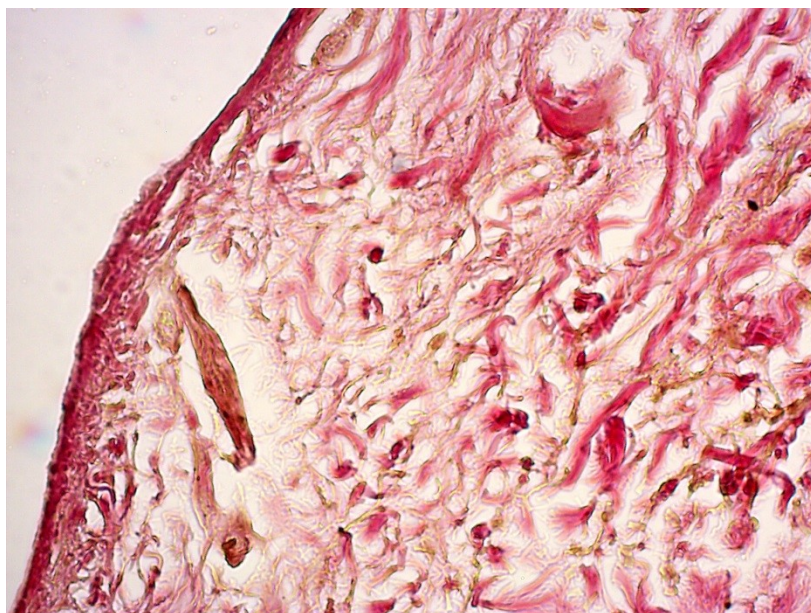


Рис. 4.17. Група порівняння, 3-тя доба. Виражені альтеративні зміни в епідермісі, дермі, набряк, коагуляція, деструкція колагенових волокон. Забарвлення за ван-Гізоном. Збільшення x200.

Відомо, що віментин – це білок проміжних філаментів сполучних тканин та інших тканин мезодермального походження. Проміжні філаменти поряд з мікротрубочками та актином беруть участь у побудові цитоскелета. Віментин бере участь у численних клітинних процесах, в т.ч у клітинній адгезії, міграції та інвазії, передачі сигналів, диференціації, перебудові цитоскелета та регуляції клітинної морфології та пластичності [260, 261]. Відома функція віментину в координації проліферації фібробластів і диференціації кератиноцитів під час загоєння ран [262]. Незважаючи на те, що більшість проміжних філаментів – це стійкі структури, у фібробластах філаменти, що містять віментин, є динамічною структурою. Цей білок використовується як маркер мезодермальних тканин. При проведенні ІГХД було виявлено наступні зміни.

При дослідженні тканин опікової рани в пацієнтів ОГ на 2-3-тю добу після травми виявлена позитивна дифузна та перифокальна (навколо придатків шкіри та судин) експресія сполучнотканинного маркера – виявлення віментин-позитивних клітин. Частка позитивно забарвлених клітин в середньому складала  $22 \pm 0,5\%$  від загальної площі поля зору (Рис. 4.18, 4.19).

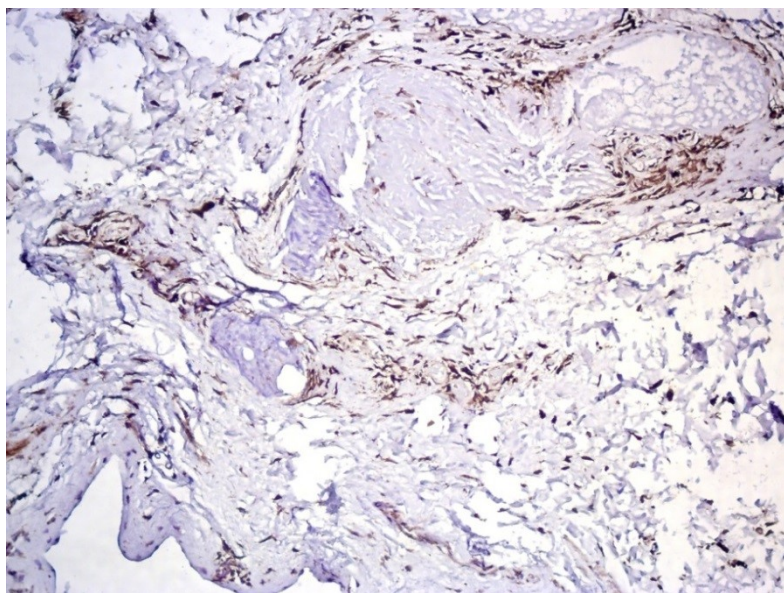


Рис. 4.18. Основна група, 3-тя доба. Дифузна та вогнищева експресія віментин-позитивних клітин. ІГХД з МКА до віментину. Збільшення x100.



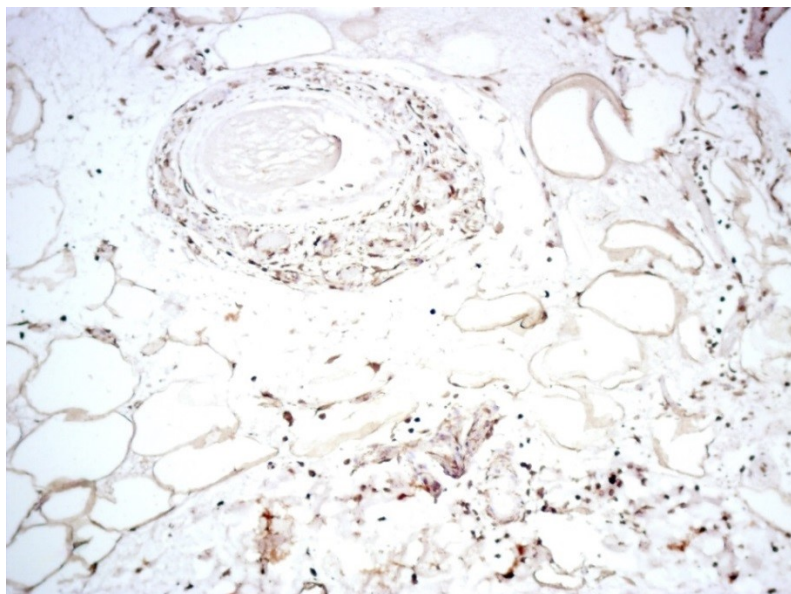


Рис. 4.19. Основна група, 3-тя доба. Дифузна та перифокальна (навколо придатків шкіри) експресія рецепторів віментину. ІГХД з МКА до віментину. Збільшення x100.

При проведенні ІГХД в тканинах зони опікового ураження в групі порівняння відмічалась нерівномірна позитивна експресія сполучнотканинного маркера віментину в частині клітин в різних шарах шкіри. Частка позитивно забарвлених клітин в середньому складала  $21,5 \pm 0,6\%$  від загальної площі поля зору (Рис.4. 20).

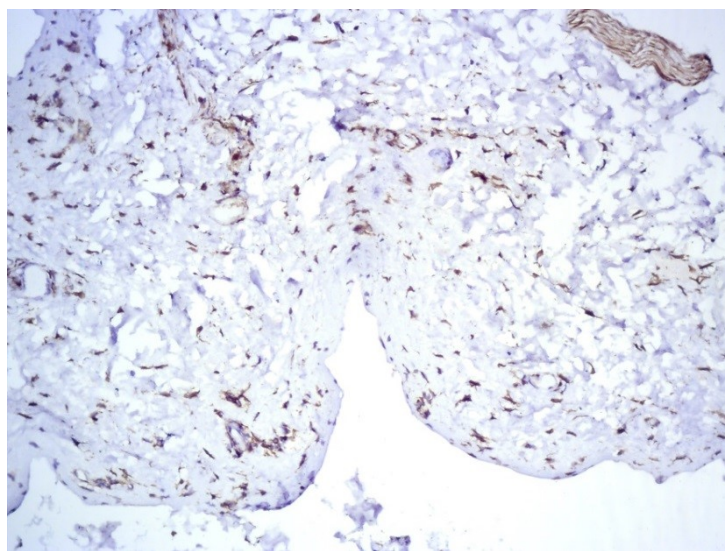


Рис. 4.20. Група порівняння, 3-тя доба. Нерівномірна вогнищева експресія віментин-позитивних клітин в дермі. ІГХД з МКА до віментину. Збільшення x100.

Відомо, що молекула адгезії ендотеліальних клітин та тромбоцитів-1 (англ. Platelet endothelial cell adhesion molecule-1, PECAM-1/CD31) – це молекула, що бере участь у ангіогенезі через процеси, які включають стимуляцію рухливості ендотеліальних клітин [263]. В ендотелії PECAM-1 не тільки відіграє роль

молекули адгезії, але також бере участь у внутрішньоклітинних сигнальних шляхах, які впливають на різні клітинні адгезивні механізми та експресію та активність ендотеліальної синтази оксиду азоту (eNOS) [264]. ІГХД дозволило проаналізувати наявність, стан та розповсюдженість судин різного калібру в тканинах зони опікового ураження в пацієнтів ОГ. Було виявлене позитивне мембранне забарвлення ендотеліальних клітин судин різного калібру. Позитивна експресія маркера ендотеліальних клітин CD31 показала наявність судин дрібного калібру та судини мікроциркуляторного русла в ділянках, які зазнали термічної дії, та на суміжних ділянках. Вогнищево спостерігались зони неоангіогенезу (Рис. 4.21). Середня кількість судин складала  $16,2 \pm 2,1$  в полі зору (Рис. 4.22).

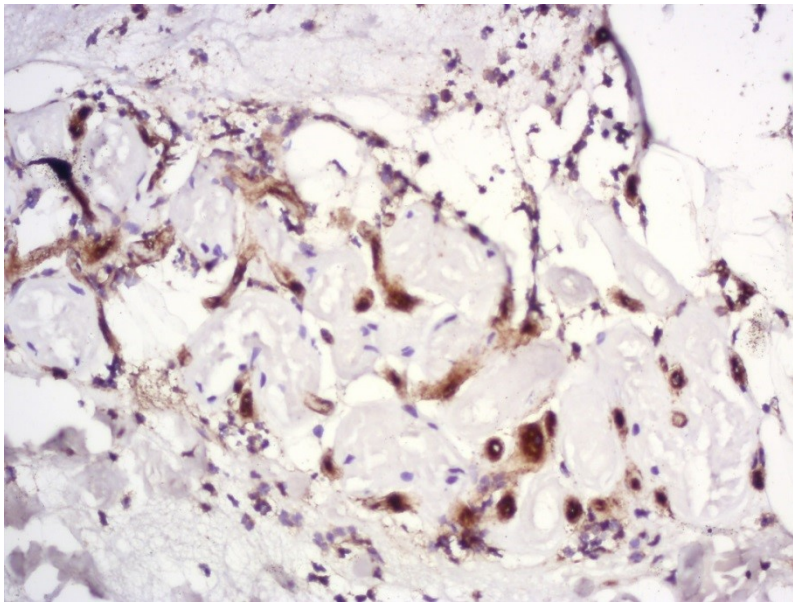


Рис. 4.21. Основна група, 3-тя доба: позитивне забарвлення ендотеліальних клітин мікроциркуляторного русла, зони початкового неоангіогенезу. ІГХД з МАТ до CD31. Збільшення  $\times 200$ .

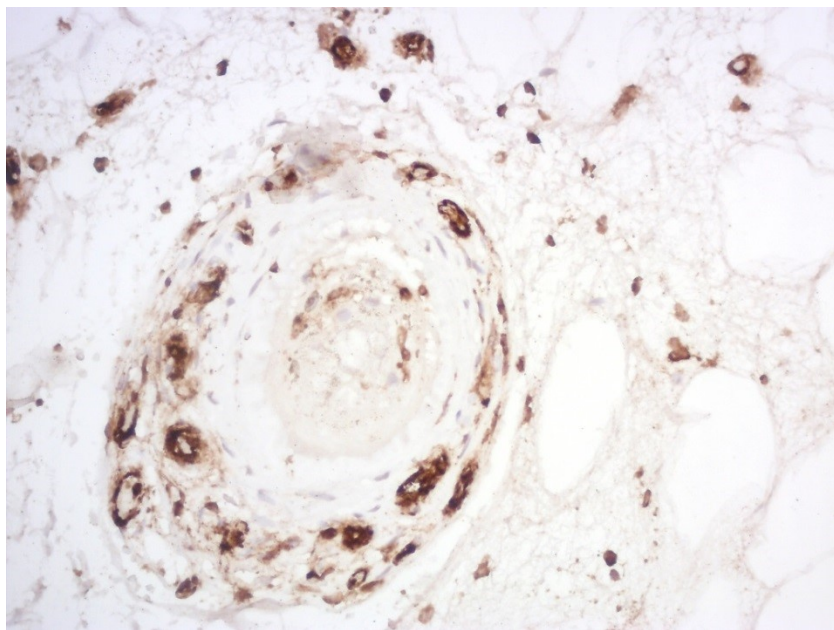


Рис. 4.22. Основна група, 3-тя доба: позитивне забарвлення ендотеліальних клітин судин мікроциркуляторного русла, зона неоангіогенезу. ІГХД з МАТ до CD31. Збільшення x200.

При ІГХД стану судинного компоненту в досліджуваних фрагментах шкіри з маркером ендотелію судин CD31 в групі порівняння встановлено наявність невеликої кількості судин різного калібру в ділянках ураження, в глибоких шарах дерми та вогнищево в підлеглих м'яких тканинах (Рис 4.23).

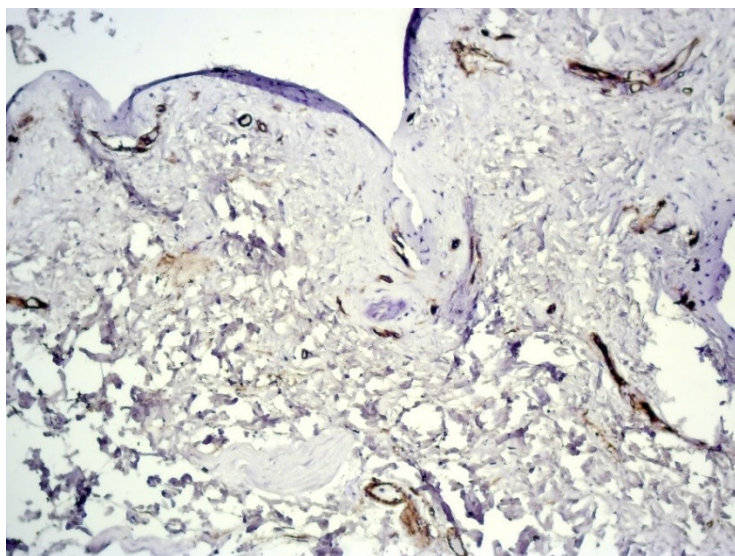


Рис. 4.23. Група порівняння, 3-тя доба. Позитивне забарвлення ендотеліальних клітин невеликої кількості судин різного калібру. ІГХД з МКА до CD31. Збільшення x100.

Фактор росту ендотелію судин (англ. Vascular endothelial growth factor, VEGF) – це сигнальний білок, що виробляється клітинами для стимулювання



васкулогенезу (утворення ембріональної судинної системи) та ангиогенезу (зростання нових судин у вже існуючій судинній системі) [265]. Білки VEGF є частиною системи, що відповідає за відновлення подачі кисню до тканин у ситуації, коли циркуляція крові недостатня. VEGF добре відомий як індуктор проліферації та міграції ендотелію [266].

Для визначення активності ангиогенезу на 3-й день після дії термічного чинника в пацієнтів ОГ досліджена експресія ендотеліального фактора росту VEGF та виявлена невелика кількість (до 0,4%) позитивно забарвлених судин та окремих клітин, як в поверхневих субепітеліальних, так і глибоких відділах дерми (Рис.4.24).

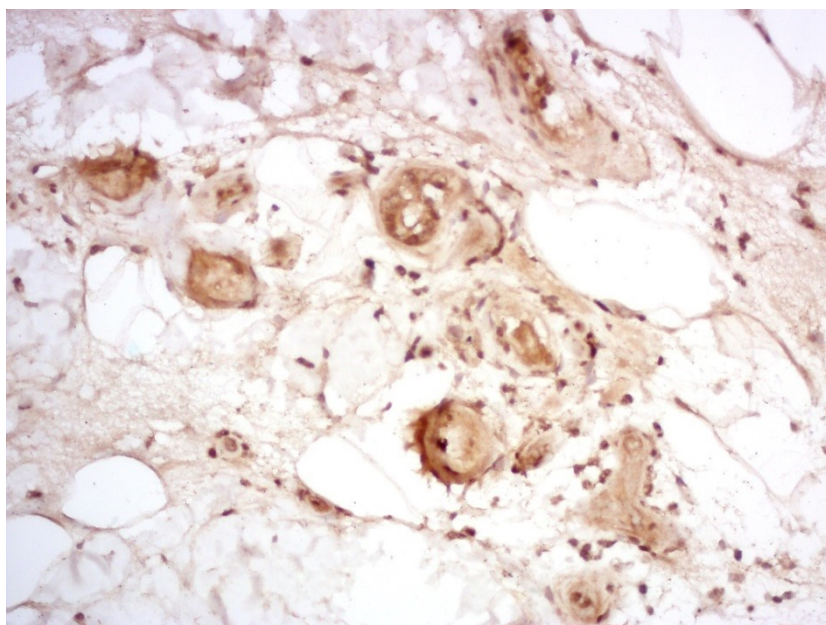


Рис. 4.24 Основна група, 3-тя доба: позитивне забарвлення стінок судин, клітин ендотелію, окремих позитивних клітин поза судинами. ІГХД до VEGF. Збільшення x200.

При визначення активності ангиогенезу на 3-й день після опіку визначена експресія VEGF в тканинах в ГП та виявлена невелика кількість (до 0,4%) слабо позитивно забарвлених судин та клітин переважно в глибоких відділах (Рис. 4.25).

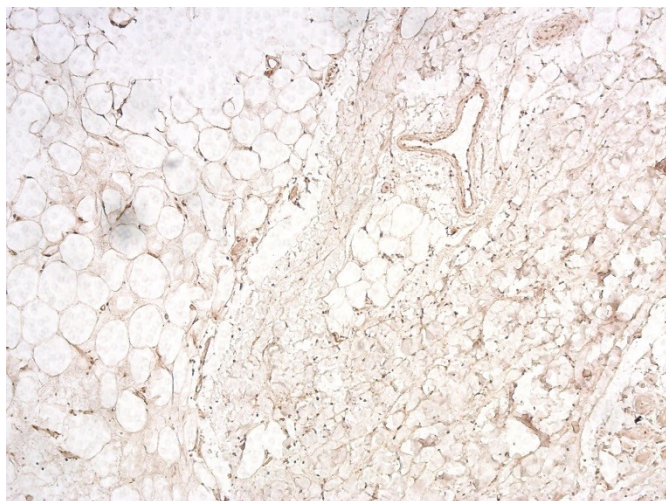


Рис. 4.25. Група порівняння, 3-тя доба. Слабопозитивна експресія в частині судин, поодинокі позитивні клітини поза судинами. ІГХД до VEGF. Збільшення x50.

При дослідженні особливостей репаративних змін в епітелії було проведено ІГХД з загальноепітеліальним маркером панцитокератином (PanCK, AE1/AE3) [267]. Цитокератин – це білок, що знаходиться у внутрішньоцитоплазматичному цитоскелеті епітеліальної тканини, він відіграє важливу роль у характеристиці клітинної диференціації [268, 269].

В тканині зони ураження в пацієнтів ОГ на 2-3-тю добу після травми встановлено позитивну експресію в частини клітин в епідермісі (Рис.4.26).

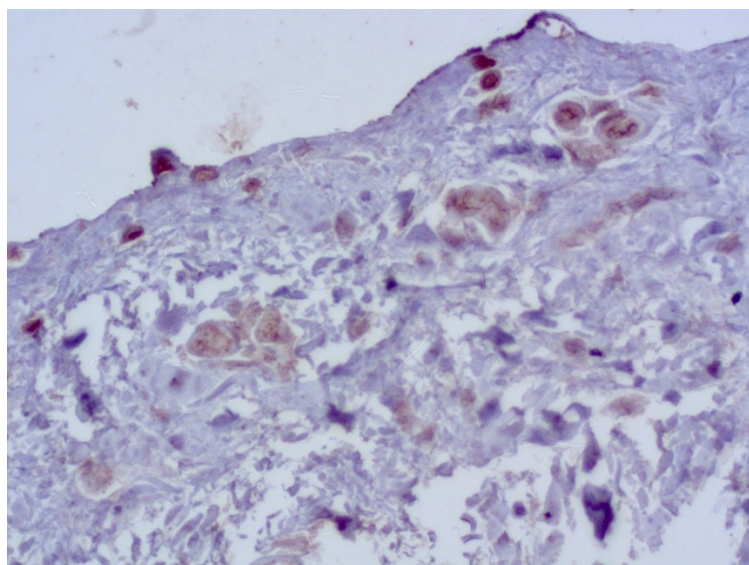


Рисунок 4.26. Основна група, 3-тя доба. Позитивна експресія частини епітеліальних клітин в зоні початку епідермізації. ІГХД з МКА до PanCK (AE1/AE3). Збільшення x400.



Встановлено, що на окремих ділянках була позитивна експресія в частині придатків шкіри, що може бути в подальшому джерелом відновлення в зоні ураження (Рис. 4.27).

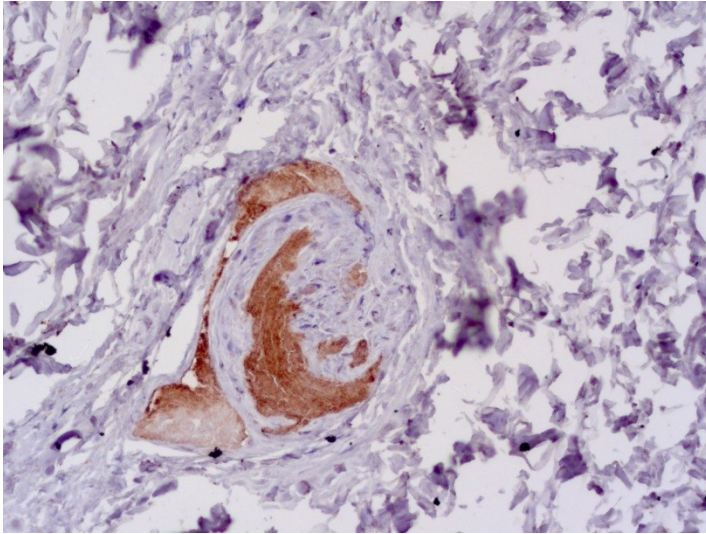


Рисунок 4.27. Основна група, 3-тя доба. Позитивна експресія частини епітеліальних клітин в придатку шкіри. ІГХД з МКА до PanCK (AE1/AE3). Збільшення x200.

В тканинах зони ураження в пацієнтів групи порівняння на 2-3-тю добу проведено ІГХД з використанням загально-епітеліального маркеру PanCK показало забарвлення окремих клітин та/або фрагментів клітин епітелію (Рис. 4.28).

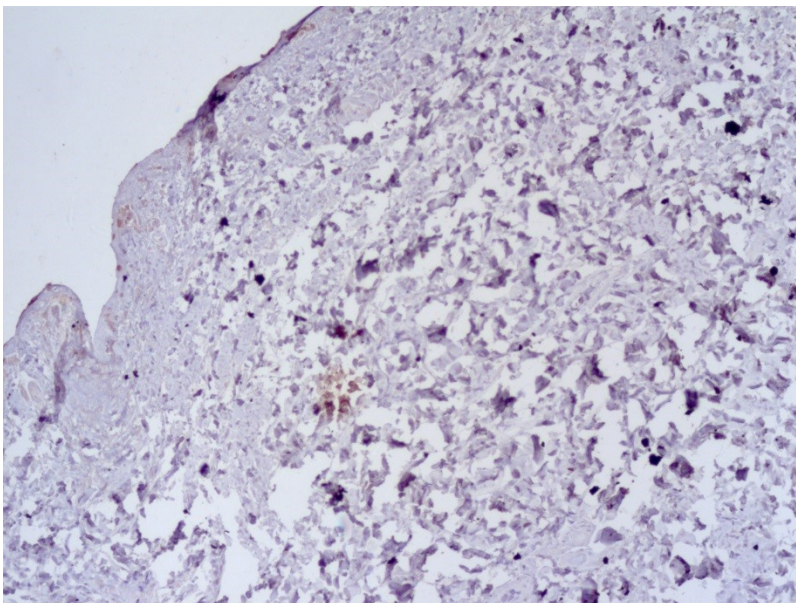


Рис. 4.28. Група порівняння, 3-тя доба. Слабопозитивна експресія в окремих клітинах в зоні ураженого епідермісу. ІГХД з МКА до PanCK (AE1/AE3). Збільшення x100.

Таким чином, виявлено, що в тканинах зони опікового ураження в пацієнтів основної групи та групи порівняння на 2-3-тю добу після дії термічного фактора



морфологічно в епідермісі, в поверхневому субепітеліальному шарі дерми, в частині випадків й у глибокому шарі та підлеглих м'яких тканинах переважали виражені альтеративно-дегенеративні процеси у вигляді коагуляційних змін, набряку, некрозу, ознаки дезорганізації сполучної тканини у вигляді розшарування колагенових волокон, помірно виражені розлади в мікроциркуляторному руслі, явища стазу, сладжу, фібриноїдних змін та вогнищево фібриноїдного некрозу набряку стінок, крововиливи.

При дослідженні препаратів шкіри зони опікового ураження у пацієнтів основної групи на 7-8-му добу після термічної травми відмічались зони епідермісу з початковими проявами регенерації, ділянки з окремими клітинами епітелію з проявами дегенеративних змін, окремі клітини без ознак дегенерації – джерело наступної епідермізації (Рис. 4.29).

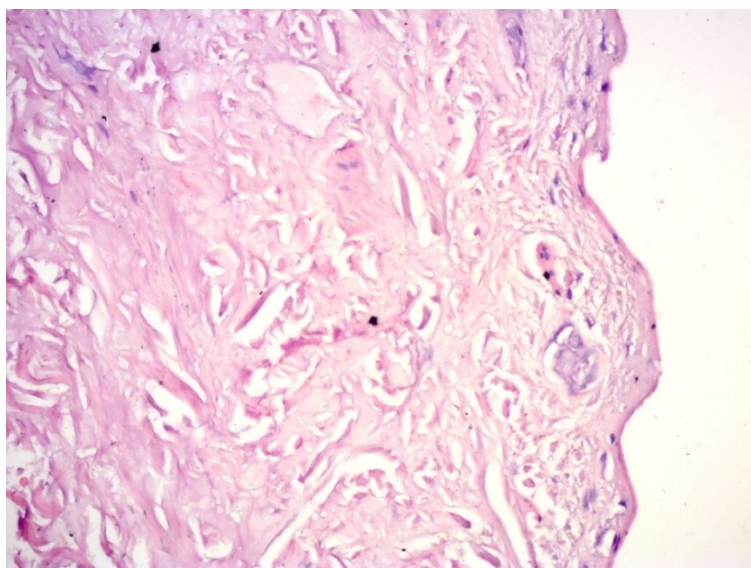


Рис. 4.29. Основна група, 7-ма доба. В зоні епідермісу визначаються поодинокі епітелієподібні клітини, дерма з ознаками набряку. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Збільшення x200.

Тканини поверхневому субепітеліальному шарі дерми з ознаками дезорганізації, ділянки коагуляційного некрозу, дрібні периваскулярні крововиливи. В глибокому шарі дерми, в підлеглих м'яких тканинах - явища набряку, вогнищево ділянки некрозів вздовж колагенових волокон, нерівномірна незначна лейкоцитарна з домішкою лімфоцитів клітинна інфільтрація (Рис. 4.30).

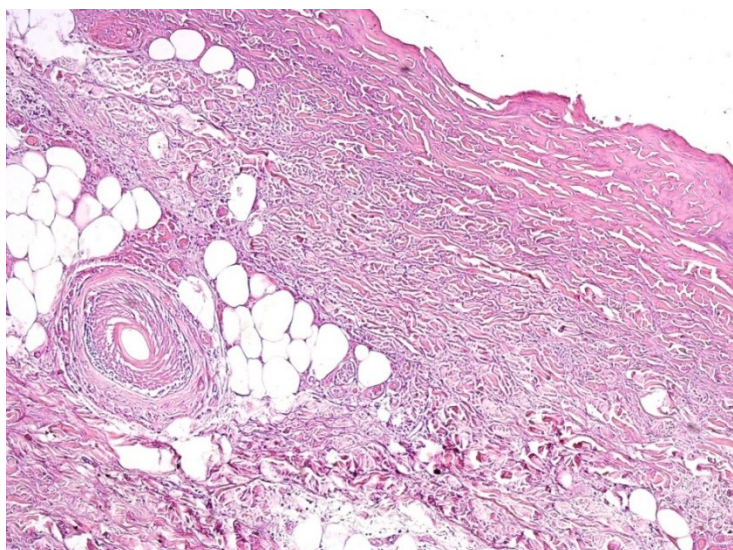


Рис.4.30. Основна група, 7-ма доба. Дерма з ознаками набряку. В поверхневих субепітеліальних відділах тканини гомогенізовані. В глибоких відділах дерми визначається волосяний фолікул з дегенеративними змінами. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Збільшення x50.

В дермі в придатках шкіри ознаки ураження у вигляді різного ступеня вираженості дегенеративних змін в епітелії, вогнищево зустрічались ділянки некрозу елементів придатків. В м'яких тканинах прояви дезорганізації структур, в судинах – стромально-судина дегенерація, дисмукоїдоз, набряк, в частині судин ознаки фібриноїдного некрозу (Рис. 4.31).

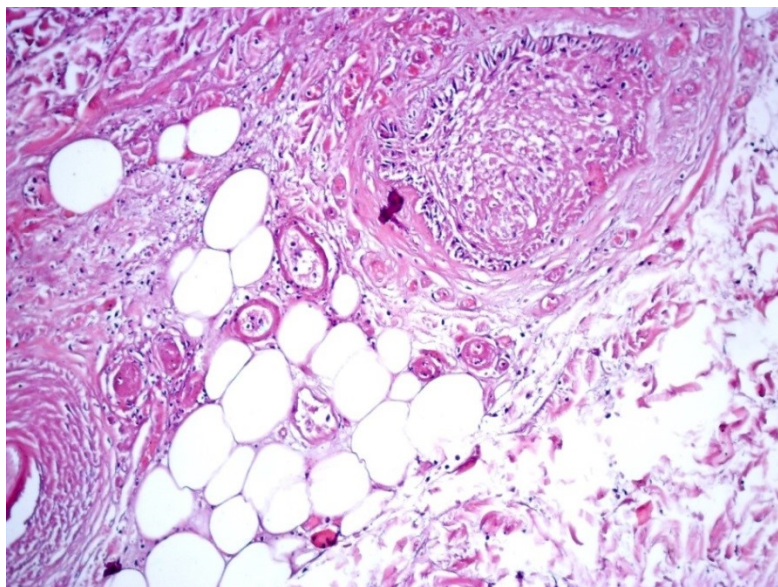


Рис. 4.31. Основна група, 7-ма доба. Дерма та м'які тканини з ознаками набряку. В глибоких відділах дерми визначаються дегенеративні зміни придатків шкіри, вогнищевий некроз елементів придатків, перифокальний ангіоматоз. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Збільшення x100.



При гістохімічному забарвленні за ван Гізоном відмічалась вогнищева дезорганізація колагенових волокон, в глибоких відділах – волокна переважно фрагментовані, вогнищево – збережені. Визначаються повнокровні судини, ділянки крововиливів та неоангіогенез у вигляді ангіоматозу з переважанням дрібних судин, навколо яких формується молода сполучна тканина (Рис.4.32, Рис. 4.33).

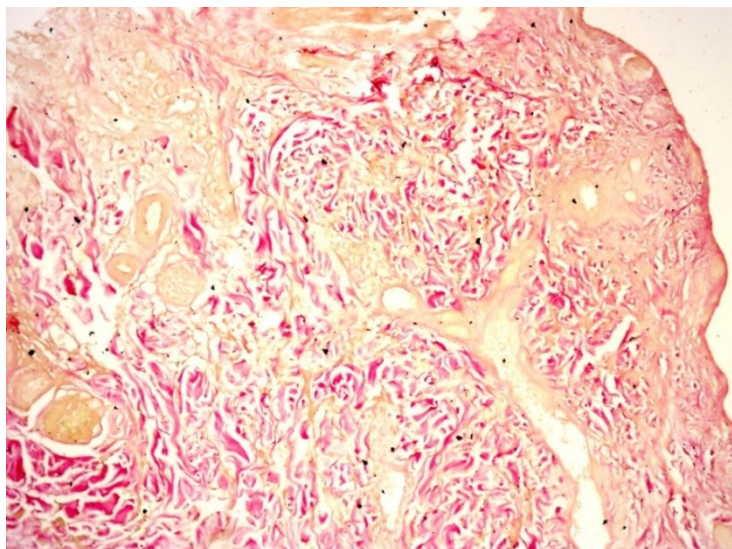


Рис. 4.32. Основна група, 7-ма доба. Дерма з ознаками набряку, в поверхневих субепітеліальних відділах колагенові волокна гомогенізовані, коагульовані, в глибоких відділах- фрагментовані. Забарвлення за ван Гізоном. Збільшення x50.

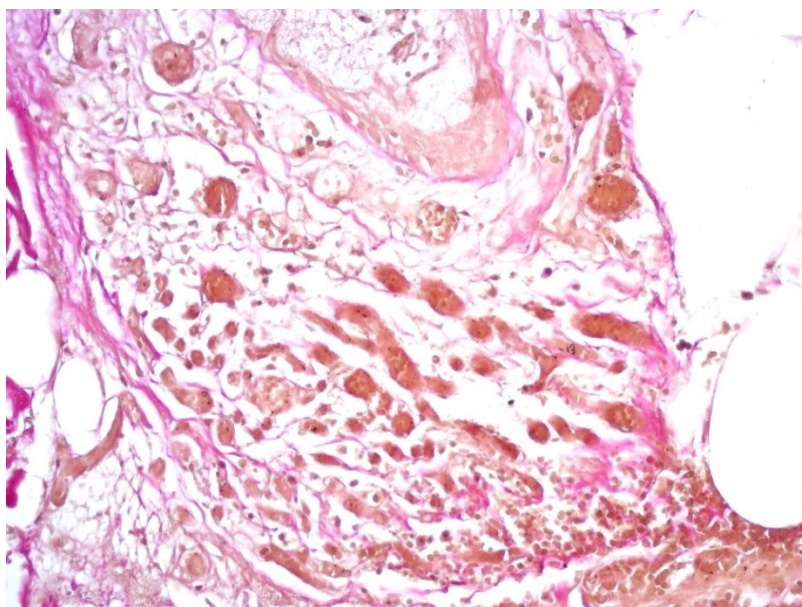


Рис.4.33. Основна група, 7-ма доба: дерма з ознаками набряку. В глибоких шарах дерми явища неоангіогенезу. Забарвлення за ван Гізоном. Збільшення x100.

