

## Зависимость дисфункции эндотелия при термической травме от микробной структуры ожоговых ран

Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского, Саратов

**Резюме.** Приведено исследование зависимости выраженности дисфункции эндотелия и системного воспалительного ответа от микробного пейзажа ожоговых ран у тяжелообожженных. Выявлено, что ожоговые раны чаще колонизовались ассоциациями микроорганизмов, реже – монокультурой. Наиболее часто выделялись следующие микроорганизмы: *S. aureus*, *S. epidermidis*, *Proteus vulgaris*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* в высоких титрах ( $10^6$ – $10^9$  колоние-образующих единиц). Данные микроорганизмы обладали полирезистентностью к большинству антибактериальных препаратов. С течением раневого процесса отмечалось снижение титра обсемененности микроорганизмами и состав микрофлоры ожоговых ран. Отмечено, что в первые сутки после травмы преобладали представители нормальной микрофлоры кожи пострадавшего, в период ожоговой интоксикации (7–15 сутки) преобладали грамотрицательные представители энтеробактерий и псевдомонад, в сроки позднее 15 суток происходила постепенная замена грамотрицательных микроорганизмов на грамположительные кокки. Наиболее тяжелое поражение эндотелия сосудов и выраженный системный воспалительный ответ наблюдались при ассоциации грамположительных и грамотрицательных или грамотрицательных и грамотрицательных микроорганизмов, наименьшее – при монокультуре грамположительных микроорганизмов. Это выразилось в росте уровней моноцитарного хемоаттрактантного протеина-1, фактора роста эндотелия сосудов, общего эндотелина, числа циркулирующих в крови эндотелиоцитов, а также высоких уровнях высокочувствительного С-реактивного белка, большем числе критериев синдрома системного воспалительного ответа, высоком лейкоцитарном индексе интоксикации. Худший прогноз этой категории пострадавших обусловлен высокой патогенностью и устойчивостью данных микроорганизмов. В связи с этим при лечении тяжелых ожогов рекомендовано учитывать микробный пейзаж ожоговых ран и проводить мониторинг факторов дисфункции эндотелия.

**Ключевые слова:** дисфункция эндотелия, ожоги, синдром системного воспалительного ответа, фактор роста эндотелия сосудов, моноцитарный хемоаттрактантный протеин-1, эндотелин, микрофлора.

**Введение.** Проблема лечения обширных ожогов остается актуальной до настоящего времени. От осложнений ожоговой болезни ежегодно в России умирает от 10 до 20 тысяч человек [1]. Наиболее частой причиной смерти больных с термической травмой остаются инфекция, сепсис и полиорганная недостаточность [1, 9, 10, 15]. Несмотря на множество работ, посвященных данной теме, это осложнение продолжает уносить жизни тысяч людей трудоспособного возраста.

Одним из ведущих механизмов развития системной полиорганной недостаточности (СПОН) является развитие синдрома системного воспалительного ответа (ССВО), поражение эндотелия сосудов, как продуктами собственных клеток, так и экзогенными токсинами [2; 5; 6; 11]. В результате нарушается большинство функций эндотелия, в т.ч. перенос кислорода и энергетических субстанций, удаление продуктов обмена из тканей, регуляция коагуляционных свойств крови, кооперация клеток иммунной системы [4; 11; 13]. Одним из факторов активации системного воспаления являются продукты жизнедеятельности микроорганизмов, колонизирующих ожоговые раны. От их вирулентности, наличия токсинов и устойчивости к антибактериальным препаратам зависит степень

нарушения функции эндотелия и соответственно тяжесть состояния больного [8, 14]. Учитывая роль инфекции в структуре летальности обожженных, не вызывает сомнения значимость изучения вопросов ее этиологии, патогенеза и лечения.

**Цель исследования.** Изучить зависимость между преобладающими в ожоговых ранах микроорганизмами и выраженностью системного воспалительного ответа, а также дисфункцией эндотелия.

**Материалы и методы.** Обследовано 25 пациентов в возрасте от 19 до 90 лет, пострадавших от ожогов и находившихся на лечении в Саратовском центре термических поражений с 2009 по 2012 гг. Критерием включения в исследование было наличие ожога тяжестью по индексу Франка в 30 и более баллов. При этом площадь глубоких ожогов составляла  $15,8 \pm 2,7\%$ , сроки лечения –  $45,1 \pm 4,1$  койко-дней. Летальность составила 6 (24%) больных.

