

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ ДОНЕЦКОЙ НАРОДНОЙ РЕСПУБЛИКИ
ГОСУДАРСТВЕННАЯ ОБРАЗОВАТЕЛЬНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ВЫСШЕГО
ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ «ДОНЕЦКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ М. ГОРЬКОГО»

На правах рукописи

СОБОЛЕВ ДМИТРИЙ ВАСИЛЬЕВИЧ

УДК 616-001.17:355]-089-092

**ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ РАННЕЙ
СПЕЦИАЛИЗИРОВАННОЙ ХИРУРГИЧЕСКОЙ ПОМОЩИ ПРИ
БОЕВОЙ И ОЖОГОВОЙ ТРАВМЕ**

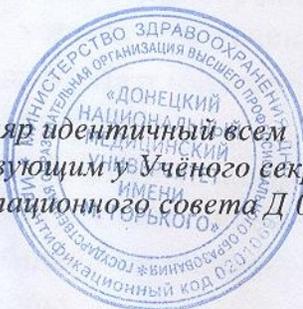
14.03.03 – патологическая физиология

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

Научный консультант:
Фисталь Эмиль Яковлевич,
доктор медицинских наук, профессор

Экземпляр идентичный всем
существующим у Ученого секретаря
Диссертационного совета Д 01.022.05



Донецк 2020

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ ДОНЕЦКОЙ НАРОДНОЙ РЕСПУБЛИКИ
ГОСУДАРСТВЕННАЯ ОБРАЗОВАТЕЛЬНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ВЫСШЕГО
ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ «ДОНЕЦКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ М. ГОРЬКОГО»

На правах рукописи

СОБОЛЕВ ДМИТРИЙ ВАСИЛЬЕВИЧ

УДК 616-001.17:355]-089-092

**ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ РАННЕЙ
СПЕЦИАЛИЗИРОВАННОЙ ХИРУРГИЧЕСКОЙ ПОМОЩИ ПРИ
БОЕВОЙ И ОЖОГОВОЙ ТРАВМЕ**

14.03.03 – патологическая физиология

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

Научный консультант:
Фисталь Эмиль Яковлевич,
доктор медицинских наук, профессор

*Экземпляр идентичный всем
существующим у Учёного секретаря
Диссертационного совета Д 01.022.05*

Донецк 2020

ОГЛАВЛЕНИЕ

Список используемых сокращений и обозначений.....	3
Введение.....	4
Глава 1. Современные аспекты патогенеза и прогнозирования при боевой и ожоговой травме (обзор литературы)	19
1.1. Краткая справка о вооруженных конфликтах.....	19
1.2. Общие понятия об огнестрельной ране, ожоговой болезни и комбинированной травме.....	21
1.3. Общие понятия о генах.....	49
1.4. Роль провоспалительных цитокинов в патогенезе раневого процесса.....	52
1.5. Возможности прогнозирования в медицинской практике...	68
Глава 2. Материал и методы исследования	79
2.1. Дизайн исследования.....	79
2.2. Материал исследования.....	82
2.3. Методы исследования.....	97
Глава 3. Особенности динамики раневого процесса в зависимости от вида повреждения, тяжести состояния пациентов	105
Глава 4. Влияние цитокинов и кортизола на скорость и качество репаративных процессов у пострадавших	119
Глава 5. Влияние генетических полиморфизмов на течение раневого процесса.....	141
5.1. Дизайн исследования.....	141
5.2. Связь полиморфизма rs1800471 (G915C Arg25Pro) гена TGFβ1 с характером течения раневого процесса	142
5.3. Связь полиморфизма rs1800629 гена TNFα с длительностью и характером течения раневого процесса...	151
5.4. Связь полиморфизма rs5743708 гена TLR2 с длительностью и характером течения раневого процесса..	159
5.5. Связь полиморфизма rs3775291 гена TLR3 с длительностью и характером течения раневого процесса..	162
5.6. Связь полиморфизма rs4986790 гена TLR4 с длительностью и характером течения раневого процесса..	165
Глава 6. Математическое прогнозирование течения раневого процесса.....	171
Глава 7. Оптимизация лечебной тактики с учетом прогноза исхода лечения и оценка ее эффективности у пострадавших	192
Обобщение и анализ полученных результатов	215
Выводы.....	239
Практические рекомендации.....	244
Список используемой литературы	245

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ

АД – артериальное давление	CGH – геномная гибридизация
АОС – антиоксидантная система	CNTF – цилиарный нейротрофический фактор
АТФ – аденозинтрифосфат	CSF – колониестимулирующий фактор
АФК – активная форма кислорода	СТ – кардиотропин
ВПХ – военно-полевая хирургия	EGF – эпидермальный фактор роста
ВУД – волна упругой деформации	FGF – фактор роста фибробластов
ДИ – доверительный интервал	HWE – равновесие Хайди-Вайнберга
ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота	ID – индентификатор группы
ЖКТ – желудочно-кишечный тракт	IFN – интерферон
ЗХМЛ – запрограммированное многоэтапное хирургическое лечение	Ig – иммуноглобулин
ИНВХ – Институт неотложной и восстановительной хирургии	IGF – инсулиноподобный фактор роста
ИТ – интенсивная терапия	IL – интерлейкин
КОЕ – колониеобразующая единица	MMP – металлопротеинкиназа
КЩС – кислотно-щелочное состояние	LIF – лейкемия-ингибирующий фактор
ЛПС – липополисахарид	OSM – онкостатин М
МВТ – минно-взрывная травма	PAMPs – молекулярные паттерны, ассоциированные с патогенном
МИТП – модифицированный индекс тяжести поражения	PCR SSP – полимеразная цепная реакция с аллель-специфическими праймерами
МСМ – молекулы средней массы	PDGF – тромбоцитопроизводный фактор роста
ООТ – острая ожоговая токсемия	ROC – диаграмма операционной характеристики
ОСТ – ожоговая септикотоксемия	SNP – нуклеотидный полиморфизм
ОЦК – объем циркулирующей крови	TGF – трансформирующий фактор роста
ОШ – отношение шансов	TIMP – тканевые ингибиторы матричных металлопротеиназ
ПГ – пептидогликан	TLR – толл-подобный рецептор
ПОЛ – перекисное окисление липидов	TNF – фактор некроза опухолей
ПЦР – полимеразная цепная реакция	TNFR – рецептор фактора некроза опухолей
РНК – рибонуклеиновая кислота	tPA – тканевой плазминоген
СПОН – синдром полиорганной недостаточности	uPA – урокиназа
ССС – сердечно-сосудистая система	
СЭИ – синдром эндогенной интоксикации	
УЗ – ультразвук	
ЦВД – центральное венозное давление	
ЦНИЛ – центральная научно-исследовательская лаборатория	
ЧСС – частота сердечных сокращений	

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы. В работах авторов, изучавших проблему оказания помощи раненым и пострадавшим во время чрезвычайных ситуаций, к числу которых, несомненно, можно отнести и боевые действия, особое внимание уделяется этапности, маршрутизации и скорости эвакуации раненных и пострадавших (Гуманенко Е.К., 2012, Быков И.Ю., 2009, Ефименко Н.А., 2002). Эти же положения были подтверждены и работами донецких хирургов и спасателей, которые оказывали помощь раненым в ходе вооруженного конфликта на Донбассе в 2014-2019 гг. (Фисталь Э.Я., 2015, 2017, Кострубицкий А.А., 2018).

Идея этапного лечения раненных не нова, в отечественной литературе ее впервые подробно изложил Оппель В.А., во время Первой мировой войны 1914-1918 гг. В дальнейшем эту систему развивали и совершенствовали во время Великой Отечественной войны Леонардов Б.К., Тимофеевский П.И., Бурденко Н.Н. Сущность этапного лечения заключается в объединении процессов оказания медицинской помощи, лечения и эвакуации (Кравченко О.И., 2004). Однако, уже во время проведения контртеррористической операции российскими войсками на Северном Кавказе в 1994-1996 гг. и 1999-2002 гг. четырехэтапная система оказания медицинской помощи существенно изменилась. Это нашло свое отражение в трудах Гуманенко Е.К., Шойгу С.К., Ефименко Н.А., Зуева В.К. (2002-2012). Было установлено, что оказание специализированной хирургической помощи в полевых условиях малоэффективно, что потребовало изменений в подходе медицинской эвакуации раненных. Состоялся переход к двухэтапной системе лечения, с использованием самолетной санавиации и вертолетной санавиации. Авторы подчеркивают, что сам принцип этапности лечения не изменился, изменились этапы. Однако, если в Российской Федерации для ускорения доставки раненных использовались самолеты и вертолеты, то в условиях Донецкой Народной Республики это невозможно и не имеет смысла. Вооруженный конфликт ведется в густонаселенной местности, по периметру

мегаполиса, с обилием городов-спутников, с наличием хороших асфальтированных дорог и близостью специализированных центров (Фисталь Э.Я., 2018, 2019). Именно поэтому скорость, маршрутизация и этапность эвакуации раненных и пострадавших требуют новых подходов.

В специфических условиях продолжающегося военного конфликта в Донбассе раненые и пострадавшие с боевыми повреждениями получают полный объем медицинской помощи в гражданских лечебных учреждениях, располагающихся на небольшом расстоянии от места ведения боевых действий (Фисталь Э.Я., 2019). В то же время значительный коечный фонд, квалифицированный кадровый состав, наличие современной лечебно-диагностической базы создают возможность решать задачи специализированной медицинской помощи раненым и пострадавшим с боевыми повреждениями.

В настоящее время отсутствуют научно обоснованные и адаптированные к существующим особенностям оказания специализированной помощи в гражданских лечебных учреждениях рекомендации по лечению раненных и пострадавших. Это обуславливает актуальность изучения специфики боевых повреждений в условиях локального военного конфликта в Донбассе и настоятельную необходимость разработки оптимизированных подходов и методов их органосохраняющего и восстановительного лечения.

В то же время, с развитием науки, во многих работах все больше внимания уделяется изучению цитокинов, факторов роста, генетических мутаций при остром воспалении – травме, ране, ожоге (Абаев Ю.К., 2010, Михайлузов Р.Н., 2014, Ворона Ю.С., 2014, Cardinali G., 2007). Для улучшения результатов лечения раненных и пострадавших необходимо разрабатывать и внедрять новые хирургические подходы к оказанию специализированной хирургической помощи. Одним из перспективных направлений, по мнению авторов, является хирургическая тактика, учитывающая как организационные моменты – правильную сортировку раненных, так и хирургическое пособие, основанное на возможности прогнозирования исхода травмы (Ким В.Л., 2005). Данная тактика ранней хирургической реабилитации должна привести как к снижению

количества осложнений, так и к улучшению медико-социальной реабилитации раненных и пострадавших.

Вместе с тем, углубленное изучение патогенеза раневого процесса влечет за собой новое понимание его регуляции (Абаев Ю.К., 2010). Факторы роста представляют новое направление воздействия на раневой процесс. Их использование находится в стадии активного изучения (Воронцова З.А., 2018, Hernon С., 2016). Действие факторов роста является многокомпонентным, последовательным и взаимно обуславливающим. Недостаточно изученный механизм действия этих факторов в патогенезе раневого процесса и неотработанная методика применения препятствует их активному использованию. По данным обзора литературы в настоящее время остаются нерешёнными вопросы, связанные с показаниями и противопоказаниями к применению, доставкой и активацией факторов роста. (Луцевич О.Э., 2011, Чекалина Е.Н., 2010, Никитенко В.И., 2012). Изучение таких факторов роста как TRL 2, TRL 3, TRL 4, TGF, TNF может, в свою очередь, дать представление об их мутациях при остром воспалении (травме, ране, ожоге).