В препаратах шкіри ділянки опікового ураження в пацієнтів групи порівняння на 7-8-му добу після опікової травми після термічної травми відмічались виражені

зміни у всіх шарах шкіри та підлеглих м'яких тканинах. На поверхні дерми у більшості випадків клітини епідермісу не визначались, спостерігались різного розміру зони коагуляційного некрозу, вздовж поверхні м'яких тканини візуалізувались «тіні» поодиноких епітеліоїдноподібних клітини (Рис. 4.34).

В дермі в придатках шкіри переважно виражені альтеративні зміни, некроз переважно всіх структур придатків. В глибоких шарах дерми, в підлеглих м'яких тканинах – виражений набряк, ділянки некрозу вздовж колагенових волокон, (Рис. 35).

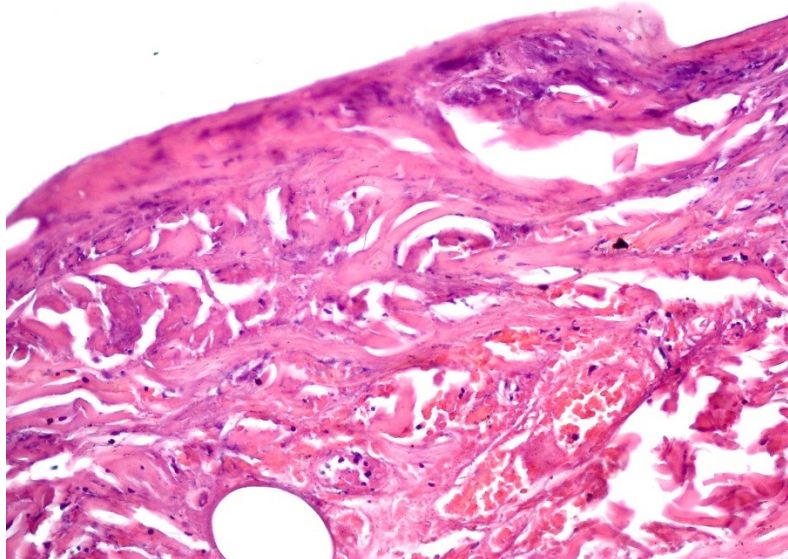


Рис. 4.34. Група порівняння, 7-ма доба. Некротичні зміни в епідермісі, ділянки коагуляційного некрозу в епідермісі та в дермі, дезорганізація волокон, розширення, повнокров'я судин, ознаки стазу. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Збільшення x200.



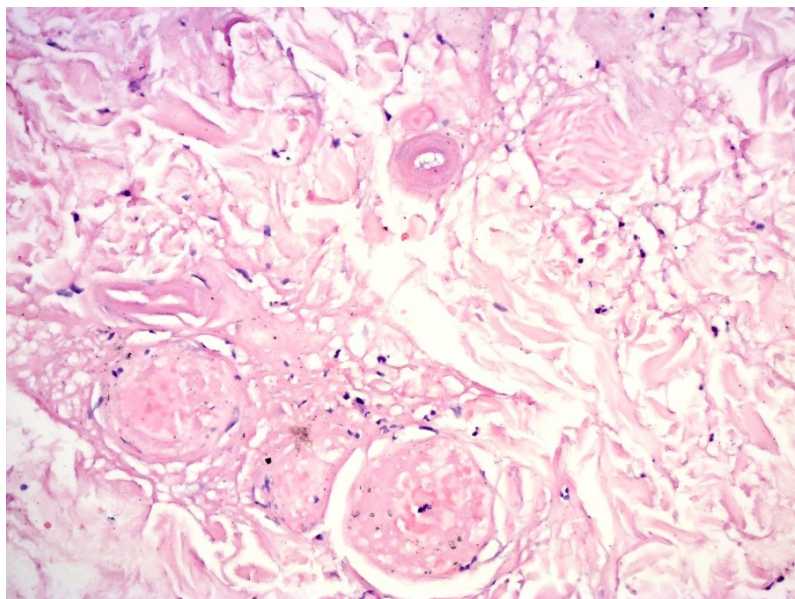


Рис.4.35. Група порівняння, 7-ма доба. Виражена дезорганізація в дермі, некроз додатків шкіри, фібриноїдний некроз стінок судин. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Збільшення x200.

Спостерігалась нерівномірна переважно лейкоцитарна, з незначною домішкою лімфоцитів, клітинна інфільтрація; ознаки каріорексису та каріолізису лейкоцитів (Рис. 4.36). В судинах різного калібру та мікроциркуляторного русла – повнокрів'я, стаз, в стінках – дисмукоїдоз, в частині фібриноїдний некроз (Рис. 4.34, Рис 4.36).

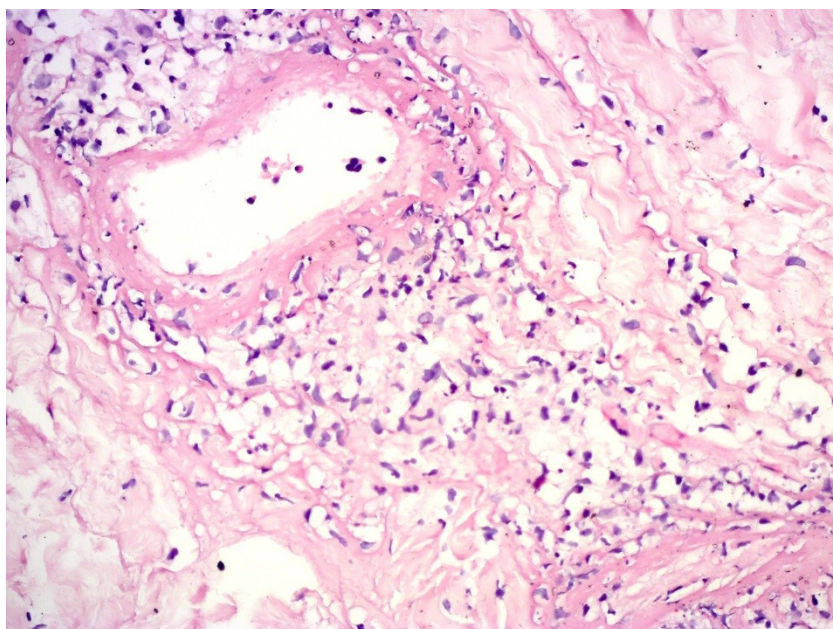


Рис. 4.36. Група порівняння, 7-ма доба. Периваскулярна лейкоцитарна інфільтрація, каріорексис та каріолізис. В судинах – дисмукоїдоз, ділянки фібриноїдного некрозу, відсутність клітин ендотелію. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Збільшення x200.

При проведенні гістохімічного дослідження за ван Гізоном в тканинах ділянки опікового ураження в пацієнтів ГП на 7-8-му добу виявлено виражену деструкцію та дезорганізацію колагенових волокон в дермі та в підлеглих м'яких тканинах. Вогнищево навколо зон некрозу та дезорганізації колагенових волокон спостерігається розростання різного ступеня зрілості сполучної тканини (Рис. 4.37).

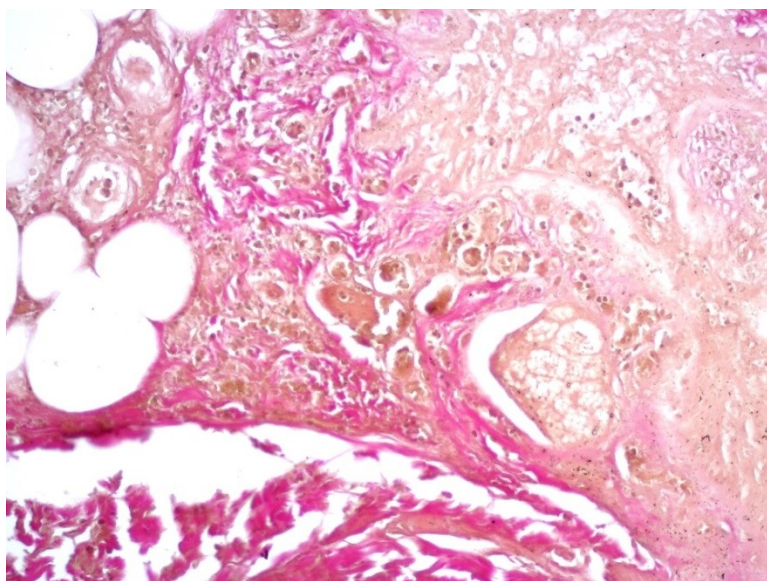


Рис. 4.37. Група порівняння, 7-ма доба. Виражені дегенеративні зміни в дермі, зони коагуляції та дезорганізація колагенових волокон, перифокальні некрози, некрози додатків шкіри. Забарвлення за ван Гізоном. Збільшення x200.

При проведенні ІГХД з використанням сполучнотканинного маркеру віментину в зразках ділянки опікового ураження в пацієнтів ОГ відмічалась позитивна виражена переважно дифузна та перифокальна навколо придатків шкіри та судин експресія до 45% позитивно забарвлених клітин, від загальної площі поля зору (Рис 4.38, 4.39).



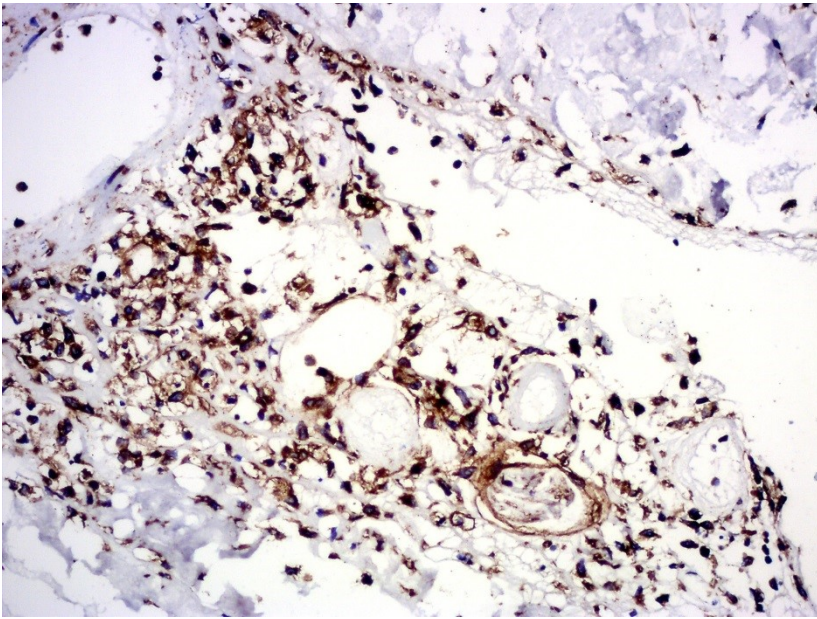


Рис. 4.38. Основна група, 7-ма доба: перифокальна виражена експресія віментин-позитивних клітин в глибоких відділах дерми, в стінках частини судин. ІГХД з МКА до віментину. Збільшення x200.

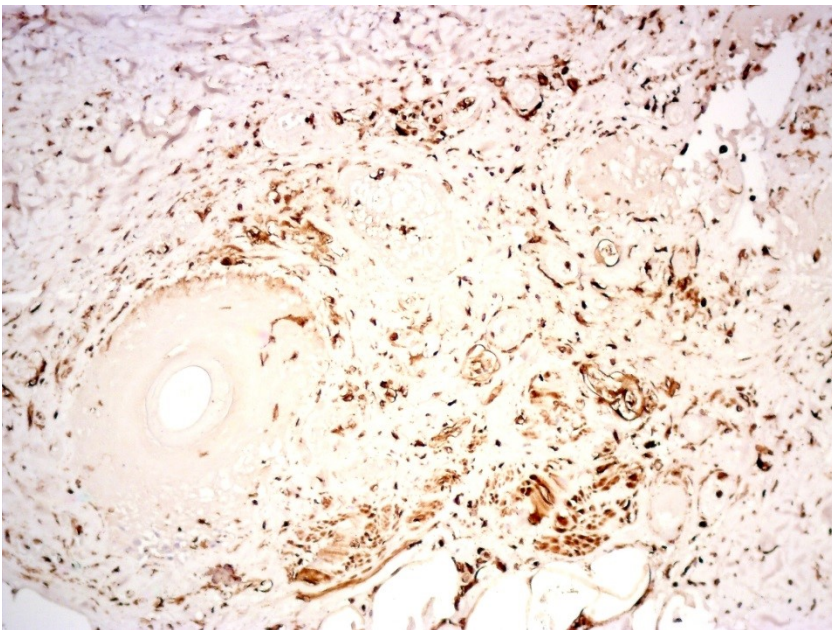


Рис. 4.39. Основна група, 7-ма доба. Перифокально навколо волосяного фолікула від помірної до вираженої експресія віментину. ІГХД з МКА до віментину. Збільшення x100.

При проведенні ІГХД тканини зони опікового ураження в пацієнтів групи порівняння з використанням сполучнотканинного маркеру віментину на 7-8-му добу відмічалась нерівномірно виражена позитивна переважно вогнищева, в тому числі й навколо придатків шкіри, частини судин експресія  $32 \pm 9,0\%$  позитивно забарвлених клітин, від загальної площі поля зору (Рис. 4.40).

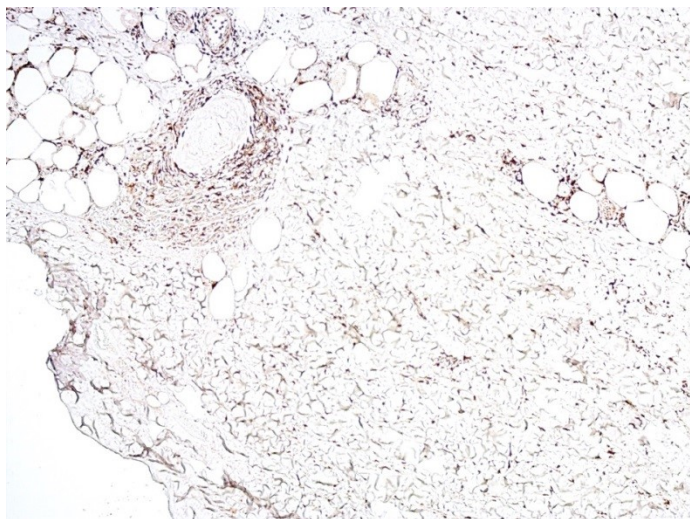


Рис. 4.40. Група порівняння, 7-ма доба. Вогнищева в глибоких шарах дерми, навколо судин експресія віментин-позитивних клітин. ІГХД з МКА до віментину. Збільшення x50.

При ІГХД зразків зони ураження в пацієнтів основної групи на 7-8-му добу для визначення особливостей судинного компоненту (наявності, кількості та розповсюдженості судин, PECAM-1) встановлено CD31-позитивне забарвлення ендотеліальних клітин в багатьох судинах різного калібру, вогнищево зони неоангіогенезу (Рис. 4.41)

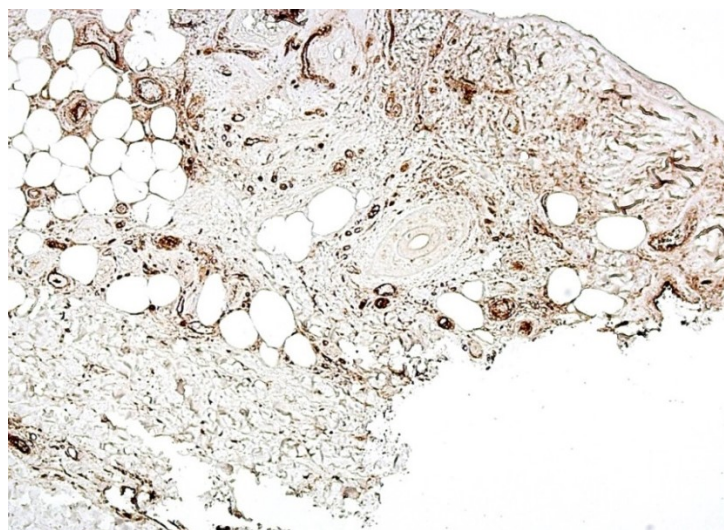


Рис. 4.41. Основна група, 7-ма доба. Велика кількість судин мікроциркуляторного русла, судин дрібного та середнього калібру в різних відділах дерми, зони неоангіогенезу. ІГХД з МКА до CD31. Збільшення x50.

Відмічено, що на різних ділянках було вогнищеве скупчення судин мікроциркуляторного русла, як в поверхневих субепітеліальних відділах дерми біля базальних зон епідермісу (Рис.4.42), так й навколо придатків шкіри, що може



бути проявом різного ступеня вираженості неоангіогенезу, середня кількість судин склала  $16,8 \pm 0,4$  в полі зору (Рис. 4.43).

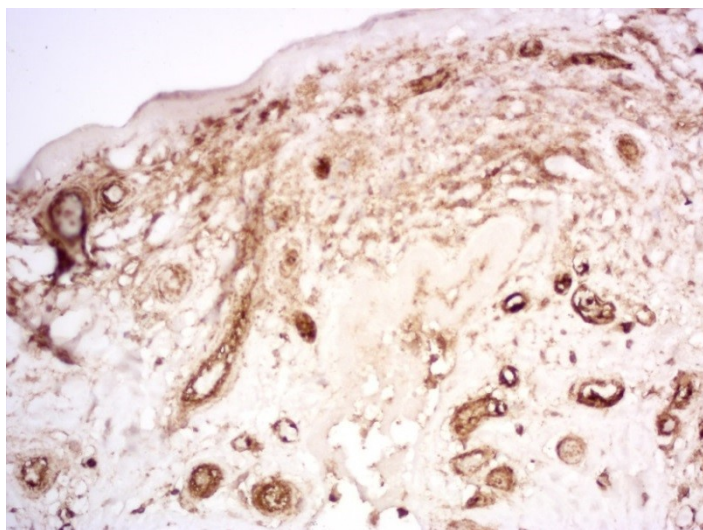


Рис. 4.42. Основна група, 7-ма доба: явища неоангіогенезу в поверхневих субепітеліальних відділах дерми. ІГХД з МКТ до CD31. Збільшення  $\times 200$ .

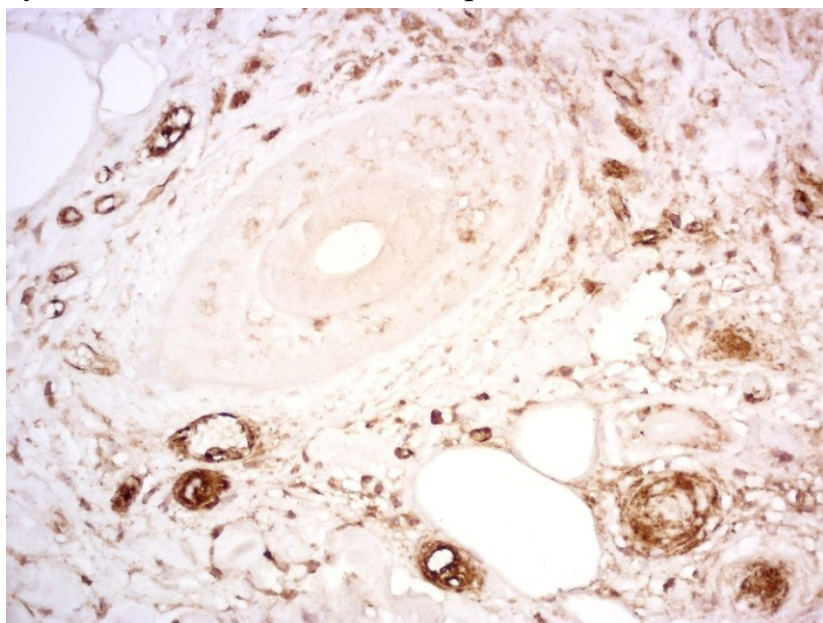


Рис. 4.43. Основна група, 7-ма доба. Явища неоангіогенезу навколо волосяного фолікула. ІГХД з МКА до CD31. Збільшення  $\times 200$ .

При ІГХД зразків ділянки опікової рани в пацієнтів ГП на 7-8-му добу спостерігалась незначна кількість з помірно вираженою експресією CD31-позитивно забарвлених ендотеліальних клітин судин різного калібру. Вогнищевонаявні судини мікроциркуляторного русла навколо придатків шкіри, середня кількість судин склала  $15,2 \pm 0,5$  в полі зору (Рис. 4.44).

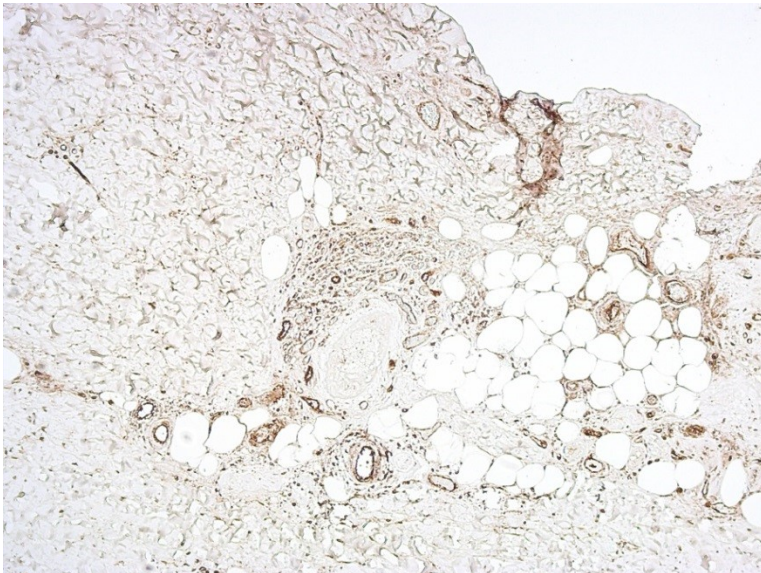


Рис. 4.44. Група порівняння, 7-ма доба. Явища вогнищового неоангіогенезу в різних шарах шкіри, навколо волосяного фолікула ангіоматоз. ІГХД з МКА до CD31. Збільшення x200.

При ІГХД експресії судинного ендотеліального фактора росту (VEGF) в зразках тканин зони опікової рани в пацієнтів основної групи на 7-8му добу після травми виявлено до 12,4% позитивно забарвлених клітин в полі зору в поверхневих субепітеліальних відділах дерми, навколо придатків шкіри, судин, позитивних клітини за межами судин (Рис.4.45, 4.46).

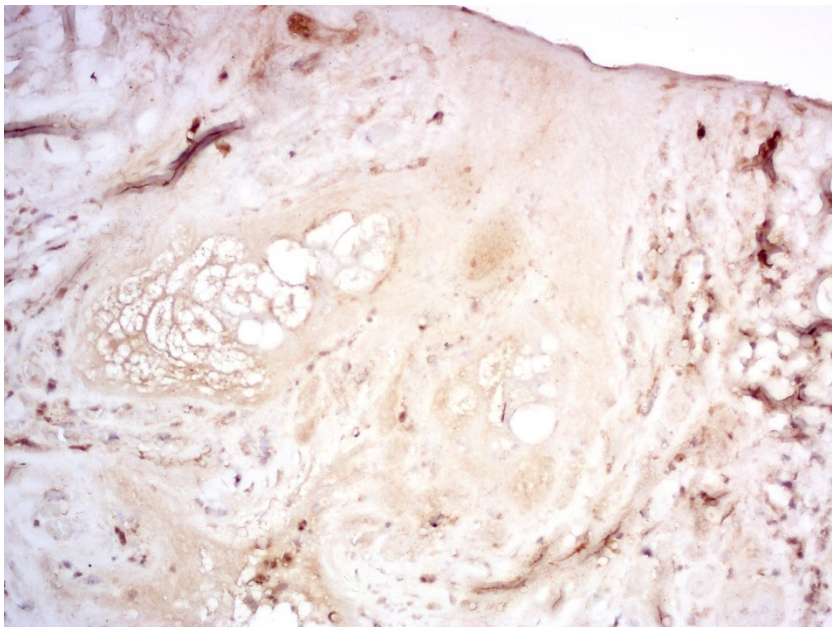


Рис.4.45. Основна група, 7-ма доба. Позитивна експресія судинного ендотеліального фактора росту в поверхневих субепітеліальних відділах дерми. ІГХД до VEGF. Збільшення x200.



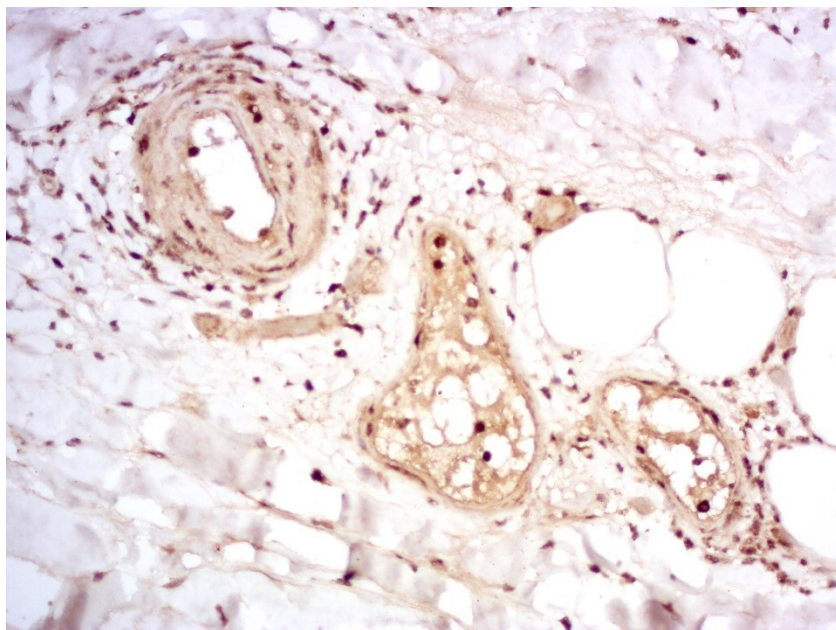


Рис. 4.46. Основна група, 7-ма доба. Виражена експресія судинного ендотеліального фактора росту в глибоких відділах дерми, навколо судин, позитивні клітини в дермі. ІГХД з МКА до VEGF. Збільшення x200.

При дослідженні експресії VEGF в зразках тканин опікової рани в пацієнтів ГП на 7-8-му добу після травми виявлено незначну кількість (до 5,0%) позитивно забарвлених клітин в полі зору переважно в дермі, навколо окремих придатків шкіри, вогнищево в стінках судин, окремі позитивні клітини в дермі та м'яких тканинах (Рис. 4.47).

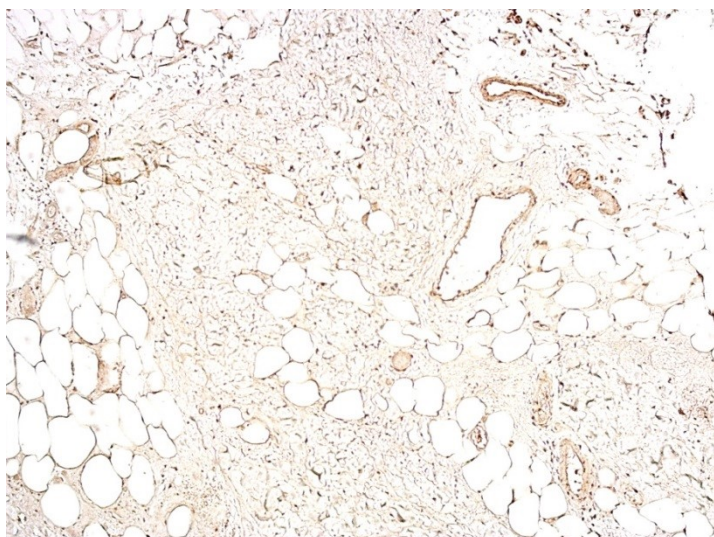


Рис. 4.47. Група порівняння, 7-ма доба. Позитивна помірно виражена експресія судинного ендотеліального фактора росту в стінках частини судин, в глибоких відділах дерми, в м'яких тканинах. ІГХД з МКА до VEGF. Збільшення x50.

При ІГХД з загально-епітеліальним маркером PanCK в зразках тканин опікової рани в пацієнтів ОГ на 7-8-му добу відмічалось формування епітеліального шару в зоні епідермісу – виражена позитивна експресія клітин епідермісу, як прояв позитивних репаративних змін під дією комплексного лікування із застосуванням схем трансфузійної терапії (Рис. 4.48).

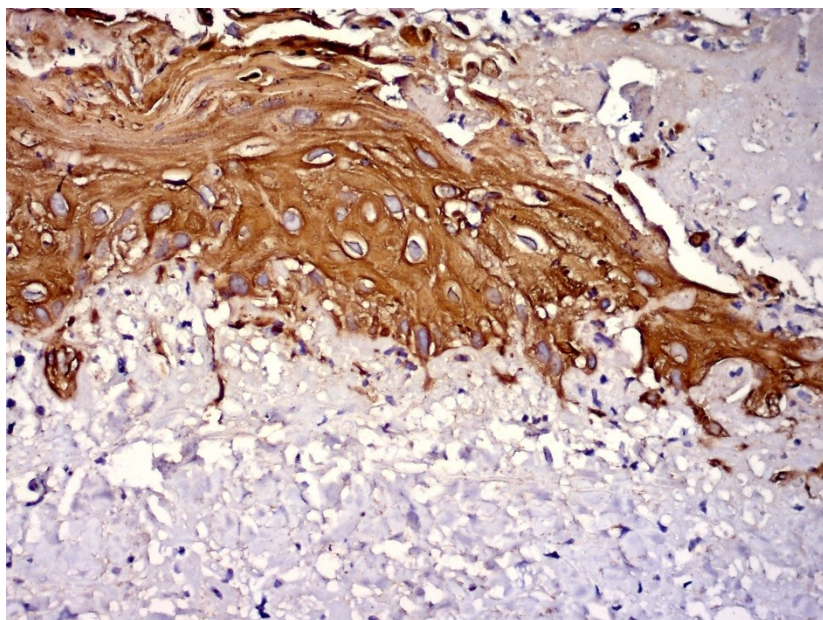


Рис.4.48. Основна група, 7-ма доба. Виражена позитивна експресія шару епітеліальних клітин в зоні епідермізації. ІГХД з МКА до PanCK (AE1/AE3). Збільшення x200.

Слід зазначити, що окрім репаративних змін в епідермісі відмічалась виражена позитивна експресія епітеліальних клітин в частині придатків шкіри, що також є проявом позитивного впливу проведеного лікування із застосуванням схем трансфузійної терапії на процеси регенерації різних структурних елементів шкіри в пацієнтів ОГ (Рис. 4.49).



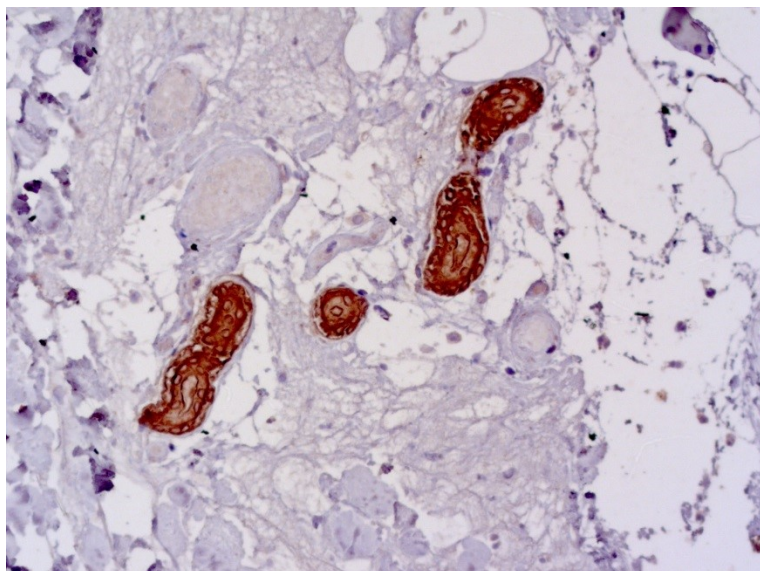


Рис.4.49. Основна група, 7-ма доба. Виражена позитивна експресія в епітеліальних клітинах придатків шкіри. ІГХД з МКА до PanCK (AE1/AE3). Збільшення x200.

При дослідженні експресії загальноепітеліального маркера PanCK в зразках тканин опікової рани в пацієнтів групи порівняння на 7-8-му добу після травми відмічалась переважно слабо, в окремих клітинах помірно виражена експресія в зоні дії патологічного чинника в епідермісі, в зоні придатків шкіри експресія була відсутня та/або слабо виражена в окремих клітинах (Рис.4.50).

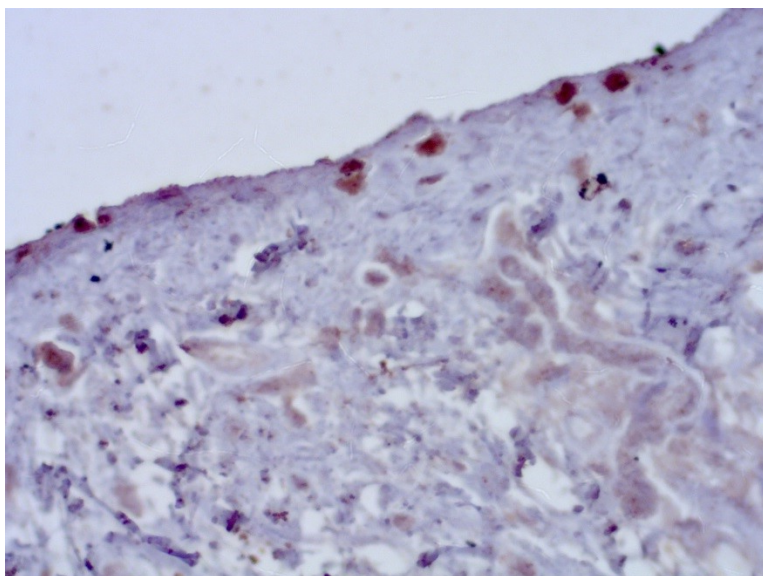


Рис. 4.50. Група порівняння, 7-ма доба. Позитивна експресія в окремих епітеліальних клітинах в епідермісі. ІГХД з МКА до PanCK (AE1/AE3). Збільшення x200.

На 13-14-ту добу після опікової травми в препаратах ділянки опікової рани в пацієнтів основної групи спостерігались зони епідермізації, вогнищеве розростання багат шарового плоского з тенденцією до зроговіння епітелію, що відображало прояви диференціювання клітин епідермісу при застосуванні запропонованих схем трансфузійної терапії (Рис.4.51).