С целью определения этиологической структуры ожоговых ран, динамики их количественной обсемененности и антибиотикограмм выделенных штаммов возбудителей проводились бактериологические исследования раневых отделяемых на 7-е, 15-е, 30-е и 45-е сутки с момента получения ожоговой травмы.

Сроки взятия исследуемого материала определялись фазами течения раневого процесса.

Забор материала осуществлялся с помощью стерильного мерного ватного тампона во время операций и перевязок. Указанный тампон с материалом помещался в пробирку со стерильным сахарным бульоном (5 мл) для транспортировки на кафедру микробиологии, вирусологии и иммунологии Саратовского медицинского университета, где проводились исследования и обработка полученных данных. Первичные посевы выполнялись на среды Эндо, мясо-пептонный агар и кровяной агар из разведения материала  $10^{-5}$  не позже 2 ч с момента взятия. Чистые культуры бактерий идентифицировались по морфолого-тинкториальным, культуральным и биохимическим свойствам (использовались API-пробы). Чувствительность выделенных штаммов к антибиотикам определялась диско-диффузионной методикой.

Больным помимо общеклинического, биохимического, коагулометрического анализов крови определяли показатели системного воспаления – количество баллов ССВО по R. Vone [7], уровень высокочувствительного С-реактивного белка (СРБ), величину лейкоцитарного индекса интоксикации Кальф-Калифа (ЛИИ), а также показатели дисфункции эндотелия – уровни фактора роста эндотелия сосудов (VEGF), моноцитарного хемоаттрактантного протеина-1 (MCP-1), общего эндотелина, число циркулирующих эндотелиальных клеток (ЦЭК) в сыворотке крови. Изучение уровня VEGF, MCP-1, общего эндотелина проводили с использованием количественных иммуноферментных проб на анализаторе «Stat Fax 2100» при помощи реактивов следующих производителей: VEGF – «Biosource», (Бельгия), MCP-1 – закрытое акционерное общество «Вектор Бест» (Новосибирск), общего эндотелина – «Biomedica Gruppe» (Австрия), С-реактивного белка – «CRP U-hs» универсальная высокочувствительная проба фирмы «DiaSys Diagnostics Systems GmbH» (Германия). Изучение числа ЦЭК в крови проводили по методике J. Hladovec в модификации Н.Н. Петрищева [3].

Пациенты, включенные в исследование, были разделены на 5 групп по преобладающей микрофлоре ожоговых ран: 1-я – в посеве только *S. aureus*; 2-я – в посеве только *E. coli*; 3-я – в посеве только *P. aeruginosa*; 4-я – в посеве ассоциации грамположи-

тельных и грамотрицательных микроорганизмов; 5-я – в посеве ассоциации грамотрицательных микроорганизмов.

Показатели пострадавших сравнивали посредством вычисления медианы и интерквартильного размаха. Достоверность различий проверяли по критериям Крускала – Уоллиса и Манна – Уитни. Критический уровень достоверности, принятый в данном исследовании был  $<0,05$ .

**Результаты и их обсуждение.** Видовой состав микроорганизмов, выделенных из ожоговых ран, представлен на рисунке 1.

Монокультуры микроорганизмов встречались в 42 (57%) случаях, ассоциации были выделены в 31 (43%) случае и представлены: *S. aureus* и *P. vulgaris*; *S. aureus* и *S. epidermidis*; *S. aureus* и *P. aeruginosa*; *P. vulgaris*, *E. coli*, *S. aureus*; *P. aeruginosa*, *K. Pneumonia*, *S. aureus* (рис. 1).

Микрофлора ожоговых ран подвергалась изменениям в зависимости от стадии раневого процесса. Так, в период формирования и отторжения ожогового струпа (7 сутки) в ранах преобладала грамотрицательная микрофлора (*P. aeruginosa*, *E. coli*, титр  $10^7$ – $10^9$  колоние-образующих единиц – КОЕ), представители которой присутствовали в монокультуре и в ассоциациях (рис. 2).