Вместе с тем, на основании накопленного богатого клинического опыта при оказании специализированной помощи раненым и обожженным, было замечено, что раневой процесс протекает неоднозначное течение у разных категорий больных (Богданов С.Б., 2016, Фисталь Э.Я., 2004). Все пострадавшие получали сходное хирургическое и консервативное лечение, однако, была отмечена существенная разница как в длительности лечения, так и в количестве послеоперационных осложнений.

Совокупность вышеизложенных факторов, по мнению авторов, дала возможность изучить патогенетические звенья раневого процесса при боевой и ожоговой травме, создать математическую прогностическую модель исхода заболевания, на основании чего возможна разработка рациональной хирургической тактики с последующей скорейшей реабилитацией раненных и пострадавших.

Степень разработанности проблемы. Разработка и научное обоснование современных подходов к лечению ран и ожогов связаны в первую очередь с достижениями в области гражданской медицины. Они предусматривают соблюдение принципов радикальной первичной хирургической обработки раны с ее закрытием первичным швом либо одним из пластических методов, которые выполняются одномоментно в ходе первичной восстановительной операции (Gopal S. et al., 2004, Gross W. Et al., 2008, Jordan D. et al., 2014).

В отличие от травмы мирного времени современные боевые повреждения характеризуются значительной протяженностью зоны первичного и вторичного некроза, что резко ограничивает возможности исчерпывающей первичной хирургической обработки (Lerner A. et al., 2007). На основании опыта войны в Афганистане Дедушкиным В.С. с соавт. (1991) была сформулирована концепция сберегательной первичной хирургической обработки раны при огнестрельных переломах, которая отнесена к этапу специализированной помощи. В течение последних десятилетий в РФ и за рубежом все шире используется тактика запрограммированного многоэтапного хирургического лечения «damage control surgery») при тяжелой травме (Никифорова А.В., 2008, Nast-Kolb D. et al., 2005, Taeger G. et al, 2005). Применение этого подхода позволило сократить число осложнений во время вооруженного конфликта на Северном Кавказе с 42,9% до 19,2% (Borisov M.B., Ganin V.N., 2005). Вместе с тем, показания к использованию данной тактики продолжают оставаться предметом дискуссии (Harwood P.J. et al., 2006). В этой связи следует отметить, что оценка жизнеспособности тканей, продолжает основываться на интраоперационных, в определенной мере, субъективных признаках – цвете, сократимости, кровоточивости, что зачастую является причиной недостаточной, либо наоборот избыточной радикальности вмешательства (Полунин С.В., 2010, Jordan D. et al., 2014). В этой связи представляется перспективным поиск новых способов прогнозирования исхода оперативного лечения.

Проблема консервативного лечения огнестрельной раны в последние годы получила новое развитие в связи с прогрессом в области создания современных

раневых покрытий, применением ультразвуковой кавитации и применением терапии отрицательным давлением (Barnett T.M., Shilt J.S., 2009). Вместе с тем до настоящего времени продолжается накопление данных о преимуществах и недостатках указанных методов, вариантах их сочетания с пластическими способами закрытия раневых дефектов, что свидетельствует в пользу необходимости продолжения исследований в данном направлении (Stannard J.P. et al, 2010).

В литературе представлены сообщения о преимуществах применения комплексов тканей для полноценного закрытия раневых дефектов при огнестрельных травмах (Karanas J.L. et al., 2008). Несмотря на положительные результаты, достигнутые в решении этой проблемы, вопрос выбора метода пластики и сроков ее выполнения остается открытым и требует дальнейшего изучения.

Вместе с тем, лечение ран и ожогов на протяжении тысячелетий является значимой не только медицинской, но и социальной проблемой. За время эволюции человечества было предложено труднообозримое множество средств для лечения ран, однако ни одно из них не решает эту проблему в полной мере, что побуждает к поиску новых способов и методов решения этой проблемы. Современный уровень развития научных данных представляет раневой процесс как сложный комплекс последовательных местных и общих реакций организма в ответ на поражение тканей, протекающий с вовлечением многих регуляторных систем на разных уровнях их организации (Анисимова Н.Ю., 2013). Научно обоснованные методы инактивации патогенной микрофлоры, использование протеолитических ферментов, создание влажной раневой среды, дифференцированный подход к лечению раны согласно стадии раневого процесса, некрэктомия дна и стенок раны воздействуют положительно на течение раневого процесса, но не всегда приводят к заживлению раны. Последние исследования биохимических, молекулярных и генных процессов в процессе заживления ран дают научно обоснованные предпосылки для апробации новых методов воздействия пептидными регуляторами местного

действия в целях коррекции раневого процесса. К таким регуляторам относятся факторы роста, применяемые для заживления ран (Khan M.N., 2006). По мнению одного из общепризнанных мировых экспертов по лечению ран, профессора Винсента Фаланги «...активное развитие науки о заживлении ран продолжается в направлении апробации новых терапевтических подходов, таких как факторы роста, искусственные заменители кожи, генная терапия, терапия стволовыми клетками». Лечение ран с применением факторов роста эмпирически использовалось задолго до их идентификации и выявления роли в заживлении ран. Высказаны предположения, что влияние комплекса цитокинов на репаративные процессы обусловлено торможением воспалительных процессов за счет угнетения миграции клеток, а также повышением пролиферативной активности фибро- и кератобластов. Факторы роста являются одной из разновидностей цитокинов. Цитокины – различные белки, осуществляющие передачу сигналов между различными клетками организма (Dinarello C., 2000). У человека идентифицировано более ста различных цитокинов, и постоянно появляются сообщения об открытии новых. Цитокины воздействуют на клетку, связываясь со специфическими рецепторами на цитоплазматической мембране и вызывают каскадную реакцию, ведущую к индукции, усилению или подавлению активности ряда регулируемых ими генов (Гилевич И.В., 2017). Цитокины являются наиболее универсальным классом внутри- и межтканевых регуляторных веществ. Они представляют собой гликопротеиды, которые в очень низких концентрациях оказывают влияние на реакции роста, пролиферации и дифференцировки клеток. Действие цитокинов обусловлено наличием рецепторов к ним на плазмолемме клеток-мишеней. Клетки различных тканей обладают большим количеством рецепторов к разнообразным цитокинам (от 10 до 10000 на клетку), эффекты которых нередко взаимно перекрываются, что обеспечивает высокую надёжность функционирования этой системы внутриклеточной регуляции (Fuss J., 2018). Наиболее важными закономерностями функционирования системы цитокинов являются локальность действия, индуцибельность, избыточность, взаимосвязанность и взаимодействие

ее компонентов. Для цитокинов характерен сложный сетевой характер функционирования. Один цитокин может обладать несколькими эффектами, разные цитокины – одинаковыми эффектами. Цитокин может воздействовать на ряд клеток и тканей организма. В большинстве случаев клетка организма является мишенью нескольких цитокинов. Один цитокин может регулировать образование и функционирование другого. Обычно отдельные цитокины служат составляющими факторами, образующими целый комплексный цитокиновый сигнал.

Таким образом, к основным перспективным направлениям современной хирургии открытых боевых повреждений относятся: модифицированные методы первичной хирургической обработки раны, динамический активный хирургический контроль состояния раны, локальная и регионарная терапия с использованием современных методов лечения ран и раневых покрытий, возможно раннее закрытие раневых дефектов (Gurtner G., 2008). Вместе с тем недостаток доказательных данных и опыта применения этих подходов в условиях гражданского здравоохранения стали побудительным мотивом для проведения данного исследования.

Связь работы с научными программами, темами. Диссертационная работа выполнена согласно плану научно-исследовательской работы кафедры комбустиологии и пластической хирургии ФИПО ГОО ВПО ДОННМУ ИМ. М. ГОРЬКОГО и является фрагментом темы «Изучение ближайших и отдаленных результатов лечения больных с термическими поражениями, ранами, хроническими эрозивно-язвенными поражениями кожи, разработка и оптимизация методики ранней хирургической реабилитации пострадавших», шифр УН 19.03.09.

Цель исследования. На основании выделенных наиболее значимых предикторов исхода травмы и созданной математической модели патогенетически обосновать тактику ранней специализированной хирургической помощи пострадавшим с ранами и ожогами.

Задачи исследования:

1. Установить структуру боевой и ожоговой травмы, особенности течения раневого процесса у пострадавших с ранами и ожогами в зависимости от вида повреждения, тяжести состояния и направленности лечебно-тактических мероприятий.
2. Изучить патоморфологическую картину и микробный пейзаж ран и ожогов; определить влияние провоспалительных и противовоспалительных цитокинов и кортизола на скорость и качество репаративной регенерации у пострадавших.
3. Определить роль генетических полиморфизмов и биологически активных маркеров в развитии раневого процесса, которые позволят прогнозировать течение, осложнения и сроки лечения повреждений и разработать подходы ранней диагностики и персонализированного лечения.
4. Определить распределение генотипов и аллелей rs1800471 гена TGFb1, rs1800629 гена TNF α , полиморфизма генов rs3775291 гена TLR3 и rs4986790 гена TLR4, которые ассоциированы с длительностью течения репаративных процессов в ране.
5. Выявить наиболее значимые предикторы исхода лечения, длительности стационарного лечения, количества выполненных операций, осложнений в ближайшем и отдаленном послеоперационном периоде.
6. Разработать математическую модель прогнозирования длительности лечения повреждений, включающую значимые комбинации генотипов, при оказании специализированной хирургической помощи.
7. Обосновать тактику лечения пациентов с боевой и ожоговой травмой на основании прогноза течения репаративных процессов при оказании им специализированной хирургической помощи и оценить ее эффективность.

Объект исследования: раневой процесс при боевой и ожоговой травме, его осложнения, индивидуальные особенности воспалительной реакции, тактика специализированного лечения.

Предмет исследования: патоморфологические, бактериологические, иммуноферментные (цитокины и кортизол), молекулярно-генетические (полиморфизм rs1800471 гена TGF β 1, rs1800629 гена TNF α , rs3775291 гена TLR3 и rs4986790 гена TLR4) и клинические показатели, характеризующие особенности раневого процесса и эффективность специализированного хирургического лечения пациентов.

Научная новизна. Уточнены особенности динамики раневого процесса при боевой и ожоговой травме в зависимости от вида повреждения, тяжести состояния раненых и направленности лечебных мероприятий. В частности, установлен характер микрофлоры при современной боевой и ожоговой травме, выявлена зависимость выраженности и продолжительности фазы гнойного воспаления от срока поступления раненых, адекватности хирургической обработки раны и этапа оказания хирургической помощи.

Установлены распределения частот генотипов и аллельных вариантов rs1800471 гена TGF β 1, rs1800629 гена TNF α , rs5743708 гена TLR2, rs3775291 гена TLR3, rs4986790 гена TLR4 у пострадавших с ранами и ожогами, проживающих в Донбасском регионе.