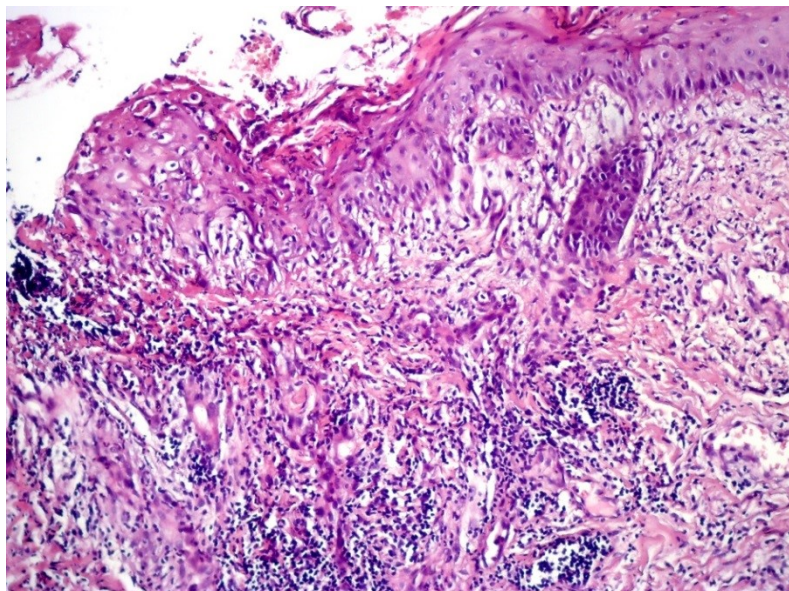


Рис. 4.51. Основна група, 13-та доба. В шкірі ділянка дерми, яка вкрита багат шаровим плоским зроговілим епітелієм, який наростає на ділянку післяопікової ранової поверхні. Забарвлення гематоксилін та еозин. Збільшення x100.

Розростання епітелію спостерігалось від частково збережених та/або відновлених під впливом лікування, волосяних фолікулів, яке «наростало» над дермою у вигляді епітеліального пласта (Рис. 4.52).



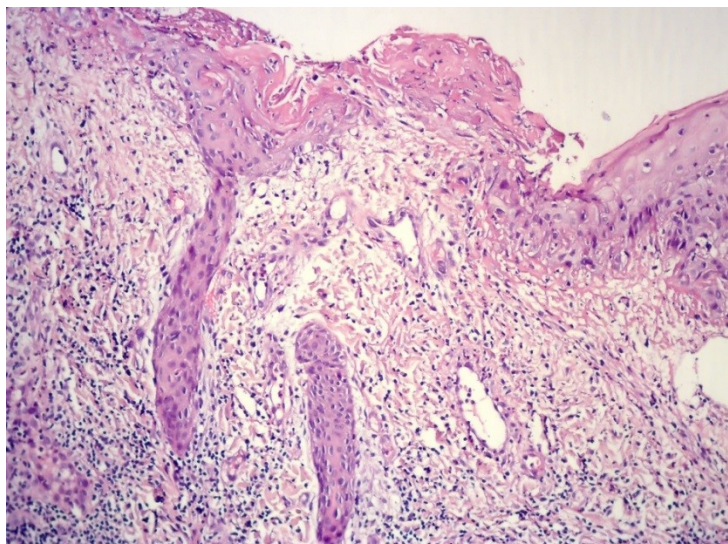


Рис.4.52. Основна група, 13-та доба. Епідермізація пошкодженої ділянки шкіри. Епідерміс бере свій початок з волосяного фолікула. Забарвлення гематоксилін та еозин. Збільшення x100.

В дермі спостерігались помірно виражений набряк, дрібні крововиливи, вогнищева, перифокальна навколо придатків шкіри та судин лімфоцитарна та лімфо-гістіоцитарна клітинна інфільтрація (Рис. 4.53) .

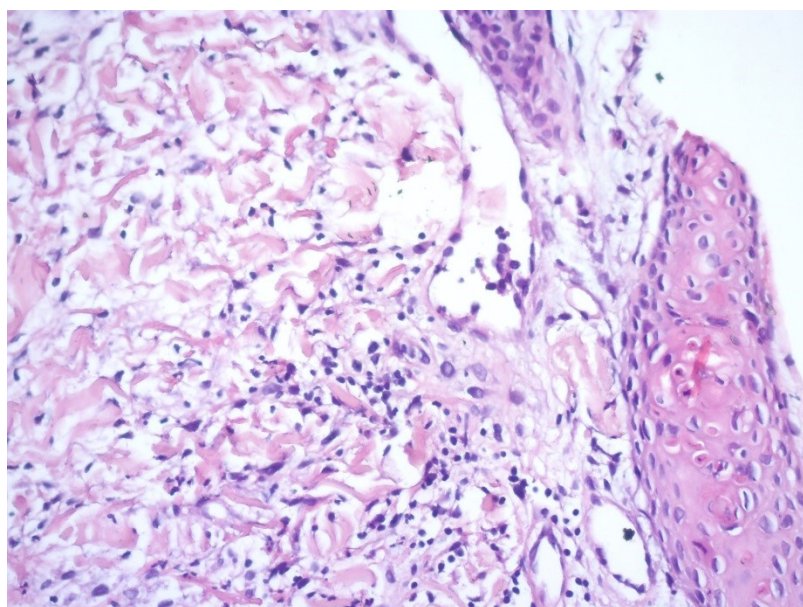


Рис.4.53. Основна група, 13-та доба: ділянка епідермізації, в дермі вогнищеві лімфо-гістіоцитарні клітинні інфільтрати. Збільшення x200.

В глибоких шарах дерми відмічались явища набряку, ділянки розростання пухкої молоді сполучної тканини з великою кількістю фіброblastів та на окремих ділянках фіброцитів, поряд з цим зустрічаються ділянки деорганізації колагенових волокон (Рис. 4.54).

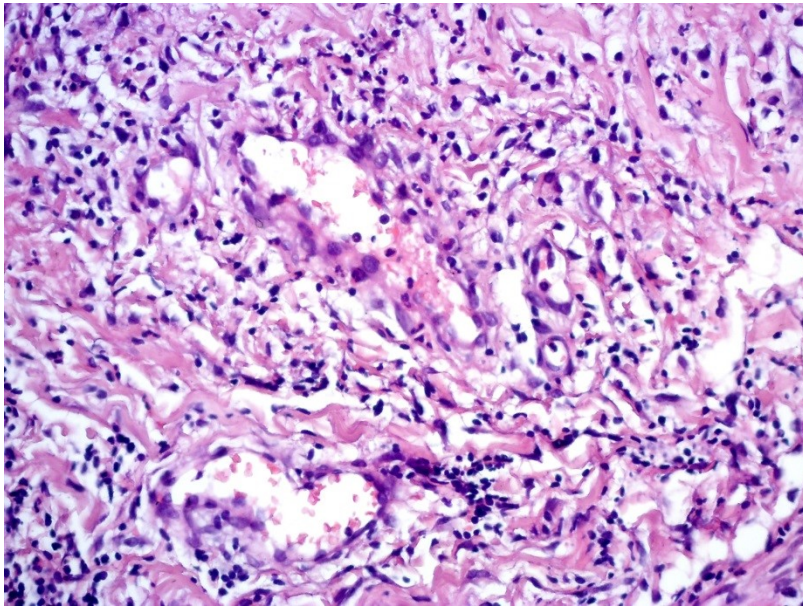


Рис.4.54. Основна група, 13-та доба. В глибоких шарах дерми вогнищева лімфо-гістоцитарна клітинна інфільтрація, розростання молоді сполучної тканини. Забарвлення гематоксилін та еозин. Збільшення x200.

При гістохімічному забарвленні за ван Гізоном визначається розростання грануляційної та сполучної тканини різного ступеня зрілості; на окремих ділянках колагенові волокна гомогенізовані (Рис. 4.55, 4.56).

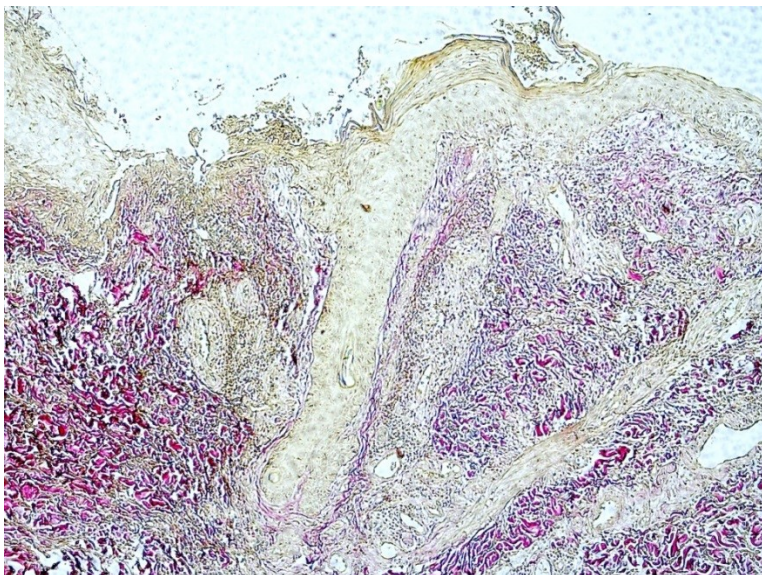


Рис.4.55. Основна група, 13-та доба. Ділянка епідермізованої дерми з розростанням пухкої сполучної тканини в поверхневих субепітеліальних відділах. Забарвлення за ван Гізоном. Збільшення x50.



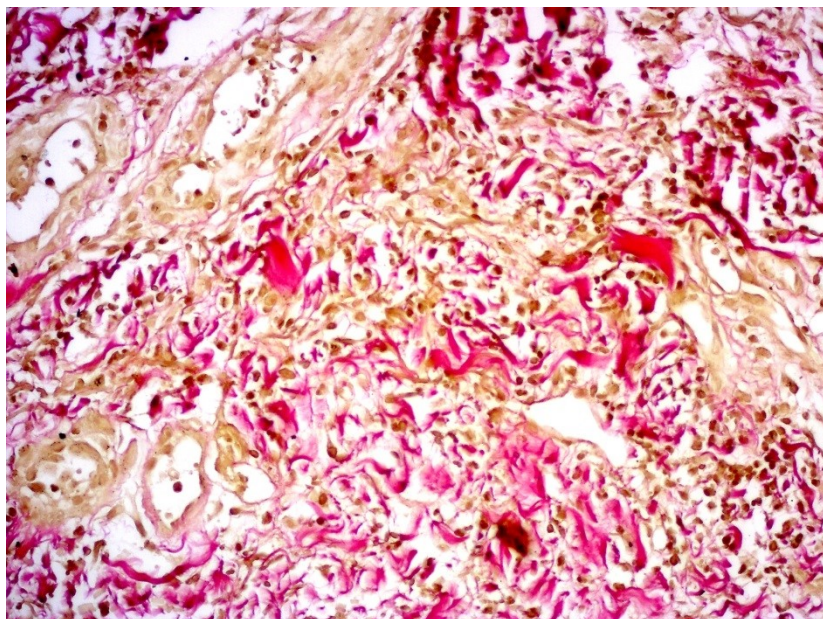


Рис.4.56. Основна група, 13-та доба. В дермі розростання сполучної тканини різного ступеня зрілості. Забарвлення за ван Гізоном. Збільшення x200.

На 13-14-ту після опікової травми в групі порівняння в тканинах опікової рани спостерігались ділянки дерми, що були вогнищево вкриті епітелієм, який початково диференціювався в багат шаровий плоский епітелій (Рис.4.57).

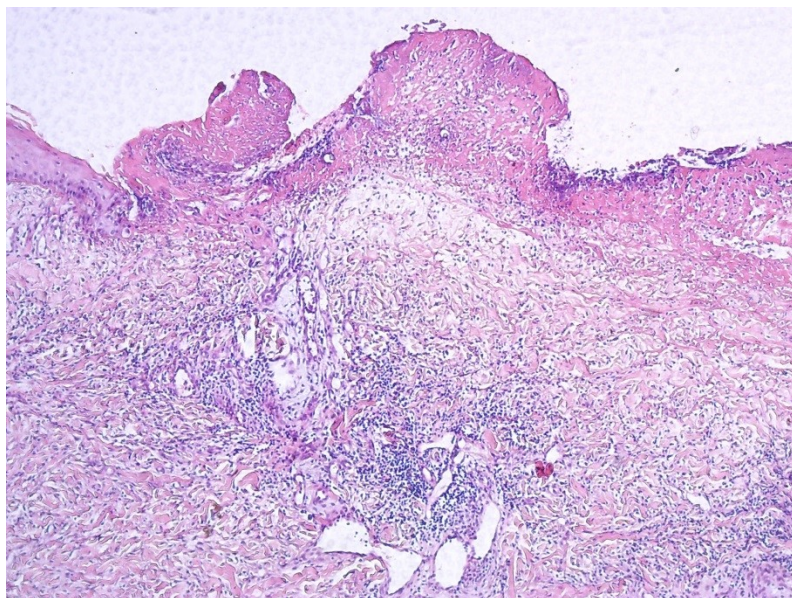


Рис. 4.57. Група порівняння, 13-та доба. В шкірі на невеликій ділянці відмічається частково вкрита зона ураженого епідермісу, більшість епідермісу з ознаками коагуляції, вогнищева інфільтрація лейкоцитами, клітинами з ознаками каріорексису, дезорганізація волокон, клітинна інфільтрація в дермі. Забарвлення гематоксилін та еозин. Збільшення x50.

На частині ділянок на поверхні дерми в ГП спостерігались гомогенні рожеві маси, які інфільтровані лейкоцитами, вогнищево лімфоцитами, клітинами з ознаками апоптозу та каріорексису (Рис. 4.58).

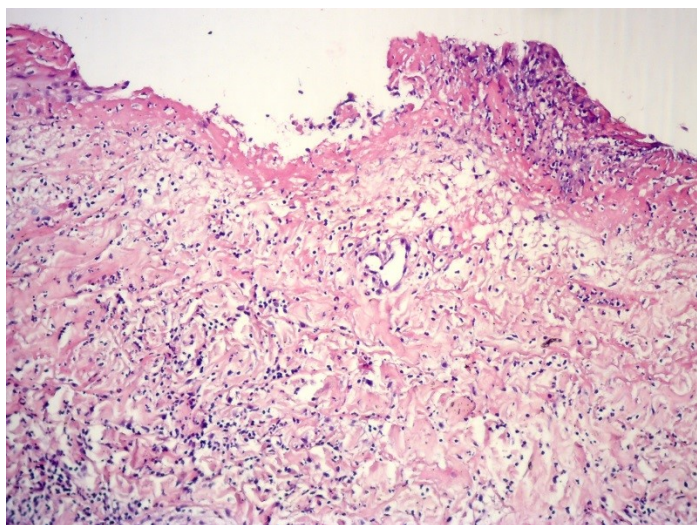


Рис. 4.58. Група порівняння, 13-та доба. В шкірі вогнищево відсутність епідермісу над дермою, лейкоцитарна інфільтрація з домішкою лімфоцитів, клітини з ознакам каріорексису, апоптозу клітинна інфільтрація. Забарвлення гематоксилін та еозин. Збільшення x50.

При гістохімічному забарвленні за ван Гізоном в ГП на 13-14-ту добу визначається нерівномірно виражене розростання сполучної тканини різного ступеня зрілості; ділянки дезорганізації, гомогенізації колагенових волокон (Рис. 4.59).

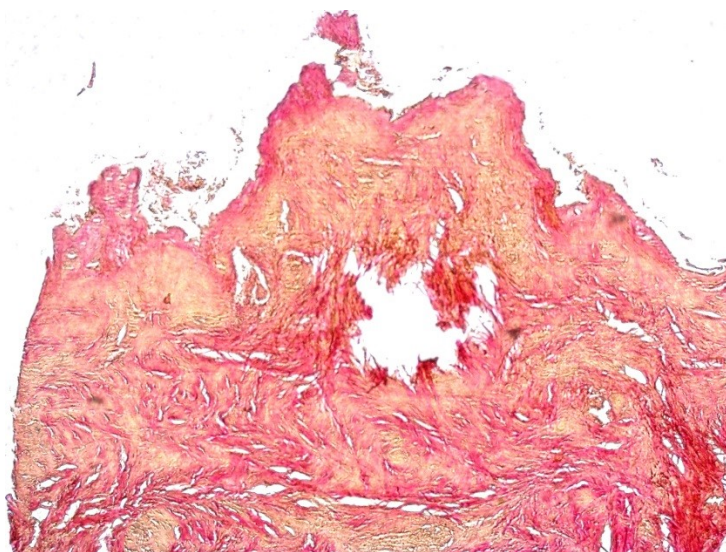


Рис. 4.59. Група порівняння, 13-та доба. Ділянка дерми, яка вогнищево вкрита невеликою зоною епітелію, розростання сполучної тканини різного ступеня зрілості. Забарвлення за ван Гізоном. Збільшення x50.



При проведенні ІГХД тканини зони опікової рани у пацієнтів основної групи на 13-ту добу виявлена переважно дифузна та на окремих ділянках вогнищева експресія віментин-позитивних клітин субепітеліально, в різних шарах дерми навколо придатків шкіри, в середньому до 55% позитивно забарвлених клітин (Рис 4.60, 4.61) в полі зору.

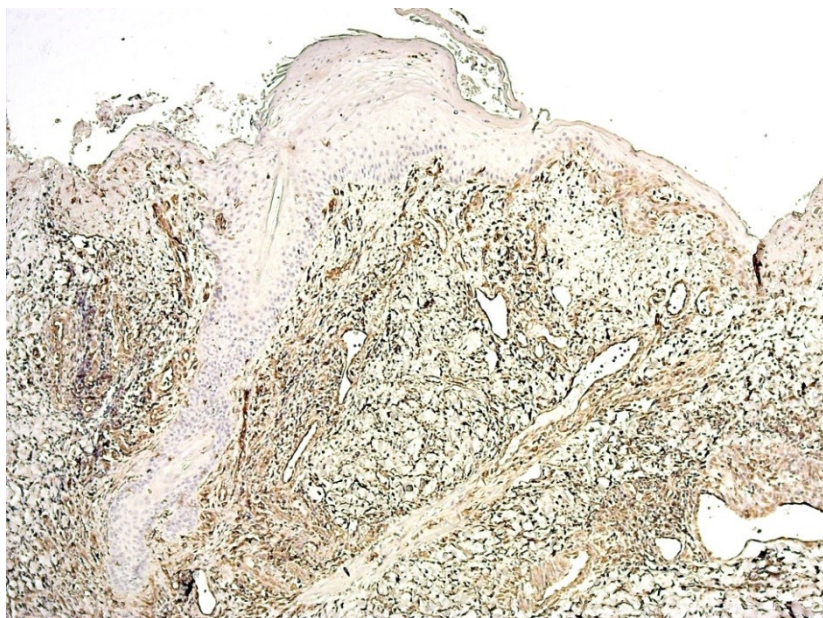


Рис. 4.60. Основна група, 13-та доба. Дифузна поширена експресія віментин-позитивних клітин. ІГХД з МКА до віментину. Збільшення x50.

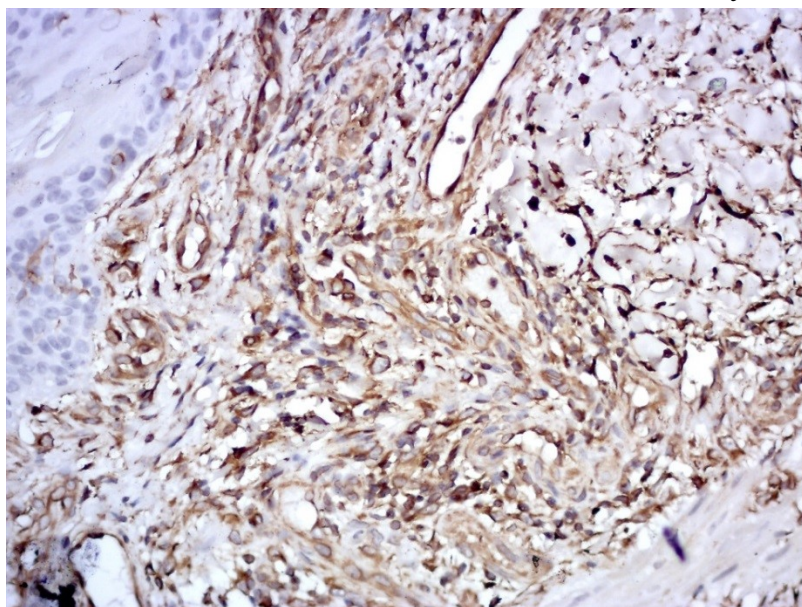


Рис.4.62. Основна група, 13-та доба. Дифузна субепітеліальна, навколо судин мікроциркуляторного русла експресія віментин-позитивних клітин. ІГХД з МКА до віментину. Збільшення x200.

При ІГХД зразків тканин опікової рани в пацієнтів ГП на 13-14-ту добу після травми встановлено нерівномірну, переважно вогнищеву, експресію віментин-позитивних клітин субепітеліально, в дермі, навколо поодиноких придатків шкіри, в середньому до 35% позитивно забарвлених клітин (Рис 4.63).

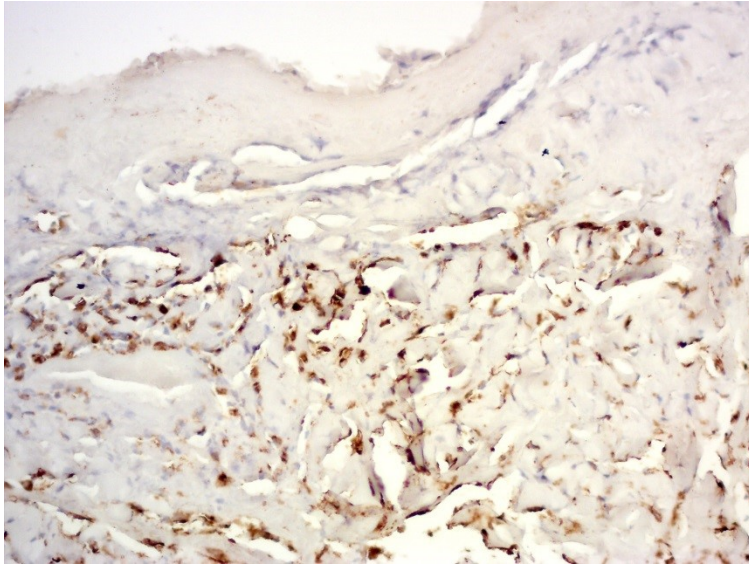


Рис 4.63. Група порівняння, 13-та доба. Вогнищева субепітеліальна експресія віментин-позитивних клітин, перифокальна експресія клітин навколо окремих судин. ІГХД з МКА до віментину. Збільшення x200.

При дослідженні експресії судинного маркера CD31 в зразках тканин опікової рани в пацієнтів ОГ на 13-14-ту добу після травми виявлене позитивне забарвлення ендотеліальних клітин в судинах різного калібру. Вогнищево присутні скупчення судин мікроциркуляторного русла в різних шарах шкіри, навколо придатків шкіри середня кількість судин дорівнює  $21 \pm 2,3$  (Рис.4.64). Відмічались зони неоангіогенезу.



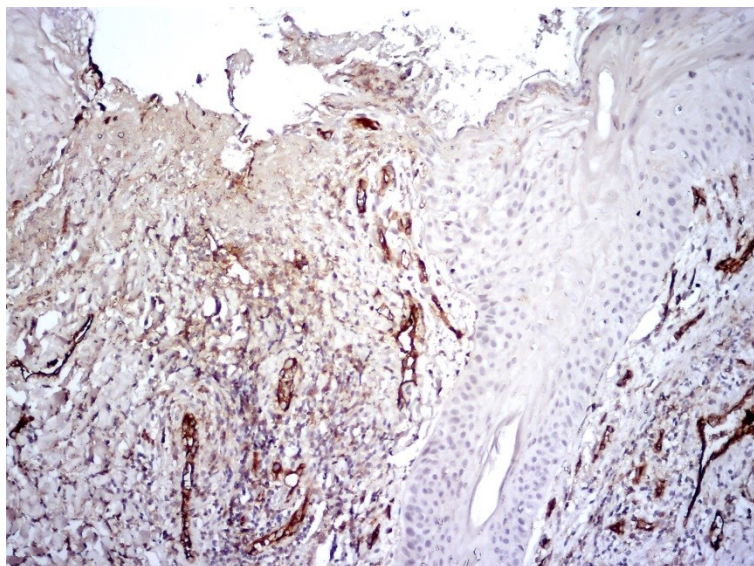


Рис. 4.64. Основна група, 13-та доба. Велика кількість судин різного калібру, позитивне забарвлення ендотеліальних клітин судин, вогнищево неоангіогенез. ІГХД з МКА до CD31. Збільшення x100.

Слід зазначити, що процеси епідермізації та дозрівання клітин епітелію краще виражені над ділянками з більшою кількістю судин – зонами неоангіогенезу (Рис. 4.65).

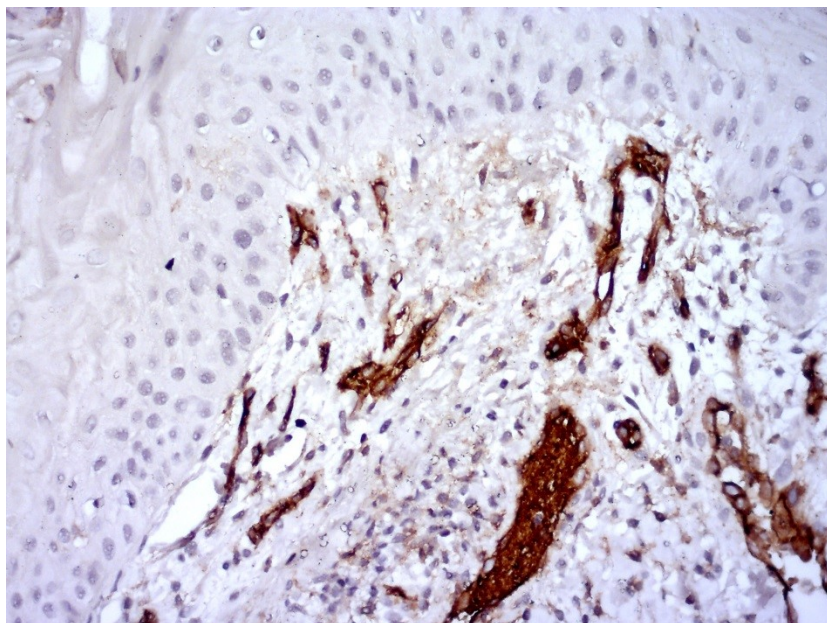


Рис. 4.65. Основна група, 13-та доба. Зона епідермізації над васкуляризованими ділянками, ознаки неоангіогенезу. ІГХД з МКА до CD31. Збільшення x200.

Поряд з цим встановлено, що в глибоких відділах дерми теж спостерігались процеси неангіогенезу під впливом застосованих схем трансфузійної терапії при хірургічному лікуванні в ранньому періоді ОХ (Рис. 4.66).

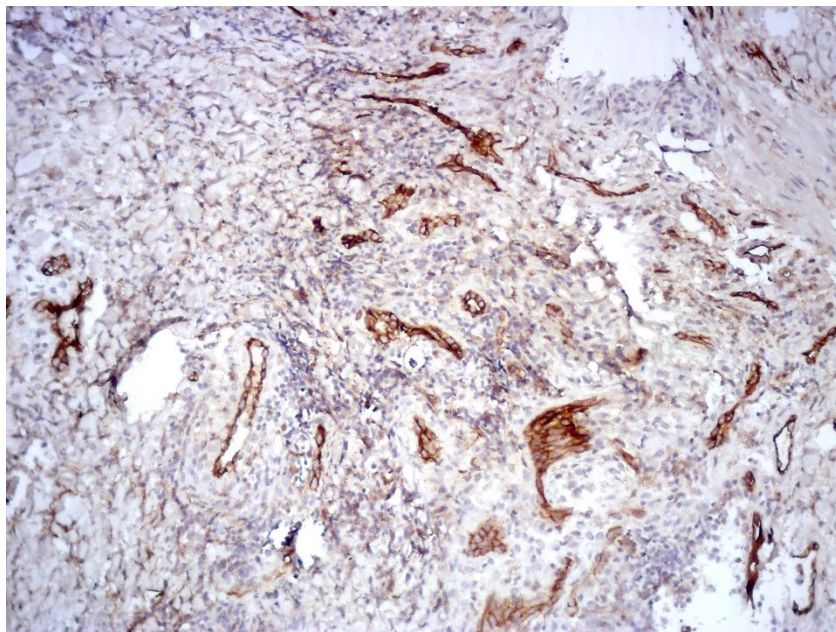


Рис.4.66. Основна група, 13-та доба: зони неангіогенезу в глибоких відділах дерми. ІГХД з МКА до CD31. Збільшення x100.

В той же час при ІГХД особливостей судинного компоненту з маркером CD31 в зразках тканин зони опікового ураження в пацієнтів групи порівняння виявлена нерівномірна експресія ендотеліальних клітин судин різного калібру. На окремих ділянках вогнищево присутні в невеликій кількості судини мікроциркуляторного русла, окремі судини різко розширені, кількість судин була до  $12,1 \pm 0,9$  (Рис. 4.65).



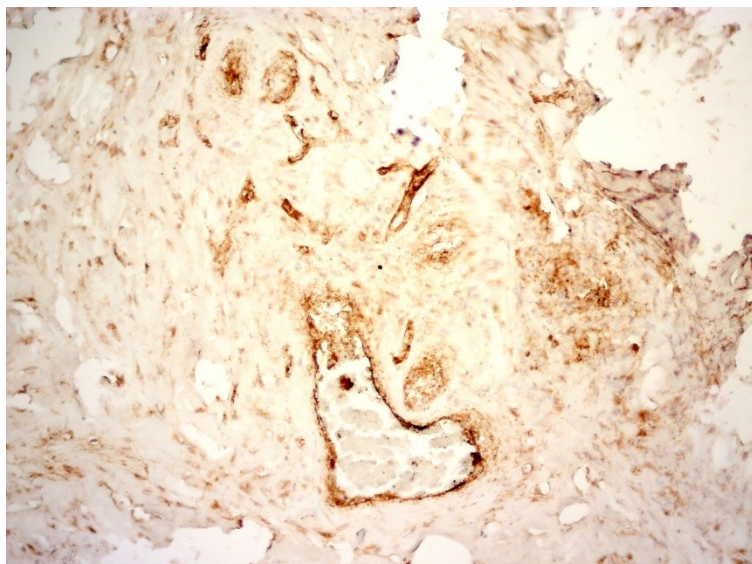


Рис. 4.65. Група порівняння, 13-та доба. Фрагмент шкіри з невеликою ділянкою початкової епідермізації біля скупчення судин мікроциркуляторного русла, позитивне забарвлення ендотеліальних клітин судин різного калібру. ІГХД з МКА до CD31. Збільшення x100.

При ІГХД експресії судинного ендотеліального фактора росту (VEGF) в ділянках опікових ран в пацієнтів основної групи на 13-14-ту добу після травми виявлено до 15,4% позитивно забарвлених клітин в полі зору в різних структурах шкіри – велика кількість позитивних клітин, як в поверхневих субепітеліальних відділах дерми так і навколо придатків шкіри, в стінках судин (Рис.4.66, 4.67).

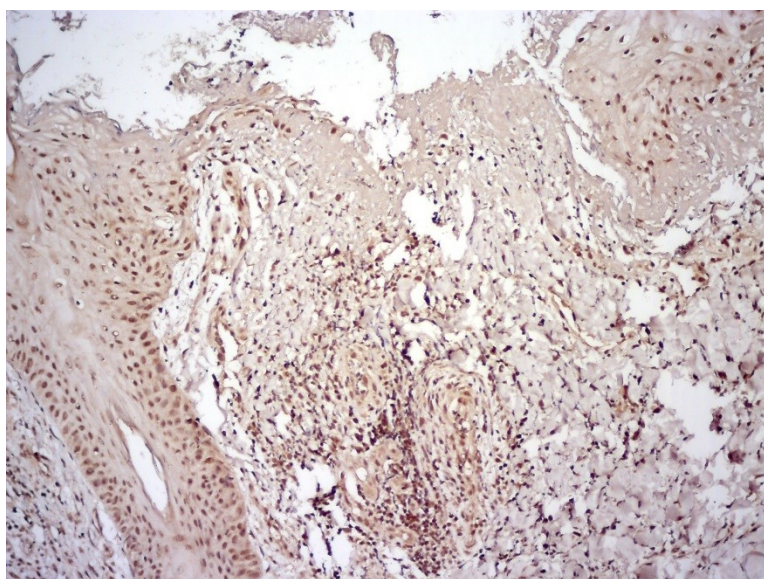


Рис. 4.66. Основна група, 13-та доба. Позитивна експресія судинного ендотеліального фактора росту в різних структурах шкіри. ІГХД до VEGF. Збільшення x50.



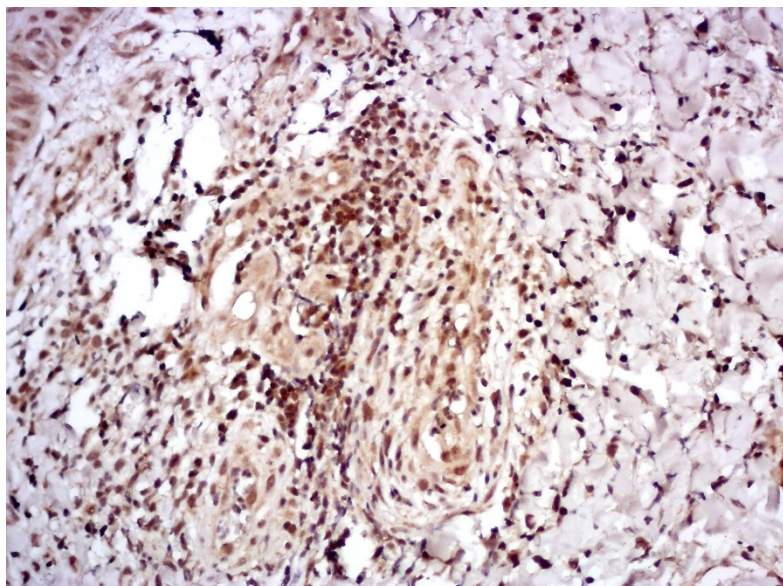


Рис. 4.67. Основна група, 13-та доба. Виражена позитивна експресія судинного ендотеліального фактора росту в дермі, навколо придатків шкіри, різних структурах шкіри. ІГХД до VEGF. Збільшення x200.

При ІГХД експресії судинного ендотеліального фактора росту (VEGF) в ділянках опікової рани в пацієнтів ГП на 13-14-ту добу після травми спостерігалась нерівномірна позитивна експресія та розповсюдження позитивних клітин в полі зору в різних ділянках шкіри (Рис. 4.68).