В период очищения ран и подготовки их к аутодермопластике (15 сутки) отмечено снижение доли грамотрицательных микроорганизмов, но сохранялось выделение грамположительных (*S. aureus*), которые изначально присутствовали в 100% случаев микробных ассоциаций в ожоговых ранах и в 37,5% случаев были выделены как монокультуры. Даже при отсутствии полного закрытия раны в период реконструктивной хирургии на 30 сутки после аутопластики отмечалось снижение микробной обсемененности ран до  $10^4$ – $10^5$  КОЕ (исходный показатель составлял более  $10^8$  КОЕ), так как уменьшилось содержание грамотрицательных бактерий (высеваемость *E. coli* и *P. aeruginosa* составила 28,5%, но доля *S. aureus* на этом фоне – 40,7%).

При этом изменение микробного пейзажа было наиболее выражено у больных с высокой степенью приживления аутодермотрансплантатов. Но и при частичном или полном лизисе аутодермотрансплан-

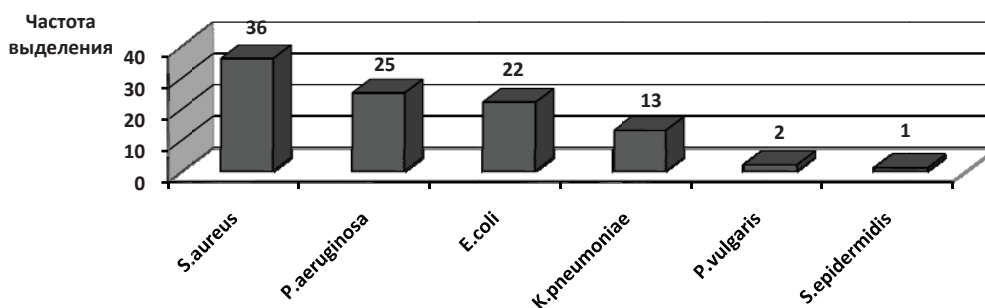


Рис. 1. Микроорганизмы, выделенные из ожоговых ран пострадавших

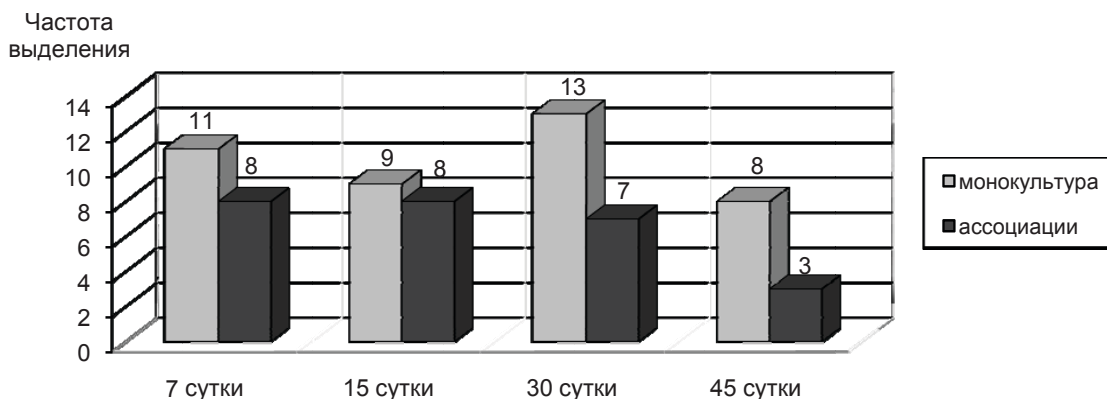


Рис. 2. Соотношение монокультуры и ассоциаций микроорганизмов у пострадавших от ожогов

татов имелось положительное влияние операции на состав раневой микрофлоры – снижение микробной обсемененности ран, уменьшение доли полиантибиотикорезистентных факультативных анаэробов (*E. coli* и *P. aeruginosa*). К 45 суткам из остаточных ран высевались только *S. aureus* и *E. coli* ( $10^4$ – $10^5$  КОЕ), рис. 3.

Высокий процент и длительность выделения *S. aureus* связаны с тем, что в 60% случаев это были MRSA-штаммы, чувствительные лишь к ванкомицину. Следует отметить, что штаммы *P. aeruginosa*, *P. vulgaris* также были полиантибиотикорезистентны и

характеризовались чувствительностью к меропенему, амикацину, цiproфлоксацину.