Выявлены ассоциации носительства аллелей и генотипов rs1800471 гена TGF β 1, rs1800629 гена TNF α , rs5743708 гена TLR2, rs3775291 гена TLR3, rs4986790 гена TLR4 с длительностью репаративной регенерации ран при сравнении групп больных с неосложненным течением травмы и больных с длительным вялотекущим характером раневого процесса.

Установлено, что для неблагоприятного течения раневого процесса характерны максимальные отклонения трансформирующего фактора роста (TGF β 1), провоспалительных (TNF α , IL-6), противовоспалительных цитокинов (IFN γ , IL-10) и кортизола от уровня показателей нормы. При этом IFN γ , IL-10 и гиперкортизолемиа не способны подавить чрезмерную продукцию провоспалительных цитокинов - TNF α , IL-6. Высокий уровень экспрессии провоспалительных цитокинов и величины гиперкортизолемиа являются причиной замедленной репаративной регенерации.

Впервые комплексно определены изменения продукции TGFB1, TNF α , IL-6, IL-10, IFN γ в динамике лечения, а также определена их зависимость от фонового уровня кортизола, исследованного в начальном периоде травмы. Показано влияние нормо- и гиперкортизолемии на характер направленности динамических изменений регуляторов специфической и неспецифической защиты организма при различной степени выраженности репаративной регенерации.

Математически доказана роль отдельных маркеров защиты и их сигнальные уровни в формировании периодов воспалительно-регенераторного процесса, влияние на благоприятный и неблагоприятный характер течения раневого процесса.

Проведен поиск связи между полиморфизмом генов и маркерами врожденного иммунитета и адаптивного иммунного ответа у больных с различным репаративным потенциалом при термических повреждениях.

Доказано, что наличие у пациентов минорной аллели C rs1800471 гена TGFB1; минорной аллели A rs1800629 гена TNF α ; минорной аллели T rs3775291 гена TLR3; минорной аллели G rs4986790 гена TLR4, а также сочетаний аллелей CT-AG и TT-AG rs3775291 гена TLR3 и rs4986790 гена TLR4 увеличивало шансы хронического неблагоприятного течения раневого процесса длительного незаживающего характера.

Выделены наиболее значимые предикторы длительности стационарного лечения, количества выполненных операций и осложнений в ближайшем и отдаленном послеоперационном периоде: генетический прогноз, тяжесть состояния при поступлении, скорость доставки в специализированный центр.

Разработана математическая модель прогнозирования длительности лечения боевых и термических повреждений, включающая в свою структуру значимые комбинации генотипов. На основании этой модели созданы методы для прогнозирования длительности госпитального лечения и количества операций у больных с боевой и ожоговой травмой.

Предложена новая тактика хирургического лечения пациентов, основанная на математическом прогнозе исхода заболевания, включающая в себя индивидуально-дифференцированный подход к выполнению реконструктивных операций и представлена ее оценка эффективности.

Теоретическая и практическая значимость работы.

Уточнен патогенез раневого процесса, в частности, установлена роль молекулярно-генетических факторов репаративной регенерации в его патогенезе. Выявлены особенности течения раневого процесса в зависимости от вида повреждения, тяжести состояния и направленности лечебных мероприятий.

Разработана математическая модель прогнозирования длительности лечения повреждений, включающая значимые комбинации генотипов, которые по удельному вкладу распределяются следующим образом: rs1800629 гена TNF α > rs1800471 гена TGF β 1 > rs3775291 гена TLR3 > rs4986790 гена TLR4 при общей точности разработанной регрессионной модели 75,0% с чувствительностью – 85% и специфичностью – 65%.

Установлена корреляционная связь между генной картой пациента и прогнозированием периода заживления раны, длительностью госпитализации и исходом полученной травмы.

Разработана и внедрена в здравоохранение ДНР тактика оказания ранней специализированной хирургической помощи раненым и обожженным, которая сокращает продолжительность пребывания пациентов в стационаре, минимизирует частоту их осложнений и инвалидизаций.

Полученные данные внедрены в работу отдела термических поражений Института неотложной и восстановительной хирургии им. В.К. Гусака (г. Донецк, 83045, Ленинский проспект, д. 47), хирургического отделения Донецкого клинического территориального медицинского объединения (г. Донецк, 28300, проспект Ильича, 14), Торезской центральной городской больницы (г. Торез, 86600, м-н-4), центральной больницы г. Докучаевска (г. Докучаевск, 85740, ул. Комсомольская, 36). Получены акты внедрения.

Помимо того, материалы работы используются в преподавательской деятельности на кафедре комбустиологии и пластической хирургии ФИПО ГОО ВПО ДОННМУ ИМ. М.ГОРЬКОГО (г. Донецк, 83003, проспект Ильича, д. 16).

На основании полученных результатов исследования были изданы учебные пособия: «Специализированная хирургическая помощь при боевой травме» под редакцией проф. Фисталя Э.Я. и проф. Долгошапка О.Н, присвоен гриф «Рекомендовано Министерством образования и науки Донецкой Народной Республики», приказ №1393 от 09 октября 2019 г. (Донецк, 2019) и «Современные аспекты оказания медицинской помощи в условиях чрезвычайных ситуаций», под редакцией проф. Фисталя Э.Я. и проф., академика РАН В.А. Порханова (Краснодар, 2020).

Результаты диссертационной работы могут быть рекомендованы для широкого применения в ожоговых центрах, в отделениях интенсивной терапии, хирургии и травматологии, оказывающих помощь пострадавшим с ранами и ожогами.

Методология и методы исследования. Работа выполнена на материале Института неотложной и восстановительной хирургии им. В.К. Гусака Министерства здравоохранения Донецкой Народной Республики, город Донецк. Исследование построено на принципах выполнения научно-исследовательских работ, которые основаны на фундаментальных и современных тенденциях хирургического лечения ран и ожогов. Методология исследования включала в себя анализ литературы по проблеме оказания помощи пострадавшим в результате боевой травмы, построение научной гипотезы, постановку цели и задач работы, разработку дизайна и протокола исследования, сбор, обработку и обобщение материала, формулировку выводов, практических рекомендаций. Для выполнения поставленных задач и сформулированных основных положений диссертации выполнен анализ литературных источников, проведены патоморфологические, бактериологические, иммуноферментные (определение цитокинов и кортизола), молекулярно-генетические (определение полиморфизма rs1800471 гена TGFb1, rs1800629 гена TNF α , rs3775291 гена TLR3 и rs4986790

гена TLR4) и клинико-лабораторные исследования. Весь математический анализ проводился с помощью лицензионных программ Microsoft Office Excel (v. 14.0.7237.5000 32-разрядная, номер продукта: 02260-018-0000106-48881, Microsoft Corporation, 2010), STATISTICA 10 (StatSoft Inc., USA), онлайн-калькулятора (<http://gen-exp.ru/calculatoror.php>) и адекватных математических методов и критериев.

Положения, выносимые на защиту

1. Течение раневого процесса при боевой травме определяется степенью повреждения тканей и особенностями индивидуального течения воспалительной реакции. Оказание специализированной хирургической помощи в полном объеме возможно только в условиях специализированного центра после своевременной сортировки раненных и пострадавших, своевременной эвакуации и на основе индивидуально-дифференцированного подхода к лечению.
2. Длительность репаративной регенерации обусловлена влиянием комплекса причинно-следственных связей с участием нейроэндокринных, иммунных и тканевых факторов: гиперкортизолиемией, гиперпродукцией цитокинов IFN γ , TNF α , IL-6, угнетением синтеза TGF β 1 и IL-10.
3. Процессы регенерации при боевом и ожоговом повреждениях имеют мультифакторную полигенную природу. Исследованные полиморфизмы генов TGF β 1, TNF α , TLR3, TLR-4 имеют значимое влияние на течение и характер заживления ран.
4. Анализ ассоциации носительства аллелей и генотипов rs1800471 гена TGF β 1 с уровнем TGF β 1, rs1800629 гена TNF α с уровнем TNF α крови показал, что выявленный вклад генов TGF β 1 и TNF α , определяется влиянием их полиморфизмов на синтез тканевых и иммунных регуляторов и длительность лечения.
5. Выделены наиболее значимые предикторы длительности стационарного лечения, количества выполненных операций и осложнений в ближайшем и отдаленном послеоперационном периоде: генетический прогноз, тяжесть

состояния при поступлении, пол, скорость доставки в специализированный центр.

Степень достоверности и апробация результатов. Достоверность полученных результатов основана на подборе репрезентативных групп пострадавших в результате боевой и ожоговой травмы в соответствии с поставленными задачами исследования. Проведенные исследования выполнены с использованием современных методов патоморфологических, бактериологических, иммуноферментных и молекулярно-генетических исследований и подтверждены общепринятыми методами статистической обработки данных. Составлен акт проверки первичной документации. Проведенный анализ полученных данных подтвердил правильность выдвинутых гипотез.

Результаты диссертационного исследования доложены на Международной научно-практической конференции, посвященной 140-летию со дня рождения профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого «Хирургические инфекции кожи и мягких тканей у детей и взрослых» (Симферополь, 2017), Всероссийской конференции «Оказание скорой и неотложной медицинской помощи раненым и пострадавшим при массовом поступлении» (Москва, 2016), VIII Межрегиональной научно-практической конференции с международным участием «Мультимодальная терапия и междисциплинарный подход к лечению ран различной этиологии» (Краснодар, 2016), Научно-практической конференции «Инновационные технологии в медицине неотложных состояний» (Донецк, 2017), Международном медицинском форуме «Наука побеждать... болезнь» (Донецк, 2017, 2019).

Личное участие автора. Диссертантом разработана концепция диссертационной работы, проведена разработка основных теоретических и практических положений диссертации, проведен анализ литературных источников. Диссертантом обоснован выбор методики обследования и лечения, проведены клинические и лабораторные исследования.

Диссертант лично выполнял оперативные пособия у раненных и пострадавших. У 25% пострадавших диссертант был в качестве лечащего врача с 2015 года, принимал участие в лечении пострадавших, участвуя в 75% операций, дежурствах в клинике, осуществлял транспортировку пострадавших в составе бригад центра экстренной медицинской помощи. В публикациях, изданных в соавторстве, основные идеи и материал принадлежат диссертанту.

Бактериологические исследования проводились на базе клинической лаборатории ИНВХ им. В.К. Гусака, патоморфологические исследования – на базе кафедре патологической анатомии ДОННМУ ИМ. М.ГОРЬКОГО (доцент Кондратюк Р.Б.).

Генетические и биохимические исследования выполнялись в ЦНИЛ ДОННМУ ИМ. М.ГОРЬКОГО (с.н.с. Чернобривцев П.А., с.н.с. Кишеня М.С.).

Статистическая и математическая обработка полученных результатов проведена на базе ДОННМУ ИМ. М.ГОРЬКОГО (доцент Коктышев И.В., с.н.с. Чернобривцев П.А., с.н.с. Кишеня М.С.).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 19 научных работ, в том числе: 13 статей – в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК ДНР (из них одна – без соавторов), 5 учебных пособий, и тезисы в материалах конференции.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 287 страницах текста компьютерной верстки (244 страниц основного текста, 42 страницы списка литературы) и включает: введение, обзор литературы и методов исследования, пяти глав собственных исследований, заключение, выводы и практические рекомендации. Диссертация иллюстрирована 42 таблицами и 62 рисунками. Список литературы включает 376 источников, в том числе 180 отечественных и 196 иностранных авторов.