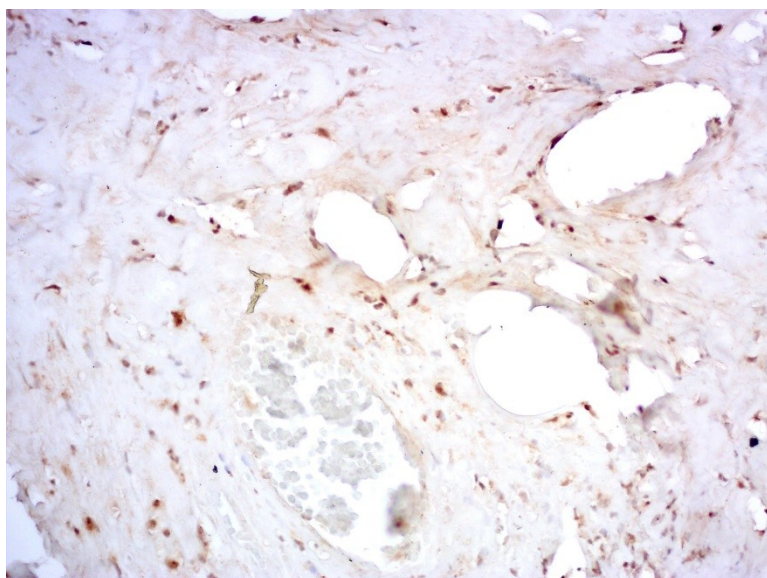


Рис. 4.68. Група порівняння, 13-та доба: Позитивне забарвлення невеликої кількості клітин в дермі. ІГХД до VEGF. Збільшення x200.

При ІГХД із загально-епітеліальним маркером PanCK зразків ділянок опікової рани в пацієнтів ОГ на 13-14-ту добу після травми відмічалась виражена позитивна експресія багат шарового плоского епітелію в зоні регенерації, що

свідчило про епідермізацію: під шаром некротичного детриту з горизонтальним розповсюдженням в різні сторони, у вигляді окремих вогнищ на поверхні дерми; поблизу ділянки ураження епітелій бере свій початок від волосяного фолікула та наростає над дермою у вигляді пласта (Рис. 4.69).

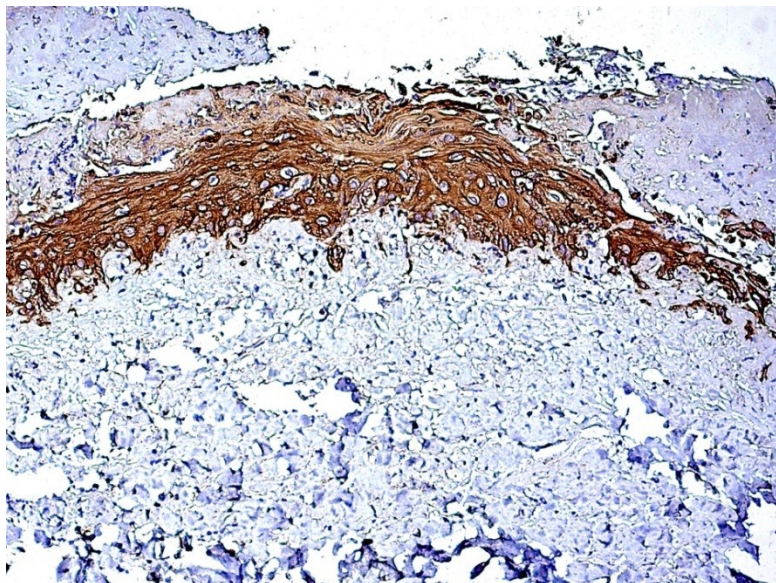


Рис. 4.69. Основна група, 13-та доба. Виражена позитивна експресія епітеліальних клітин: епідермізація ділянки, яка зазнала термічний вплив, в горизонтальному напрямку під шаром некротичного детриту. ІГХД з МКТ до PanCK (AE1/AE3). Збільшення x100.

На окремих ділянках джерелом епідермізації становився епітелій волосяного фолікула, новий епідерміс «наростає» на пошкоджену ділянку (Рис. 4.70).

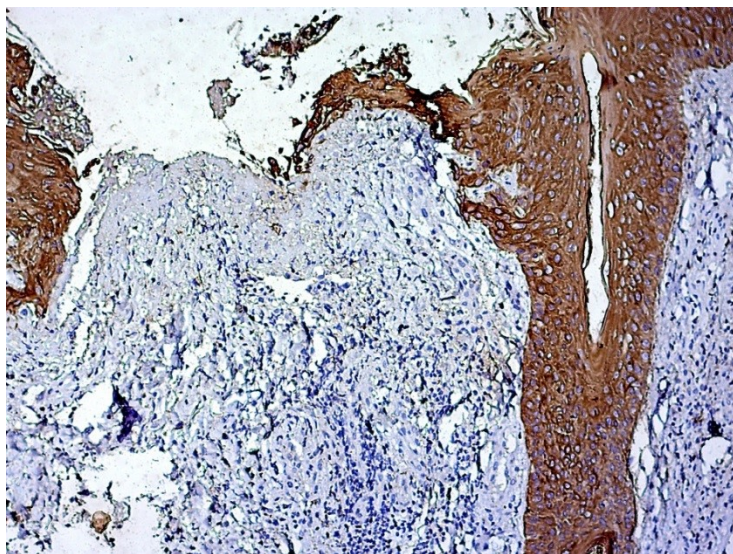


Рис. 4.70. Основна група, 14-та доба: Виражена позитивна експресія епітеліальних клітин в зоні волосяного фолікула, новий епідерміс «наростає» на пошкоджену ділянку. ІГХД з МКА до PanCK (AE1/AE3). Збільшення x100.



В цей же період, на 13-14-ту добу після травми, при ІГХД із загально-епітеліальним маркером PanCK в зразках ділянок опікової рани в пацієнтів ГП відмічалась нерівномірна вогнищева слабо- та помірно виражена позитивна експресія епітеліальних клітин в невеликих ділянках регенеруючого епідермісу, вогнищево в епітелію окремих додатків шкіри (Рис. 4.71).

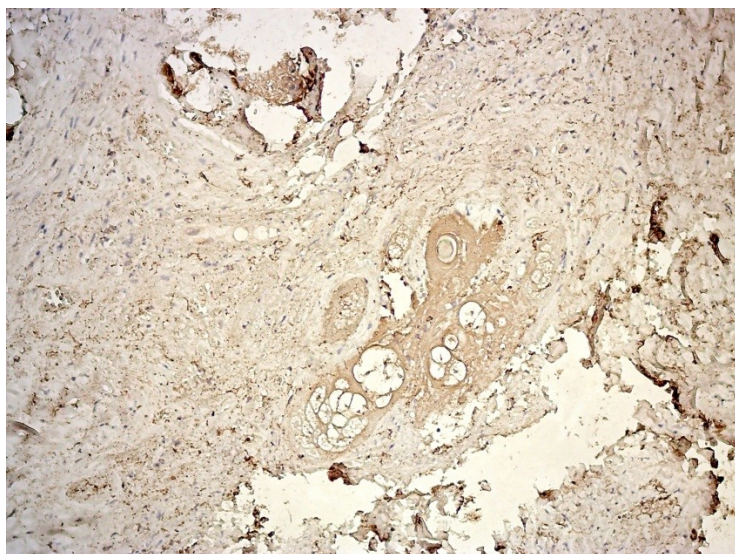


Рис. 4.71. Група порівняння, 13-та доба. Вогнищева слабо позитивна експресія епітеліальних клітин в зоні епідермізації, в додатках шкіри. ІГХД з МКА до PanCK (AE1/AE3). Збільшення x50.

Після проведеного комплексного патоморфологічного дослідження з використанням загальноморфологічних, гістохімічних та імуногістохімічних методів, та аналізу отриманих даних визначено, що в тканинах зони опікового ураження в пацієнтів основної групи та групи порівняння на 2-3-тю добу після дії термічного фактора спостерігались виражені альтеративно-дегенеративні зміни у всіх шарах шкіри та в частині випадків й у підлеглих м'яких тканинах. В епідермісі, в шарах дерми, підлеглих м'яких тканинах відмічались виражені зміни у вигляді коагуляційного некрозу, набряку, ознаки дезорганізації сполучної тканини у вигляді розшарування колагенових волокон, помірно виражені розлади в мікроциркуляторному руслі, явища стазу, сладжу, фібриноїдних змін в судинах та вогнищево фібриноїдного некрозу, набряку стінок, крововиливи.

На 7-8-му добу після опікової травми в тканинах опікової рани в пацієнтів групи порівняння морфологічно спостерігались від виражених до помірно виражених альтеративно-дегенеративні зміни, були наявні ділянки коагуляційного некрозу в епідермісі, в дермі набряк, зони некрозу та дезорганізації колагенових волокон, сполучної тканини, некротичні зміни в придатках шкіри, залишались розлади кровообігу. Вогнищево, на окремих ділянках активувались процеси неоангіогенезу, але вони були невираженими, вогнищево відмічалось розростання молодой сполучної тканини. Регенераторні процеси у вигляді епідермізації в зоні дії патологічного чинника були слабо виражені, в поодиноких клітинах відмічалась позитивна експресія загально-епітеліального маркеру PanCK. В той же період, на сьомий-восьмий день після опіку в пацієнтів основної групи під впливом застосованих схем трансфузійної терапії морфологічно зменшувались альтеративно-дегенеративні процеси у вигляді набряку, зон некрозу частини колагенових волокон, дезорганізації сполучної тканини. Поряд з цим зменшувалась вираженість та розповсюдженість дезорганізації колагенових волокон, спостерігались процеси утворення молодой сполучної тканини (до 45% віментин-позитивних клітин в ОГ порівняно з  $32 \pm 9,0\%$  в ГП). Залишались вогнищеві розлади в мікроциркуляторному руслі. Поряд з цим встановлена активація процесів неоангіогенезу, збільшувалась кількість судин (16,8 CD31-позитивно забарвлених ендотеліальних клітин, 12,4% VEGF-позитивних клітин) порівняно з 15,2 CD31-позитивно забарвлених ендотеліальних клітин, та до 5,0 % VEGF-позитивних клітин в ГП. Відмічалось формування епітеліального шару більше в зоні неоангіогенезу, виражена позитивна експресія епітеліальних клітин в частині придатків шкіри, що також є проявом позитивного впливу застосованих схем лікування на процеси регенерації.

На 13-14-ту добу після опікової травми в зразках тканин зони опікового ураження в пацієнтів групи порівняння морфологічно відмічалось незначне зменшення альтеративно-дегенеративних процесів у всіх шарах шкіри, залишався набряк, ділянки некрозу, дезорганізація сполучної тканини різної ступені вираженості, наявні розлади кровообігу в судинах різного калібру, ознаки

початкових проявів процесів неоангіогенезу вогнищево, розростання сполучної тканин різного ступеня зрілості на різних ділянках, слабо виражена, переважно на невеликих ділянках активація процесів регенерації епідермісу. В той же період, на 13-14-ту добу після опіку в пацієнтів ОГ під впливом застосованих схем трансфузійної терапії при хірургічному лікуванні в ранньому періоді опікової травми морфологічно відмічалось зменшення дегенеративних процесів у всіх шарах шкіри у вигляді набряку, спостерігались дрібні ділянки некрозу, фрагментовано дезорганізація сполучної тканини у вигляді розшарування колагенових волокон, залишались незначні розлади в мікроциркуляторному руслі, виражені процеси неоангіогенезу ( $21,0 \pm 2,3$  CD31-позитивно забарвлених ендотеліальних клітин,  $15,4\%$  VEGF-позитивних клітин порівняно з  $12,1 \pm 0,9$  CD31-позитивно забарвлених ендотеліальних клітин та нерівномірною експресією VEGF-позитивних клітин в ГП), та периваскулярного утворення молоді сполучної тканини, розростання сполучної тканин різного ступеня зрілості в різних шарах шкіри (до  $55\%$  віментин-позитивних клітин порівняно з  $35\%$  в ГП), активувались процеси епідермізації опікової рани, на частині ділянок спостерігалась поява пластів епідермісу, який «наростав» на ушкоджену поверхню. Також було встановлено, що джерелом епідермізації був епітелій волосяного фолікула.

Таким чином, визначено, що застосування запропонованих схем трансфузійної терапії при хірургічному лікуванні в ранньому періоді ОХ забезпечує покращення процесів неоангіогенезу, реепідермізації та реепітелізації в ділянках опікового ураження.

Результати досліджень даного розділу наведено в публікаціях

1. Дядик О.О., Козлова К.С., Линник О.М. Вплив комбінованого амінокислотно-антиоксидантного препарату ендотеліотропної дії на імуногістохімічні показники біоптатів опікових ран. Матеріали міжнародної науково-практичної конференції «Сучасна патоморфологічна діагностика в клінічній практиці лікаря» Вінниця, 10-11 квітня 2019 р. с. 63-65.

## РОЗДІЛ 5 ВПЛИВ ТРАНСФУЗІЙНОЇ ТЕРАПІЇ НА РЕЗУЛЬТАТИ ХІРУРГІЧНОГО ЛІКУВАННЯ РАН У ПАЦІЄНТІВ З ОПІКАМИ

Ранні хірургічні втручання у пацієнтів з опіками починались одразу після проведення протишокової терапії в повному обсязі та виведення із шоку. При цьому при наявності циркулярних опіків кінцівок з вираженими порушеннями місцевого кровообігу і мікроциркуляції, при ризику розвитку компартмент синдрому, при опіках грудної клітки, що ускладнюють дихальні екскурсії, виконувались декомпресійні некротомії в період опікового шоку, на тлі протишокової терапії.

Таблиця 5.1

Розподіл некротомій в пацієнтів основної групи (n=49) та групи порівняння (n=22)

Термін проведення, доба	Основна група								Група порівняння	
	підгрупа 1		підгрупа 2		підгрупа 3		Всього			
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
перша	5	83,33	2	100	7	87,5	14	87,5	7	77,78
друга	1	16,67	0	0	1	12,5	2	12,5	2	22,22
Всього	6	100	2	100	8	100	16	100	9	100

Відомо, що причиною незадовільних результатів лікування пацієнтів з опіками є тривалий розвиток запальної реакції в зоні опікової рани. Розробки останніх років та клінічні спостереження обґрунтували раннє висічення некрозу, що запобігає розгортанню синдрому ендогенної інтоксикації та виникненню пов'язаних з ним ускладнень, клінічно перериває розвиток періоду гострої опікової токсемії. Раннє хірургічне висічення некротичного струпу (до 5-7-ї доби після травми) попереджує розвиток тяжкої ендогенної токсемії, інфекційних ускладнень, сприяє зменшенню летальності та строків стаціонарного лікування [270]. Раннє висічення девіталізованої тканини зменшує місцеві та системні ефекти медіаторів, що вивільняються з обпеченої тканини, таким чином зменшуючи прогресуючі патофізіологічні порушення [103]. Основною метою ранньої некротомії є видалення нежиттєздатної тканини, яка стимулює SIRS, та запобігання інфекції

шляхом тимчасового або постійного закриття опікової рани [21]. Важливим аспектом є запобігання конверсії опікової рани, при якій поверхневі неповношарові опіки, які зберігають здатність до спонтанного загоєння, можуть перетворитися на глибокі повношарові опіки, які потребують висічення. За умови належного комплексного лікування із застосуванням препаратів, які впливають на різні молекулярні механізми, що лежать в основі конверсії опікової рани, можлива мінімізація кількості тканин, що потребують видалення.

Для хірургічного лікування дермальних опіків існує ряд способів видалення некротичного струпу, які розподіляються за часом виконання, глибиною, об'ємом і методом висічення. За часом проведення виділяються ранні, при яких видалення тканин відбувається до розвитку клінічних проявів демаркаційного запалення (до 5-7-ї доби з моменту травми) та етапні, які проводяться, як правило, у пацієнтів з поширеними опіковими ураженнями.

Пацієнтам обох груп проведено 91 хірургічне втручання з метою висічення нежиттєздатних тканин: 62 ранні некректомії, що проведені в терміни до 7-ї доби після опікової травми та 29 етапних некректомій, проведені в більш пізні терміни. Розподіл некректомій за термінами проведення та за підгрупами представлений на Табл. 5.2.

Таблиця 5.2

Розподіл некректомій за термінами проведення в пацієнтів основної групи (n=49) та групи порівняння (n=22)

Висічення	Основна група								Група порівняння		Всього	
	підгрупа 1		підгрупа 2		підгрупа 3		Всього					
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
ранні	19	63,33	10	100	12	75	41	73,21	21	72,41	62	68,1
етапні	11	36,67	0	0	4	25	15	26,79	8	27,59	29	31,9
Всього	30	100	10	100	16	100	56	100	29	100	91	100

В основній групі та групі порівняння ранні некректомії проведені в 73,21% та 72,41% від кількості всіх висічень, що не становило достовірної різниці. В основній групі в підгрупі 1 ранні висічення проведені в 63,33% випадків, а підгрупі



2 ранні висічення складалі 100% некректомій, в підгрупі 3 ранні висічення проведені в 75% випадків. За технікою виконання проводились як тангенційні некректомії, при яких висічення некрозу здійснювалось за допомогою технічних пристроїв (некротомів, дерматомів) пошарово і дозовано, товщиною від 0,1 мм до 2,0 мм, знімався некроз до появи ознак життєздатних тканин, так і блочні некректомії які виконувались загальнохірургічними інструментами при глибоких ураженнях, з висіченням дерми на всю товщину єдиним блоком. Після проведення некректомії виконувався ретельний гемостаз ранової поверхні із застосуванням електрокоагулятора, пов'язок просякнутих розчином адреналіну, прошиванням судин по необхідності.

За об'ємом висічення при поверхневих дермальних опіках проводилось надтонке висічення некротичних тканин із закриттям опікових ран тимчасовими покриттями. При глибоких дермальних опіках проведені радикальні некректомії, після виконання яких не залишалось нежиттєздатних фрагментів тканин. Тимчасове закриття ранового дефекту проводилось ліофілізованими ксенодермотрансплантатами або синтетичними матеріалами на поліуретановій губчастій основі та покриттями на гідрогелевій основі. Проведення остаточного закриття ран відбувалось шляхом відстроченої аутодермопластики при формуванні гранулюючої поверхні рани.

Частина ран одночасно після висічення закривалася аутодермотрансплантатами. В основній групі виконано 8 висічень з одномоментним закриттям власною шкірою, що склало 14,29% від загальної кількості проведених некректомій в цій групі: 2 в підгрупі 1, 2 в підгрупі 2 та 4 в підгрупі 3. В групі порівняння виконано 2 висічення з одномоментною аутодермопластикою, що склало 6,9% від проведених некректомій в ГП (табл.5.5). В решті випадків ранові поверхні після висічення закривались тимчасовими синтетичними покриттями чи біологічними (ксенодермоімплантатами). Середня кількість некректомій (ранніх та етапних) в пацієнтів основної групи складала 1,14 на 1 пацієнта, а в групі порівняння 1,32.

Таблиця 5.3

Терміни та площі висічення при проведенні ранніх некректомій в пацієнтів основної групи (n=49) та групи порівняння (n=22), M±m

Показники	Основна група				Група порівняння
	підгрупа 1	підгрупа 2	підгрупа 3	Всього	
термін висічення, доба	3,84±1,6	3,0±1,56	3,67±1,37	3,59±1,53	3,62±1,75
площа висічення, % П.Т.	5,95±2,01	5,25±2,94	6,17±3,55	5,84±2,71	8,07±3,98

Ранні некректомії проводились після адекватної ресуситації. Середній термін проведення ранніх некректомій в основній групі складав 3,59±1,53 доби після опікової травми, середня площа висічення 5,84 ±2,71% поверхні тіла (Табл. 5.3) В групі порівняння рання некректомія проводилась на 3,62±1,75 добу після травми, середня площа висічення – 8,07±3,98% поверхні тіла.

Для об'єктивної оцінки ефективності комбінованого лікування із застосуванням препаратів ендотеліотропної, антипротеолітичної та антиоксидантної дії виконувалось цитологічне дослідження ранових відбитків з визначенням кількості НГ, макрофагів та лімфоцитів в полі зору (табл. 5.4).

Таблиця 5.4

Показники клітинного складу ранових відбитків в пацієнтів основної групи, n=23, M±m, %

Показники клітинного складу відбитків з рани, %	Доба після опікової травми		
	2-3	7-8	13-14
Нейтрофільні гранулоцити	92,71±3,08	83,77±3,17 p<0,0001*	69,00±20,54 p=0,00534* p=0,0404**
Макрофаги	1,43±0,79	2,82±1,47 p=0,02371*	4,00±1,93 p=0,00993**
Лімфоцити	5,41±2,43	11,08±2,53 p<0,0001*	14,88±2,95 p=0,0006* p=0,00025**

Примітка: \*-відносно вихідних показників на 2-3-тю добу;  
\*\*-відносно показників на 7-8-му добу;

При дослідженні клітинного складу ранових відбитків на 2-3-тю добу після опіку, до проведення ранніх некректомій, встановлено переважання НГ, які склали 92,71±3,08%, лімфоцити становили 5,41±2,43%. В подальшому, на 7-8-му добу, після проведення ранніх некректомій, рівень НГ достовірно зменшився до 83,77±3,17%, а на 13-14-ту добу до 69,00±20,54% відносно вихідних показників ( $p < 0,05$ ). В той же час вміст макрофагів почав збільшуватись в 1,97 раза на 7-8-му добу і в 2,8 раза на 13-14-ту добу відносно вихідних значень ( $p < 0,05$ ). Збільшення в рані макрофагів розцінюється як сприятливе явище. Вміст лімфоцитів в ранових відбитках також мав достовірне підвищення з вихідних 5,41±2,43% до 11,08±2,53% на 7-8-му добу та до 14,88±2,95% на 13-14-ту добу, що відповідно перевищувало вихідні значення в 2,05 раза та в 2,75 раза ( $p < 0,05$ ). Підвищення вмісту в опіковій рані моноцитів/макрофагів та лімфоцитів є прогностично позитивним явищем і свідчить про активацію процесів репаративної регенерації у пацієнтів даної групи.

При проведенні комплексного патоморфологічного дослідження ділянок опікових ран (більш детально викладено в розділі 4) визначено, що в пацієнтів ОГ на 7-8-му добу зменшувався ступінь дезорганізації колагенових волокон, спостерігались виражені процеси утворення сполучної тканини (зростання віментин-позитивних клітин з 10% на 2-3-тю добу до 45% на 7-8-му добу з подальшим зростанням до 75% на 23-24-ту добу). На 7-8-му та 13-14-ту добу після опікової травми в ділянках опікових ран встановлена активація процесів неангіогенезу, збільшувалась кількість судин, що визначалось імуногістохімічно за змінами показниками рівнів CD-31-забарвлених ендотеліальних клітин (16,0-16,8 в полі зору на 7-8-му добу та до 21 в полі зору на 13-14-ту добу) та VEGF-позитивних клітин (12,4% на 7-8 му добу та 15,4 на 13-14-ту добу). Розвиток процесів неангіогенезу та ендотелізації в пацієнтів ОГ сприяв підготовці ран до проведення аутодермопластики та створював сприятливі умови для приживлення пересаженої аутошкіри.

З метою остаточного закриття ранових поверхонь пацієнтам обох груп виконані хірургічні втручання – аутодермопластика. Для зменшення обсягів донорської ділянки з метою покриття рани мінімальною кількістю необхідної

тканини виконувалась перфорація аутотрансплантата у відношеннях від 1:2 для невеликих опіків до 1:3 або в деяких випадках 1:4 для великих опіків TBSA.

Таблиця 5.5

Розподіл аутодермопластик (АДП) в пацієнтів основної групи (n=49) та групи порівняння (n=22)

АДП	Основна група								Група порівняння		Всього	
	підгрупа 1		підгрупа 2		підгрупа 3		Всього					
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Одномоментні	2	4,76	2	10	4	14,29	8	8,89	2	3,64	10	6,9
Етапні	40	95,24	18	90	24	85,71	82	91,11	53	96,36	135	93,1
Всього	42	100	20	100	28	100	90	100	55	100	145	100

При порівнянні термінів проведення перших аутодермопластик, встановлено, що в основній групі перше хірургічне втручання з приводу АДП проводилось в середньому на 12,85 добу після травми (в підгрупі 1 на 12,35 добу, в підгрупі 2 на 13,64 добу, в підгрупі 3 на 12,85), а в групі порівняння на 17-ту добу (табл. 5.6). Терміни повного закриття ранових поверхонь в пацієнтів основної групи становили  $24,42 \pm 2,79$  доби, що було в 1,42 рази достовірно менше ( $p < 0,05$ ) за відповідні терміни в групі порівняння, які склали  $34,79 \pm 4,26$  доби.

Таблиця 5.6

Терміни та площі закриття при виконанні аутодермопластики (АДП) в пацієнтів основної групи (n=49) та групи порівняння (n=22),  $M \pm m$

Показники	Основна група				Група порівняння
	підгрупа 1 (n=21)	підгрупа 2 (n=12)	підгрупа 3 (n=14)	Всього	
термін проведення першої АДП, доба	$12,35 \pm 1,64^*$	$13,64 \pm 4,45^*$	$12,85 \pm 2,14^*$	$12,85 \pm 1,49^*$	$17,0 \pm 2,10$
площа закриття, % п.т.	$3,62 \pm 1,43$	$3,06 \pm 1,37$	$3,61 \pm 1,71$	$3,48 \pm 1,52$	$4,08 \pm 2,06$
терміни повного закриття ран, доба	$27,75 \pm 5,04$	$22,1 \pm 6,92$	$22,65 \pm 3,52$ $p=0,035^{**}$	$24,42 \pm 2,79$ $p=0,0436^{**}$	$34,79 \pm 4,26$

Примітка: \*-стандартна похибка середньої

\*\* -достовірно відносно групи порівняння ( $p < 0,05$ )

Таким чином, застосування в ранньому періоді опікової хвороби препаратів ендотеліотропної, антипротеолітичної та антиоксидантної дії в комплексному лікуванні пацієнтів з опіками в основній групі дозволило створити умови розвитку ранового процесу, які забезпечили можливість проведення першої аутодермопластики в більш ранні терміни (на 12,85-ту добу порівняно з 17-ю добою в ОП), та зменшити терміни повного остаточного закриття ранових поверхонь до  $24,42 \pm 2,79$  доби, що в 1,42 рази менше відносно пацієнтів групи порівняння, для якої даний показник складав  $34,79 \pm 4,26$  доби ( $p < 0,05$ ). Слід зазначити, що при визначенні середніх показників термінів повного закриття ранових поверхонь не враховувались дані пацієнтів, що померли (2 в ОП та 1 в ОП).

В структурі ускладнень пацієнтів обох груп вирізняли місцеві ускладнення, до яких відносились неприживлення аутодермотрансплантата, вторинний лізис аутошкіри, епідермоліз донорської рани, реактивний артрит та контрактури, та загальні системні інфекційні ускладнення, до яких відносились ураження органів і систем у вигляді токсичного міокардиту, перикардиту, пневмонії, ексудативного плевриту, токсичного гепатиту, поліорганної недостатності і сепсису (табл. 5.7).

Ускладнення (як місцеві, так і системні інфекційні) розвинулись у 15 пацієнтів (31,91%) основної групи: у 7-ми пацієнтів підгрупи 1 (33,3%), у 3-х пацієнтів підгрупи 2 (25%), та у 4-х пацієнтів підгрупи 3 (28,57%). В групі порівняння ускладнення розвинулись у 10 пацієнтів, що становило 47,62%.

Таблиця 5.7

Кількість ускладнень (абсолютні та відносні показники) у пацієнтів основної групи (n=47) та групи порівняння (n=21)

Показники	Основна група								Група порівняння (n=21*)	
	підгрупа 1 (n=21*)		підгрупа 2 (n=12)		підгрупа 3 (n=14)		Всього (n=47*)		абс.	на 1 пац.
	абс.	на 1 пац.	абс.	на 1 пац.	абс.	на 1 пац.	абс.	на 1 пац.		
Місцеві ускладнення	5	0,24	5	0,42	3	0,21	13	0,28	6	0,29
Загальні інфекційно-запальні ускладнення	3	0,14	2	0,17	2	0,14	7	0,15	11	0,52
Всього	8	0,38	7	0,58	5	0,36	20	0,42	17	0,81

Примітка: \*-без урахування летальних випадків

Як видно з наведених даних, середній показник кількості ускладнень на пацієнта в основній групі складав 0,42 випадка (0,38 в підгрупі 1, 0,58 в підгрупі 2 та 0,36 в підгрупі 3), а в групі порівняння 0,81 випадка, що в 1,93 раза перевищувало даний показник ОГ.

Проведений аналіз кількості виконаних хірургічних втручань, проведених з метою висічення нежиттєздатних тканин та відновлення шкірного покриву в пацієнтів обох груп, дані представлені в таблиці 5.8.

Таблиця 5.8

Кількість хірургічних втручань у пацієнтів основної групи (n=49) та групи порівняння (n=22) з урахуванням даних померлих пацієнтів\* та без\*\*

Операції	Основна група								Група порівняння (n=22*/21**)	
	підгрупа 1 (n=23*/21**)		підгрупа 2 (n=12)		підгрупа 3 (n=14)		Всього (n=49*/47**)		абс.	сер.
	абс.	сер.	абс.	сер.	абс.	сер.	абс.	сер.		
Некректомії	30/24	1,30/1,14	10	0,83	16	1,14	56/50	1,14/1,06	29/29	1,32/1,38
АДП	42/35	1,83/1,67	20	1,67	28	1,71	90/83	1,84/1,77	55/53	2,5/2,52
Всього	72/59	3,13/2,81	30	2,5	44	3,14	146/133	2,98/2,83	84/82	3,82/3,9

Проведений аналіз хірургічного лікування пацієнтів обох груп свідчив, що кількість некректомій склала  $1,14 \pm 0,91$  у пацієнтів основної групи і  $1,32 \pm 1,02$  у пацієнтів групи порівняння. Відповідно, кількість аутодермопластик –  $1,84$  у пацієнтів основної групи та  $2,5$  групи порівняння. Дані показники свідчать про те, що в пацієнтів основної групи застосування запропонованих схем трансфузійної терапії в ранньому періоді ОХ призвело до зменшення площі конверсії опікових ран, покращення умов репаративної регенерації, що відображено як в зменшенні обсягів закриття ран на  $14,7\%$  ( $3,48 \pm 1,52\%$  п.т. в ОГ порівняно з  $4,08 \pm 2,06\%$  п.т. в ГП, таблиця 5.5), так і в зменшенні загальної кількості хірургічних втручань ( $2,98$  в ОГ та  $3,82$  в ГП).

Таблиця 5.9

Тривалість перебування в стаціонарі (ТПС) пацієнтів основної групи (n=49) та групи порівняння (n=22)

Показник, Доба	Основна група				Група порівняння
	підгрупа 1 (n=23)	підгрупа 2 (n=12)	підгрупа 3 (n=14)	Всього	
ТПС	$45,13 \pm 6,96$ p=0,036**	$38,83 \pm 5,36^*$ p=0,002**	$41,50 \pm 4,64^*$ p=0,0027**	$42,55 \pm 4,64^*$ p=0,003**	$63,73 \pm 5,4^*$

Примітка: \*- стандартна похибка середньої

\*\* - порівняно з групою порівняння

При порівнянні термінів перебування в стаціонарі встановлена достовірна різниця між показниками основної групи та її підгруп та даними групи порівняння. В групі порівняння середній термін перебування пацієнта в стаціонарі становив  $63,73$  доби, в той час як в основній групі даний показник був в  $1,5$  рази меншим і становив  $42,55$  доби (табл. 5.9).

При проведенні аналізу термінів перебування пацієнтів в стаціонарі встановлені наступні кореляційні зв'язки, представлені в таблиці 5.10.



Таблиця 5.10

Результати кореляційного аналізу показників загальної площі опікового ураження (TBSA), площі глибоких опіків (DBSA), індексу тяжкості ураження (ІТУ) та терміну перебування в стаціонарі (ТПС) пацієнтів основної групи та групи порівняння, r

	Основна група				Група порівняння			
	TBSA	DBSA	ІТУ	ТПС	TBSA	DBSA	ІТУ	ТПС
TBSA	1,000000	0,568096 *	0,514680 *	0,333149 *	1,000000	0,751566 *	0,791586 *	0,346891
DBS А	0,568096 *	1,000000	0,688254 *	0,792815 *	0,751566 *	1,000000	0,867077 *	0,507040 *
ІТУ	0,514680 *	0,688254 *	1,000000	0,690621 *	0,791586 *	0,867077 *	1,000000	0,501420 *
ТПС	0,333149 *	0,792815 *	0,690621 *	1,000000	0,346891	0,507040 *	0,501420 *	1,000000

Примітка: \*-достовірність даних при  $p < 0,05$

Встановлено, що існує прямий кореляційний зв'язок між ІТУ та площею глибоких опіків: середньої сили ( $r=0,688$ ,  $p < 0,05$ ) в ОГ та сильний ( $r=0,867$ ,  $p < 0,05$ ) в ГП. Термін перебування в стаціонарі має прямий сильний кореляційний зв'язок з площею глибоких опіків ( $r=0,793$ ,  $p < 0,05$ ) в ОГ та прямий зв'язок середньої сили в ГП ( $r=0,507$ ,  $p < 0,05$ ). Також термін перебування в стаціонарі має прямий кореляційний зв'язок середньої сили з ІТУ як в ОГ, так і в ГП (відповідно,  $r=0,691$ ,  $r=0,501$ ,  $p < 0,05$ ). Таким чином, тривалість перебування пацієнта в стаціонарі має пряму залежність від таких показників як площа глибоких опіків та ІТУ.

Застосування запропонованих схем трансфузійної терапії для забезпечення оптимізації розвитку ранового процесу при ранньому хірургічному лікуванні в гострому періоді опікової хвороби призвело до обмеження прогресування глибини опіку, мінімізації площі тканин, що потребує видалення, що виражене в зменшенні обсягів проведення некректомій на 27,63% ( $5,84 \pm 2,71\%$  п.т. в ОГ порівняно з  $8,07 \pm 3,98\%$  п.т в ГП). Застосування запропонованих схем трансфузійної терапії призвело до зменшення термінів проведення першої аутодермопластики на 4,15 доби (12,85 доба в ОГ порівняно з 17,0 в ГП), та зменшення середньої площі АДП на 14,7% ( $3,48 \pm 1,52\%$  п.т. в ОГ порівняно з  $4,08 \pm 2,06\%$  п.т в ГП). Терміни повного остаточного закриття ранових поверхонь зменшені на 10,37 доби (до  $24,42 \pm 2,79$

добы в ОГ порівняно з  $34,79 \pm 4,26$  доби в ГП, зменшена середня кількість хірургічних втручань ( $2,98$  в ОГ порівняно з  $3,82$  в ГП), та зменшена середня тривалість перебування пацієнта в стаціонарі на  $33,23\%$  (до  $42,55 \pm 4,64$  доби порівняно з  $63,73 \pm 5,4$  доби в ГП). Таким чином встановлено, що застосування запропонованих схем трансфузійної терапії при хірургічному лікуванні в ранньому періоді опікової хвороби призводить до покращення загальних результатів комплексного лікування постраждалих з опіками.

## РОЗДІЛ 6 АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Опікова травма становить значну медичну і соціальну проблему через свою розповсюдженість внаслідок травматизму, природніх катастроф, воєнних подій і терактів та впливає на життя мільйонів людей у всьому світі. Несмертельні опіки призводять до фізичних і психологічних наслідків, впливаючи на психічне здоров'я, якість життя, здатність повернутися до роботи.