В целом, видовой состав микроорганизмов, выделенных нами из ожоговых ран принципиально не отличается от ранее опубликованных данных [1, 8, 12].

При преобладании в ожоговых ранах золотистого стафилококка отмечались небольшая выраженность ССВО, но имели место высокие уровни СРБ, умеренное повышение ЛИИ и VEGF, выраженное возрастание МСР-1, эндотелина и ЦЭК (табл. 1 и 2).

При высеве из ран кишечной палочки у обожженных отмечался выраженный ССВО, повышенные значения

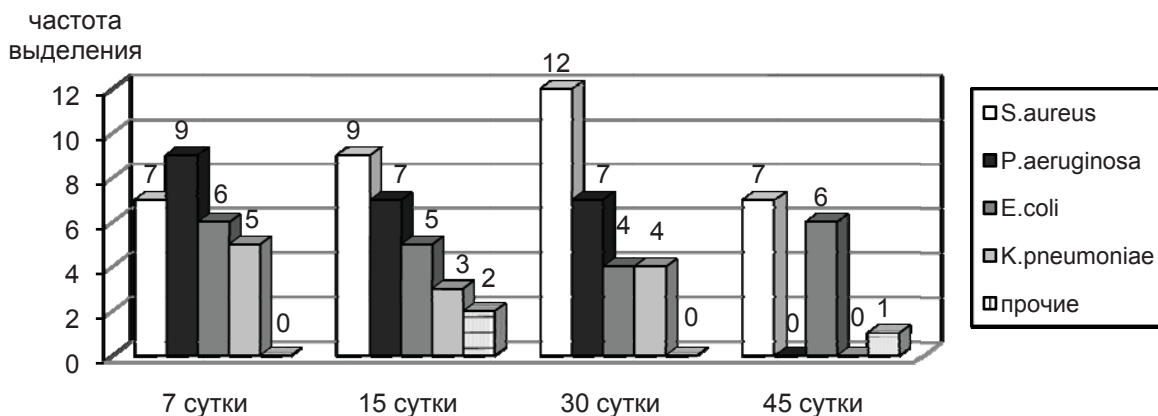


Рис. 3. Качественный состав микрофлоры ожоговых ран на разных сроках с момента получения травмы

Таблица 1

Выраженность ССВО, уровни СРБ, ЛИИ при преобладании в микрофлоре ран различных микроорганизмов

Показатель	ССВО, балл	СРБ, мг/дл	ЛИИ, ед
<i>S. aureus</i> (n=17)	0 (0; 1)	104,1 (53,2; 104,1)*	3,9 (0,6; 5,2)*
<i>E. coli</i> (n=8)	2 (0; 3)	91,2 (82,9; 138,9)*	3,1 (2,2; 5,1)*
<i>P. aeruginosa</i> (n=11)	1 (0; 2)	59,5 (45,5; 82,9)	2,1 (1,1; 5,8)*
Ассоциация грам+ и грам– микрофлоры (n=19)	2 (0; 3)	111,0 (96,1; 129,5)*	2,1 (0,9; 5,0)*
Ассоциация грам–микрофлоры (n=7)	2 (1; 4)	100,3 (95,2; 114,8)*	1,6 (1,2; 5,5)
Контроль (n=19)	–	34,0 (12; 69)	1,2 (1,0; 1,3)

Примечание: \* – p<0,05 при сравнении с контрольными значениями.