ГЛАВА 1

СОВРЕМЕННЫЕ АСПЕКТЫ ПАТОГЕНЕЗА И ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ПРИ БОЕВОЙ И ОЖОГОВОЙ ТРАВМЕ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

1.1. Краткая справка о вооруженных конфликтах

Человечество знакомо с конфликтами с момента своего возникновения. Споры и войны вспыхивали на всем протяжении исторического развития общества между племенами, городами, странами, блоками государств. За последние 5,5 тыс. лет было около 14,5 тыс. больших и малых войн (в т. ч. две мировые), в ходе которых погибло, умерло от эпидемий и голода свыше 3,6 млрд. человек [130, 139, 155].

В современную эпоху вероятность крупномасштабных войн снизилась. Но взамен прежней угрозы появилась новая опасность глобального масштаба [140, 29, 32]. Речь идет о многочисленных вооруженных конфликтах внутри государств, возникающих вследствие политических, религиозных или этнических противоречий между их гражданами [9, 104]. «Внутренняя война» легко вспыхивает в любой стране, где, помимо подходящей почвы (столкновения интересов социальных или этнических групп), появляются хотя бы самые незначительные сопутствующие условия (например, поддержка из-за рубежа) [138, 31, 90].

Сегодня на планете насчитывается 160 зон этно-политической напряженности, 80 из них присуща вся атрибутика неурегулированных конфликтов [70, 141, 25].

Уровень угроз и факторов неопределенности оказывают существенное влияние на развитие военно-политической обстановки в мире, на создание очагов напряженности и зон конфликтов, на характер войн и вооруженных конфликтов [132, 15, 97].

К характерным особенностям войн последних десятилетий можно отнести [158, 69, 33, 152]:

- применение различных форм и методов боевых действий, в том числе и нетрадиционных;
- сочетание военных действий (проводимых в соответствии с правилами военной науки) с партизанскими и террористическими действиями;
- широкое использование криминальных формирований;
- избирательность поражения объектов;
- повышение роли дальних дистанционных боев с применением высокоточных радиоуправляемых средств;
- нанесение точечных ударов по ключевым объектам (критическим элементам объектов экономики);
- сочетание мощного политико-дипломатического, информационного, психологического и экономического воздействия.

В свою очередь, вооруженный конфликт на Донбассе также имеет ряд характерных особенностей:

- применение крупнокалиберной ствольной и реактивной артиллерии в городской черте, что ведет к массовым жертвам среди мирного населения;
- оказание помощи раненым и пострадавшим в гражданских лечебных учреждениях;
- наличие разветвленной сети асфальтированных и шоссейных дорог, наличие крупных специализированных центров по оказанию хирургической помощи населению, узость театра боевых действий, что позволяет в кратчайшие сроки доставлять раненных и пострадавших в специализированный центр;
- преобладание комбинированных и сочетанных поражений в нозологической структуре боевой травмы;
- наличие большого коечного фонда, квалифицированного хирургического персонала в специализированных центрах, возможность проведения адекватного хирургического и консервативного лечения пострадавших;
- неблагоприятный психологический и эмоциональный фон, наличие постоянного стрессового фактора.

Как было указано выше, совокупность данных факторов при оказании специализированной помощи раненым и пострадавшим, дало неоднозначные результаты лечения при боевой и ожоговой травме [30, 154, 99]. В связи с этим, нами была предпринята попытка найти патогенетическое обоснование оказания ранней специализированной хирургической помощи населению, а также создать математическую прогностическую модель течения раневого процесса.

1.2. Общие понятия об огнестрельной ране, ожоговой болезни и комбинированной травме

В настоящее время общепризнанна теория прямого и бокового удара механизма образования огнестрельной раны [141]. Действие прямого удара осуществляется на ткани на том участке, где ранящий снаряд непосредственно с ними соприкасается. Сила бокового удара действует на ткани за пределами раневого канала. Вокруг пули формируется поток воздуха в виде клина. Направление движения этого потока параллельно и радиально траектории полета пули. Сжатый воздух, идущий впереди пули, – головная ударная волна – один из факторов, повреждающих ткани. За ним следует сама пуля, которая преимущественно оказывает механическое действие и в зависимости от энергии, которой она обладает, вызывает различные повреждения. Пуля, обладающая большой кинетической энергией, при поражении кожи оказывает пробивное действие, т.е. образует отверстие, лишенное кожи [141].

Поток воздуха, идущий радиально траектории полета пули, формирует временную пульсирующую полость, которая может превышать диаметр ранящего снаряда в 30-50 раз. Достигнув максимальных размеров, она начинает спадаться, происходит ее «схлопывание». Время существования временной пульсирующей полости значительно превышает время прохождения пули в тканях. Перепады положительного и отрицательного давления в ней достигают 50 атм. Это способствует обширному повреждению тканей, попаданию микробов и инородных тел на значительное расстояние от раневого канала [102, 36, 53].

При высокой скорости полета снарядов могут возникать сильные ударные волны. Эти волны не вызывают тяжелых механических повреждений, а влияют на внутриклеточные процессы, приводящие к разрушению клеточных структур. Под воздействием ударных волн происходят изменение свертываемости крови, коагуляция белка.

Пуля, обладающая большой кинетической энергией, попав в полый орган с жидким содержимым или кровенаполненный паренхиматозный орган, вызовет гидродинамическое действие, а поразив кость, разрушит ее, проявляя дробящее действие. Пуля, имеющая к моменту контакта с телом малую энергию, сможет оказать лишь клиновидное действие, которое проявится раздвиганием тканей или их ушибом, последствиями которого могут быть ограниченные кровоизлияния, гематомы или поверхностные ушибленные раны [71].

Осколки разорвавшегося огнестрельного снаряда также оказывают преимущественно механическое воздействие, последствия которого будут прямо связаны с их кинетической энергией.

Таким образом, в механизме огнестрельного ранения играют ведущую роль следующие элементы.

- головная ударная волна (баллистическая), волна сильно уплотненного воздуха, формирующаяся впереди пули;
- сам ранящий снаряд;
- временная пульсирующая полость (энергия бокового удара);
- вторичные ранящие снаряды (костные отломки, летящие со скоростью до 70 м/с);
- воздействие вихревого следа.

Сила прямого удара определяется характеристиками ранящего снаряда и вторичных снарядов: скоростью, массой, величиной, площадью ударного соприкосновения, устойчивостью в полете. Сила бокового удара зависит от воздействия головной ударной волны и временной пульсирующей полости.

Взаимодействие огнестрельного снаряда с поражаемой частью тела рождает качественно новые динамические характеристики: поглощенную энергию,

ударные волны, время контакта, форму и протяженность раневой траектории, временную пульсирующую полость, устойчивость или неустойчивость движения снаряда, образование вторичных снарядов биологической природы, положение снаряда в момент удара, мощность ударного воздействия и др.

Волны упругой деформации (ВУД), регистрируемые при баллистических исследованиях, являются по своей природе аудиоколебаниями, собственная частота и скорость распространения которых в мишени-имитаторе определяются свойствами распространения звука в веществе (или композиции), из которого сделана мишень, а характер распространения зависит от выраженности торможения ранящего снаряда в веществе. ВУД нельзя путать с волнами упругого напряжения (или сжатия), которые напрямую связаны с давлением, возникающим во временной пульсирующей полости. Тем не менее, по величине и динамике изменения ВУД расчетным путем можно судить о количестве кинетической энергии, переданной на единицу площади раневого канала. Поэтому в описании механизма повреждающего действия ранящего снаряда используются абсолютные величины и физические характеристики ВУД, регистрируемые баллистическими установками. Их амплитуда уменьшается с течением времени тем быстрее, чем больше коэффициент затухания среды, в которой они распространяются.

Размеры зоны первичного некроза определяются характером торможения ранящего снаряда в тканях, зависящим от момента инерции, что приводит к изменению величины и характера его колебаний, которое проявляется в резком изменении траектории движения снаряда [65, 165, 1].

Размер сферы поражения зависит от размеров временной пульсирующей полости. Поэтому для комплексной оценки тяжести механического повреждения, вызванного ранящим снарядом или пулей, важно знать объем сферы поражения или объем временной пульсирующей полости, которые не только определяют состояние пострадавшего в данный момент времени, но и позволяют прогнозировать течение и исход повреждения.

Повреждающее действие огнестрельного оружия определяется следующими факторами:

- непосредственным повреждающим действием ранящего снаряда (пули);
- повреждающим действием комбинации ВУД, возникающей при торможении ранящего снаряда в тканях.

При этом выделяют три этапа формирования огнестрельного ранения, которые соответствуют фазам движения ранящего снаряда (пули) в тканях.

Травмирующий эффект в фазе пробивания зависит главным образом от скорости нарастания и максимума создаваемого пулей избыточного давления, в ходе которого в тканях со скоростью 1450 м/с начинают распространяться волны упругой деформации первого порядка (ВУД I).

На втором этапе формирования огнестрельного ранения действует фаза торможения. Она возникает после прохождения пулей в объекте расстояния около 10-13 см. Скорость ее движения снижается. Вследствие этого до критической величины возрастает величина колебаний, что приводит к изменению траектории движения ранящего снаряда, резкому торможению и возникновению волн упругой деформации второго порядка (ВУД II).

После вылета пули из объекта наступает третий этап формирования огнестрельного ранения, соответствующий фазе пульсирования. Он заключается в том, что ВУД I и ВУД II вступают в активное взаимодействие друг с другом (интерференция, рефракция и отражение) и вызывают явления резонанса в тканях, что приводит к образованию волн упругой деформации третьего порядка (ВУД III). ВУД III обычно имеют самую высокую амплитуду (до 3×10^6 Па) и представляют собой вынужденные, гармонические, механические, затухающие колебания с длительностью существования до 1,3 мс.

В соответствии с морфологическими и функциональными изменениями, а главное, в интересах лечебной тактики в пределах раневого канала выделяют три зоны.

Первичный раневой канал (первичная, или постоянная, полость) возникает вследствие расщепления, разможнения, разъединения и раздробления тканей по

оси полета снаряда. Диаметр и контур одного и того же канала на всем протяжении – различны, что связано с поведением снаряда и анатомической характеристикой поврежденных тканей [157, 35, 71]. Собственно канала при огнестрельных ранениях может и не быть, так как образующийся дефект тканей заполняется раневым детритом, излившейся кровью. Ход раневого канала в значительной степени усложняется по мере прохождения снарядом через разнородные ткани, различающиеся по структуре, плотности, эластичности [133, 109, 52]. В момент ранения происходит первичная девиация раневого канала (отклонение от прямой линии, являющейся продолжением траектории движения снаряда), что является характерной чертой огнестрельных ран.

Вторичная девиация к механизму действия ранящего снаряда отношения не имеет, она наступает после ранения, иногда спустя длительный период времени вследствие смещения мягких тканей и костных фрагментов, сдавления тканей гематомой, развивающимся посттравматическим отеком.

Раневой канал заполнен кровью, инородными телами, обрывками отторгнутых, размозженных, мертвых тканей – раневым детритом. Количество размозженных тканей увеличивается в направлении выходного отверстия [68, 122, 163].