Важка опікова травма призводить як до місцевих, так і до загальних порушень, основними механізмами розвитку яких є теплове пошкодження тканин, запальна реакція, ендотеліальна дисфункція, оксидативний стрес, гіперметаболічний стан, порушення регенерації тканин, водно-електролітні порушення, розвиток інфекції. Системне запалення має вирішальне значення для загоєння ран, оскільки постачає фактори росту, цитокіни та хемокіни, необхідні для залучення імунних клітин, головним чином нейтрофільних гранулоцитів, моноцитів і макрофагів, до місця опікової травми. Добре організована імунна відповідь має важливе значення для належного процесу загоєння, в той час як тривала та нерегульована імунна реакція може негативно вплинути на закриття рани та відновлення тканин через пошкодження тканин протеазами та кисневими радикалами, що вивільняються клітинами вродженого імунітету, а також ішемією внаслідок вазоспазму та гіперкоагуляції, спричинених ендотеліальною дисфункцією [51, 52]. Великий за площею та глибиною опік може проявлятися хронічним стійким запаленням із продукцією надмірної кількості прозапальних медіаторів, що пов'язано з синдромом запальної відповіді, сепсисом і поліорганною недостатністю у пацієнтів [53].

Опікова травма призводить до втрати рідини через пошкоджені тканини, що потребує адекватної інфузійної ресуститації, спрямованої на підтримку перфузії органів і тканин пацієнтів з опіками. Без проведення реанімаційних заходів опіки понад 15–20% поверхні тіла можуть призвести до гіповолемічного шоку, дисфункції органів і зрештою до смерті потерпілого [10, 11]. Сучасна клінічна допомога при ресуститації складається з визначення ступеня опікової травми,

визначення обсягу, швидкості та компонентності введення препаратів та дотримання відповідності критеріям якості адекватної ресуспитації.

Існує пряма залежність: чим більша глибина опікового ураження і чим більша площа ураженої поверхні, тим сильніша системна реакція організму на опікове ураження [25]. Тому важливим аспектом запобігання посиленню системної реакції є вплив на зменшення конверсії опікової рани, як шляхом адекватної ресуспитації, так і застосуванням в ранньому періоді опікової хвороби препаратів, що здатні впливати на різні молекулярні механізми, які лежать в основі конверсії опікової рани: ішемію та гіпоксію, запалення, утворення активних форм кисню, протеоліз, апоптоз та ін. [106].

Відомо, що хірургічне лікування опікових ран у вигляді видалення девіталізованих тканин в ранні терміни після опікової травми має обмежуючий ефект на медіатори запалення в системних запальних реакціях, спричинених великими опіками. Час і ступінь видалення некротизованих тканини є фактором, що найбільше впливає на модулювання імунних медіаторів [15]. Поєднання тактики раннього висічення нежиттєздатних тканин з трансфузійною терапією, що направлена на запобігання надмірному запаленню, ендотеліальній дисфункції, надмірному розвитку оксидантного стресу та протеолізу має важливе значення для сприяння кращому загоєнню ран та покращенню загальних результатів лікування пацієнтів з опіками.

В основу роботи покладено визначення можливостей впливу на процеси розвитку ендотеліальної дисфункції, запалення, протеолізу, оксидантного стресу при хірургічному лікуванні в ранньому періоді ОХ. Проведений аналіз результатів лікування 71 пацієнта з опіковими ураженнями площею від 10 до 60% поверхні тіла, віком від 24 до 65 років, які знаходились на лікуванні в КНП «Київська міська клінічна лікарня №2» протягом 2017-2023 рр. Протягом періоду дослідження та впродовж всього терміну перебування в стаціонарі пацієнти отримували адекватну допомогу з залученням всіх необхідних консервативних та хірургічних методів лікування згідно Наказів МОЗ України № 838 від 30.09.2013р. «Про порядок

надання медичної допомоги хворим з опіками» та № 537 від 27.03.2022 «Про організацію надання комбустіологічної допомоги в умовах воєнного стану» [34, 35]. Пацієнтам проводилась протишокова трансфузійна терапія, обсяги і темп інфузії визначались тяжкістю опікової травми, віком та супутньою соматичною патологією. При проведенні протишокової трансфузійної терапії дотримувались наступних правил:

1) темп інфузії та компонентність розчинів визначались часом від моменту ураження;

2) розрахунок об'єму інфузії в першу добу:

$$V \text{ інфузії (мл)} = 2\text{мл} \times \text{маса тіла (кг)} \times \% \text{ TBSA}$$

Компонентність розчинів: в перші 8 годин використовувались лише кристалоїдні, в наступні 16 годин використовувались також колоїдні препарати в обсязі 20% від добового розрахованого обсягу.

Після ресусцитації пацієнтам з опіками проводилось введення підтримуючої внутрішньовенної рідини (MIVF) для компенсації втрати рідини через опікові рани і трансплантати, та втрат через посилений метаболізм. Початковий розрахунок проводився за формулою:

$$\text{MIVF} = (25 \text{ мл} + \% \text{ TBSA}) \times \text{площа поверхні тіла (м}^2\text{)} + (1500 \text{ мл} \times \text{площа поверхні тіла (м}^2\text{)}) / 24 \text{ год.}$$

Скорочення обсягу трансфузійної терапії проводилось під контролем водного балансу, темпу діурезу, центрального венозного тиску, температури тіла, сатурації центральної венозної крові.

Всі пацієнти були розподілені на дві групи – основну та групу порівняння. Основну групу склали 49 пацієнтів з термічними опіками, яким в схемах трансфузійної терапії та хірургічного лікування застосовувались препарати ендотеліотропної, антипротеолітичної та антиоксидантної дії. Групу порівняння склали 22 пацієнта з термічними опіками яким проводилась стандартна загальноприйнята схема інфузійної терапії та хірургічного лікування без додаткових препаратів.

В залежності від використовуваного препарату в схемах трансфузійної терапії пацієнти основної групи розподілені на три підгрупи.

Підгрупа 1 – 23 пацієнта з термічними опіками загальною площею понад 10% поверхні тіла, яким в схемі трансфузійної терапії при хірургічному лікуванні застосовувався препарат ендотеліотропної дії – левокарнітин та аргініну гідрохлорид. Застосування препарату, що містив 2,0 г левокарнітину та 4,2 г L-аргініну гідрохлориду в 100 мл, починалось з 2-3-ї доби з моменту опікової травми, протягом 5 днів, внутрішньовенно краплинно, зі швидкістю до 30 крапель на хвилину, в обсязі 100 мл 1 раз на добу.

Підгрупа 2 – 12 пацієнтів з термічними опіками загальною площею понад 10% поверхні тіла, яким в схемі трансфузійної терапії при хірургічному лікуванні застосовувався препарат інгібітора протеїназ – улінастатин. Введення препарату проводилось з 2-3-ї доби з моменту опікової травми двічі на добу (один раз на 12 годин) протягом 5 діб. Вміст флакону 4мл, що містить 100000 МО улінастатину, відновлювали у 100 мл 0,9% розчину натрію хлориду і вводили внутрішньовенно краплинно протягом 1 години.

Підгрупа 3 – 14 пацієнтів з термічними опіками загальною площею понад 10% поверхні тіла, яким в схемі трансфузійної терапії при хірургічному лікуванні застосовувався препарат антиоксидантної дії – етилметилгідроксипіридину сукцинат з 2-3-ї доби з моменту опікової травми двічі на добу (один раз на 12 годин) протягом 5 діб. Вміст флакону 5 мл, що містить 250 мг діючої речовини, розводили у 200 мл 0,9% розчину натрію хлориду і вводили внутрішньовенно краплинно зі швидкістю 40-60 крапель за хвилину.

В підгрупі 1 основної групи було 19 чоловіків і 4 жінки, в підгрупі 2 було 11 чоловіків і 1 жінка, в підгрупі 3 було 14 чоловіків, в групі порівняння було 17 чоловіків і 5 жінок. Середній вік пацієнтів підгрупи 1 складав  $46,57 \pm 9,6$  років, підгрупи 2 –  $39,75 \pm 10,49$  років, підгрупи 3 –  $44,21 \pm 12,23$  років, групи порівняння –  $47,77 \pm 7,78$  років. Переважаючим чинником отримання термічних уражень в пацієнтів обох груп було полум'я (83,67% випадків в ОГ та 95,7% в ГП). Більшість

пацієнтів як ОГ (57,14%), так і ГП (68,2%), була доставлена до спеціалізованого відділення протягом перших двох годин з моменту отримання опікової травми.

Для визначення тяжкості опікової травми визначали індекс тяжкості ураження (ІТУ), що враховує глибину та площу ураження, вік пацієнта та наявність опіку дихальних шляхів. В даному дослідженні середній ІТУ складав для підгрупи 1 – 43,36 од, для підгрупи 2 – 31 од, для підгрупи 3 – 48,79 од, для групи порівняння – 43,36 од.

У пацієнтів основної групи середня загальна площа опікового ураження складала  $27,26 \pm 13,9\%$  (глибокі опіки  $7,45 \pm 5,16\%$ ): в підгрупі 1 середня загальна площа опікового ураження складала  $26,57 \pm 12,53\%$  (глибокі опіки  $6,67 \pm 5,70\%$ ), в підгрупі 2 загальна площа опікового ураження складала в середньому  $18,5 \pm 6,57\%$  (глибокі опіки  $5,125 \pm 4,6\%$ ), в підгрупі 3 загальна площа опікового ураження складала  $35,93 \pm 16,16\%$  (глибокі опіки  $7,54 \pm 5,75\%$ ). В пацієнтів групи порівняння загальна середня площа опікового ураження складала  $22,67 \pm 10,06\%$  (глибокі опіки  $9,59 \pm 7,25\%$ ).

Ранні хірургічні втручання у пацієнтів з опіками починались одразу після гемодинамічної стабілізації пацієнта та виведення із шоку. При цьому при наявності циркулярних опіків кінцівок, які спричиняють грубі порушення місцевого кровообігу і мікроциркуляції, чи опіків грудної клітки, що ускладнюють дихальні екскурсії, виконувались декомпресійні некротомії в період опікового шоку, на тлі протишокової терапії. Ранні некротомії повношарових та неповношарових опіків відбувались протягом перших днів після опікової травми (до 5-7-ї доби). Мінімально адаптивний рівень загального білка, при якому хворим можливе було проведення великого висічення, дорівнював 55-60 г/л. Хірургічні втручання пацієнтам проводили з урахуванням вмісту гемоглобіну на менше 80 г/л, операційну крововтрату заміщали переливанням відмитого еритроцитарного завису, обсяг трансфузії звичайно складав 3-5 мл/кг маси тіла хворого. Для ефективності трансфузійної терапії в динаміці контролювались наступні показники: вміст гемоглобіну, еритроцитів, величина гематокриту, погодинний і добовий діурез, АТ і ЦВТ, ЧСС.



Пацієнтам обох груп проведено 91 хірургічне втручання з метою висічення нежиттєздатних тканин: в основній групі 41 рання некректомія та 15 етапних, в групі порівняння 21 рання і 8 етапних некректомій. В основній групі та групі порівняння ранні некректомії проведені в 73,21% та 72,41% від кількості всіх висічень відповідно. За технікою виконання проводились тангенційні некректомії, при яких висічення некрозу виконувалось за допомогою технічних пристроїв (дерматомів) пошарово і дозовано, товщиною від 0,1 мм до 2,0 мм, видаляли некроз до появи ознак життєздатних тканин, та блочні некректомії які виконувались загальнохірургічними інструментами.

Закриття ран проводили розщепленими аутологічними дермотрансплантатами, товщиною 0,2-0,3 мм або одномоментно з некректомією, або після підготовки ранових поверхонь з використанням ранових покриттів (ліофілізованих ксенодермотрансплантатів або синтетичних матеріалів на поліуретановій губчастій основі та покриттів на гідрогелевій основі). В основній групі виконано 8 висічень з одномоментним закриттям власною шкірою, що склало 14,29% від загальної кількості проведених некректомій в цій групі: 2 в підгрупі 1, 2 в підгрупі 2 та 4 в підгрупі 3. В групі порівняння виконано 2 висічення з одномоментною аутодермопластиком, що склало 6,9% від проведених некректомій в ГП.

Результати застосування препаратів ендотеліотропної, антипротеолітичної та антиоксидантної дії досліджували та аналізували за динамікою змін як в периферичній крові, так і в капілярній крові зони термічного ураження, показників ендотеліальної дисфункції, показників про- та протизапальних цитокінів, показників протеолітичної активності та даних фагоцитарної активності клітин в пацієнтів кожної підгрупи основної групи та в пацієнтів групи порівняння. Статистичну обробку отриманих даних проведено за допомогою структурного та порівняльного аналізу з використанням комп'ютерних програм Microsoft Excel та Statistica 64. Визначення нормальності вибірок відбувалося шляхом проведення тесту Шапіро-Вілкса (при  $n < 50$ ). Дані подавалися шляхом обчислення середнього значення та його похибки ( $M \pm m$ ). Результати обробляли з застосуванням методу

варіаційної статистики за критерієм  $t$  Стюдента для вибірок з нормальним розподілом з обчисленням показника довірчої ймовірності  $p$  (параметричний критерій). Для порівняння середніх значень використовували  $t$ -тест для двох залежних середніх, для порівняння середніх значень двох незалежних вибірок використовували  $t$ -тест для двох незалежних середніх значень. Достовірними вважали результати при  $p < 0,05$ . Для оцінки взаємозв'язку між досліджуваними показниками використовувався метод лінійної кореляції з використанням коефіцієнта кореляції Пірсона.

Для оцінки ендотеліальної дисфункції проводили визначення динаміки змін таких показників як ендотелін-1 (ЕТ-1), гомоцистеїн (ГЦ), оксид азоту (за рівнем його кінцевих показників) та S-нітрозотіолів. ЕТ-1 є одним з пептидів, що має найбільшу вазоконстрикторну дію і також визнаний прозапальним цитокином [65, 66]. Гомоцистеїн є одним із основних маркерів ендотеліальної дисфункції, він перешкоджає виробленню NO та опосередковує втрату критичних ендотеліальних антиоксидантних систем і підвищує внутрішньоклітинну концентрацію активних форм кисню (АФК), що спричиняє окислювальний стрес [69-71]. S-нітрозотіоли являють собою основну форму зберігання та транспортування NO в судинній системі. Запас NO, утворений S-нітрозотіолами, є біодоступним для ініціювання вазорелаксації [214-216]. В ендотеліальних клітинах оксид азоту необхідний для судинного гомеостазу, і зменшення біодоступності NO в результаті зниження його продукції та/або збільшення розпаду NO супероксидним аніоном означає початок ендотеліальної дисфункції [201]. NO також виконує життєво важливу роль у виживанні клітин шляхом поглинання вільних радикалів та інгібування бактеріальної інвазії. Оскільки АФК можуть взаємодіяти та інактивувати NO, судинний окислювальний стрес може призвести до зниження біодоступності NO.

Встановлено, що на 2-3-тю добу після опікової травми в пацієнтів основної групи та групи порівняння відбувалось підвищення рівня ендотеліну-1 в капілярній крові рани та в периферичній крові, причому рівні ЕТ-1 в крові опікової рани перевищували рівні ЕТ-1 у периферичній крові, що свідчило про переважання локальної вазоконстрикції в зоні опікового ураження. При застосуванні

запропонованих схем трансфузійної терапії спостерігалось достовірне зниження ET-1 на 7-8-му добу як у периферичній крові (в підгрупі 1 з вихідних значень  $3,43$  пг/мл до  $2,97 \pm 0,56$  пг/мл), так і в капілярній крові опікової рани (з вихідних значень  $5,17 \pm 0,22$  до  $4,51 \pm 0,23$  пг/мл), в той час як в групі порівняння рівень ET-1 в периферичній крові на 7-8-му добу достовірно зріс відносно вихідного рівня в  $1,57$  раза до  $5,09 \pm 0,36$  пг/мл, а в капілярній крові рани мав тенденцію до підвищення і становив  $7,9 \pm 0,11$ , перевищуючи показники підгрупи 1 ОГ в  $1,75$  раза. В подальшому, на 13-14-ту добу рівні ET-1 в ОГ продовжували тенденцію до зниження, а в групі порівняння рівні ET-1 хоч і мали тенденцію до зниження відносно показників на 7-8-му добу, проте були достовірно вищими за відповідні показники ET-1 в периферичній крові та капілярній крові рани пацієнтів основної групи. Зниження рівнів даного вазоконстрикторного та прозапального пептиду при застосуванні розроблених схем трансфузійної терапії сприяло зменшенню ішемічних проявів в ділянці опікової рани, корекції ендотеліальної дисфункції, що в подальшому мало позитивний вплив на перебіг ранового процесу та репаративної регенерації.

Встановлено, що на 2-3-тю добу після опікової травми в пацієнтів ОГ та ГП відбувалось підвищення рівнів гомоцистеїну в периферичній крові та капілярній крові зони термічного ураження, що свідчило про розвиток ендотеліальної дисфункції. На 7-8-му та на 13-14-ту добу після травми в пацієнтів основної групи відмічалось достовірне зниження показників ГЦ в периферичній крові з вихідного рівня  $43,17 \pm 8,10$  мкмоль/л до  $25,12 \pm 6,45$  мкмоль/л на 13-14-ту добу. Відмічене достовірне зниження ГЦ в капілярній крові опікової рани з вихідних значень  $44,36 \pm 4,89$  мкмоль/л до  $22,22 \pm 3,46$  мкмоль/л на 13-14-ту добу, в той час як в групі порівняння рівень ГЦ в капілярній крові опікової рани на 13-14-ту добу становив  $38,2 \pm 2,4$  мкмоль/л, що було достовірно вище в  $1,72$  раза за відповідний показник ОГ. Зменшення рівня гомоцистеїнемії в пацієнтів ОГ в периферичній крові та в капілярній крові опікової рани призводило до зменшення його цитотоксичного впливу на ендотелій та зменшення експресії прозапальних цитокінів, що разом зі зменшенням рівнів ET-1 призводило до покращення здатності ендотелію

регулювати тонус судин, послаблювало прояви судинних ускладнень в зоні термічного ураження, що в подальшому мало позитивний вплив на перебіг ранового процесу.

При вивченні динаміки змін показників NO в капілярній крові рани в пацієнтів основної групи та групи порівняння встановлено, що в обох групах на 2-3-тю добу після опіку показники кінцевих метаболітів NO перевищували референтні показники, але на 7-8-му добу в капілярній крові рани в пацієнтів ГП рівень NO становив  $3,48 \pm 0,2$  мкмоль/л, що було значно нижче як відносно вихідних ( $8,68 \pm 0,08$  мкмоль/л), так і референтних показників ( $4,69 \pm 0,42$  мкмоль/л), що свідчило про зниження біодоступності NO, його інактивацію активними формами кисню, недостатність субстрату для eNOS, що призводило до поглиблення розвитку ендотеліальної дисфункції та переважання вазоспазму в ділянці опікової рани. Застосування схем трансфузійної терапії в хірургічному лікуванні в ранньому періоді опікової хвороби дозволило підтримати вміст NO на рівні  $7,37 \pm 0,38$  мкмоль/л на 7-8-му добу та  $6,28 \pm 0,45$  мкмоль/л на 13-14-ту добу, що було достатньо для достовірного зниження рівнів ET-1 та ГЦ, в периферичній крові та крові зони ураження у пацієнтів з опіками. Механізми реалізації даного ефекту в ОГ відбувались за рахунок використання аргініну як субстрату для продукції NO ендотеліальною NOS, за рахунок антипротеолітичної дії на кальпаїні улінастатину, та завдяки підвищенню рівня супероксиддисмутази, при використанні етилметилгідроксипіридину сукцинату.

При дослідженні рівнів показників S-нітрозотіолів, встановлено, що в пацієнтів ОГ відбувалось достовірне зниження показників з вихідних  $1,83 \pm 0,05$  нмоль/мл до  $1,68 \pm 0,08$  нмоль/мл на 7-8-му добу та до  $1,57 \pm 0,09$  нмоль/мл на 13-14-ту добу після травми в підгрупі 3, в той час як в групі порівняння відмічена тенденція до підвищення рівнів S-нітрозотіолів до  $1,94 \pm 0,23$  нмоль/мл на 7-8-му добу з подальшою тенденцією до зниження до  $1,82 \pm 0,2$  нмоль/мл, проте рівні даного показника в ГП були достовірно вищими за дані в ОГ. Зниження рівнів S-нітрозотіолів в периферичній крові пацієнтів ОГ як відносно вихідних рівнів, так і відносно показників ГП свідчило про значне використання S-нітрозотіолів для

синтезу NO (який в свою чергу нейтралізує гомоцистеїн) у місцях фізіологічної необхідності (в ділянці опікової рани), а також зниження рівнів S-нітрозотіолів зменшувало ризик токсичного ушкодження клітин, що сприятливо впливало на корекцію ендотеліальної дисфункції.

Таким чином, достовірне зниження рівнів ЕД-1 в периферичній крові та капілярній крові опікової рани, достовірне зниження вмісту гомоцистеїну в капілярній крові зони термічного ураження, динаміка змін показників вмісту S-нітрозотіолів та NO свідчило про значну ендотеліотропну дію застосовуваних схем трансфузійного забезпечення хірургічного лікування в ранньому періоді ОХ.

Для оцінки процесів запалення проводили визначення динаміки змін показників таких цитокінів як IL-1, IL-2, IL-6, IL-10 та TNF- $\alpha$  в периферичній крові. IL-1 стимулює нейтрофілію та білки гострої фази, індукує продукцію протеолітичних ферментів, посилює експресію та продукцію прозапальних цитокінів (TNF- $\alpha$ , IL-6, власне IL-1), індукує вироблення АФК [222]. IL-2 є плейотропним цитокіном, який взаємодіючи з іншими цитокінами впливає на розвиток та активацію імунних клітин, і ці взаємодії між ними можуть впливати на загоєння ран. Відомо, що на ранових ділянках IL-2 активує макрофаги та НК і сприяє проліферації В- і Т-лімфоцитів [223] а також сприяє локальному росту ендотеліальних клітин і ангиогенезу, що необхідно для реваскуляризації місця рани [16, 224, 225]. Відомо, що IL-6 впливає на зміну проникності судин, залучення імунних клітин, може індукувати дисфункцію ендотелію, судинну гіпертрофію та фіброз, що потенційно зумовлює розвиток ішемії в зоні термічного ураження. IL-6 чинить прямий вплив на активність та експресію eNOS, а також на збільшення судинного супероксиду, який швидко інактивує NO, тим самим обмежуючи біодоступність NO [221]. IL-10 є плейоморфним цитокіном з різноманітними фенотиповими ефектами, виробляється майже всіма видами активованих імунних клітин, включаючи В-клітини, гранулоцити, макрофаги, дендритні клітини та множинні підгрупи Т-клітин. IL-10 є одним з ключових цитокінів, що стимулюють перехід макрофагів від прозапального фенотипу M1 до протизапального або альтернативно активованого фенотипу M2. TNF- $\alpha$  є одним із прозапальних

цитокінів, та фактором, що активує пероксидацію ліпідів, активізує систему згортання крові, посилює тромбогенну та судинозвужувальну активність, знижує синтез NO, частково відповідає за індукування апоптозу різних клітинних елементів. Відомо, що TNF- $\alpha$  здатний здійснювати складну регуляцію подій, що призводять до запальної відповіді, він викликає вивільнення IL-1 та IL-6, таким чином посилюючи неспецифічну імунну відповідь на опікове ураження.

При дослідженні показників цитокінів в периферичній крові пацієнтів ОГ та ГП було визначене значне підвищення рівнів прозапальних інтерлейкінів IL-1, IL-6 та TNF- $\alpha$  відносно референтних показників, що свідчило про виражену запальну реакцію та індукцію ЕД з розвитком запальної інфільтрації судинної стінки, що потенційно сприяло розвитку ішемії в зоні опіку. Встановлено, що при застосуванні запропонованих схем трансфузійної терапії в пацієнтів основної групи рівні прозапальних цитокінів достовірно знизились відносно вихідних показників. Показники IL-6 достовірно знизились в підгрупі 3 з вихідних  $84,21 \pm 2,55$  мкмоль/мл до  $80,71 \pm 3,60$  мкмоль/мл на 7-8-му добу та до  $76,79 \pm 4,69$  мкмоль/мл на 13-14-ту добу, в той час як в групі порівняння рівень даного цитокіну достовірно зріс з вихідного  $85,30 \pm 13,10$  мкмоль/мл до  $131,0 \pm 11,2$  мкмоль/мл на 7-8-му добу та не мав тенденції до подальшого зниження на 13-14-ту добу. При визначенні рівнів TNF- $\alpha$  в периферичній крові пацієнтів ОГ на прикладі підгрупи 1 та ГП показано, що вихідні рівні даного показника на 3-4-ту після опікової травми в обох групах значно перевищують референтні, але в ОГ відмічається достовірне зниження з вихідного рівня  $260,24 \pm 6,98$  пг/мл до  $255,35 \pm 6,1$  пг/мл на 7-8-му добу та до  $248,88 \pm 8,19$  пг/мл на 13-14-ту добу в той час як в групі порівняння рівень TNF- $\alpha$  достовірно підвищувався на 7-8-му добу до  $281,75 \pm 4,10$  пг/мл, а в подальшому, на 13-14-ту добу хоч і мав тенденцію до зниження, проте був достовірно вищим за показники ОГ. Динаміка змін прозапальних цитокінів свідчить про зменшення вираженості процесів системного запалення в пацієнтів ОГ порівняно з ГП.

В основній групі динаміка плейотропного цитокіну IL-2, а саме збереження його на рівні  $62,4 \pm 8,33$  пг/мл на 13-14-ту добу (на прикладі підгрупи 2), порівняно з  $49,53 \pm 4,15$  пг/мл в групі порівняння, сприяла створенню умов для проліферації

клітин, росту ендотеліальних клітин і ангиогенезу. Також динаміка змін рівнів плейотропних цитокінів IL-2 та IL-10 сприяла покращенню biodоступності NO та зменшенню проявів ендотеліальної дисфункції, що призводило до покращення кровопостачання зони опікової рани, сприяло процесам репаративної регенерації.

Для оцінки стану протеолітичної-антипротеолітичної системи визначались показники кальпаїнів,  $\alpha 1$ -інгібіторів протеаз та  $\alpha 2$ -макроглобулінів в периферичній крові. Кальпаїни – це внутрішньоклітинні кальційзалежні цистеїнові протеази з широким спектром функцій, в т.ч. беруть участь в апоптозі НГ, що призводить до вивільнення протеолітичних молекул із загиблих НГ, таких як протеаза та гідролази, які можуть викликати пошкодження місцевих тканини. Також кальпаїни негативно впливають на синтез NO шляхом зниження рівня eNOS [230]. Основна фізіологічна функція білка гострої фази  $\alpha$ -1ІІІ полягає в інгібуванні нейтрофільних протеаз, що вивільняються при активації та руйнуванні гранулоцитів, а отже в гальмуванні тканинного протеолізу [236]. Альфа-2-макроглобулін є інгібітором протеаз широкого спектру дії, що першим серед них включається у пригнічення надлишкової активності протеїназ. Під час запалення  $\alpha 2$ -МГ захищає від структурних пошкоджень шляхом інгібування протеаз, що вивільняються активованими лейкоцитами [237].

При дослідженні показників протеолізу встановлено, що на 2-3-тю добу після опіку в периферичній крові пацієнтів ОГ та ГП підвищений рівень кальпаїнів та  $\alpha$ -1ІІІ та знижений рівень  $\alpha$ -2МГ відносно референтних показників. На 7-8-му та 13-14-ту добу в пацієнтів групи порівняння визначалась тенденція до підвищення показників кальпаїнів (з вихідного рівня  $59,22 \pm 3,26$  мкЕкв/хв до  $61,51 \pm 5,49$  мкЕкв/хв на 7-8-му добу та  $60,12 \pm 7,17$  мкЕкв/хв на 13-14-ту добу) на фоні динаміки до зниження рівнів інгібіторів протеолізу  $\alpha$ -1ІІІ (з вихідного рівня  $87,7 \pm 7,9$  мкмоль/л до  $72,1 \pm 7,8$  мкмоль/л на 7-8-му добу та  $68,0 \pm 4,9$  мкмоль/л на 13-14-ту добу) та  $\alpha$ -2МГ, що свідчило про декомпенсацію активності системи протеаза-інгібітори протеаз, посилення розвитку процесів запалення, поглиблення ендотеліальної дисфункції у пацієнтів в гострому періоді опікової хвороби, що мало несприятливий вплив на розвиток ранового процесу в пацієнтів ГП. В той же



час в пацієнтів основної групи при застосуванні трансфузійних схем відбувалось достовірне зниження вмісту кальпаїнів (в підгрупі 1 з вихідного рівня  $57,22 \pm 1,86$  мкЕкв/хв до  $37,69 \pm 2,08$  мкЕкв/хв на 7-8-му добу та до  $33,24 \pm 2,42$  мкЕкв/хв на 13-14-ту добу) при підтриманні більш високих рівнів  $\alpha$ -1П ( $79,95 \pm 1,93$  мкмоль/л на 7-8-му добу та  $74,26 \pm 3,05$  мкмоль/л на 13-14-ту добу) та вищих рівнів  $\alpha$ -2МГ (на 13-14-ту добу  $2,63 \pm 0,2$  г/л порівняно з  $2,2 \pm 0,4$  в ГП) відносно показників ГП, що свідчило про покращення збалансованості протеолітичної-антипротеолітичної системи організму, збереження цитопротекторної дії інгібіторів протеаз, послаблення процесів запалення та гальмування розвитку ендотеліальної дисфункції, що сприяло оптимізації розвитку ранового процесу.

Для оцінки стану прооксидантно-антиоксидантної системи у пацієнтів підгрупи 3 визначений вміст первинних продуктів вільнорадикального перекисного окислення – дієнових кон'югатів, вторинних продуктів – ТБК-активних сполук, а також визначений вміст антиоксидантного ферменту – супероксиддисмутази (СОД) в сироватці крові.

Встановлено, що на 2-3-тю добу після опікової травми мав місце дефіцит антиоксидантної системи, що був виражений зниженням рівнів супероксиддисмутази ( $0,15 \pm 0,03$  в пацієнтів підгрупи 3), та відбувався розвиток оксидативного стресу з підвищенням концентрації первинних (до значень дієнових кон'югатів  $4,99 \pm 0,37$  у.о. в підгрупі 3) та вторинних продуктів (до значень ТБК-активних продуктів  $1,54 \pm 0,16$  мкмоль/л в підгрупі 3) перекисного окислення в периферичній крові пацієнтів. При застосуванні запропонованих схем трансфузійної терапії у пацієнтів основної групи на 7-8-му добу та в більшій мірі на 13-14-ту добу після травми відмічалось зниження рівня продуктів ПОЛ (дієнові кон'югати  $4,03 \pm 0,37$  у.о., ТБК-активні продукти  $1,26 \pm 0,08$  мкмоль/мл), та достовірне підвищення СОД з вихідного рівня  $0,15 \pm 0,03$  о.д./мг до  $0,26 \pm 0,04$  о.д./мг на 13-14-ту добу до рівня референтних значень, що свідчило про покращення збалансування прооксидантно-антиоксидантної системи, покращення здатності цієї системи знешкоджувати продукти перекисного окислення, що зменшувало патологічні ефекти, пов'язані з окисним стресом у клітинах і тканинах.

З метою визначення патоморфологічних змін ранового процесу в ділянках термічного ураження при застосуванні запропонованих схем трансфузійної терапії проведено патогістологічне та імуногістохімічне дослідження матеріалів punch-біопсії з опікових ран на 2-3-тю, 7-8-му та 13-14-ту добу після опікової травми. Визначались такі показники як динаміка фактору росту ендотелію судин (VEGF) – сигнального білку, що виробляється клітинами для стимулювання васкулогенезу та ангиогенезу [265]. VEGF є частиною системи, що відповідає за відновлення подачі кисню та відомий як індуктор проліферації та міграції ендотелію [266]. Визначались показники віментин-позитивно забарвлених клітин. Віментин являє собою це білок проміжних філаментів сполучних тканин та інших тканин мезодермального походження, що беруть участь у побудові цитоскелета, у клітинній адгезії, міграції та інвазії, передачі сигналів, диференціації, регуляції клітинної морфології та пластичності [260, 261]. Визначена динаміка змін показника PECAM-1/CD31, що бере участь в ангиогенезі через процеси, які включають стимуляцію рухливості ендотеліальних клітин [263]. В ендотелії PECAM-1 не тільки відіграє роль молекули адгезії, але також бере участь у внутрішньоклітинних сигнальних шляхах, які впливають на різні клітинні адгезивні механізми та експресію та активність ендотеліальної синтази оксиду азоту (eNOS) [264]. При дослідженні особливостей репаративних змін в епітелії було проведено ІГХД з загальноепітеліальним маркером панцитокератином (PanCK, AE1/AE3) [267], що знаходиться у внутрішньоцитоплазматичному цитоскелеті епітеліальної тканини, та відіграє важливу роль у характеристиці клітинної диференціації [268, 269].

Встановлено, що при застосуванні запропонованих схем трансфузійної терапії в пацієнтів основної групи морфологічно зменшувались альтеративно-дегенеративні процеси, зменшувалась вираженість та розповсюдженість дезорганізації колагенових волокон, спостерігались процеси утворення молоді сполучної тканини (до 45% віментин-позитивних клітин порівняно з 32% в ГП). Поряд з цим встановлена активація процесів неоангиогенезу, збільшувалась кількість судин (до 16,8 CD31-позитивно забарвлених ендотеліальних клітин,

12,4% VEGF-позитивних клітин) порівняно з 15,2 CD31-позитивно забарвлених ендотеліальних клітин та до 5,0% VEGF-позитивних клітин в ГП. Відмічалось формування епітеліального шару та виражена позитивна експресія епітеліальних клітин в частині придатків шкіри, що є проявом позитивного впливу застосованих схем лікування на процеси регенерації. На 13-14-ту добу після опікової травми в зразках тканин зони опікового ураження в пацієнтів основної групи під впливом застосованих схем трансфузійної терапії при хірургічному лікуванні в ранньому періоді опікової травми морфологічно відмічалось зменшення дегенеративних процесів у всіх шарах шкіри, виражені процеси неоангіогенезу ( $21,0 \pm 2,3$  CD31-позитивно забарвлених ендотеліальних клітин, 15,4% VEGF-позитивних клітин порівняно з  $12,1 \pm 0,9$  CD31-позитивно забарвлених ендотеліальних клітин та нерівномірною експресією VEGF-позитивних клітин в ГП), та периваскулярного утворення молоді сполучної тканини, розростання сполучної тканин різного ступеня зрілості в різних шарах шкіри (до 55% віментин-позитивних клітин порівняно з 35% в ГП), активувались процеси епідермізації опікової рани, на частині ділянок спостерігалась поява пластів епідермісу, який «наростав» на ушкоджену поверхню. В той час як на 13-14-ту добу після опікової травми в зразках тканин зони опікового ураження в пацієнтів групи порівняння морфологічно відмічалось незначне зменшення альтеративно-дегенеративних процесів у всіх шарах шкіри, залишався набряк, ділянки некрозу, дезорганізація сполучної тканини різного ступеня вираженості, були наявні розлади кровообігу в судинах різного калібру, ознаки початкових проявів процесів неоангіогенезу відмічались вогнищево, розростання сполучної тканин різного ступеня зрілості на різних ділянках, та зазначена слабо виражена, переважно на невеликих ділянках, активація процесів регенерації епідермісу.