Таблица 2

## Уровни VEGF, MCP-1, эндотелина, ЦЭК при преобладании в микрофлоре ран различных микроорганизмов

Показатель	VEGF, пг/мл	MCP-1, пг/мл	Эндотелин, фмоль/мл	ЦЭК, 104/л
<i>S. aureus</i> (n=17)	343,8 (159,4; 343,8)*	524,2 (511,5; 524,2)*	2,17 (1,70; 4,03)*	5,0 (2,0; 6,0)*
<i>E. coli</i> (n=8)	1051,0 (308,8; 1453,6)*	552,8 (526,4; 587,6)*	1,72 (1,41; 1,95)*	3,5 (3,0; 4,0)
<i>P. aeruginosa</i> (n=11)	321,6 (288,9; 489,0)*	696,0 (448,9; 999,0)*	1,87 (1,39; 2,24)*	3,0 (1,0; 5,0)
Ассоциация грам+ и грам- микрофлоры (n=19)	773,0 (237,2; 846,6)*	520,6 (381,2; 558,2)*	2,19 (1,86; 2,36)*	6,0 (2,0; 7,5)*
Ассоциация грам- микрофлоры (n=7)	170,2 (140,8; 291,3)*	257,2 (127,0; 447,0)*	1,77 (1,28; 3,92)*	3,0 (3,0; 4,5)
Контроль (n=19)	31,4 (16,6; 40,2)	49,2 (24,6; 69,2)	0,25 (0,1; 0,71)	3,0 (1,5; 4,0)

Примечание: \* –  $p < 0,05$  при сравнении с контрольными значениями.

ЛИИ и СРБ, низкий относительно других групп уровень эндотелина и ЦЭК, повышенная концентрация MCP-1, С-реактивного белка и максимальная концентрация VEGF. При преобладании в ранах синегнойной палочки отмечался умеренно выраженный ССВО, низкие уровни ЛИИ и СРБ, резкое возрастание содержания MCP-1 и относительно низкий уровень общего эндотелина, VEGF и ЦЭК.

При наличии ассоциаций грамположительной (основной представитель – *S. aureus*) и грамотрицательной микрофлоры (основной представитель – *P. aeruginosa*) у пострадавших отмечен выраженный ССВО, максимальные уровни С-реактивного белка, эндотелина, высокие уровни VEGF, ЦЭК, MCP-1.

При высеве из ран ассоциаций представителей грамотрицательной микрофлоры у больных были выявлены наиболее выраженный ССВО, минимальные значения ЛИИ, высокие цифры С-реактивного белка, эндотелина, а также минимальные значения MCP-1, VEGF, ЦЭК.

### Выводы

Показатели микробной качественной и количественной обсемененности ожоговых ран влияют на выраженность системного воспаления и эндотелиальной дисфункции пострадавших.

Наибольшая дисфункция эндотелия сосудов отмечается при высеве из ран ассоциаций грамположительной и грамотрицательной микрофлоры, а наименьшая – при преобладании в ранах только грамположительной флоры.

Большая доля пациентов с преобладанием на ранних сроках грамотрицательной микрофлоры указывает на тяжелое повреждение эндотелия и развитие развернутой клиники ССВО, так как этот процесс тесным образом сопряжен с транслокацией кишечной микрофлоры посредством преодоления ей гематоинтестинального барьера. Об этом же свидетельствуют высокие цифры факторов дисфункции эндотелия, в особенности VEGF.

Для улучшения показателей лечения данной категории больных необходимо учитывать показатели дисфункции эндотелия и системного воспаления в течение всего периода заболевания.