Зона контузии (зона прямого травматического, первичного некроза) возникает на площади соприкосновения снаряда с тканями. В эту зону входят ткани, расположенные в непосредственной близости от раневого канала и подвергающиеся некрозу в момент ранения или ближайšie часы после него в результате физического воздействия на ткани ранящего снаряда. Глубина некроза тканей в стенках первичного раневого канала различна на его разных участках, в разных органах и тканях. Размеры зоны первичного некроза зависят от баллистической характеристики ранящего снаряда, структурно-функциональных особенностей поражаемых тканей, в частности от их способности переносить травматические повреждения и гипоксические состояния. Лучше всех в зоне контузии сохраняется соединительнотканная строма, которая иногда остается при полной гибели других окружающих тканей,

что особенно хорошо видно в стенках раневых каналов в клетчатке и мышцах. Чем больше энергия, переданная тканям ранящим снарядом, тем больше площадь зоны контузии и первично-некротизированной ткани [139, 126, 62, 160].

Визуально зона контузии представляет собой относительно тонкий слой ткани темно-красного цвета мягкой консистенции без капиллярного кровотечения (если это мышечная ткань, то отсутствует контракция мышечных волокон при разрезе или щипке). Важно иметь в виду, что конфигурация зоны первичного некроза может быть различной, что очень затрудняет осуществление исчерпывающей первичной хирургической обработки ран [183, 111, 42].

Зона сотрясения – зона бокового удара, непосредственно прилежащая к тканям, полностью потерявшим жизнеспособность в момент ранения или в ближайшие часы после него. В механизме формирования этой зоны главную роль играют образование временной пульсирующей полости раневого канала и распространение ударных волн, особенно волн давления. В зоне сотрясения ткани подвергаются непрямому воздействию снаряда. Ткани, расположенные вблизи зоны контузии, внутренний слой зоны сотрясения подвергаются массивному сотрясению, при котором происходит их резкое смещение в результате образования временной пульсирующей полости. В тканях, расположенных на большем отдалении от оси огнестрельного канала, т.е. в наружном слое зоны сотрясения (зона «молекулярного сотрясения», по Н.И. Пирогову), сотрясение менее выраженное.

Объем повреждения тканей в зоне сотрясения (зона коммоции) колеблется в широких пределах и зависит от структуры тканей. Так, в органах, характеризующихся небольшим коэффициентом сжатия (мозг, печень, селезенка, кость), обычно преобладают эффекты разрыва или раскалывания на части. В тканях, содержащих большое количество коллагеновых и эластических волокон, повреждения менее значительны. Следует отметить, что внутренний слой зоны коммоции характеризуется очень низкой жизнеспособностью клеток вследствие глубоких обменных расстройств, преимущественно на молекулярном уровне. Первоначально изменения в наружном слое зоны коммоции имеют в основном

функциональный характер (расстройства кровообращения и питания тканей разной степени выраженности). Нарушения микроциркуляции и сопутствующие им явления выраженного отека, гемо- и лимфостаза способствуют развитию ацидоза и гипоксии, что оказывает повреждающее действие на ткани в данной зоне. Возникает порочный круг: отек мышц, находящихся в фасциальных футлярах, приводит к их сдавлению, дальнейшему ухудшению кровоснабжения и нарастанию отека.

Таким образом, в зоне коммоции на фоне усиливающихся расстройств микроциркуляции могут прогрессировать дистрофические и некробиотические процессы, способствующие развитию вторичных некрозов, возникающих в зоне коммоции на значительном расстоянии от первичного раневого канала. При благоприятном течении раневого процесса, обусловленном соответствующим адекватным местным воздействием на рану и общим лечением раненого, может произойти обратное развитие структурно-функциональных изменений наружного слоя зоны коммоции, в результате чего значительно уменьшается величина вторичного некроза тканей [164, 131, 147].

Зона сотрясения представляет собой интерес для хирургов. Она может быть названа зоной неустойчивого равновесия. При неблагоприятных условиях (нарастание отека, отсутствие или задержка соответствующих местных и общих мероприятий при лечении раненого) эта зона способна значительно расшириться или целиком подвергнуться некротическим изменениям. Местное и общее лечение способствует уменьшению этой зоны и, следовательно, позволяет сохранить жизнеспособность поврежденных тканей, прежде всего мышечной.

Судьба тканей зоны молекулярного сотрясения определяется как степенью их повреждения, так и особенностями лечебной тактики. В условиях неблагоприятного течения раневого процесса, в частности при неадекватном лечении, глубокие функциональные расстройства могут вести к возникновению микроочагов некроза, которые, сливаясь, образуют макроочаги, а те в свою очередь формируют зоны сплошного некроза.

На состояние тканей зоны молекулярного сотрясения большое влияние оказывает нарушение равновесия в системе перекисного окисления липидов (ПОЛ) и антиоксидантной системы (АОС), микроциркуляции, гипоксия, трофические расстройства и др.

В ране различают входное и выходное отверстия. Военным врачам важно знать, что вид входного и выходного отверстий не дают полного представления о размере разрушений тканей.

Организм в ответ на ранение мобилизует общие и местные защитные силы, направленные на заживление раны, что составляет суть раневого процесса [9, 31, 69]. Пусковым моментом патогенеза огнестрельных ран являются процессы мембранной патологии, для которых на молекулярном уровне характерны реакции с участием химически активных свободных радикалов, которые являются инициаторами физико-химического процесса трансформации кинетической энергии ранящего снаряда. Активация процессов ПОЛ вызывает дополнительные повреждения тканей вокруг огнестрельной раны.

В основе морфофункциональных изменений мягких тканей огнестрельной раны лежат нарушение функции мембран клеток, расстройства основных метаболических процессов поврежденных тканей, вызванные активацией ПОЛ, разобщение процессов окисления и фосфорилирования в митохондриях [130, 140, 15].

Первая стадия включения основных патогенетических факторов характеризуется разрушением мембран клеток под действием огромной кинетической энергии ранящего снаряда, активацией процессов ПОЛ, повышенным расходом местных тканей, возникновением ишемии и выключением дыхательной цепи митохондрий.

Вторая стадия характеризуется ингибированием основных метаболических путей, дефицитом аденозинтрифосфата (АТФ) и постепенным развитием нарушений катионного баланса клеток. Важным моментом патогенеза вторичного некроза при огнестрельном ранении является падение

энергетического потенциала клеток вследствие нарушения окислительно-восстановительных процессов.

Третья стадия состоит в реализации липидной триады повреждения биомембран и, следовательно, сопровождается увеличением избытка Ca^{2+} , Na^{+} , дефицитом K^{+} в клетках и набуханием последних. Именно в этой стадии в результате нарушения мембранного аппарата клеток, по-видимому, происходит переход обратимых ишемических повреждений в необратимые повреждения.

Четвертая стадия тотального разрушения клеточных структур завершается формированием некроза.

Механическая травма и ишемическая гипоксия тканей зоны молекулярного сотрясения огнестрельной раны вызывают активацию ПОЛ, а это в свою очередь приводит к снижению потенциала АОС. Интенсивность ПОЛ определяется сроком с момента ранения и удаленностью тканей от раневого канала.

Активация процессов свободнорадикального окисления приводит к развитию синдрома липидной перекисидации, включающего повреждение мембранных липидов клеток и субклеточных структур, нарушение синтеза АТФ, накопление продуктов перекисной денатурации липидов и белков. Избыток липидных перекисей нарушает физико-химическую структуру мембран клеток, ингибирует их ферментативные системы, инактивирует цитоплазматические ферменты, деполяризует ДНК, расщепляет АТФ и аминокислоты, снижает активность тимоловых ферментов. Установлено, что накопление продуктов ПОЛ играет важную роль в развитии синдрома эндогенной интоксикации. Все указанные выше патологические изменения, вызываемые повышением интенсивности ПОЛ, возникают в первые часы после ранения.

Современная раневая баллистика определяет огнестрельное ранение как сложный процесс взаимодействия ранящего снаряда и повреждаемого биологического объекта.

Характер огнестрельного повреждения зависит от многих факторов, которые можно свести в три группы: свойства огнестрельного снаряда (масса, форма, калибр, длина, конструктивные особенности), особенности движения

пули в воздушной среде (скорость, устойчивость) и свойства поражаемых тканей.

Характер огнестрельной раны, прежде всего, зависит от кинетической энергии ранящего снаряда, которая определяется скоростью и массой. Все огнестрельные ранящие снаряды могут вызывать низкоэнергетическое и высокоэнергетическое воздействие на биологические ткани.

Однако одно и то же оружие при различных условиях может вызывать различные повреждения. В процессе полета кроме поступательного движения пуля совершает и ряд других движений. Масса, форма, калибр и конструктивные особенности пули влияют на характер ранения. Эти показатели взаимосвязаны и оцениваются применительно к конкретному виду оружия.

Существенное значение имеют и другие конструктивные особенности, такие как наличие у пули оболочек, сердечника, положение центра тяжести. В настоящее время в боевом оружии используются только оболочечные пули. Разрушение, фрагментация или, как говорят, «демонтажное» пули в момент ранения способствует причинению более тяжелого и обширного повреждения.

При современном ведении боя пехотным оружием обычная дальность прицельной стрельбы составляет 100-150 м. В этот же диапазон попадают поражающие элементы, обладающие очень высокой энергией. К таким же поражающим факторам можно отнести и ранящие снаряды в виде осколков мин, гранат, бомб, ракет, летящих со скоростью – до 2000 м/сек. Обладая аэродинамически неблагоприятной формой, хотя и незначительным весом, неся колоссальную энергию, они создают потенциальную опасность в образовании тяжёлых повреждений биологических структур.

Современные тенденции в разработке осколочных боеприпасов лежат в области создания мин, бомб, снарядов, начиненных стандартными ранящими элементами (шарики, игольчатые и стреловидные пули, ребристые кубики и др.). Кроме того, довольно часто ранения, возникающие в результате взрыва мин, гранат, снарядов и бомб, сочетаются с местным и общим воздействием ударной

волны. В результате этого могут иметь место закрытые повреждения, отягощающие течение огнестрельной травмы.

Различные биологические структуры по-разному реагируют на явление кавитации. Основными носителями эффекта кавитации являются ткани, содержащие значительное количество воды. Особенно хорошо ей подвержены паренхиматозные органы и мышцы. Легочная ткань травмируется менее значительно. Полые органы разрываются вследствие компрессивных и декомпрессивных волн временной пульсирующей полости, при этом зоны некрозов бывают незначительными.

1. Первый тип огнестрельных ранений. Раны, нанесённые ранящими снарядами, летящими с низкой скоростью (300-400 м/с). К ним относятся пистолетные пули, вторичные ранящие снаряды, осколки на излёте и т.д. Характеризуются незначительными размерами временной пульсирующей полости, поражающее действие в основном реализуется за счет прямого удара. Большинство таких ран может быть излечено консервативно, так как при отсутствии кровотечения и переломов они не подлежат хирургической обработке.

2. Второй тип огнестрельных ран. Раны, нанесенные пулями, летящими со средней скоростью (600-700 м/с), обладающими запасом устойчивости. Это т.н. стандартные раны Второй Мировой войны от пуль калибра 7,62 мм с небольшим входным и в 3-4 раза превышающим его диаметр выходным отверстиями.