Проведений порівняльний аналіз хірургічного лікування пацієнтів обох груп свідчив, що в пацієнтів основної групи застосування запропонованих схем трансфузійної терапії в ранньому періоді ОХ призвело до зменшення площі конверсії опікових ран, покращення умов репаративної регенерації, що відображено як в зменшенні обсягів закриття ран розщепленими

аутодермотрансплантатами ( $3,48 \pm 1,52\%$  в ОГ порівняно з  $4,08 \pm 2,06\%$  в ГП), так і в зменшенні загальної кількості хірургічних втручань (2,98 в ОГ та 3,82 в ГП). Застосування в ранньому періоді опікової хвороби препаратів ендотеліотропної, антиоксидантної та антипротеолітичної дії дозволило створити умови розвитку ранового процесу, які забезпечили можливість проведення першої аутодермопластики в більш ранні терміни (на 12,85-ту добу порівняно з 17-ю добою в ГП), та зменшити терміни повного остаточного закриття ранових поверхонь до  $24,42 \pm 2,79$  доби, що в 1,42 рази менше відносно пацієнтів групи порівняння, для якої даний показник складав  $34,79 \pm 4,26$  доби.

При порівнянні термінів перебування в стаціонарі встановлена достовірна різниця між показниками основної групи та її підгруп і даними групи порівняння. В групі порівняння середній термін перебування пацієнта в стаціонарі становив 63,73 доби, в той час як в основній групі даний показник був в 1,5 рази меншим і становив 42,55 діб.

## ВИСНОВКИ

В дисертаційній роботі проведено клініко-теоретичне обґрунтування і запропоновано нове вирішення актуального завдання, що спрямоване на підвищення ефективності лікування пацієнтів з опіками шляхом розробки та впровадження схем трансфузійної корекції ендотеліальної дисфункції та показників запалення при хірургічному лікуванні опікових ран.

1. Визначені зміни показників ендотеліальної дисфункції, запалення, протеолізу в крові пацієнтів при застосуванні загальноприйнятої схеми трансфузійного лікування в ранньому періоді опікової хвороби, що суттєво впливають на розвиток ранового процесу та строки проведення хірургічного лікування. Розвиток ендотеліальної дисфункції підтверджений підвищеним рівнем гомоцистеїну та ендотеліну-1 та зниженням рівня NO в капілярній крові рани, особливо на 7-8му добу після опіку. Визначено підвищення рівнів прозапальних цитокінів IL-6, TNF- $\alpha$ , зниження відносно вихідного рівня імуностимулюючого фактору, такого як IL-2, підвищення секреції імносупресивного фактору, такого як IL-10. Відмічений підвищений рівень протеаз – кальпаїнів – протягом всього періоду дослідження на фоні зниження антипротеолітичних факторів  $\alpha$ 1-III та  $\alpha$ 2-MG.

2. Обґрунтовано та розроблено схеми трансфузійної терапії з використанням препаратів левокарнітину та аргініну гідрохлориду, улінастатину та етилметилгідроксипіридину сукцинату, направлених на корекцію ендотеліальної дисфункції, системного запалення, оксидантного стресу та нормалізацію протеолітичної активності в крові при ранньому хірургічному лікуванні опікових ран.

3. Визначено, що застосування розроблених схем трансфузійної терапії у пацієнтів в ранньому періоді опікової хвороби сприяло достовірному зменшенню показників вазоконстрикторного фактору ендотеліну-1 в крові, достовірному зниженню рівнів гомоцистеїну, особливо в капілярній крові опікової рани (в підгрупі 1 з вихідного рівня  $44,36 \pm 4,89$  мкмоль/л до  $22,22 \pm 3,46$  мкмоль/л на 13-14-

ту добу,  $p < 0,05$ ), що свідчило про зменшення цитотоксичного впливу на ендотелій. Застосування розроблених схем трансфузійної терапії дозволило підтримати рівень NO на 7-8-му добу не нижче за  $6,73 \pm 0,48$  мкмоль/л порівняно з  $3,48 \pm 0,2$  мкмоль/л в групі порівняння ( $p < 0,05$ ) як за рахунок надання субстрату NO, так і через використання S-нітрозотіолів для синтезу NO (наприклад, в підгрупі 3 достовірно зниження рівня S-нітрозотіолів з вихідних  $1,83 \pm 0,05$  нмоль/мл до  $1,68 \pm 0,08$  нмоль/мл на 7-8-му добу ( $p < 0,05$ ) порівняно з підвищенням до  $1,94 \pm 0,23$  нмоль/мл в групі порівняння). Встановлене достовірно зниження рівнів прозапальних цитокінів в пацієнтів основної групи: в найбільшій мірі показник TNF- $\alpha$  в підгрупі 3 зменшився до  $245,29 \pm 4,69$  пг/мл ( $p < 0,05$ ), в той час як в групі порівняння зріс до  $281,75 \pm 4,10$  пг/мл, показник IL-6 на 13-14-ту добу в підгрупі 3 становив  $76,79 \pm 4,69$  пг/мл порівняно з  $131,2 \pm 9,25$  пг/мл в групі порівняння ( $p < 0,05$ ). Динаміка змін рівнів прозапальних цитокінів свідчила про зменшення вираженості процесів системного запалення.

4. Встановлене зниження показників протеолізу та покращення збалансованості протеолітичної-антипротеолітичної системи організму за рахунок зменшення рівнів кальпаїнів в крові (в пацієнтів підгрупи 1 з вихідного рівня  $57,22 \pm 1,86$  мкЕкв/хв до  $33,24 \pm 2,42$  мкЕкв/хв на 13-14-ту добу, що було у 1,81 раза нижчим за показники групи порівняння,  $p < 0,05$ ) та підтримання більш високих рівнів  $\alpha$ -1ІІ та  $\alpha$ -2МГ (на 13-14-ту добу  $2,63 \pm 0,2$  г/л порівняно з  $2,2 \pm 0,4$  в групі порівняння). При застосуванні запропонованих схем трансфузійної терапії відмічене зниження рівнів продуктів перекисного окислення (дієнових кон'югатів з вихідного рівня  $4,99 \pm 0,37$  у.о. до  $4,03 \pm 0,37$  у.о., ТБК-активних продуктів з  $1,54 \pm 0,16$  мкмоль/л до  $1,26 \pm 0,08$  мкмоль/мл), та підвищення в 1,73 рази на 13-14-ту добу рівнів супероксиддисмутази відносно вихідного рівня, що відповідало рівню референтних значень.

5. Встановлено морфологічно та імуногістохімічно, що при застосуванні запропонованих схем трансфузійної терапії в зразках тканин зони опікового ураження в пацієнтів основної групи вже на 7-8-му добу після опікової травми відмічалось зменшення дегенеративних процесів у всіх шарах шкіри, виражені

процеси неангіогенезу ( $21,0 \pm 2,3$  CD31-позитивно забарвлених ендотеліальних клітин,  $15,4\%$  VEGF-позитивних клітин порівняно з  $12,1 \pm 0,9$  CD31-позитивно забарвлених ендотеліальних клітин і нерівномірною експресією VEGF-позитивних клітин в групі порівняння на 13-14-ту добу), та периваскулярного утворення молодшої сполучної тканини з активізацією процесів епідермізації та епітелізації опікової рани.

6. Отримані результати хірургічного лікування свідчать, що застосування запропонованих схем трансфузійного забезпечення в пацієнтів з опіками призвело до зменшення площі конверсії опікових ран, що виражене в зменшенні площі видалення некротичних тканин ( $5,84 \pm 2,71$  % п.т. порівняно з  $8,07 \pm 3,98$  % п.т. в групі порівняння), що в поєднанні з активацією процесів епітелізації призвело до зменшення обсягів закриття ран розщепленими аутодермотрансплантатами ( $3,48 \pm 1,52\%$  в ОГ порівняно з  $4,08 \pm 2,06\%$  в ГП), та зменшення загальної кількості хірургічних втручань ( $2,98$  в ОГ та  $3,82$  в ГП). Застосування в ранньому періоді опікової хвороби препаратів ендотеліотропної, антиоксидантної та антипротеолітичної дії дозволило створити умови розвитку ранового процесу для проведення першої аутодермопластики в більш ранні терміни (на  $12,85$ -ту добу порівняно з  $17$ -ю добою в групі порівняння), та зменшити терміни повного остаточного закриття ранових поверхонь до  $24,42 \pm 2,79$  доби, порівняно з  $34,79 \pm 4,26$  доби в групі порівняння ( $p < 0,05$ ). Застосування розроблених схем трансфузійної терапії при ранньому хірургічному лікуванні пацієнтів з опіками призводить до зменшення загальних інфекційно-запальних ускладнень з  $52\%$  до  $15\%$  та до зменшення середнього терміну перебування пацієнта в стаціонарі в  $1,5$  раз: з  $63,73 \pm 5,4$  доби, до  $42,55 \pm 4,64$  доби ( $p < 0,05$ ).



## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Global Health Estimates. (2018, March 6). Burns. World Health Organization. [Online]. <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/burns>.
2. Smolle, C., Cambiaso-Daniel, J., Forbes, A. A., Wurzer, P., Hundeshagen, G., Branski, L. K., Huss, F., Kamolz, L. P. (2017). Recent trends in burn epidemiology worldwide: A systematic review. *Burns*, 43(2), 249-257. doi: 10.1016/j.burns.2016.08.013
3. Peck, D. M. (2011). Epidemiology of burns throughout the world. Part I: Distribution and risk factors. *Burns*, 37(7), 1087-1100. doi: 10.1016/j.burns.2011.06.005
4. Roeder, R. A., Schulman, C. I. (2010). An overview of war-related thermal injuries. *J Craniofac Surg*, 21(4), 971-975.
5. Cannon, A. R., Akhtar, S., Hammer, A. M., Morris, N. L., Javorski, M. J., Li, X., Kennedy, R. H., Gamelli, R. L., Choudhry, M. A. (2016). Effects of Mesalamine Treatment on Gut Barrier Integrity After Burn Injury. *Journal of burn care & research: official publication of the American Burn Association*, 37(5), 283–292. doi: 10.1097/BCR.0000000000000396.
6. Greenhalgh, D. G. (2019). Management of Burns. *N Engl J Med*, 380(24), 2349–2359. doi: 10.1056/NEJMra1807442.
7. Roshangar, L., Soleimani Rad, J., Kheirjou, R., Reza Ranjkesh, M., Ferdowsi Khosroshahi, A. (2019). Skin Burns: Review of Molecular Mechanisms and Therapeutic Approaches. *Wounds: a compendium of clinical research and practice*, 31(12), 308-315.
8. Horton, J. W. (2003). Free radicals and lipid peroxidation mediated injury in burn trauma: the role of antioxidant therapy. *Toxicology*, 189(1-2), 75-88. doi: 10.1016/s0300-483x(03)00154-9.
9. Sahib, A. S., Al-Jawad, F. H., Al-Kaisy, A. A. (2009). Burns, endothelial dysfunction, and oxidative stress: the role of antioxidants. *Annals of burns and fire disasters*, 22(1), 6-11.

10. Pham, T. N., Cancio, L. C., Gibran, N. S. (2008). American Burn Association practice guidelines burn shock resuscitation. *J Burn Care Res*, 29(1), 257-266. doi: 10.1097/BCR.0b013e31815f3876.
11. Haberal, M., Sakallioglu Abali, A. E., Karakayali, H. (2010). Fluid management in major burn injuries. *Indian J Plast Surg*, 43(Suppl), S29-36. doi: 10.4103/0970-0358.70715.
12. Dries, D. J. (2009). Management of burn injuries-recent developments in resuscitation, infection control, and outcomes research. *Scandinavian journal of trauma, resuscitation and emergency medicine*, 14. doi: 10.1186/1757-7241-17-14.
13. Żwieręło, W., Piorun, K., Skórka-Majewicz, M., Maruszewska, A., Antoniewski, J., Gutowska, I. (2023). Burns: Classification, Pathophysiology, and Treatment: A Review. *International journal of molecular sciences*, 24(4), 3749. doi: 10.3390/ijms24043749.
14. Nielson, C. B., Duethman, N. C., Howard, J. M., Moncure, M., Wood, J. G. (2017). Burns: Pathophysiology of Systemic Complications and Current Management. *Burn Care Res*, 1, e469-e481. doi: 10.1097/BCR.0000000000000355.
15. Han, T. H., Lee, S. Y., Kwon, J. E., Kwak, I. S., Kim, K. M. (2004). The limited immunomodulatory effects of escharectomy on the kinetics of endotoxin, cytokines, and adhesion molecules in major burns. *Mediators of inflammation*, 13(4), 241–246. doi: 10.1080/09629350400003191.
16. Farina, J. A. Jr, Rosique, M. J., & Rosique, R. G. (2013). Curbing inflammation in burn patients. *Int J Inflam*, 2013, 715645. <https://doi.org/10.1155/2013/715645>
17. Abhyankar, S. V., & Vartak, A. M. (2018). Impact of Ulinastatin on Outcomes in Acute Burns Patients. *J Burn Care Res*, 39(1), 109-116. <https://doi.org/10.1097/BCR.0000000000000546>
18. Wei, F., Liu, S., Luo, L., Gu, N., Zeng, Y., Chen, X., Xu, S., & Zhang, D. (2017). Anti-inflammatory mechanism of ulinastatin: Inhibiting the hyperpermeability of vascular endothelial cells induced by TNF- $\alpha$  via the RhoA/ROCK signal pathway. *International immunopharmacology*, 46, 220–227. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2017.03.007>

19. Shupp, J. W., Nasabzadeh, T. J., Rosenthal, D. S., Jordan, M. H., Fidler, P., & Jeng, J. C. (2010). A review of the local pathophysiologic bases of burn wound progression. *Journal of burn care & research*, 31(6), 849–873. <https://doi.org/10.1097/BCR.0b013e3181f93571>
20. Stewart, B. T. (2022). Epidemiology, risk factors, and prevention of burn injuries. Retrieved from UpToDate: <https://www.uptodate.com/contents/epidemiology-risk-factors-and-prevention-of-burn-injuries#>
21. Greenhalgh, D. G. (2017). Sepsis in the burn patient: a different problem than sepsis in the general population. *Burns & Trauma*, 5. <https://doi.org/10.1186/s41038-017-0089-5>
22. Jeschke, M. G., van Baar, M. E., Choudhry, M. A., Chung, K. K., Gibran, N. S., & Logsetty, S. (2020). Burn injury. *Nat Rev Dis Primers*, 6(11), 11. <https://doi.org/10.1038/s41572-020-0145-5>
23. James, S. L., Lucchesi, L. R., Bisignano, C., Castle, C. D., Dingels, Z. V., Fox, J. T.,... Alahdab, F. (2020). Epidemiology of injuries from fire, heat, and hot substances: global, regional, and national morbidity and mortality estimates from the Global Burden of Disease 2017 study. *Injury Prevention*, 1, i36–i45. <https://doi.org/10.1136/injuryprev-2019-043299>
24. Opriessnig, E., Luze, H., Smolle, C., Draschl, A., Zrim, R., Giretzlehner, M.,... Nischwitz, S. P. (2023). Epidemiology of burn injury and the ideal dressing in global burn care - Regional differences explored. *Burns*, 49 (1), 1-14. <https://doi.org/10.1016/j.burns.2022.06.018>
25. Jeschke, M. G., Gauglitz, G. G., Kulp, G. A., Finnerty, C. C., Williams, F. N.,... Herndon, D. N. (2011). Long-term persistence of the pathophysiologic response to severe burn injury. *PLoS One*, 7, e21245. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0021245>
26. Стасенко, Т. (2018). Проект «Проти опіків» розвивається в Україні та набуває масштабу загальнодержавного. *Український медичний часопис*. Retrieved from <https://api.umj.com.ua/wp/wp-content/uploads/2018/07/Opiki.pdf>

27. The Institute for Health Metrics and Evaluation. [Online]. Available: <https://vizhub.healthdata.org/gbd-compare/> [Accessed 5 Aug 2023].
28. Державна служба статистики України. [Online]. Available: <https://ukrstat.gov.ua/>. [Accessed 7 Aug 2023].
29. Мінфін. [Online]. Available: <https://index.minfin.com.ua/ua/reference/people/deaths/2019/>. [Accessed 7 Aug 2023].
30. Brusselaers, N., Monstrey, S., Vogelaers, D., Hoste, E., & Blot, S. (2010). Severe burn injury in Europe: A systematic review of the incidence, etiology, morbidity, and mortality. *Crit Care*, 14(5), R188. <https://doi.org/10.1186/cc9300>.
31. Atiyeh, B. S., Ibrahim, A., & Hayek, S. N. (2010). Burn wound cleansing: An efficient evidence-based treatment modality or a ritualistic practice. *J Wound Technol*, 7, 6–10.
32. Peck, M. (2012). Epidemiology of burns throughout the World. Part II: Intentional burns in adults. *Burns*, 38(5), 630-637. <https://doi.org/10.1016/j.burns.2011.12.028>.
33. Best practice guidelines: Effective skin and wound management in non-complex burns - Wounds International. (2014, May 8). [Online]. Available: <https://woundsinternational.com/best-practice-statements/best-practice-guidelines-effective-skin-and-wound-management-in-non-complex-burns/>. [Accessed 7 Aug 2023].
34. Порядок надання медичної допомоги хворим з опіками. (2013, September 30). Міністерство охорони здоров'я України, 838. [Online]. Available: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z2029-13#Text>. (дата звернення 10.08.2023).
35. Про організацію надання комбустіологічної допомоги в умовах воєнного стану. (2022, March 27). Міністерство охорони здоров'я України, 537. [Online]. Available: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0390-22#Text>. (дата звернення 10.09.2023).
36. Андріішин, О.П., Чернишенко, Т.І., Антонюк, С.А., Волков, К.С., Пасечко, Н.В. (2000). Значення інтоксикації організму в розвитку ультраструктурних змін в

- органах нервової системи і серці при експериментальній термічній травмі. Вісник наукових досліджень, 2, 74-76.
- 37.Нетюхайло, Л.Г., Харченко, С.В., Костенко, А.Г. (2011). Патогенез опікової хвороби (частина 1). Світ медицини та біології, 1, 127-131.
- 38.Burgess, M., Valdera, F., Varon, D., Kankuri, E., Nuutila, K. (2022). The Immune and Regenerative Response to Burn Injury. *Cells*, 11(19), 3073. <https://doi.org/10.3390/cells11193073>.
- 39.Rae, L., Fidler, P., Gibran, N. (2016). The Physiologic Basis of Burn Shock and the Need for Aggressive Fluid Resuscitation. *Crit Care Clin*, 32(4), 491-505. <https://doi.org/10.1016/j.ccc.2016.06.001>.
- 40.Greenhalgh, D. (2019). Management of Burns. *N Engl J Med*, 380(24), 2349-2359. <https://doi.org/10.1056/NEJMra1807442>.
- 41.Rock, K. L., Hearn, A., Chen, C. J., Shi, Y. (2005). Natural endogenous adjuvants. *Springer Semin Immunopathol*, 26(3), 231-246. <https://doi.org/10.1007/s00281-004-0173-3>.
- 42.Lynnyk, O. M., Osadcha, O. I., Kozynets, H. P., Yanchiy, I. R., Shmatova, O. O., Boiarska, G. M. (2021). Features of the immune response to thermal trauma. *Fiziol. Zh*, 67(6), 32-39. <https://doi.org/10.15407/fz67.06.032>.
- 43.Liu, Q., Ding, J. L. (2016). The molecular mechanisms of TLR-signaling cooperation in cytokine regulation. *Immunol Cell Biol*, 94(6), 538-542. <https://doi.org/10.1038/icb.2016.18>.
- 44.Strbo, N., Yin, N., Stojadinovic, O. (2014). Innate and Adaptive Immune Responses in Wound Epithelialization. *Adv Wound Care (New Rochelle)*, 3(7), 492-501. <https://doi.org/10.1089/wound.2012.0435>.
- 45.Яблонь, О.С., Власенко, Д.Ю. (2015). Toll-подібні рецептори: роль вродженого імунітету у патогенезі передчасних пологів та механізмах ушкодження центральної нервової системи у недоношених дітей. *Сучасна педіатрія*, 68, 119-123. <https://doi.org/10.15574/SP.2015.68.119>.
- 46.Syzova, L. M., Koval, T. I., Ilchenko, V. I., Zviaholska, I. M., & Iziumska, O. M. (2020). The impact of Toll-like receptors on the immune system functioning and on

- the immunopathogenesis of chronic hepatitis C: a modern view (literature review). *Pathologia*, 17(1), 114-121. <https://doi.org/10.14739/2310-1237.2020.1.203859>
47. Abreu, M. T., & Arditi, M. (2004). Innate immunity and toll-like receptors: clinical implications of basic science research. *Journal of Pediatrics*, 144(4), 421-429. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2004.01.057>
48. Osuka, A., Ogura, H., Ueyama, M., Shimazu, T., & Lederer, J. A. (2014). Immune response to traumatic injury: harmony and discordance of immune system homeostasis. *Acute Medicine & Surgery*, 1(2), 63-69. <https://doi.org/10.1002/ams2.17>
49. Bortolotti, P., Faure, E., & Kipnis, E. (2018). Inflammasomes in tissue damages and immune disorders after trauma. *Frontiers in Immunology*, 9, 1900. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.01900>
50. Minutoli, L., Puzzolo, D., Rinaldi, M., Irrera, N., Marini, H., Arcoraci, V., ... Altavilla, D. (2016). ROS-mediated NLRP3 inflammasome activation in brain, heart, kidney, and testis ischemia/reperfusion injury. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016, 2183026. <https://doi.org/10.1155/2016/2183026>
51. Mulder, P. P. G., Vlig, M., Boekema, B. K. H. L., Stoop, M. M., Pijpe, A., ... Ulrich, M. M. W. (2021). Persistent systemic inflammation in patients with severe burn injury is accompanied by influx of immature neutrophils and shifts in T cell subsets and cytokine profiles. *Frontiers in Immunology*, 11, 621222. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.621222>
52. Ogawa, R. (2017). Keloid and hypertrophic scars are the result of chronic inflammation in the reticular dermis. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(3), 606. <https://doi.org/10.3390/ijms18030606>
53. Shi, H., Lo, T. H., Ma, D., Condor, B., Lesmana, B., Parungao, R. J., ... Wang, Y. (2020). Dihydrotestosterone (DHT) enhances wound healing of major burn injury by accelerating resolution of inflammation in mice. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(17), 6231. <https://doi.org/10.3390/ijms21176231>
54. Chakraborty, R. K., & Burns, B. (2023). Systemic inflammatory response syndrome. In *StatPearls*. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK547669/>

55. Vaughn, L., & Beckel, N. (2012). Severe burn injury, burn shock, and smoke inhalation injury in small animals. Part 1: Burn classification and pathophysiology. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care (San Antonio)*, 22(2), 179-186. <https://doi.org/10.1111/j.1476-4431.2012.00727.x>
56. Bohr, S., Patel, S. J., Shen, K., Vitalo, A. G., Brines, M., Cerami, A., ... Yarmush, M. L. (2013). Alternative erythropoietin-mediated signaling prevents secondary microvascular thrombosis and inflammation within cutaneous burns. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110(9), 3513-3518. <https://doi.org/10.1073/pnas.1214099110>
57. Ravat, F., Payre, J., Peslages, P., Fontaine, M., & Sens, N. (2011). La brûlure: Une pathologie inflammatoire [Burn: An inflammatory process]. *Pathologie et Biologie*, 59(3), 63-72. <https://doi.org/10.1016/j.patbio.2009.12.001>
58. Liu, Y., & Wang, J. Z. (2021). Stress response induced by burn injury and its regulation strategy. *Zhonghua Shao Shang Za Zhi*, 37(2), 126-130. <https://doi.org/10.3760/cma.j.cn501120-20201125-00499>
59. Huang, L. F., Yao, Y. M., Dong, N., Yu, Y., He, L. X., & Sheng, Z. Y. (2010). Association between regulatory T cell activity and sepsis and outcome of severely burned patients: a prospective, observational study. *Critical Care*, 14(1). <https://doi.org/10.1186/cc8232>
60. Sauaia, A., Moore, F. A., & Moore, E. E. (2017). Postinjury inflammation and organ dysfunction. *Critical Care Clinics*, 167-191. <https://doi.org/10.1016/j.ccc.2016.08.006>
61. Rodriguez, P. G., Felix, F. N., Woodley, D. T., & Shim, E. K. (2008). The role of oxygen in wound healing: a review of the literature. *Dermatologic Surgery*, 34(9), 1159-1169. <https://doi.org/10.1111/j.1524-4725.2008.34254.x>
62. Incalza, M. A., D'Oria, R., Natalicchio, A., Perrini, S., Laviola, L., & Giorgino, F. (2018). Oxidative stress and reactive oxygen species in endothelial dysfunction associated with cardiovascular and metabolic diseases. *Vascular Pharmacology*, 100, 1-19. <https://doi.org/10.1016/j.vph.2017.05.005>



63. Dri, E., Lampas, E., Lazaros, G., Lazarou, E., Theofilis, P., Tsioufis, C., & Tousoulis, D. (2023). Inflammatory Mediators of Endothelial Dysfunction. *Life (Basel)*, 13(6), 1420. <https://doi.org/10.3390/life13061420>
64. McMillen, M. A. (2001). Endothelin plasma levels in burn patients. *Archives of Surgery*, 136(9), 1084. <https://doi.org/10.1001/archsurg.136.9.1084>
65. Wang, L., Cheng, C. K., Yi, M., Lui, K. O., & Huang, Y. (2022). Targeting endothelial dysfunction and inflammation. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 168, 58-67. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2022.04.011>
66. Brewster, L. M., Garcia, V. P., Levy, M. V., Stockelman, K. A., Goulding, A., DeSouza, N. M., ... DeSouza, C. A. (2020). Endothelin-1-induced endothelial microvesicles impair endothelial cell function. *Journal of Applied Physiology (1985)*, 128(6), 1497-1505. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00816.2019>
67. Taneja, G., Sud, A., Pendse, N., Panigrahi, B., Kumar, A., & Sharma, A. K. (2019). Nano-medicine and Vascular Endothelial Dysfunction: Options and Delivery Strategies. *Cardiovascular Toxicology*, 19(1), 1-12. <https://doi.org/10.1007/s12012-018-9491-x>
68. Bourque, S. L., Davidge, S. T., & Adams, M. A. (2011). The interaction between endothelin-1 and nitric oxide in the vasculature: new perspectives. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 300(6), R1288-1295. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00397.2010>
69. Kim, J., Kim, H., Roh, H., & Kwon, Y. (2018). Causes of hyperhomocysteinemia and its pathological significance. *Archives of Pharmacal Research*, 41(4), 372-383. <https://doi.org/10.1007/s12272-018-1016-4>
70. Esse, R., Barroso, M., Tavares de Almeida, I., & Castro, R. (2019). The Contribution of Homocysteine Metabolism Disruption to Endothelial Dysfunction: State-of-the-Art. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(4), 867. <https://doi.org/10.3390/ijms20040867>
71. Kaplan, P., Tatarkova, Z., Sivonova, M. K., Racay, P., Lehotsky, J., & Ferreira, L. M. (2020). Homocysteine and Mitochondria in Cardiovascular and Cerebrovascular

- Systems. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(20), 7698. <https://doi.org/10.3390/ijms21207698>
72. Bonucci, J., Gragnani, A., Trincado, M. M., Vincentin, V., Correa, S. A. A., & Ferreira, L. M. (2018). The role of vitamin C in the gene expression of oxidative stress markers in fibroblasts from burn patients. *Acta Cirurgica Brasileira*, 33(8), 701-712. <https://doi.org/10.1590/s0102-865020180080000>
73. Parihar, A., Parihar, M. S., Milner, S., & Bhat, S. (2008). Oxidative stress and anti-oxidative mobilization in burn injury. *Burns*, 34(1), 6-17. <https://doi.org/10.1016/j.burns.2007.04.009>
74. Martin, D. S., Lonergan, P. E., Boland, B., Fogarty, M. P., Brady, M., Horrobin, D. F., Campbell, V. A., & Lynch, M. A. (2002). Apoptotic changes in the aged brain are triggered by interleukin-1beta-induced activation of p38 and reversed by treatment with eicosapentaenoic acid. *Journal of Biological Chemistry*, 277(37), 34239-34246. <https://doi.org/10.1074/jbc.M205289200>
75. Di Meo, S., Reed, T. T., Venditti, P., & Victor, V. M. (2016). Role of ROS and RNS Sources in Physiological and Pathological Conditions. <https://doi.org/10.1155/2016/1245049>
76. Tian, K. Y., Liu, X. J., Xu, J. D., Deng, L. J., & Wang, G. (2015). Propofol inhibits burn injury-induced hyperpermeability through an apoptotic signal pathway in microvascular endothelial cells. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 48, 401-407. <https://doi.org/10.1590/1414-431x20144107>
77. Nwosu, A. D. G., Ossai, E. N., Onwuasoigwe, O., Ahaotu, F. N., Aneze, J. K., Umeji, E. I., Okonedo, B., & Ogboji, O. (2020). Evaluation of ascorbic acid therapy and oxidative stress parameters in burns patients. *Journal of Advances in Medicine and Medical Research*, 32, 296–306. <https://doi.org/10.9734/jammr/2020/v32i2430782>
78. Wassermann, D. (2001). Systemic complications of extended burns. *Annales de Chirurgie Plastique et Esthetique*, 46(3), 196-209. [https://doi.org/10.1016/s0294-1260\(01\)00017-6](https://doi.org/10.1016/s0294-1260(01)00017-6)

79. Sommerhalder, C., Blears, E., Murton, A. J., Porter, C., Finnerty, C., Herndon, D. N. (2020). Current problems in burn hypermetabolism. *Current Problems in Surgery*, 57(1). <https://doi.org/10.1016/j.cpsurg.2019.100709>
80. Auger, C., Samadi, O., Jeschke, M. G. (2017). The biochemical alterations underlying post-burn hypermetabolism. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*, 1863(10), 263-2644. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2017.02.019>
81. Gauglitz, G. G., Herndon, D. N., Kulp, G. A., Meyer, W. J. 3rd, Jeschke, M. G. (2009). Abnormal insulin sensitivity persists up to three years in pediatric patients post-burn. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 94(5), 1656-1664. <https://doi.org/10.1210/jc.2008-1947>
82. Peng, X., Yan, H., You, Z., Wang, P., & Wang, S. (2005). Clinical and protein metabolic efficacy of glutamine granules-supplemented enteral nutrition in severely burned patients. *Burns*, 31(3), 342-346. <https://doi.org/10.1016/j.burns.2004.10.027>
83. Wise, A. K., Hromatka, K. A., & Miller, K. R. (2019). Energy Expenditure and Protein Requirements Following Burn Injury. *Nutrition in Clinical Practice*, 34(5), 673-680. <https://doi.org/10.1002/ncp.10390>
84. Biolo, G., Fleming, R. Y., Maggi, S. P., Nguyen, T. T., Herndon, D. N., & Wolfe, R. R. (2002). Inverse regulation of protein turnover and amino acid transport in skeletal muscle of hypercatabolic patients. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 87(7), 3378-3384. <https://doi.org/10.1210/jcem.87.7.8699>
85. Rasmussen, B. B., & Wolfe, R. R. (1999). Regulation of fatty acid oxidation in skeletal muscle. *Annual Review of Nutrition*, 19, 463-484. <https://doi.org/10.1146/annurev.nutr.19.1.463>
86. Bailey, B. N. (1960). Hyperglycaemia in burns. *British Medical Journal*, 2(5215), 1783-1785. <https://doi.org/10.1136/bmj.2.5215.1783>
87. Hinton, P. (1972). Biochemical changes in burned patients. *Postgraduate Medical Journal*, 48(557), 144-147. <https://doi.org/10.1136/pgmj.48.557.144>
88. Evans, E. I., Purnell, O. J., Robinett, P. W., Batchelor, A., & Martin, M. (1952). Fluid and electrolyte requirements in severe burns. *Annals of Surgery*, 135(6), 804-817. <https://doi.org/10.1097/00000658-195206000-00006>

89. Stone II, R., Natesan, S., Kowalczewski, C. J., Mangum, L. H., Clay, N. E., Clohessy, R. M., Carlsson, A. H., Tassin, D. H., Chan, R. K., Rizzo, J. A., & Christy, R. J. (2018). Advancements in Regenerative Strategies Through the Continuum of Burn Care. *Frontiers in Pharmacology*, 9, 672. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00672>
90. Нагайчук, В.І., Назарчук, О.А., Палій, В.Г., Макац, Є.Ф., & Буркот, В.М. (2014). Вивчення властивостей мікрофлори опікової поверхні у пацієнтів з опіками [Study of the properties of microflora of burn surface in patients with burns]. *Biomedical and Biosocial Anthropology*, 22, 194-199.
91. Church, D., Elsayed, S., Reid, O., Winston, B., & Lindsay, R. (2006). Burn wound infections. *Clinical Microbiology Reviews*, 19(2), 403-434. <https://doi.org/10.1128/CMR.19.2.403-434.2006>
92. Carsin, H., Bargues, L., Stéphanazzi, J., Paris, A., Aubert, P., Le Béver, H. (2002). Réaction inflammatoire et infection chez le brûlé grave [Inflammatory reaction and infection in severe burns]. *Pathologie Biologie*, 50(2), 93-101. [https://doi.org/10.1016/s0369-8114\(01\)00272-3](https://doi.org/10.1016/s0369-8114(01)00272-3)
93. Barret, J. P., & Herndon, D. N. (2003). Effects of burn wound excision on bacterial colonization and invasion. *Plastic and Reconstructive Surgery*, 111(2), 744-752. <https://doi.org/10.1097/01.PRS.0000041445.76730.23>
94. Ladhani, H. A., Yowler, C. J., Claridge, J. A. (2021). Burn Wound Colonization, Infection, and Sepsis. *Surgical Infections (Larchmt)*, 22(1), 44-48. <https://doi.org/10.1089/sur.2020.346>
95. Altoparlak, U., Erol, S., Akcay, M. N., Celebi, F., Kadanali, A. (2004). The time-related changes of antimicrobial resistance patterns and predominant bacterial profiles of burn wounds and body flora of burned patients. *Burns*, 30(7), 660-664. <https://doi.org/10.1016/j.burns.2004.03.005>
96. Manson, W. L., Klasen, H. J., Sauer, E. W., Olieman, A. (1992). Selective intestinal decontamination for prevention of wound colonization in severely burned patients: a retrospective analysis. *Burns*, 18(2), 98-102. [https://doi.org/10.1016/0305-4179\(92\)90002-c](https://doi.org/10.1016/0305-4179(92)90002-c)