### Литература

- Алексеев, А.А. Ожоговая инфекция. Этиология, патогенез, диагностика, профилактика и лечение / А.А. Алексеев, М.Г. Крутиков, В.П. Яковлев. – М.: Вузовская книга, 2010. – 416 с.
- Моррисон, В.В. Дисфункция эндотелия при синдроме полиорганной недостаточности у больных с термической травмой / В.В. Моррисон, А.Ю. Божедомов // Региональное кровообращение и микроциркуляция. – 2013. – Т. 46, № 2. – С. 43–48.
- Петрищев, Н.Н. Диагностическая ценность определения десквамированных эндотелиоцитов в крови / Н.Н. Петрищев [и др.] // Клин. лаб. диагн. – 2001. – № 1. – С. 50–52.
- Петухов, В.А. Современный взгляд на проблему эндотоксической агрессии и дисфункции эндотелия в хирургии / В.А. Петухов, М.С. Магомедов // Хирургия. – 2008. – № 2. – С. 15–19.
- Самойленко, Г.Е. Синдром полиорганной недостаточности в хирургии ожогов у детей / Г.Е. Самойленко // Травма. – 2000. – Т. 1, № 1. – С. 46–52.
- Чеснокова, Н.П. Патогенез ожогового шока и термических поражений различной степени тяжести / Н.П. Чеснокова [и др.] // Шок как проявление дезадаптации при стрессе: монография. – М.: Академия естествознания, 2009. – С. 237–279.
- Bone, R.C. American College of Chest Physicians. Society of Critical Care Medicine Consensus Conference: Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis / R.C. Bone [et al.] // Crit. care med. – 1992. – Vol. 20, № 6. – P. 864–874.
- Church, D. Burn wound infections / D. Church // Clin. microbial. rev. – 2006. – Vol. 19. – №. 2. – P. 403–434.
- Ferreira, A.M. Organ dysfunction: general approach, epidemiology, and organ failure scores / A.M. Ferreira, Y. Sakr // Seminars in respiratory and critical. Care medicine. – 2011. – Vol. 32, № 5. – P. 543–551.
- Fitzwater, J., G. F. Purdue, J. L. Hunt, and G. E. O'Keefe. The risk factors and time course of sepsis and organ dysfunction after burn trauma / J. Fitzwater [et al.] // J. trauma. – 2003. – Vol. 54. – P. 959–966.
- Levy, M.M. Oxidative stress and endothelial cell dysfunction / M.M. Levy. Am. j. physiol. cell. physiol. – 2001. – Vol. 280. – P. 719–741.
- Saaq, M. Burn wound infections and antibiotic susceptibility patterns at Pakistan institute of medical sciences, Islamabad, Pakistan / M. Saaq, S. Ahmad, M.S. Zaib // World j. plast. surg. – 2015. – Vol. 4, № 1. – P. 9–15.
- Sahib, A.S. Burns, endothelial dysfunction, and oxidative stress: the role of antioxidants / A.S. Sahib, F.H. Al-Jawad, A.A. Al-Kaisy // Annals of burns and fire disasters. – 2008. – Vol. 22, №. 1. – P. 6–11.

14. Stevens, T.C. The Pseudomonas aeruginosa exoenzyme Y impairs endothelial cell proliferation and vascular repair following lung injury / T.C. Stevens // Am. j. physiol. lung. cell. mol. physiol. – 2014. – Vol. 306, № 10. – P. 915–924.
15. Williams, F.N. The leading causes of death after burn injury in a single pediatric burn center / F.N. Williams [et al.] // Crit. care. – 2009. – Vol. 13, № 6. – P. 183.

V.V. Morrison, I.O. Luneva, A.Yu. Bozhedomov

### Dependence of endothelial dysfunction in thermal injury on the microbial structure of burn wounds

**Abstract.** We present dependence of gravity of endothelial dysfunction and system inflammatory response syndrome at severe burn patients from a microbiologic structure of burn injury is described. Burn wounds were more often colonized by associations of microorganisms, more rare – by monoculture. Following microorganisms were most often allocated: *S. aureus*, *S. epidermidis*, *Proteus vulgaris*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* in a high titer ( $10^6$ – $10^9$  colony-forming units). The given microorganisms possessed polydrug-resistance to the majority of antibacterial preparations. Eventually current depression of titer of dissemination microorganisms and structure of a microflora of burn wounds became perceptible. In the first days after a burn representative of a normal microflora of a skin of the victim prevailed, Gram-negative Enterobacteriaceae prevailed and Pseudomonadaceae representatives in burn intoxication (7–15 days), Gram-negative microorganisms by Gram-positive coccuses in terms after 15 days there was a gradual dominate. The most serious lesion of an endothelium of vessels and the expressed system inflammatory answer were observed at association of Gram-positive and Gram-negative or Gram-negative and Gram-negative microorganisms, the least – at Gram-positive microorganisms. It was expressed in growth of levels monocytic chemoattractant protein-1, vascular endothelial growth factor, the general endothelin, number of endotheliocytes circulating in blood, and also high levels of high-strung C-reactive protein, larger number of criteria of a syndrome of the system inflammatory response, high leukocytic an intoxication index. The worst forecast of this category of victims is caused by high pathogenicity and fastness of the given microorganisms. In this connection at treatment of serious combustions it is recommended to consider a microbic landscape of burn wounds and to carry out monitoring of factors of dysfunction of an endothelium.

**Key words:** endothelial dysfunction, burns, system inflammatory response syndrome, vascular endothelial growth factor, monocytic chemoattractant protein-1, endothelin, microflora.

Контактный телефон: 8-981-733-77-90; e-mail: alecso\_84@mail.ru