3. Третий тип огнестрельных ран или современные раны. Раны, нанесённые высокоскоростными малокалиберными ранящими снарядами (750-990 м/с), неустойчивыми в полете. Выходное отверстие их в 8-12 раз превышает размеры входного отверстия. В ряде случаев возможны повреждения в виде «укуса акулы».

4. Четвёртый тип огнестрельных ран. В настоящее время такие повреждения встречаются ещё редко. Это раны от сверхвысокоскоростных ранящих снарядов, начальное движение которых в биологических тканях больше

скорости звука. При таких повреждениях входное отверстие в 6-8 раз больше, чем выходное (если оно вообще есть).

Каждая огнестрельная рана является микробно загрязненной. Это означает, что в содержимом раневого канала всегда имеются микроорганизмы, которые заносятся в рану в момент ранения с осколком снаряда или с обрывками одежды. Микробы могут проникать в рану и в любой другой момент – при сбившейся повязке, при ее промокании. Количественный и качественный состав микробного загрязнения весьма разнообразен и в современном представлении состоит из ассоциаций кокковой (стафилококк, стрептококк); бактериальной (кишечная и синегнойная палочки, протей) и неклостридиальных анаэробов (бактероиды, фузобактерии, пептококки, пептострептококки). Так, в широко открытых, хорошо аэрируемых ранах анаэробные микробы быстро погибают, и развивается кокковая флора. Напротив, в ранах со сложным фрагментированным раневым каналом создаются благоприятные условия для развития анаэробной микрофлоры.

В случаях, когда защитные силы организма не в состоянии локализовать и подавить раневую микрофлору, возникает инфекционный процесс, развивается инфекционное осложнение огнестрельной раны.

Таким образом, для огнестрельных ран характерны следующие особенности, которые необходимо учитывать при их лечении:

- большое разнообразие ранящих снарядов и факторов поражения;
- дефект тканей в зоне раневого канала;
- неравномерность поражения тканей в зоне раневого канала и его сложное строение;
- повреждение тканей и органов за пределами раневого канала;
- микробное загрязнение тканей огнестрельной раны;
- частое развитие гнойных осложнений;
- выраженные общие реакции организма на огнестрельное ранение.

При минно-взрывных ранениях на фоне тяжелого контузионно-коммоционного синдрома у пострадавших отмечаются отрывы конечностей и множественные ранения, сопровождаемые обширной кровопотерей.

Топографоанатомически повреждения нижних конечностей при минно-взрывных ранениях подразделяются на 4 уровня:

- взрывное распыление тканей или зона полного анатомического дефекта;
- отрыв, размозжение и распрепаровка тканей или зона неполного анатомического дефекта;
- ушиб тканей;
- сотрясение органов и тканей смежных сегментов.

Минно-взрывные повреждения характеризуются преимущественно изолированными или множественными закрытыми и открытыми переломами костей, которые могут сочетаться с закрытыми повреждениями внутренних органов. Данный вид повреждения встречается у пострадавших, защищенных от прямого воздействия взрыва, находясь, к примеру, в автомобильной или бронетанковой технике. Травмы возникают как в сегментах непосредственно обращенных в сторону взрыва, так и на участках тела, ударяемых о предметы техники с противоположной стороны. Также при данном виде травмы могут происходить повреждения магистральных сосудов, сотрясение и разрывы внутренних органов.

В результате действия на организм повреждающих факторов взрыва, направленного снизу вверх и происходящим, в большинстве случаев, на открытой территории, возникает специфическая огнестрельная травма, имеющая свои особенности патогенеза.

Особое место в системе нарушения гомеостаза имеет нарушение микроциркуляции.

Нарушение микроциркуляции у пострадавших является одним из ключевых патогенетических механизмов, влияющих на скорость заживления ран и состояние гомеостаза в целом. Особенность течения микроциркуляторных

нарушений у пострадавших с МВТ заключается в их стойком сохранении даже после выведения больных из шока.

Нарушения гомеостаза при минно-взрывной травме приводит к электролитным и метаболическим изменениям. Значительные изменения претерпевает активность аминотрансфераз, состояние белкового обмена (у пострадавших отмечается стойкая гипопроотеинэмия), отмечается повышение азота мочевины, также в раннем сроке после получения травмы отмечается значительное увеличение уровня глюкозы в крови. Электролитные нарушения характеризуются в основном стойкой тенденцией к гипонатриемии и гипохлорэмии.

Тяжесть, обширность и специфичность повреждений, возникающих в результате взрыва мины, заметно отличают ее от типичных огнестрельных ран. При оказании помощи пострадавшим с минно-взрывной травмой хирург должен понимать, что оказать одномоментную радикальную хирургическую обработку зачастую не представляется возможным и предпочтительно основываться на принципе многоэтапного сберегательного лечения.

При поверхностных ожогах, когда они занимают площадь большую, чем 30% п.т. у взрослых, и при глубоких ожогах (III-IV ст.), когда они занимают площадь, большую чем 10% п.т. у взрослых развивается ожоговая болезнь [123, 144].

Ожоговая болезнь – это сложный симптомокомплекс, который вызывает формирование критического состояния в организме пострадавшего с „выходом из строя” систем адаптации, с возможностью развития необратимости патологических процессов [67].

Ожоговая болезнь в своем течении проходит 4 стадии:

- ожоговый шок (чаще всего длительностью от 12 до 48 часов, крайне тяжелой ст. ожоговый шок может продолжаться до 72 часов);
- стадия острой ожоговой токсемии (ООТ) длится до появления признаков инфекции в ранах (чаще всего – около 8-9 дней, может быть от 3 до 12 дней);

- стадия ожоговой септикотоксемии (ОСТ) (с момента появления нагноения в ранах до заживления ожоговых ран или до момента полного оперативного закрытия ран – обычно несколько недель, может быть и несколько месяцев);
- стадия реконвалесценции (после заживления или закрытия ожоговых ран).

Ожоговый шок – это патологическое состояние, которое возникает в ответ на значительные ожоги кожи, слизистых оболочек, подлежащих тканей и приводящее к тяжелым нарушениям в организме обожженного, к формированию критического состояния.

Представления об основных патогенетических механизмах формирования ожогового шока на уровне организма и органа определяют его как гиповолемический. Это обусловлено значительными потерями жидкой части крови через поврежденную ожогами кожу. В развитии гиповолемии при ожоговом шоке значительную роль играют три фактора: изменения проницаемости капилляров с «выходом» плазмы в интерстициальное пространство со скоростью до 4 мл/кг/час, повышение проницаемости клеточных мембран и депонирование большого количества жидкости в кишечнике при его дисфункции, парезе (прежде всего при нарушениях микроциркуляции в брыжейке). То есть ожогового шока – это, прежде всего, нарушение микрогемодинамики в результате неадекватного распределения кровообращения (вследствие значительного сужения или расширения сосудов).

Повреждение кожи при ожогах сопровождается высвобождением как из клеток кожного покрова, так и из привлечённых в очаг деструкции клеток крови (макрофагов, нейтрофильных гранулоцитов, лимфоцитов, тромбоцитов и других) большого количества биологически активных веществ (медиаторов воспаления) [150, 4].

Эндогенные воспалительные медиаторы, которые задействованы в патогенезе ожогового шока, включают интерлейкины, гистамин, серотонин, кинины, свободные радикалы кислорода, продукты ПОЛ, эйкозаноиды кислотного каскада [213, 67, 50]. Это инициирует продукцию циклооксигеназы,

тромбоксанов, простагландинов, продуктов действия липооксигеназы, лейкотриенов, комплемента, тромбоксана. Вазоконстрикция и скопление тромбоцитов может заметно увеличиваться. Ишемия кожи увеличивает деструкцию глубжележащих тканей.

Среди биологически активных веществ важное значение, как фактор, способствующий развитию отеков, имеет гистамин (из тучных клеток поврежденной кожи), серотонин (источником которого преимущественно являются тромбоциты, который ответственный за повышение сосудистого сопротивления в легких и усиление сосудистого тонуса под воздействием адреналина, простагландинов, ангиотензина II), арахидоновая кислота (принимает участие в выработке простагландинов, лейкотриенов), продукты ПОЛ, анионы супероксидов перекиси, цитокины [2, 37, 79, 108, 197]. Они приводят к агрегации тромбоцитов, повышают сосудистую проницаемость и тонус сосудов микроциркуляции. В повышении проницаемости клеточных мембран принимают участие также некоторые фракции комплемента. При этом очень важно, что биологически активные вещества действуют на эндотелий сосудов микроциркуляции не только в месте ожога, но и во всех внутренних органах. Большая зона ожога кожи, слизистых оболочек является постоянным и мощным источником болевой импульсации с формированием болевого синдрома, развитием психоэмоциональных расстройств. Значение этого механизма формирования ожогового шока заключается в том, что нарушение симпатического отдела нервной системы с выбросом в кровь биологически-активных веществ, ацетилхолина, катехоламинов, глюкокортикостероидов, адренокортикотропного гормона, соматотропного гормона, приводит к последующему общему нарушению микроциркуляции [76, 43, 99, 3, 18].

Одной из особенностей клинического проявления ожогового шока, в отличие от других видов шока, являются «удовлетворительные» показатели уровня АД, которые достигаются благодаря таким изменениям показателей центральной гемодинамики, как ЧСС (обычно развивается тахикардия), сердечного выброса (он чаще всего изменяется фазово: увеличивается, а затем,

через 1-2 суток – уменьшается), общего периферического сосудистого сопротивления (чаще всего – повышается). Эти изменения (они определяют термин так называемой «централизации кровообращения») протекают вместе с увеличением доставки кислорода тканям, его потребления на фоне метаболического ацидоза (что отображает наличие скрытой гипоксии) [176, 178, 22].

Большое значение имеет повышенный выброс ацетилхолина. Роль ацетилхолина при этом заключается в том, что он через кортикотропин – релизинг-фактор увеличивает содержание адренкортикотропного гормона – гормона стресса, который увеличивает выброс гормонов коры надпочечных желез, в том числе дезоксикортикостерона, альдостерона, кортизола. Следствием этого повышается содержание натрия и воды во внеклеточном пространстве, увеличивается секреция антидиуретического гормона, уровня ренин-ангиотензина с последующим образованием ангиотензина II, что повышает синтез альдостерона [296, 45, 142, 293]. Таким образом, изменяются уровни плазматического и внесосудистого содержания калия, натрия, воды.

Ацетилхолин активирует выработку в мозговом слое надпочечных желез адреналина, норадреналина, дофамина, которые, в свою очередь способствуют перераспределению кровотока микроциркуляции (вследствие спазма артериол и расширения капилляров внутренних органов). Наблюдается нарушение коагуляции, микротромбообразование, нарушения кислородного бюджета тканей. Нарушение перераспределения жидкости приводит к выходу ее из сосудистого русла не только в обожженные, но и в неповреждённые ткани – формируется местный отек (также и в результате потери внутрисосудистых белков (альбумина и других) в интерстициальное пространство). Отечность и повышенная проницаемость эндотелия сосудов микроциркуляции во внутренних органах приводит к дисфункции этих органов [5, 10, 128]. Дисфункция ЖКТ приводит к его парезу, к развитию эрозий и язв слизистых ЖКТ; печени – к формированию гепатопатии; почек – к формированию нефропатии; поджелудочной железы – к формированию панкреатопатии; мозга – к

формированию энцефалопатии; легких – к развитию острого легочного повреждения; сердца – к развитию миокардиопатии. Клиническими проявлениями этих нарушений является универсальный синдром многофакторного нарушения метаболизма – СПОН с последующей эндогенной интоксикацией. При лабораторном исследовании больных выявляется полицитемия, гемоконцентрация, гемолиз, повышение уровня молекул средней массы (МСМ) – низкомолекулярных веществ белкового происхождения в плазме и в эритроцитах, которые отображают активность протеолитических процессов в организме, амилазы, трансаминаз, накопление в плазме промежуточных продуктов обмена, продуктов ПОЛ, электролитного и белкового состава плазмы [73, 106, 113, 23].