97. Weber, J., McManus, A. (2004). Infection control in burn patients. *Burns*, 30(8), A16-A24. <https://doi.org/10.1016/j.burns.2004.08.003>
98. Wurtz, R., Karajovic, M., Dacumos, E., Jovanovic, B., Hanumadass, M. (1995). Nosocomial infections in a burn intensive care unit. *Burns*, 21(3), 181-184. [https://doi.org/10.1016/0305-4179\(95\)80005-9](https://doi.org/10.1016/0305-4179(95)80005-9)
99. Edwards, R., & Harding, K. G. (2004). Bacteria and wound healing. *Current Opinion in Infectious Diseases*, 17(2), 91-96. <https://doi.org/10.1097/00001432-200404000-00004>
100. Singer, A. J., McClain, S. A. (2002). Persistent wound infection delays epidermal maturation and increases scarring in thermal burns. *Wound Repair and Regeneration*, 10(6), 372-377. <https://doi.org/10.1046/j.1524-475x.2002>
101. Jackson, D. (1953). The diagnosis of the depth of burning. *The British Journal of Surgery*, 40(164), 588-596. <https://doi.org/10.1002/bjs.18004016413>
102. Harish, V., Li, Z., Maitz, P. K. M. (2019). First aid is associated with improved outcomes in large body surface area burns. *Burns*, 45(8), 1743-1748. <https://doi.org/10.1016/j.burns.2019.05.006>
103. Evers, L. H., Bhavsar, D., & Mailänder, P. (2010). The biology of burn injury. *Experimental Dermatology*, 19(9), 777-783. doi: 10.1111/j.1600-0625.2010.01105.x
104. Gurtner, G. C., Werner, S., Barrandon, Y., & Longaker, M. T. (2008). Wound repair and regeneration. *Nature*, 7193, 314–321. doi: 10.1038/nature07039
105. Palackic, A., Jay, J. W., Duggan, R. P., Branski, L. K., Wolf, S. E., & Ansari, N., et al. (2022). Therapeutic Strategies to Reduce Burn Wound Conversion. *Medicina*, 7, 922. doi: [doi.org/10.3390/medicina58070922](https://doi.org/10.3390/medicina58070922)
106. Salibian, A. A., Del Rosario, A. T., Severo, L. D. A. M., Nguyen, L., Banyard, D. A., & Toranto, J. D., et al. (2016). Current concepts on burn wound conversion—A review of recent advances in understanding the secondary progressions of burns. *Burns*, 42(5), 1025-1035. doi: [0.1016/j.burns.2015.11.007](https://doi.org/10.1016/j.burns.2015.11.007)
107. Türkaslan, T., Yogun, N., Çimşit, M., Solakoglu, S., Ozdemir, C., & Ozsoy, Z., et al. (2010). Is HBOT treatment effective in recovering the zone of stasis? An

- experimental immunohistochemical study. *Burns*, 36(4), 539-544. doi: 10.1016/j.burns.2009.06.210
108. Shaw, P., Sharma, A. K., Kalonia, A., Shukla, S. K. (2020). Vascular perfusion: A predictive tool for thermal burn injury. *J Tissue Viability*, 29(1), 48-50. doi: 10.1016/j.jtv.2019.12.002
109. Friedrich, E. E., Sun, L. T., Natesan, S., Zamora, D. O., Christy, R. J., & Washburn, N. R. (2014). Effects of hyaluronic acid conjugation on anti-TNF- $\alpha$  inhibition of inflammation in burns. *Journal of Biomedical Materials Research*, 1527–1536. doi: 10.1002/jbm.a.34829
110. Zor, F., Ozturk, S., Deveci, M., Karacalioglu, O., Sengezer, M. (2005). Saving the zone of stasis: is glutathione effective? *Burns*, 31, 972–976. doi: 10.1016/j.burns.2005.06.016
111. Slater, T. F. (1984). Free-radical mechanisms in tissue injury. *Biochemical Journal*, 222(1), 1-15. doi: 10.1042/bj2220001
112. Salibian, A. A., Rosario, A. T. D., Severo, L. A. M., Nguyen, L., Banyard, D. A., Toranto, J. D., Evans, G. R. D., & Widgerow, A. D. (2016). Current concepts on burn wound conversion—A review of recent advances in understanding the secondary progressions of burns. *Burns*, 42(5), 1025-1035. doi: 10.1016/j.burns.2015.11.007
113. Tan, J. Q., Zhang, H. H., Lei, Z. J., Ren, P., Deng, C., & Li, X. Y., et al. (2013). The roles of autophagy and apoptosis in burn wound progression in rats. *Burns*, 39(8), 1551-1556. doi: 10.1016/j.burns.2013.04.018
114. Singer, A. J., McClain, S. A., Taira, B. R., Guerriero, J. L., Zong, W. (2008). Apoptosis and necrosis in the ischemic zone adjacent to third-degree burns. *Academic Emergency Medicine*, 15(6), 549-554. doi: 10.1111/j.1553-2712.2008.00115.x
115. Zawacki, B. (1974). Reversal of capillary stasis and prevention of necrosis in burns. *Annals of Surgery*, 1, 98-102. doi: 10.1097/00000658-197407000-00015
116. Rizzo, J. A., Burgess, P., Cartie, R. J., Prasad, B. M. (2013). Moderate systemic hypothermia decreases burn depth progression. *Burns*, 39(3), 436-444. doi: 10.1016/j.burns.2012.07.022

117. Martin, P. (1997). Wound healing--aiming for perfect skin regeneration. *Science*, 276(5309), 75-81. doi: 10.1126/science.276.5309.75
118. Nourian Dehkordi, A., Mirahmadi Babaheydari, F., Chehelgerdi, M., & Raeisi Dehkordi, S. (2019). Skin tissue engineering: wound healing based on stem-cell-based therapeutic strategies. *Stem Cell Research & Therapy*, 10(1), 11. doi: 10.1186/s13287-019-1212-2.
119. Markiewicz-Gospodarek, A., Koziół, M., Tobiasz, M., Baj, J., Radzikowska-Büchner, E., & Przekora, A. (2022). Burn Wound Healing: Clinical Complications, Medical Care, Treatment, and Dressing Types: The Current State of Knowledge for Clinical Practice. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 19(3), 1338. doi: 10.3390/ijerph19031338.
120. Singer, A. J., & Clark, R. A. (1999). Cutaneous wound healing. *New England Journal of Medicine*, 341(10), 738-746. doi: 10.1056/NEJM199909023411006.
121. Mahdavian Delavary, B., van der Veer, W. M., van Egmond, M., Niessen, F. B., & Beelen, R. H. (2011). Macrophages in skin injury and repair. *Immunobiology*, 216(7), 753-762. doi: 10.1016/j.imbio.2011.01.001.
122. Eming, S. A., Krieg, T., & Davidson, J. M. (2007). Inflammation in wound repair: molecular and cellular mechanisms. *Journal of Investigative Dermatology*, 127(3), 514-525. doi: 10.1038/sj.jid.5700701.
123. Werner, S., & Grose, R. (2003). Regulation of wound healing by growth factors and cytokines. *Physiological Reviews*, 83(3), 835-870. doi: 10.1152/physrev.2003.83.3.835.
124. Li, J., Chen, J., & Kirsner, R. (2007). Pathophysiology of acute wound healing. *Clinical Dermatology*, 25(1), 9-18. doi: 10.1016/j.clindermatol.2006.09.007.
125. Mofazzal Jahromi, M. A., Sahandi Zangabad, P., Moosavi Basri, S. M., Sahandi Zangabad, K., Ghamarypour, A., Aref, A. R., Karimi, M., & Hamblin, M. R. (2018). Nanomedicine and advanced technologies for burns: Preventing infection and facilitating wound healing. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 123, 33-64. doi: 10.1016/j.addr.2017.08.001.



126. Pastar, I., Stojadinovic, O., Yin, N. C., Ramirez, H., Nusbaum, A. G., Sawaya, A., Patel, S. B., Khalid, L., Isseroff, R. R., & Tomic-Canic, M. (2014). Epithelialization in Wound Healing: A Comprehensive Review. *Advances in Wound Care* (New Rochelle), 3(7), 445-464. doi: 10.1089/wound.2013.
127. Demidova-Rice, T. N., Hamblin, M. R., & Herman, I. M. (2012). Acute and impaired wound healing: pathophysiology and current methods for drug delivery, part 2: role of growth factors in normal and pathological wound healing: therapeutic potential and methods of delivery. *Advances in Skin & Wound Care*, 25(8), 349-370. doi: 10.1097/01.ASW.0000418541.31366.a3.
128. Hinz, B. (2007). Formation and function of the myofibroblast during tissue repair. *Journal of Investigative Dermatology*, 127(3), 526-537. doi: 10.1038/sj.jid.5700613.
129. Foster, K., & Caruso, D. (2016). Fluid Resuscitation in Burn Patients: Current Care and New Frontiers. *Critical Care Clinics*, 32(4), 577-586. doi: 10.1016/j.ccc.2016.06.005.
130. Vincent, J. L., De Backer, D., & Wiedermann, C. J. (2016). Fluid management in sepsis: The potential beneficial effects of albumin. *Journal of Critical Care*, 35, 161-167. doi: 10.1016/j.jcrc.2016.04.019.
131. Demling, R. H. (2005). The burn edema process: current concepts. *Journal of Burn Care & Rehabilitation*, 26(3), 207-227.
132. Bittner, E. A., Shank, E., Woodson, L., Martyn, J. A. (2015). Acute and perioperative care of the burn-injured patient. *Anesthesiology*, 122(2), 448-464.
133. Ge-bing Du, Slater, H., & Goldfarb, I. W. (1991). Influences of different resuscitation regimens on acute early weight gain in extensively burned patients. *Burns*, 17(2), 147-150. doi: 10.1016/0305-4179(91)90139-8.
134. Schaefer, T. J., & Nunez Lopez, O. (2023). Burn Resuscitation and Management. *StatPearls* [Internet].
135. Todd, S. R., Malinoski, D., Muller, P. J., & Schreiber, M. A. (2007). Lactated Ringer's is superior to normal saline in the resuscitation of uncontrolled hemorrhagic shock. *The Journal of Trauma*, 62(3), 636-639. doi: 10.1097/TA.0b013e31802ee521.

136. Rhee, P., Burris, D., Kaufmann, C., Pikoulis, M., Austin, B., Ling, G., Harviel, D., & Waxman, K. (1998). Lactated Ringer's solution resuscitation causes neutrophil activation after hemorrhagic shock. *The Journal of Trauma*, 44(2), 313-319. doi: 10.1097/00005373-199802000-00014.
137. Koustova, E., Stanton, K., Gushchin, V., Alam, H. B., Stegalkina, S., & Rhee, P. M. (2002). Effects of lactated Ringer's solutions on human leukocytes. *The Journal of Trauma*, 52(5), 872-878. doi: 10.1097/00005373-200205000-00009.
138. Atiyeh, B. S., Dibo, S. A., Ibrahim, A. E., & Zgheib, E. R. (2012). Acute burn resuscitation and fluid creep: it is time for colloid rehabilitation. *Annals of Burns and Fire Disasters*, 25(2), 59-65.
139. Goodwin, C. W., Dorethy, J., Lam, V., & Pruitt, B. A. Jr. (1983). Randomized trial of efficacy of crystalloid and colloid resuscitation on hemodynamic response and lung water following thermal injury. *Annals of Surgery*, 197(5), 520-531. doi: 10.1097/00000658-198305000-00004.
140. Hughes, A., Almeland, S. K., Leclerc, T., Ogura, T., Hayashi, M., Mills, J. A., Norton, I., & Potokar, T. (2021). Recommendations for burns care in mass casualty incidents: WHO Emergency Medical Teams Technical Working Group on Burns (WHO TWGB) 2017-2020. *Burns*, 47(2), 349-370. doi: 10.1016/j.burns.2020.07.001.
141. Tenenhaus, M., & Rennekampff, H. O. (2007). Burn surgery. *Clinics in Plastic Surgery*, 34(4), 697-715. doi: 10.1016/j.cps.2007.08.007.
142. Hunt, J. L., McGranahan, B. G., & Pruitt, B. A. Jr. (1973). Burn-wound management. *Heart & Lung*, 2(5), 690-695.
143. Boswick, J. A. Jr. (1967). Long-term management of the burn patient. *Modern Treatment*, 4(6), 1282-1290.
144. Dyer, C. (1988). Burn wound management: an update. *Plastic Surgical Nursing*, 8(1), 6-12. doi: 10.1097/00006527-198800810-00003.
145. Cole, J. K., Engrav, L. H., Heimbach, D. M., Gibran, N. S., Costa, B. A., Nakamura, D. Y., Moore, M. L., Blayney, C. B., & Hoover, C. L. (2002). Early excision and grafting of face and neck burns in patients over 20 years. *Plastic and Reconstructive Surgery*, 109(4), 1266-1273. doi: 10.1097/00006534-2002040.

146. Kiley, J. L., & Greenhalgh, D. G. (2023). Infections in Burn Patients. *Surgical Clinics of North America*, 3. doi: 10.1016/j.suc.2023.02.005.
147. Muller, M. J., & Herndon, D. N. (1994). The challenge of burns. *The Lancet*, 343(8899), 216-220. doi: 10.1016/S0140-6736(94)90995-4.
148. Heimbach, D. M. (1987). Early burn excision and grafting. *Surgical Clinics of North America*, 67(1), 93-107. doi: 10.1016/s0039-6109(16)44135-6.
149. Herndon, D. N., Gore, D., Cole, M., Desai, M. H., Linares, H., Abston, S., Rutan, T., Van Osten, T., & Barrow, R. E. (1987). Determinants of mortality in pediatric patients with greater than 70% full-thickness total body surface area thermal injury treated by early total excision and grafting. *Journal of Trauma*, 27(2), 208-212. doi: 10.1097/00005373-198702000-00020.
150. Pietsch, J. B., Netscher, D. T., Nagaraj, H. S., & Groff, D. B. (1985). Early excision of major burns in children: effect on morbidity and mortality. *Journal of Pediatric Surgery*, 20(6), 754-757. doi: 10.1016/s0022-3468(85)80039-7.
151. Kovalenko, O. M., Kovalenko, A. O., Osadcha, O. I., & Lynnyk, O. M. (2020). Modern approaches to treatment of superficial dermal burns. *Infusion & Chemotherapy*, 40.
152. Atiyeh, B. S., Amm, C. A., & El Musa, K. A. (2003). Improved scar quality following primary and secondary healing of cutaneous wounds. *Aesthetic Plastic Surgery*, 27(5), 411-417. doi: 10.1007/s00266-003-3049-3.
153. Atiyeh, B. S., Gunn, S. W., & Hayek, S. N. (2005). State of the art in burn treatment. *World Journal of Surgery*, 29(2), 131-148. doi: 10.1007/s00268-004-1082-2.
154. Burke, J. F., Bondoc, C. C., & Quinby, W. C. (1974). Primary burn excision and immediate grafting: a method shortening illness. *Journal of Trauma*, 14(5), 389-395. doi: 10.1097/00005373-197405000-00005.
155. Shahrokhi, S., Arno, A., & Jeschke, M. G. (2014). The use of dermal substitutes in burn surgery: acute phase. *Wound Repair and Regeneration*, 22(1), 14-22. doi: 10.1111/wrr.12119.

156. McManus, W. F., Mason, A. D. Jr., & Pruitt, B. A. Jr. (1989). Excision of the burn wound in patients with large burns. *Archives of Surgery*, 124(6), 718-720. doi: 10.1001/archsurg.1989.01410060088018.
157. Monafo, W. W. (1974). Tangential excision. *Clinics in Plastic Surgery*, 1(4), 591-601.
158. Zuo, K. J., Medina, A., & Tredget, E. E. (2017). Important Developments in Burn Care. *Plastic and Reconstructive Surgery*, 139(1), 120-138. doi: 10.1097/PRS.0000000000002908.
159. Butts, C. C., Bose, K., Frotan, M. A., Hodge, J., & Gulati, S. (2017). Controlling intraoperative hemorrhage during burn surgery: A prospective, randomized trial comparing NuStat® hemostatic dressing to the historic standard of care. *Burns*, 43(2), 374-378. doi: 10.1016/j.burns.2016.08.026.
160. Wormald, J. C., Wade, R. G., Dunne, J. A., Collins, D. P., & Jain, A. (2020). Hydrosurgical debridement versus conventional surgical debridement for acute partial-thickness burns. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 9(9). doi: 10.1002/14651858.
161. Yuan, M., Yin, M., Zhang, L., Feng, J., Zhu, J., Zhou, Z., Shu, B., Zhou, F., Zhang, F., Yin, H., Wang, X., Qi, S., & Wu, J. (2020). Selective debridement of burn wounds using hydrosurgery system. *International Wound Journal*, 17(2), 300-309. doi: 10.1111/iwj.13270.
162. Ziegler, B., Fischer, S., Pieper, D., Mathes, T., Kneser, U., & Hirche, C. (2020). Evidence and Trends in Burn Wound Debridement: An Evidence Map. *Plastic Surgery (Oakville)*, 28(4), 232-242. doi: 10.1177/2292550320928553.
163. Surowiecka, A., Korzeniowski, T., & Strużyna, J. (2022). Early burn wound excision in mass casualty events. *Military Medicine Research*, 9(1), 42. doi: 10.1186/s40779-022-00407-x.
164. Siegart, L. C., Böcker, A. H., Diehm, Y. F., Kotsougiani-Fischer, D., Erdmann, S., Ziegler, B., ... Fischer, S. (2021). Enzymatic Debridement for Burn Wound Care: Interrater Reliability and Impact of Experience in Post-intervention Therapy

- Decision. *Journal of Burn Care & Research*, 42(5), 953-961. doi: 10.1093/jbcr/iraa218.
165. Horch, R. E., Jeschke, M. G., Spilker, G., Herndon, D. N., & Kopp, J. (2005). Treatment of second-degree facial burns with allografts—preliminary results. *Burns*, 31(5), 597-602. doi: 10.1016/j.burns.2005.01.011.
166. Snell, J. A., Loh, N. H., Mahambrey, T., & Shokrollahi, K. (2013). Clinical review: the critical care management of the burn patient. *Critical Care*, 17(5), 241. doi: 10.1186/cc12706.
167. Bush, K., & Gertzman, A. A. (2016). Process Development and Manufacturing of Human and Animal Acellular Dermal Matrices, 83-108. doi: 10.1016/B978-0-12-801654-1.00005-X.
168. Finnerty, C. C., Jeschke, M. G., Branski, L. K., Barret, J. P., Dziewulski, P., & Herndon, D. N. (2016). Hypertrophic scarring: the greatest unmet challenge after burn injury. *The Lancet*, 388(10052), 1427-1436. doi: 10.1016/S0140-6736(16)31406-4.
169. Carlsson, A. H., Rose, L. F., Fletcher, J. L., Wu, J. C., Leung, K. P., & Chan, R. K. (2017). Antecedent thermal injury worsens split-thickness skin graft quality: A clinically relevant porcine model of full-thickness burn, excision, and grafting. *Burns*, 43(1), 223-231. doi: 10.1016/j.burns.2016.08.006.
170. Stekelenburg, C. M., Simons, J. M., Tuinebreijer, W. E., & van Zuijlen, P. P. (2016). Analyzing contraction of full-thickness skin grafts in time: Choosing the donor site does matter. *Burns*, 42(7), 1471-1476. doi: 10.1016/j.burns.2016.02.001.
171. Коваленко, О.М. (2010). Сучасні ранові покриття. Сучасні медичні технології, 4, 88-97.
172. Shi, C., Wang, C., Liu, H., Li, Q., Li, R., Zhang, Y., ... Wang, J. (2020). Selection of Appropriate Wound Dressing for Various Wounds. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 8, 182. doi: 10.3389/fbioe.2020.00182.
173. Pacher, P., Nivorozhkin, A., & Szabó, C. (2006). Therapeutic effects of xanthine oxidase inhibitors: renaissance half a century after the discovery of allopurinol. *Pharmacological Reviews*, 58(1), 87-114. doi: 10.1124/pr.58.1.6.

174. Reiter, R. J., Tan, D. X., Osuna, C., & Gitto, E. (2000). Actions of melatonin in the reduction of oxidative stress: A review. *Journal of Biomedical Science*, 7(6), 444-458. doi: 10.1007/BF02253360.
175. Ning, X. H., Ge, X. F., Cui, Y., & An, H. X. (2013). Ulinastatin inhibits unilateral ureteral obstruction-induced renal interstitial fibrosis in rats via transforming growth factor  $\beta$  (TGF- $\beta$ )/Smad signalling pathways. *International Immunopharmacology*, 15(2), 406-413. doi: 10.1016/j.intimp.2012.12.019.
176. Sahib, A. S., Al-Jawad, F. H., & Al-Kaisy, A. A. (2011). Burns, endothelial dysfunction, and oxidative stress: the role of antioxidants. *Annals of Burns and Fire Disasters*, 22(1), 6-11.
177. Zhang, Z., Zhang, Y., Deng, Y., Li, S., Zhou, W., Yang, C., ... Li, T. (2018). Polymerized human placenta hemoglobin attenuates myocardial injury and aortic endothelial dysfunction in a rat model of severe burns. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 46(6), 1141-1145. doi: 10.1080/21691401.2017.1396999.
178. Kremer, T., Harenberg, P., Hernekamp, F., Riedel, K., Germann, G., Heitmann, C., & Walther, A. (2010). High-dose vitamin C treatment reduces capillary leakage after burn plasma transfer in rats. *Journal of Burn Care & Research*, 31(3), 470-479. doi: 10.1097/BCR.0b013e3181db5199.
179. Ghanayem, H. (2012). Towards evidence-based emergency medicine: Best BETs from the Manchester Royal Infirmary. BET 3: Vitamin C in severe burns. *Emergency Medicine Journal*, 29(12), 1017-1018. doi: 10.1136/emered-2012-202054.4.
180. Zang, Q., Maass, D. L., White, J., & Horton, J. W. (2007). Cardiac mitochondrial damage and loss of ROS defense after burn injury: the beneficial effects of antioxidant therapy. *Journal of Applied Physiology*, 102(1), 103-112. doi: 10.1152/jappphysiol.00359.2006.
181. Bakhtyar, T. S. N., Sivayoganathan, T., & Jeschke, M. G. (2015). Therapeutic Approaches to Combatting Hypermetabolism in Severe Burn Injuries. *Journal of Intensive and Critical Care*, 1. doi: 10.21767/2471-8505.10006.
182. El Khatib, A., & Jeschke, M. G. (2021). Contemporary Aspects of Burn Care. *Medicina*, 57(4), 386. doi: 10.3390/medicina57040386.

183. Козинець, Г. П., Коваленко, О. М., & Слесаренко, С. В. (2006). Опікова хвороба. Мистецтво лікування, 9-15.
184. Singer, P., Blaser, A. R., Berger, M. M., Alhazzani, W., Calder, P. C., Casaer, M. P., ... van Zanten, A. R. H. (2019). ESPEN guideline on clinical nutrition in the intensive care unit. *Clinical Nutrition*, 38(1), 48–79. doi: 10.1016/j.clnu.2018.08.037.
185. Ueland, P. M., Refsum, H., Stabler, S. P., Malinow, M. R., Andersson, A., & Allen, R. H. (1993). Total homocysteine in plasma or serum: methods and clinical applications. *Clinical Chemistry*, 39(9), 1764-1779.
186. Amores-Sánchez, M. I., & Medina, M. A. (2000). Methods for the determination of plasma total homocysteine: a review. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 38(3), 199-204.
187. Rossi, G. P., Seccia, T. M., Albertin, G., Pessina, A. C. (2000). Measurement of endothelin: clinical and research use. *Annals of Clinical Biochemistry*, 37 (Pt 5), 608-26.
188. Hodeib, A. A., Elsharawy, T. A., & Fawzi, H. A. (2010). Assessment of serum homocysteine, endothelin-1, and nitric oxide levels in Behçet's disease. *Indian Journal of Dermatology*, 55(3), 215-220.
189. Guevara, I., Iwanejko, J., Dembińska-Kieć, A., Pankiewicz, J., Wanat, A., Anna, P., ... Szczudlik, A. (1998). Determination of nitrite/nitrate in human biological material by the simple Griess reaction. *Clinical Chemistry Acta*, 274(2), 177–188.
190. В.М. Михайленко, П.М. Михайленко, І.С. Головіна. (2011). Маркери нітрозативного стресу при інгаляційній дії оксидів азоту в нормі та при пухлинному рості. *Український журнал сучасних проблем токсикології*, 4, 28-35.
191. Oradova, A.Sh., Saduakasova, K.Z., Lesov, S.D. (2017). Laboratory Diagnosis of Cytokines. *Vestnik KAZNMU*, 2, 210-213.
192. Amsen, D., de Visser, K. E., & Town, T. (2009). Approaches to determine expression of inflammatory cytokines. In *Methods in molecular biology* (Clifton, N.J.) (Vol. 511, pp. 107-142). doi: 10.1007/978-1-59745-447-6\_5.



193. Veremeyenko, K. N., Goloborodko, O. P., & Kizim, A. I. (1988). *Proteolysis: norm and pathology*. Kyiv: Zdorov'ya.
194. Ou, Y., Wilson, R. E., & Weber, S. G. (2018). Methods of Measuring Enzyme Activity Ex Vivo and In Vivo. *Annual review of analytical chemistry* (Palo Alto, Calif.), 11(1), 509–533. doi: 10.1146/annurev-anchem-061417-125619.
195. V. RP. (1999). Measuring units of enzyme activity. *Ukr.Biochem.J.*, 71(2), 76-79.
196. Samokhina, L. M., Topchiy, I. I., & Nesen, A. A. (2011). Calpains in the proteinase-proteinase inhibitor system in hypertension and chronic kidney disease. *World of Medicine and Biology*, 7(3), 116-121.
197. Park, B. H., Fikrig, S. M., & Smithwick, E. M. (1968). Infection and nitroblue-tetrazolium reduction by neutrophils: A diagnostic acid. *Lancet*, 292(7567), 532-534. doi: 10.1016/s0140-6736(68)92406-9.
198. Goldblum, J. R., Lamps, L. W., & McKenney, J. K. (2011). *Rosai and Ackerman's Surgical Pathology* (Vol. 1, pp. 25-93).
199. Kumar, V., Abbas, A. K., Aster, J. C., & Robbins, S. L. (2015). *Robbins & Cotran Pathologic Basis of Disease*. Elsevier/Saunders.
200. Dabbs, D. J. (2021). *Diagnostic Immunohistochemistry* (6th ed.). Elsevier.
201. Medina-Leyte, D. J., Zepeda-García, O., Domínguez-Pérez, M., González-Garrido, A., Villarreal-Molina, T., & Jacobo-Albavera, L. (2021). Endothelial Dysfunction, Inflammation and Coronary Artery Disease: Potential Biomarkers and Promising Therapeutical Approaches. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(8). doi: 10.3390/ijms22083850.
202. Gambardella, J., Khondkar, W., Morelli, M. B., Wang, X., Santulli, G., & Trimarco, V. (2020). Arginine and Endothelial Function. *Biomedicines*, 8(8), 277. doi: 10.3390/biomedicines8080277.
203. Cyr, A. R., Huckaby, L. V., Shiva, S. S., & Zuckerbraun, B. S. (2020). Nitric Oxide and Endothelial Dysfunction. *Critical Care Clinics*, 36(2), 307-321. doi: 10.1016/j.ccc.2019.12.009.

204. Akar, E., Emon, S. T., Uslu, S., Orakdogan, M., & Somay, H. (2019). Effect of L-Arginine Therapy on Vasospasm: Experimental Study in Rats. *World Neurosurgery*, 132, e443–e446. doi: 10.1016/j.wneu.2019.08.119.
205. Arribas-López, E., Zand, N., Ojo, O., Snowden, M. J., & Kochhar, T. (2021). The Effect of Amino Acids on Wound Healing: A Systematic Review and Meta-Analysis on Arginine and Glutamine. *Nutrients*, 13(8). doi: 10.3390/nu13082498.
206. Haghighatdoost, F., Jabbari, M., & Hariri, M. (2019). The effect of L-carnitine on inflammatory mediators: a systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 75(8), 1037–1046. doi: 10.1007/s00228-019-02666-5.
207. Virmani, M. A., & Cirulli, M. (2022). The Role of L-Carnitine in Mitochondria, Prevention of Metabolic Inflexibility and Disease Initiation. *International Journal of Molecular Sciences*, 23, 2717. doi: 10.3390/ijms23052717.
208. Sharma, S., & Black, S. M. (2009). Carnitine homeostasis, mitochondrial function, and cardiovascular disease. *Drug Discovery Today: Disease Mechanisms*, 6(1-4), e31–e39. doi: 10.1016/j.ddmec.2009.02.001.
209. Tian, X. X., Kong, W. C., Li, P. T., Xia, Z. G., Xu, J. G., Xu, Q. L. (2020). Effects of early supplement of exogenous L-carnitine on renal function in severely scalded rats. *Zhonghua Shao Shang Za Zhi*, 36(7), 553-559.
210. Li, P., Xia, Z., Kong, W., Wang, Q., Zhao, Z., Arnold, A., Xu, Q., Xu, J. (2021). Exogenous L-carnitine ameliorates burn-induced cellular and mitochondrial injury of hepatocytes by restoring CPT1 activity. *Nutrition & Metabolism*, 18. doi: 10.1186/s12986-021-00592-x.
211. Li, S., Liu, M., Chen, J., Chen, Y., Yin, M., Zhou, Y., Li, Q., Xu, F., Li, Y., Yan, X., Xia, Y., Chen, A., Lu, D., Li, C., Shen, L., Chen, Z., Qian, J., & Ge, J. (2023). L-carnitine alleviates cardiac microvascular dysfunction in diabetic cardiomyopathy by enhancing PINK1-Parkin-dependent mitophagy through the CPT1a-PHB2-PARL pathways. *Acta Physiologica*, e13975. doi: 10.1111/apha.13975.

212. Fu, Y., Wang, X., Kong, W. (2018). Hyperhomocysteinaemia and vascular injury: advances in mechanisms and drug targets. *British Journal of Pharmacology*, 175(8), 1173-1189. doi: 10.1111/bph.13988.
213. Xi, H., Zhang, Y., Xu, Y., Yang, W. Y., Jiang, X., Sha, X., Cheng, X., Wang, J., Qin, X., Yu, J., Ji, Y., Yang, X., Wang, H. (2016). Caspase-1 Inflammasome Activation Mediates Homocysteine-Induced Pyrop-Apoptosis in Endothelial Cells. *Circulation Research*, 118(10), 1525-1539. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.116.308501.
214. Perrin-Sarrado, C., Zhou, Y., Salgues, V., Parent, M., Giummelly, P., Lartaud, I., Gaucher, C. (2020). S-Nitrosothiols as potential therapeutics to induce a mobilizable vascular store of nitric oxide to counteract endothelial dysfunction. *Biochemical Pharmacology*, 173:113686. doi: 0.1016/j.bcp.2019.113686.
215. Chiang, C. W., Jhang, K. W., Chen, J. L., Hsu, L. C., Huang, W. H., Chen, H. C., Lin, T. J., Sun, C. Y., Li, Y. N. (2023). Promotion of S-nitrosation of cysteine by a  $\{Co(NO)_2\}_{10}$  complex. *Chemical Communications*, 64, 9774-9777. doi: 10.1039/d3cc02784h.
216. Jaworski, K., Kinard, F., Goldstein, D., Holvoet, P., Trouet, A., Schneider, Y. J., & Remacle, C. (2001). S-nitrosothiols do not induce oxidative stress, contrary to other nitric oxide donors, in cultures of vascular endothelial or smooth muscle cells. *European Journal of Pharmacology*, 425(1), 11-19. doi: 10.1016/s0014-2999(01)01166-9.
217. Козинець, Г. П., Осадча, О. І., Коваленко, О. М., & Линник, О. М. (2019). Вплив раннього процесу на формування системної запальної відповіді та раннього сепсису у хворих з опіками в гострому періоді опікової хвороби. *Сучасні медичні технології*, 2(41), 13-20.
218. Ткаченко, А. С., Гопкалов, В. Г., & Орлова, М. А. (2014). Система генерації оксиду азоту тонкої кишки при експериментальному гастроентероколіті. *Буковинський медичний вісник*, 18(2), 109-112.
219. Rowan, M. P., Cancio, L. C., Elster, E. A., Burmeister, D. M., Rose, L. F., Natesan, S., Chan, R. K., Christy, R. J., Chung, K. K. (2015). Burn wound healing and

- treatment: review and advancements. *Critical Care*, 19(1), 243. doi: 10.1186/s13054-015-0961-2.
220. Jackson, W. M., Nesti, L. J., & Tuan, R. S. (2012). Mesenchymal stem cell therapy for attenuation of scar formation during wound healing. *Stem Cell Research & Therapy*, 3(20). doi: 10.1186/scrt111. Didion, S. P. (2017). Cellular and Oxidative Mechanisms Associated with Interleukin-6 Signaling in the Vasculature. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(12). <https://doi.org/10.3390/ijms18122563>
221. Didion, S. P. (2017). Cellular and Oxidative Mechanisms Associated with Interleukin-6 Signaling in the Vasculature. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(12), Article 2563. <https://doi.org/10.3390/ijms18122563>
222. Boraschi, D. (2022). What Is IL-1 for? The Functions of Interleukin-1 Across Evolution. *Frontiers in Immunology*, 13(872155). <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.872155>
223. Ross, S. H., & Cantrell, D. A. (2018). Signaling and Function of Interleukin-2 in T Lymphocytes. *Annual Review of Immunology*, 36, 411-433. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-042617-053352>
224. Cozzolino, F., Torcia, M., Lucibello, M., Morbidelli, L., Ziche, M., Platt, J., ... Stern, D. (1993). Interferon-alpha and interleukin 2 synergistically enhance basic fibroblast growth factor synthesis and induce release, promoting endothelial cell growth. *Journal of Clinical Investigation*, 91(6), 2504-2512. <https://doi.org/10.1172/JCI116486>
225. Doersch, K. M., DelloStritto, D. J., & Newell-Rogers, M. K. (2017). The contribution of interleukin-2 to effective wound healing. *Experimental Biology and Medicine*, 242(4), 384-396. <https://doi.org/10.1177/1535370216675773>
226. Krzyszczyk, P., Schloss, R., Palmer, A., & Berthiaume, F. (2018). The Role of Macrophages in Acute and Chronic Wound Healing and Interventions to Promote Pro-wound Healing Phenotypes. *Frontiers in Physiology*, 9, 419. <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.00419>

227. Olczyk, P., Mencner, Ł., & Komosinska-Vassev, K. (2014). The role of the extracellular matrix components in cutaneous wound healing. *BioMed Research International*, 747584. <https://doi.org/10.1155/2014/747584>
228. Larouche, J., Sheoran, S., Maruyama, K., & Martino, M. M. (2018). Immune Regulation of Skin Wound Healing: Mechanisms and Novel Therapeutic Targets. *Advances in Wound Care (New Rochelle)*, 7(7), 209-231. <https://doi.org/10.1089/wound.2017.0761>
229. Sierawska, O., Małkowska, P., Taskin, C., Hrynkiewicz, R., Mertowska, P., Grywalska, E., ... Strużyna, J. (2022). Innate Immune System Response to Burn Damage-Focus on Cytokine Alteration. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(2), 716. <https://doi.org/10.3390/ijms23020716>
230. Ji, J., Su, L., & Liu, Z. (2016). Critical role of calpain in inflammation (Review). *Biomedical Reports*, 5(6), 647-652. <https://doi.org/10.3892/br.2016.785>
231. Howatt, D. A., Balakrishnan, A., Moorleghen, J. J., Muniappan, L., Rateri, D. L., Uchida, H. A., Subramanian, V. (2016). Leukocyte Calpain Deficiency Reduces Angiotensin II-Induced Inflammation and Atherosclerosis But Not Abdominal Aortic Aneurysms in Mice. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 36(5), 835-845. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.116.307285>
232. Du, P. R., Lu, H. T., Lin, X. X., Wang, L. F., Wang, Y. X., Gu, X. M., ... Zhou, J. J. (2018). Calpain inhibition ameliorates scald burn-induced acute lung injury in rats. *Burns & Trauma*, 6(28). <https://doi.org/10.1186/s41038-018-0130-3>
233. Baud, L., Fouqueray, B., Bellocq, A., & Peltier, J. (2003). Les calpaïnes participent au développement de la réaction inflammatoire [Calpains participate in inflammatory reaction development]. *Medecine Sciences*, 19(1), 71-76. <https://doi.org/10.1051/medsci/200319171>
234. Shi, H., Yu, Y., Liu, X., Yu, Y., Li, M., Wang, Y., ... Ge, J. (2022). Inhibition of calpain reduces cell apoptosis by suppressing mitochondrial fission in acute viral myocarditis. *Cell Biology and Toxicology*, 38(3), 487-504. <https://doi.org/10.1007/s10565-021-09634-9>

235. Metwally, E., Zhao, G., & Zhang, Y. Q. (2021). The calcium-dependent protease calpain in neuronal remodeling and neurodegeneration. *Trends in Neuroscience*, 44(9), 741-752. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2021.07.003>
236. Janciauskiene, S., Wrenger, S., Immenschuh, S., Olejnicka, B., Greulich, T., Welte, T., & Chorostowska-Wynimko, J. (2018). The Multifaceted Effects of Alpha1-Antitrypsin on Neutrophil Functions. *Frontiers in Pharmacology*, 9, 341. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00341>
237. Vandooren, J., & Itoh, Y. (2021). Alpha-2-Macroglobulin in Inflammation, Immunity and Infections. *Frontiers in Immunology*, 12(803244). <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.803244>
238. Wu, S. M., Patel, D. D., & Pizzo, S. V. (1998). Oxidized alpha2-macroglobulin (alpha2M) differentially regulates receptor binding by cytokines/growth factors: implications for tissue injury and repair mechanisms in inflammation. *The Journal of Immunology*, 161(8), 4356-4365.
239. Qiu, J., Xiao, X., Gao, X., & Zhang, Y. (2020). Ulinastatin protects against sepsis induced myocardial injury by inhibiting NLRP3 inflammasome activation. *Molecular Medicine Reports*, 24(4), 730. <https://doi.org/10.3892/mmr.2021.12369>
240. Baroja-Mazo, A., Martín-Sánchez, F., Gomez, AI, Martinez, CM, Amores-Iniesta, J., Compan, V., Barberà-Cremades, M., Yagüe, J., Ruiz-Ortiz, E., Antón, J., Buján, S., Couillin, I., Brough, D., Arostegui, JI, & Pelegrín, P. (2014). The NLRP3 inflammasome is released as a particulate danger signal that amplifies the inflammatory response. *Nature Immunology*, 15(8), 738-748. <https://doi.org/10.1038/ni.2919>
241. Karnad, DR., Bhadade, R., Verma, PK., Moulick, ND., Daga, MK., Chafekar, ND., & Iyer, S. (2014). Intravenous administration of ulinastatin (human urinary trypsin inhibitor) in severe sepsis: a multicenter randomized controlled study. *Intensive Care Medicine*, 40(6), 830-838. <https://doi.org/10.1007/s00134-014-3278-8>
242. Cao, YZ., Tu, YY., Chen, X., Wang, BL., Zhong, YX., & Liu, MH. (2012). Protective effect of Ulinastatin against murine models of sepsis: inhibition of TNF- $\alpha$  and IL-6

- and augmentation of IL-10 and IL-13. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 64(6), 543-547. <https://doi.org/10.1016/j.etp.2010.11.011>
243. Luo, HM., Du, MH., Lin, ZL., Hu, Q., Zhang, L., Ma, L., ... Sheng, ZY. (2013). Ulinastatin suppresses burn-induced lipid peroxidation and reduces fluid requirements in a Swine model. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 904370. <https://doi.org/10.1155/2013/904370>
244. Liu, D., Yu, Z., Yin, J., Chen, Y., Zhang, H., Xin, F., & Wan, B. (2017). Effect of ulinastatin combined with thymosin alpha 1 on sepsis: A systematic review and meta-analysis of Chinese and Indian patients. *Journal of Critical Care*, 39, 259-266. <https://doi.org/10.1016/j.jcrc.2016.12.013>
245. Zhang, X., Ostrov, DA., & Tian, H. (2022). Alpha-1 antitrypsin: A novel biomarker and potential therapeutic approach for metabolic diseases. *Clinical Chimica Acta*, 534, 71-76. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2022.07.005>
246. Shahaf, G., Moser, H., Ozeri, E., Mizrahi, M., Abecassis, A., & Lewis, EC. (2011).  $\alpha$ -1-antitrypsin gene delivery reduces inflammation, increases T-regulatory cell population size and prevents islet allograft rejection. *Molecular Medicine*, 17(9-10), 1000-1011. <https://doi.org/10.2119/molmed.2011.00145>
247. Crawford, C. (1987). Inhibition of chicken calpain II by proteins of the cystatin superfamily and alpha 2-macroglobulin. *Biochemical Journal*, 248(2), 589-594. <https://doi.org/10.1042/bj2480589>
248. Hirano, T. (2021). IL-6 in inflammation, autoimmunity and cancer. *International Immunology*, 33(3), 127-148. <https://doi.org/10.1093/intimm/dxaa078>
249. Krizanova, O., Penesova, A., Sokol, J., Hokynkova, A., Samadian, A., Babula, P. (2022). Signaling pathways in cutaneous wound healing. *Frontiers in Physiology*, 13, Article 1030851. <https://doi.org/10.3389/fphys.2022.1030851>
250. Zaremba, I. E., Karpliak, V. M. (2012). Effect of cytoprotectors on lipid metabolism and C-reactive protein in patients with coronary heart disease. *Likarska sprava*, 7, 97-100.



251. Mehrabani, D., Farjam, M., Geramizadeh, B., Tanideh, N., Amini, M., Panjehshahin, M. R. (2015). The healing effect of curcumin on burn wounds in rats. *World Journal of Plastic Surgery*, 4(1), 29-35.
252. Hoa, N. T., Van Bay, M., Mechler, A., Vo, Q. V. (2022). Theoretical insights into the antiradical activity and copper-catalyzed oxidative damage of mexidol in the physiological environment. *Royal Society Open Science*, 9(1). <https://doi.org/10.1098/rsos.211239>
253. Gupta, D. S., Bagwe Parab, S., Kaur, G. (2022). Promising effects of emoxypine and its succinate derivative in the management of various diseases - with insights on recent patent applications. *Current Research in Pharmacology and Drug Discovery*, 3. <https://doi.org/10.1016/j.crphar.2022.100121>
254. Sakamoto, M., Takeshige, K., Yasui, H., Tokunaga, K. (1998). Cardioprotective effect of succinate against ischemia/reperfusion injury. *Surgery Today*, 28(5), 522-528. <https://doi.org/10.1007/s005950050177>
255. Cairns, C. B., Ferroggiaro, A. A., Walther, J. M., Harken, A. H., Banerjee, A. (1997). Postischemic administration of succinate reverses the impairment of oxidative phosphorylation after cardiac ischemia and reperfusion injury. *Circulation*, 96(9 Suppl), 4 Nov 1997.
256. Hancock, C. N., Liu, W., Alvord, W. G., Phang, J. M. (2016). Co-regulation of mitochondrial respiration by proline dehydrogenase/oxidase and succinate. *Amino Acids*, 48(3), 859-872. <https://doi.org/10.1007/s00726-015-2134-7>
257. Беленічев, І. Ф., Губський, Ю. І., Левицький, Є. Л. (2002). Антиоксидантна система захисту організму (огляд літератури). *Современные проблемы токсикологии*, 3, 24-31.
258. Janaszak-Jasiecka, A., Płoska, A., Wierońska, J. M., Dobrucki, L. W., Kalinowski, L. (2023). Endothelial dysfunction due to eNOS uncoupling: molecular mechanisms as potential therapeutic targets. *Cell and Molecular Biology Letters*, 28(1), 21. <https://doi.org/10.1186/s11658-023-00423-2>

259. Zheng, D., Liu, J., Piao, H., Zhu, Z., Wei, R., Liu, K. (2022). ROS-triggered endothelial cell death mechanisms: Focus on pyroptosis, parthanatos, and ferroptosis. *Frontiers in Immunology*, 13, Article 1039241. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022>
260. Ivaska, J., Pallari, H. M., Nevo, J., Eriksson, J. E. (2007). Novel functions of vimentin in cell adhesion, migration, and signaling. *Experimental Cell Research*, 313(10), 2050-2062. <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2007.03.040>
261. Dave, J. M., Bayless, K. J. (2014). Vimentin as an integral regulator of cell adhesion and endothelial sprouting. *Microcirculation*, 21(4), 333-344. <https://doi.org/10.1111/micc.12111>
262. Cheng, F., Shen, Y., Mohanasundaram, P., Lindström, M., Ivaska, J., Ny, T., Eriksson, J. E. (2016). Vimentin coordinates fibroblast proliferation and keratinocyte differentiation in wound healing via TGF- $\beta$ -Slug signaling. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 113(30), 4320-4327. <https://doi.org/10.1073/pnas.1519197113>
263. Abraham, V., Parambath, A., Joe, D. S., DeLisser, H. M. (2016). Influence of PECAM-1 ligand interactions on PECAM-1-dependent cell motility and filopodia extension. *Physiological Reports*, 4(22). <https://doi.org/10.14814/phy2.13030>
264. Park, S., Sorenson, C. M., Sheibani, N. (2015). PECAM-1 isoforms, eNOS and endoglin axis in regulation of angiogenesis. *Clinical Science*, 129(3), 217-234. <https://doi.org/10.1042/CS20140714>
265. Peach, C. J., Mignone, V. W., Arruda, M. A., Alcobia, D. C., Hill, S. J., Kilpatrick, L. E., Woolard, J. (2018). Molecular Pharmacology of VEGF-A Isoforms: Binding and Signaling at VEGFR2. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(4), 1264. <https://doi.org/10.3390/ijms19041264>
266. Briançon-Marjollet, A., Henri, M., Pépin, J. L., Lemarié, E., Lévy, P., Tamisier, R. (2014). Altered in vitro endothelial repair and monocyte migration in obstructive sleep apnea: implication of VEGF and CRP. *Sleep*, 37(11), 1825-1832. <https://doi.org/10.5665/sleep.4180>
267. Patterson, A. L., Zhang, L., Arango, N. A., Teixeira, J., Pru, J. K. (2013). Mesenchymal-to-epithelial transition contributes to endometrial regeneration

- following natural and artificial decidualization. *Stem Cells and Development*, 22(6), 964-974. <https://doi.org/10.1089/scd.2012.0435>
268. Gál, P., Vasilenko, T., Kostelníková, M., Jakubco, J., Kovác, I., Sabol, F., André, S., Kaltner, H., Gabius, H. J., Smetana, K. Jr. (2011). Open wound healing in vivo: Monitoring binding and presence of adhesion/growth-regulatory galectins in rat skin during the course of complete re-epithelialization. *Acta Histochemica et Cytochemica*, 5, 191-199. <https://doi.org/10.1267/ahc.11014>
269. Schepler, H., Neufurth, M., Wang, S., She, Z., Schröder, H. C., Wang, X., Müller, W. E. G. (2022). Acceleration of chronic wound healing by bio-inorganic polyphosphate: In vitro studies and first clinical applications. *Theranostics*, 12(1), 18-34. <https://doi.org/10.7150/thno.67148>
270. Kovalenko, A. O., Kozynets, H. P., Kovalenko, O. M., Osadcha, O. I. (2018). Influence of surgical treatment on thermal burns to natural resistance and scar development. *Plastic, Reconstructive and Aesthetic Surgery*, 1-2, 48-60.

## ДОДАТКИ

### Додаток А

#### Список публікацій здобувача за темою дисертації

1. Козинець Г.П., Осадча О. І., Линник О. М., Шматова О. О. Вплив препаратів ендотеліотропної дії на показники ранового процесу у хворих з опіками. *Modern Medical Technology*. 2018;4(39):14-18.

2. Козинець Г. П., Осадча О. І., Коваленко О. М., Линник О. М. Вплив ранового процесу на формування системної запальної відповіді та раннього сепсису у хворих з опіками в гострому періоді опікової хвороби. *Modern Medical Technology*. 2019 Aug;2(41)part 3:13-20.

3. Линник О.М., Осадча О.І., Козинець Г.П., Янчій І.Р., Шматова О.О., Боярська Г.М. Особливості формування імунної відповіді на термічну травму. *Fiziol. Zh.* 2021; 67(6): 32-39  
DOI: 10.15407/fz67.06.032

4. Линник О.М., Козинець Г.П., Осадча О.І. Результати застосування препарату інгібітора протеаз у пацієнтів в гострому періоді опікової хвороби/ *Modern Medical Technology*. 2022 Mar;1(52):56-61.  
DOI: 10.34287/ММТ.1(52).2022.10

5. Козинець Г.П., Осадча О.І., Линник О.М., Жернов О.А. Особливості формування системної запальної відповіді у пацієнтів у гострий період опікової хвороби. *Український медичний часопис*. 2022 May;3(149):61-65.  
DOI: 10.32471/umj.1680-3051.149.229080

6. Коваленко О.М., Осадча О.І., Коваленко А.О., Гриша А.С., Линник О.М., Белінська Н.Г. Особливості лікування сепсису у хворих з опіковою хворобою. *Perioperaciina Medicina*. 2020 June;3(1):14-20.  
DOI: 10.31636/prmd.v3i1.3

7. Линник О.М., Козинець Г.П. Застосування етилметилгідроксипіридину сукцинату у пацієнтів з опіками. *The Ukrainian Journal of Clinical Surgery*. 2023 March/April; 90(2):29-33.

DOI:10.26779/2786-832X.2023.2.29

8. Патент України UA 137777U від 11.11.2019р., бюл.№21. Спосіб лікування ендотеліальної дисфункції судин при опіковій хворобі з використанням комбінованого амінокисотно-антиоксидантного препарату ендотеліотропної дії Тіворелю. Козинець Г.П., Осадча О.І., Линник О.М. ДУ «Інститут гематології та трансфузіології НАМН України»

9. Осадча О.І., Линник О.М., Боярська Г.М. Визначення ефективності застосування комбінованого амінокисотно-антиоксидантного препарату для оптимізації місцевих та загальних реакцій неспецифічної резистентності у хворих з опіками. Матеріали XVII міжнародної конференції «Клініко-технологічні виклики в етапній та реконструктивній хірургії. Вогнепальні та побутові рани, електрозварювання та з'єднання живих тканин, діабетична стопа» Київ, 30 листопада – 2 грудня 2017р. с.28-29.

10. Дядик О.О., Козлова К.С., Линник О.М. Вплив комбінованого амінокисотно-антиоксидантного препарату ендотеліотропної дії на імуногістохімічні показники біоптатів опікових ран. Матеріали міжнародної науково-практичної конференції «Сучасна патоморфологічна діагностика в клінічній практиці лікаря» Вінниця, 10-11 квітня 2019 р. с. 63-65.

11. Heorhii Kozynets, Oksana Osadcha, Oleksandra Lynnyk. The effects of the amino acid – antioxidant drug on the immunological parameters of the inflammatory process and the violation of protein metabolism in patients with burn disease. 29th Conference of the European Wound Management Association, EWMA 2019, Gothenburg, Sweden 5-7 June 2019. p.91.

12. Козинець Г.П., Осадча О.І., Линник О.М. Ефективність застосування інгібітора протеаз у пацієнтів в гострому періоді опікової хвороби. Матеріали XIX Науково-практичної конференції з міжнародною участю «Клініко-технологічні виклики в етапній та реконструктивній хірургії. Вогнепальні та побутові рани, електрозварювання та з'єднання живих тканин, діабетична стопа» Київ, 28-29 листопада 2019. с.13-14.

13. Осадча О.І., Козинець Г.П., Линник О.М., Боярська Г.М., Коваленко О.М. Оксид азоту як фактор регуляції ранового процесу при термічній травмі. Матеріали XIX Науково-практичної конференції з міжнародною участю «Клініко-технологічні виклики в етапній та реконструктивній хірургії. Вогнепальні та побутові рани, електрозварювання та з'єднання живих тканин, діабетична стопа» Київ, 28-29 листопада 2019. с.31-32.

14. Коваленко О.М., Коваленко А.О., Осадча О.І., Линник О.М. Сучасні підходи до лікування поверхневих дермальних опіків. «Інфузія & Хіміотерапія» 3.1–2020. Матеріали IV Міжнародного конгресу з інфузійної терапії, Київ, 12-13 жовтня 2020 р. с. 40-41. DOI: 10.32902/2663-0338-2020-3.1-33.

15. Коваленко О.М., Осадча О.І., Коваленко А.О., Гриша А.С., Линник О.М., Белінська Н.Г. Інфузійна терапія при опіковому сепсисі. «Інфузія & Хіміотерапія» 3.1–2020. Матеріали IV Міжнародного конгресу з інфузійної терапії, Київ, 12-13 жовтня 2020 р. с. 42-43. DOI: 10.32902/2663-0338-2020-3.1-34

16. Oleksandra Lynnyk, Heorgii Kozynets, Oksana Osadcha, Olha Kovalenko. The effect of the arginine-carnitine drug usage on immunological parameters and indicators of endothelial dysfunction in patients with burns. P.017. Eur. Burn J. 2022, 3. p.685. DOI:10.26226/m.62df9e84b55c6b936e899396

17. Olga Kovalenko, Anton Kovalenko, Oleksandra Lynnyk, Natali Belinska, Andrew Grisha. Unintentional perioperative hypothermy in the burned. P.112. Eur. Burn J. 2022, 3. p.748-749. DOI:10.26226/m.62df9e84b55c6b936e899408

## Додаток Б

### Відомості про апробацію результатів дисертації

Основні положення дисертаційної роботи викладено та обговорено на науково-практичних конференціях:

- XVII - XXI науково-практичні конференції з міжнародною участю «Клініко-технологічні виклики в етапній та реконструктивній хірургії, вогнепальні та побутові поранення, електрозварювання та з'єднання живих тканин, діабетична стопа», Київ, листопад 2018 р., листопад 2019р., листопад 2020р., листопад 2021р.
- Міжнародна науково-практична конференція «Сучасна патоморфологічна діагностика в клінічній практиці лікаря», Вінниця, квітень 2019 р.
- The 29th Conference of the European Wound Management Association, EWMA, 5-7 June, 2019, Gothenburg, Sweden.
- XI Міжнародний медичний форум. IX Міжнародний медичний конгрес. Симпозіум «Актуальні питання екстреної медицини та медицини катастроф», Київ, вересень 2020р.
- IV Міжнародний конгрес з інфузійної терапії, Київ, жовтень 2020 р.
- 2020 Virtual Conference of the European Wound Management Association, November 2020.
- XXII науково-практична конференція з міжнародною участю «Клініко-технологічні виклики в етапній та реконструктивній хірургії. Вогнепальні та побутові ускладнені рани, опіки, рубцеві трансформації, виразки та нориці, електрозварювання та з'єднання живих тканин», Київ, грудень 2022р.
- EWMA-Journées Cicatrisations, Paris, France, May 2022
- 19th European Burns Association Congress, Turin, Italy, September 2022
- 32-га Міжнародна медична виставка, семінар «Опіки та рани військового часу», Київ, жовтень 2023р.



## Додаток В

«ЗАТВЕРДЖУЮ»  
1

Директор КНП «Київська міська клінічна лікарня №2»  
Пехура Т.В. ШІЧІНА  
«16» жовтня 2023 р.



## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Схеми трансфузійного забезпечення хірургічного лікування пацієнтів з опіками  
*найменування пропозиції для впровадження<sup>2</sup>*
2. Національний університет охорони здоров'я України імені П.Л.Шупика, 04112, м.Київ, вул. Дорогожицька, 9 Г.П. Козинець, О.М.Линник, О.І.Осадча.  
*Установа, що розробила, її поштова адреса, прізвище, ім'я, по батькові авторів<sup>2</sup>*
3. Джерела інформації: 1) Патент України UA 13777U від 11.11.2019р «Спосіб лікування ендотеліальної дисфункції судин при опіковій хворобі з використанням комбінованого амінокислотно-антиоксидантного препарату ендотеліотропної дії Тіворелю», 2) Линник О.М., Козинець Г.П., Осадча О.І. Результати застосування препарату інгібітора протеаз у пацієнтів в гострому періоді опікової хвороби/ Modern Medical Technology. 2022 Mar;1(52):56-61. DOI: 10.34287/MMT.1(52).2022.10  
*Назва, рік видання методичних рекомендацій*
4. Впроваджено в відділенні для лікування дорослих та дітей з опіками та відмороженнями з приймальним  
*Найменування лікувально-профілактичного закладу<sup>4</sup>*
5. Термін впровадження<sup>4</sup> з 2023 р.
6. Загальна кількість спостережень<sup>4</sup> 30
7. Ефективність впровадження у відповідності з критеріями, викладеними у джерелі інформації висока

Показники <sup>5</sup>	За даними	
	Авторів, які пропонують впровадження	Організації, що впровадила <sup>4</sup>
Вміст ендотеліну-1 в крові на 13-14 добу після термічного ураження (у.о. та % зниження відносно вихідних значень)	2,27 ± 0,46, Зниження на 33,82%	2,29 ± 0,4 Зниження на 33,71%
Показники фактору некрозу пухлин-1 (TNF-α) на 7-8 добу після термічного ураження, (Пг/мл та % зниження відносно вихідних значень)	255,06 ± 6,28 Зниження на 10%	256,34 ± 5,01 Зниження на 8,84%
Площа висічення некротизованих тканин	Зменшення	Зменшення
Термін проведення першої АДП, (доба та % зниження відносно вихідних значень)	12,85 ± 1,64 зниження на 20%	12-14-та доба Зниження на 18 %
Середній термін перебування пацієнта стаціонарі, доби	Зменшення термінів	Зменшення термінів

8. Зауваження, пропозиції<sup>6</sup> рекомендовано для впровадження в профільні відділення

«16» жовтня 2023 р.

Відповідальний за впровадження

Завідувачка відділення для лікування дорослих та дітей з опіками та відмороженнями з приймальним КНП «КМКЛ№2»

Сочіснова Л.С.

Посада, підпис, ім'я, по-батькові, прізвище



Директор КНМП «Кременчуцька міська лікарня планового лікування»

Мигаль

2023 р.



### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- Спосіб лікування ендотеліальної дисфункції судин при опіковій хворобі з використанням комбінованого амінокислотно-антиоксидантного препарату ендотеліотропної дії Тіворелю  
 \_\_\_\_\_  
 найменування пропозиції для впровадження<sup>2</sup>
- Національний університет охорони здоров'я України імені П.Л.Шупика "Інститут гематології та трансфузіології НАМН України", 04112, м.Київ, вул. Дорогожицька, 9 Г.П. Козинець, О.М.Линник, О.І.Осадча.  
 \_\_\_\_\_  
 Установа, що розробила її поштова адреса, прізвище, ім'я, по батькові авторів<sup>2</sup>
- Джерело інформації: Патент України UA 13777U від 11.11.2019р «Спосіб лікування ендотеліальної дисфункції судин при опіковій хворобі з використанням комбінованого амінокислотно-антиоксидантного препарату ендотеліотропної дії Тіворелю»  
 \_\_\_\_\_  
 Назва, рік видання методичних рекомендацій
- Впроваджено опіковому відділенні КНМП «Кременчуцька міська лікарня планового лікування»  
 \_\_\_\_\_  
 Найменування лікувально-профілактичного закладу<sup>4</sup>
- Термін впровадження<sup>4</sup> з 2020 р. по даний час
- Загальна кількість спостережень<sup>4</sup> \_18\_
- Ефективність впровадження у відповідності з критеріями, викладеними у джерелі інформації висока \_\_\_\_\_

Показники <sup>5</sup>	За даними	
	Авторів, які пропонують впровадження	Організації, що впровадила <sup>4</sup>
Вміст ендотеліну-1 в крові на 13-14-ту добу після термічного ураження (у.о. та % зниження відносно вихідних значень)	2,27 ± 0,46, Зниження на 33,82%	2,29 ± 0,49 Зниження на 33,71%
Термін проведення першої аутодермопластики, (доба та % зниження відносно вихідних значень)	12,85 ± 1,64 Зниження на 24%	Зниження на 23%
Терміни перебування пацієнтів в стаціонарі	Зменшення не менше ніж на 15%	Зменшення на 17%

- Зауваження, пропозиції рекомендовано для впровадження в профільні відділення

« 12 » жовтня 2023 р.

Відповідальний за впровадження  
Завідувач опіковим відділенням

КНМП «Кременчуцька міська лікарня планового лікування»

Посада, підпис, ім'я, по-батькові, прізвище



З.О.Гольберт



«ЗАТВЕРДЖУЮ»  
 КНП «Міська лікарня екстреної та швидкої медичної допомоги» ЗМР  
 В.о. директора Евгенія



«17» жовтня 2023 р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- Спосіб регуляції процесів системного запалення за допомогою застосування препарату інгібітору протеази (улінастатину).  
 найменування пропозиції для впровадження<sup>2</sup>
- Національний університет охорони здоров'я України імені П.Л.Шупика, 04112, м.Київ, вул. Дорогожицька, 9 Г.П. Козинець, О.М.Линник, О.І.Осадча.  
 Установа, що розробила, її поштова адреса, прізвище, ім'я, по батькові авторів<sup>2</sup>
- Джерело інформації:  
 Линник О.М., Козинець Г.П., Осадча О.І. Результати застосування препарату інгібітора протеаз у пацієнтів в гострому періоді опікової хвороби/ Modern Medical Technology. 2022. Mag.1(52):56-61.DOI: 10.34287/MMT.1(52).2022.10  
 Назва, рік видання методичних рекомендацій
- Впроваджено у відділенні термічної травми (опікове) та реконструктивної хірургії КНП «МЛЄ та ШМД» ЗМР  
 Найменування лікувально-профілактичного закладу<sup>4</sup>
- Термін впровадження<sup>4</sup> з 2023 р.
- Загальна кількість спостережень<sup>4</sup> 14
- Ефективність впровадження у відповідності з критеріями, викладеними у джерелі інформації висока

Показники <sup>5</sup>	За даними	
	Авторів, які пропонують впровадження	Організації, що впровадила <sup>4</sup>
TNF-α в крові на 13-14-ту добу після опікової травми, (Пг/мл та % зниження відносно вихідних значень)	236,60±8,78 не менше 6%	235,42 ± 9,30 6,18%
Зменшення кількості загальних інфекційно-запальних ускладнень	Зменшення щонайменше на 15 %	Зменшення
Терміни перебування пацієнтів в стаціонарі	Зменшення термінів	Зменшення термінів

- 8 Зауваження, пропозиції<sup>4</sup> рекомендовано для впровадження в профільні відділення

« \_\_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 202\_ р.

Відповідальний за впровадження  
 Завідувач відділення термічної травми (опікове) та реконструктивної хірургії

Посада, підпис, ім'я, по батькові, прізвище

Sesh A.V.





«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Директор  
Комунального некомерційного підприємства  
«Вінницький обласна клінічна лікарня  
ім. М.І. Пирогова Вінницької обласної Ради»

В. В. Паненко

« 10 » X 2023 р.

**АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ**

1. Спосіб лікування ендотеліальної дисфункції судин при опіковій хворобі з використанням комбінованого амінокислотно-антиоксидантного препарату ендотеліотропної дії Тіворелю  
*найменування пропозиції для впровадження*
2. Національний університет охорони здоров'я України імені П.Л.Шупика "Інститут гематології та трансфузіології НАМН України", 04112, м.Київ, вул. Дорогожицька, 9 Г.П. Козинець, О.М.Линник, О.І.Осадча.  
*Установа, що розробила, її поштова адреса, прізвище, ім'я, по батькові авторів<sup>2</sup>*
3. Джерело інформації: Патент України UA 13777U від 11.11.2019р «Спосіб лікування ендотеліальної дисфункції судин при опіковій хворобі з використанням комбінованого амінокислотно-антиоксидантного препарату ендотеліотропної дії Тіворелю»  
*Назва, рік видання методичних рекомендацій*
4. Впроваджено в Центрі термічної травми та пластичної хірургії КНП «Вінницька обласна клінічна лікарня ім. М.І. Пирогова Вінницької обласної Ради»  
*Найменування лікувально-профілактичного закладу<sup>4</sup>*  
Термін впровадження<sup>4</sup> з 2020 р. по даний час
5. Загальна кількість спостережень<sup>4</sup> 18
6. Ефективність впровадження у відповідності з критеріями, викладеними у джерелі інформації висока

Показники <sup>5</sup>	За даними	
	Авторів, які пропонують впровадження	Організації, що впровадила <sup>4</sup>
Вміст ендотеліну-1 в крові на 13-14-ту добу після термічного ураження (у.о. та % зниження відносно вихідних значень)	2,27 ± 0,46, Зниження на 33,82%	2,29 ± 0,49 Зниження на 33,71%
Термін проведення першої аутодермопластики, (доба та % зниження відносно вихідних значень)	12,85 ± 1,64 Зниження на 24%	13,47 ± 2,19 Зниження на 23%
Терміни перебування пацієнтів в стаціонарі	25,89 ± 2,93 Зменшення на 15%	24,35 ± 3,51 Зменшення на 17%

7. Зауваження, пропозиції<sup>4</sup> рекомендовано для впровадження в профільні відділення

Відповідальний за впровадження  
завідувач Центру термічної  
травми та пластичної хірургії,  
доктор медичних наук

Роман ЧОРНОПИЩУК

«ЗАТВЕРДЖУЮ»  
 Генеральний директор  
 Медичного об'єднання  
 Луцької міської ради  
 Духневич Л.П.  
 « 10 » \_\_\_\_\_ 20\_\_ р.

### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Спосіб регуляції процесів системного запалення за допомогою застосування препарату інгібітору протеази (улінастатину).

2. Національний університет охорони здоров'я України імені П.Л.Шупика, 04112, м.Київ, вул. Дорогожицька, 9 Г.П. Козинець, О.М.Линник, О.І.Осадча.

3. Джерело інформації:

Линник О.М., Козинець Г.П., Осадча О.І. Результати застосування препарату інгібітора протеаз у пацієнтів в гострому періоді опікової хвороби/ Modern Medical Technology. 2022 Mar;1(52):56-61.DOI: 10.34287/MMT.1(52).2022.10

4 Впроваджено в опіковому відділенні, реконструктивно-відновної хірургії та хірургії китиці МО ЛМТГ

4. Термін впровадження ' з 2023 р.

5. Загальна кількість спостережень ' 10

6. Ефективність впровадження у відповідності з критеріями, викладеними у джерелі інформації висока

Показники <sup>5</sup>	За даними	
	Авторів, які пропонують впровадження	Організації, що впровадила <sup>4</sup>
TNF-α в крові на 13-14-ту добу після опікової травми, (Пг/мл та % зниження відносно вихідних значень)	236,60±8,78 не менше 6%	230,4 ± 6,80 8%
Зменшення кількості загальних інфекційно-запальних ускладнень	Зменшення щонайменше на 15 %	Зменшення
Терміни перебування пацієнтів в стаціонарі	Зменшення термінів	Зменшення термінів

8 Зауваження, пропозиції' рекомендовано для впровадження в профільні відділення

« 10 » Жовтня 2023 р.

Відповідальний за впровадження

Завідувач опікового відділення, реконструктивно-відновної хірургії та хірургії китиці

**Трач Роман Ярославович**

Посада, підпис, ім'я, по батькові, прізвище





## Додаток Г



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **137777** (13) **U**

(51) МПК

**A61K 9/08** (2006.01)**A61K 31/205** (2006.01)**A61P 7/02** (2006.01)**A61P 7/08** (2006.01)**A61P 9/08** (2006.01)**A61P 9/10** (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО РОЗВИТКУ  
ЕКОНОМІКИ, ТОРГІВЛІ ТА  
СІЛЬСЬКОГО ГОСПОДАРСТВА  
УКРАЇНИ

**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ**

<p>(21) Номер заявки: <b>u 2019 03317</b></p> <p>(22) Дата подання заявки: <b>02.04.2019</b></p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: <b>11.11.2019</b></p> <p>(46) Публікація відомостей про видачу патенту: <b>11.11.2019, Бюл.№ 21</b></p>	<p>(72) Винахідник(и): <b>Козинець Георгій Павлович (UA), Осадча Оксана Іванівна (UA), Линник Олександра Миколаївна (UA)</b></p> <p>(73) Власник(и): <b>ДЕРЖАВНА УСТАНОВА "ІНСТИТУТ ГЕМАТОЛОГІЇ ТА ТРАНСФУЗІОЛОГІЇ НАМН УКРАЇНИ", вул. М. Берлінського, 12, м. Київ, 04080 (UA)</b></p>
--	---

**(54) СПОСІБ ЛІКУВАННЯ ЕНДОТЕЛІАЛЬНОЇ ДИСФУНКЦІЇ СУДИН ПРИ ОПІКОВІЙ ХВОРОБІ З ВИКОРИСТАННЯМ КОМБІНОВАНОГО АМІНОКИСЛОТНО-АНТИОКСИДАНТНОГО ПРЕПАРАТУ ЕНДОТЕЛІОТРОПНОЇ ДІЇ ТІВОРЕЛЮ**

(57) Реферат:

Спосіб лікування ендотеліальної дисфункції судин при опіковій хворобі включає використання комбінованого амінокислотно-антиоксидантного препарату ендотеліотропної дії, що містить в 1 мл розчину 42 мг аргініну та 20 мг левокарнітину, Тіворель (Tivor-L), у вигляді 5-7-денних курсів в дозі по 100 мл розчину на добу, внутрішньовенно, краплинно, зі швидкістю до 30 крапель на хвилину.

**UA 137777 U**