В ответ на тяжелую ожоговую травму развивается гиперметаболический синдром, присущий больным с тяжелой ожоговой травмой больше, чем при любой другой травме. Ожоги вызывают комплексное нарушение гормонального гомеостаза, которое стимулирует увеличение основного обмена и потребления кислорода, увеличение потерь азота, увеличение липолиза и утилизации глюкозы, потерю массы тела. Нормальные уровни метаболизма (35-40 ккал/м² п.т./час) увеличиваются на 50% при поражении от 25% п.т. и еще больше повышаются при ожогах свыше 40% п.т. Изменяется центральная температура (опосредствовано через терморегулирующий центр в гипоталамусе). Этот послеожоговый стресс ассоциируется с неблагоприятной потерей жиров и мышц, задержкой роста детей, иммунологическим дисбалансом, кардиомегалией, печеночной липодистрофией, проблемами заживления ран и увеличением времени восстановления. Для компенсации послеожоговых энергетических потребностей используются все пути метаболической утилизации энергии. Большая часть дефицита калорий компенсируется окислением жировых отложений, что составляют около 24% веса тела. Как правило, дыхательный коэффициент после ожога составляет 0.70-0.76. Увеличение в гепатоцитах метаболитов липидов приводит к жировой инфильтрации печени. Однако жиры могут быть сожжены только в “костре углеводов”. Запасы углеводов при этом

снижены, менее чем 1% веса тела. Главным поставщиком углеводов является катаболизм белков, который обеспечивает уровень аланина и глутамина. Печеночный глюконеогенез и синтез мочевины также повышаются. Увеличенный распад мышечных и висцеральных белков постепенно истощает белковые запасы, что неблагоприятно влияет на периферические репаративные процессы в ранах. Первичные медиаторы послеожогового гиперметаболического синдрома включают катехоламины, глюкагон, кортикостероиды, 14 интерлейкинов, факторы некроза опухолей альфа и бета, простагландины и лейкотриены [137, 132, 56, 14, 298]. Послеожоговое уменьшение инсулина и увеличенная резистентность к инсулину приводят к диабетоподобным кривым уровня глюкозы в сыворотке. Уровни факторов роста (соматотропина и инсулиноподобного фактора роста) заметно уменьшаются у пациентов с тяжелыми ожогами. Ощущение боли, страдание значительно увеличивает уровень катехоламинов и метаболизм. Кроме того, испарение и охлаждение через рану приводит к потере 0,576 ккал/мл теплоты. У пациентов с ожогами при потерях в результате выпаривания 350 мл/час тепловые потери составляют – 3000-3500 ккалорий в сутки. Эта потеря энергии обычно не обеспечивается сохранением тепла в результате создания оптимального комфорта окружающей среды (например: согревание в флюидизирующих кроватях, под каркасом). Она должна быть обеспечена снабжением через внутренние системы организма пациента, через разные виды нутритивной поддержки [112, 63].

Длительность ожогового шока зависит от многих причин (во-первых – от тяжести ожоговой травмы, своевременности начала адекватной ИТ) и составляет не менее чем 12 часов, что отличает ожоговый шок от других видов шока.

Острая ожоговая токсемия – это вторая стадия ожоговой болезни, которая начинается по окончании стадии ожогового шока (обычно это 2-3 сутки после травмы) и продолжается чаще всего 8-9 дней (обычно до появления гнойных процессов в ожоговой ране). Соответственно ст. тяжести ожогового шока выделяют также лёгкую ООТ, ООТ средней тяжести, тяжёлую ООТ и крайне тяжёлую ООТ. Это тяжёлый период как для обожженного, так и для

медицинского персонала, потому что лечение в это время очень разноплановое, требующее сложного оборудования, новейших методик. В клиническом состоянии обожженного на первое место выходят явления СЭИ, обусловленного поступлением в кровь биологически-активных веществ, продуктов термического и протеолитического повреждения клеток кожи, токсинов, микробов и их обломков из ожоговой раны (при деструкции, лизисе тканей в зоне некроза и паранекроза, при бактериальном загрязнении) [40, 85, 192, 206]. Все это отображает следующий этап в развитии ожога – изменение потери плазмы и другой жидкости через ожоговую рану на повышенное всасывание через нее разных веществ в кровь. Учитывая, что еще во время ожогового шока часто развиваются дисфункции многих органов, которые чаще всего прогрессируют в стадию ООТ, то имеются все условия для нарастания явлений эндогенной интоксикации. Кроме того, возникающий еще во время ожогового шока гиперметаболический синдром не только не уменьшается, но может прогрессировать, особенно при развитии осложнений ожоговой болезни, длительном воспалении в ранах и при сепсисе. Дисбаланс уровней гормонов сохраняется (их показатели часто не возвращаются к нормальному уровню даже тогда, когда ожоговая рана будет закрыта).

Современный взгляд на происхождение ООТ выделяет несколько патогенетических механизмов, главным из которых является значительная активация кинин–калликреиновой системы крови, которая еще начинается в стадию ожогового шока и приводит к образованию в ожоговой ране (под действием на ткани лизосомальных протеолитических ферментов) большого количества неспецифических тканевых токсинов, так называемых «молекул средней массы» (МСМ) – пептидов средней молекулярной массы, которые возникают при протеолизе белков плазмы, биогенных аминов, компонентов кининовой системы, простагландинов, эндоперекисей липидов, гидролаз клеточного происхождения). Повышение уровня свободных кининов идет как за счет повышения калликреина, так и за счет снижения активности кинина крови. Способствует этому тканевая гипоксия, которая возникла еще во время

ожогового шока в результате нарушений микроциркуляции и др. Во время ожогового шока, когда нет всасывания этих токсинов к крови, они накапливаются в зоне некроза, паранекроза, вместе с бактериальными токсинами, когда микроциркуляция и всасывание из раны в кровь возобновляется, они все попадают в систему кровообращения, быстро разносятся по организму, вызывают значительные изменения в гомеостазе [303, 324, 114, 200, 189]. Протеолиз в данном случае является проявлением системной катаболической реакции и протекает вместе с гликогенолизом, липолизом. При ожогах определяются как кислые (клеточные) так и нейтральные (в плазме) протеазы. Как ожоговые токсины в этом случае действуют также гистамин, полипептиды, гликопротеиды и другие продукты распада белков (до аминокислот), продукты разрушения эритроцитов (гемолиза) и других клеток крови, фибриногена, цитокины, которые выделились при локальном и системном ответе на воспаление в ожоговой ране. Продукты денатурации белков называют гистиогенными токсинами. Еще выделяют специфические токсины, которые поступают из ожоговой раны при альтерации тканей, при развитии воспаления. Считают, что ими являются денатурированные белки кожи в разной фазе протеолитической деградации, которые связаны с белками-ингибиторами (глобулинами). К ним вырабатываются антитела. Повреждение ожогами кожи (а она и в норме имеет большое количество антигенов, которые не могут проникать в среды организма через молекулярно-целлюлярно-энзиматический барьер) приводит к освобождению из ее антигенов большого количества олигопептидов, которые являются достаточно агрессивными токсинами при попадании в кровь [331, 294, 17, 161]. Кроме того, нарушения водно-электролитного баланса, которые бурно развивались во время ожогового шока, остаются и при ООТ. При ожоговой болезни I-II ст. с переходом до стадии ООТ быстро нормализуется ОЦК, а часто появляется еще и гиперволемиа (из-за большого количества всасываемой жидкости из тканей, ран, в результате нормализации микроциркуляции, значительного объема инфузии при ИТ). При декомпенсации ССС и при острой почечной недостаточности может быть очень значительное

увеличение ОЦК во время ООТ, что необходимо иметь в виду при инфузионной терапии. Причем при ООТ часто наблюдается увеличение внеклеточной жидкости, что приводит к отекам. Клеточной гидратации при этом, чаще всего, нет. Вообще водно-электролитный обмен в значительной мере регулируется гормонами коры надпочечных желез, а во время ООТ значительно возрастает выброс в кровь гидрокортизона, 17-оксикортикостерона.

Гипоксия тканей и органов сохраняется, но во время ООТ есть тенденция к ее уменьшению вследствие восстановления микро- и макроциркуляции. Но появляется новая проблема – возникают условия для развития дыхательной гипоксии. Это: длительное нахождение обожженного в кровати, часто в одном и том же положении, расстройства сердечно-сосудистой системы, застойные явления в легких способствуют появлению ателектазов, причем на фоне бактериемии часто возникают и зоны воспаления в легких.

Для стадии ООТ характерна значительная активация ПОЛ (которая еще начинается во время ожогового шока в силу того, что обожженные ткани, клетки, вовлеченные в воспалительный процесс, приводят к выбросу большого количества свободных кислородных радикалов, которые запускают эту активацию), что приводит к нарушению структуры и функции клеточных мембран организма (липидов, белков, нуклеиновых кислот, углеводов). Защита клеток обеспечивается эндогенной антиоксидантной системой организма, которая подразделяется на ферментную (супероксиддисмутаза, глутатионпероксидаза, каталаза и др.) и неферментную, которая представлена макромолекулярными неферментативными компонентами (церулоплазмином и тому подобными) и низкомолекулярными компонентами (восстановленным глутатионом, альфа-токоферолом, аскорбиновой кислотой и др.) [300, 297, 86, 211, 171]. При ООТ усиливается в печени синтез церулоплазмينا – одного из главных антиоксидантов организма (а также – белка острой фазы), который в наибольшей степени определяет общую активность антиоксидантной системы плазмы крови. Каталаза – это фермент из класса оксидоредуктаз с молекулярной массой около 250000 дальтон, который локализован в пероксисомах клеток.

Каталаза распространена в тканях, но особенно много ее в печени. Недостаток железа и меди в крови приводит к ее снижению. Глутатион является аминокислотой, которая имеет значительное детоксикационное и антиоксидантное действие. Он находится почти во всех клетках в значительной концентрации. Максимальные изменения в антиоксидантной системе возникают при раннем ожоговом сепсисе, при развитии вторичного некроза в ожоговой ране и дегенеративно-дистрофических процессах в печени с возникновением печеночной недостаточности. Потеря паренхимы печени в этот период ведет к снижению количества синтеза гепатоцитами белков острой фазы (в том числе церулоплазмينا). Кроме того, дисбаланс в прооксидантной и антиоксидантной системах является сам одной из причин развития вторичного некроза в ожоговой ране, потому что именно свободно-радикальные вещества играют значительную роль в патогенезе экссудативно-деструктивных процессов при ожоговом воспалении [95, 101, 8, 58].

Продолжается повышение липолиза, которое началось еще во время ожогового шока, что приводит к повышению вязкости крови, общего сопротивления сосудов малого круга кровообращения, к значительному количеству микротромбозов, то есть, к нарушениям микроциркуляции уже другого генеза, чем при ожоговом шоке. Причем в плазме повышается содержание и минорных фосфолипидов (фосфатидилсерина, фосфатидной кислоты, кардиолипину), которые расположены в основном на внутренней поверхности мембраны клетки. Это еще раз демонстрирует, какие значительные разрушения в организме обожженного вызывает тяжелая ожоговая травма [60, 80, 118].

Аутоиммунные процессы тоже играют значительную роль в патогенезе ООТ. Это реакции по типу гиперчувствительности немедленного типа (со стимуляцией гуморального иммунитета), которые могут приводить к развитию токсико-аллергического гепатита, нефрита, миокардита, пневмонии. Также в организме обожженного вырабатываются разные аутоантитела

(антилейкоцитарные, цитотоксичные – на клетки мембран капилляров паренхиматозных органов).

В результате всех этих токсических влияний наступает функциональный паралич нейтрофильных гранулоцитов, снижается содержание Т- и В-лимфоцитов, истощается гуморальное звено иммунитета (Ig). Все это способствует развитию бактериемии и ранним инфекционным осложнениям.

Большое значение в микробной цепи патогенеза ООТ (особенно начиная с 5 суток) имеют также бактериальные токсины ожоговой раны (пирогены) и транслокация микробов через стенку ЖКТ (при нарушении микроциркуляции в стенках его органов, что также начинается еще во время ожогового шока). Действие этих токсинов усиливает характерную стойкую клиническую картину ООТ (стойкую лихорадку, геморрагии, вазомоторные расстройства) и, самое главное, приводит к выработке защитных и аутоагрессивных антител (то есть они действуют как аутоантигены).

Разработано много методов, которые позволяют количественно определить степень токсемии. Среди них – парамецийный тест, определение МСМ и др.

Ожоговая септикотоксемия – третья стадия ожоговой болезни, которая чаще всего начинается через две-три недели после ожога (но чем более выражена тяжесть ожоговой болезни, тем ОСТ начинается раньше) и длится до момента закрытия ожоговых ран или их заживления. Бывает раннее начало ОСТ на 3-5 сутки после ожога – это очень плохой прогностический признак [67].

ОСТ имеет две фазы:

Первую фазу – от момента отторжения струпа до полного очищения ожоговой раны (2-3 недели). Характерно снижение показателей гиперметаболического синдрома.

Вторую фазу – существование гранулирующих ран. Чаще всего отмечается повторное повышение показателей гиперметаболического синдрома.

ОСТ рассматривается как нарастание интоксикации в совокупности с реакциями организма пострадавшего на действие продуктов жизнедеятельности микрофлоры, вегетирующей в ожоговой ране и активных эндогенных веществ,

которые освобождаются из клеток макроорганизма под действием микробных тел. Это так называемые «флогогенные вещества».

Для развития ОСТ необходимы 3 составные части: инфекционный процесс в ожоговой ране; иммунологическая перестройка организма; соответствующая гуморальная реакция [50, 73, 95].

В патогенезе первой фазы ОСТ в основном играют роль те же механизмы, что и при ООТ, за исключением обязательного и значительно большего влияния инфекционного фактора (потому что отторжение струпа проходит при непременном участии микробов, а продукты их жизнедеятельности всасываются в кровь и вызывают характерные нарушения в гомеостазе).

Важно то, что при недостаточности местных барьеров (слабая демаркационная воспалительная реакция, недостаточность функции лейкоцитов, макрофагов), или при очень значительном загрязнении раны вирулентными агрессивными микробами, при не санированных оперативно гнойниках в толще кожи и в тканях – появляются условия для бактериемии, для сепсиса (при иммунологической недостаточности) [230, 355, 258, 229]. Бактериemia подтверждается у большинства больных в третьей стадии ожоговой болезни, причем флора, которая высевается из крови, чаще всего такая же, как и та, что высевается из раны (стафилококк, синегнойная палочка, грибы и др.). Условия для развития сепсиса подкрепляются еще и тем, что во время двух предыдущих стадий ожоговой болезни значительно нарушилась антиинфекционная защита – за счет перенапряжения всех внутренних и внешних барьерных механизмов, гуморального и клеточного иммунитета, дефицита лимфоидной ткани (то есть далее формируется ожоговый вторичный (приобретенный) иммунодефицит).

Стадия реконвалесценции начинается с момента оперативного восстановления утраченного кожного покрова и эпителизации ожоговых ран. Повышается масса тела, постепенно восстанавливаются функции внутренних органов и систем. В течение длительного времени сохраняется анемия. Окончание ожоговой болезни происходит лишь спустя 1,5-2 месяца после восстановления кожного покрова.

Изолированные ожоги при боевых действиях определяются менее чем у трети пострадавших; в основном диагностируется комбинированная травма.

Комбинированными называются поражения, возникающие в результате воздействия на организм двух или более поражающих факторов одного или нескольких видов оружия.

Поражения, вызванные совместным воздействием на организм различных видов оружия (огнестрельного, химического, бактериологического) или нескольких поражающих факторов одного вида оружия (например, ударной волны, светового излучения, проникающей радиации при атомном взрыве), принято называть комбинированными боевыми поражениями [139, 27, 33, 25]. Для боевых действий с применением ядерного оружия – это комбинированные радиационные (радиационно-механические, радиационно-термические, радиационно-механо-термические) и нерадиационные (термомеханические) поражения. В случае применения химического оружия наиболее актуальными будут комбинированные механохимические, или термохимические поражения: комбинации отравлений одним из видов отравляющих веществ с ранениями и ушибами, открытыми и закрытыми переломами, комбинации таких же отравлений с ожоговыми или холодовыми травмами. При использовании бактериологического оружия возникает комбинация различных травм с острыми инфекционными заболеваниями.

Доля комбинированных поражений в структуре боевых потерь зависит от ряда обстоятельств: вида и способа применения оружия, степени защищенности бойцов, их расположения на местности, климатических условий, времени года, суток и т.д. [141, 154].

Такие поражения могут составить около 30%, а при определенных условиях – до 70%-80% всех санитарных потерь, то есть комбинированная травма имеет выраженное социальное и экономическое значение.

При комбинированных поражениях обычно выделяют ведущее поражение, которое определяет состояние пострадавшего, особенности течения патологического процесса, методы и сроки лечения, а нередко и исходы.

Ведущее поражение может быть вызвано любым видом оружия или одним из его поражающих факторов, и значение его не остается постоянным. В ряде случаев ведущее поражение, имеющее первостепенную важность в первые часы или дни после ранения, в дальнейшем может стать второстепенным или вовсе утратить свое значение. Тяжесть комбинированного поражения определяется суммарным влиянием на организм всех поражающих факторов. Одной из основных черт, характеризующих течение и исходы комбинированных поражений, является так называемый синдром взаимного отягощения.

Обширная огнестрельная либо минно-взрывная рана сопровождается выраженной общей реакцией, которая при значительной кровопотере проявляется развитием травматического шока. В комбинациях с ожоговой травмой огнестрельное повреждение в первые часы нередко бывает ведущим и создает значительный «эффект отягощения» для других поражающих факторов.

Основой диагностики и медицинской сортировки при комбинированных поражениях остаются классические положения об учете данных анамнеза, оценке общего состояния и объективной характеристике местных изменений в области ранения. Лечение должно быть направлено на профилактику и ликвидацию последствий действия всех факторов, т. е. оно должно быть комплексным – и хирургическим, и медикаментозным [104, 99].

Общие черты комбинированных поражений:

- 1) взаимное отягощение поражений;
- 2) сложность оказания первой медицинской помощи и последующего лечения;
- 3) затруднение сортировки пораженных;
- 4) более частые осложнения, в том числе инфекционные;
- 5) худшие ближайшие и отдаленные результаты лечения.

Особенности комбинированных поражений:

- 1) внезапность поражения личного состава одномоментно на больших площадях;

- 2) массовость санитарных потерь, их многовариантность – ранения, закрытые травмы, термические ожоги, острая лучевая болезнь, поражения отравляющими веществами в различных видах;
- 3) отсутствие опыта медицинской службы и других служб войск в организации и оказании медицинской помощи при применении оружия массового поражения;
- 4) одинаковая уязвимость армии, населения и медицинской службы от оружия массового поражения.

Важная особенность комбинированных поражений состоит в развитии синдрома взаимного отягощения, при котором патологический процесс, обусловленный каждым из них, протекает тяжелее, чем обычные монофакторные поражения.

Число возможных сочетаний поражающих факторов при использовании современных средств ведения боевых действий достаточно велико. Наибольшее практическое значение в современных военных конфликтах имеют комбинированные термомеханические поражения.

Содержание медицинской помощи и последовательность лечебных мероприятий определяются видом поражения и ведущим в данный период компонентом. В ранние сроки неотложная помощь должна устранять последствия механического повреждения – огнестрельного либо минно-взрывного.

Выполняются хирургические вмешательства по жизненным показаниям при ранениях и повреждениях живота, груди, черепа и головного мозга, кровотечениях и др. [152, 132].

Ожоговая рана в ранние сроки обычно не требует хирургического вмешательства, за исключением некротомии при глубоких циркулярных ожогах конечностей, груди и шеи и дермабразии с закрытием ран различными покрытиями при обширных поверхностных ожогах, ожогах кистей, лица, области суставов.

Лечение ожогово-травматического шока при этом должно начинаться до операции и продолжаться во время операции и в послеоперационном периоде.

По мере ликвидации последствий механического повреждения на первый план выдвигается задача оперативного восстановления утраченного в результате глубокого ожога кожного покрова, чем и завершается в основном комплекс хирургического лечения комбинированной травмы.

1.3. Общие понятия о генах

Генетический анализ крови позволяет не только выявить имеющиеся заболевания, но и предположить, как в дальнейшем будут они протекать [136]. Так называемые мультифакторные патологии развиваются, если у человека есть определенные генетические особенности, но при этом еще и действуют конкретные факторы внешней среды, в частности, травма.

На сегодняшний день в лабораториях есть возможность провести анализ с высокой степенью точности, так как разработано множество методик: FISH-метод, сравнительная геномная гибридизация (CGH), метод микрочип-технологий, полимеразная цепная реакция (ПЦР) и другие.

Все эти обследования лежат в основе предиктивной – предсказательной – медицины. Генетика – сравнительно молодая область медицины, достижения которой помогают не только лечить имеющиеся патологии, но и предсказать их развитие [55]. Генетические исследования делаются один раз: их результаты не меняются со временем, так как генотип человека неизменен. Поэтому очень важно, чтобы диагностика была как можно более точной и полной.

Ген – в классической генетике – наследственный фактор, который несёт информацию об определённом признаке или функции организма, и который является структурной и функциональной единицей наследственности. После открытия нуклеиновых кислот в качестве носителя наследственной информации определение гена изменилось, и ген стали определять как участок ДНК, задающий последовательность полипептида либо функциональной РНК [145].

По мере накопления сведений о строении и работе генов определение понятия «ген» продолжало изменяться, однако в настоящее время не существует универсального определения гена, которое удовлетворило бы всех исследователей. Одно из современных определений гена звучит следующим образом: ген представляет собой последовательность ДНК, составляющие сегменты которой не обязательно должны быть физически смежными. Эта последовательность ДНК содержит информацию об одном или нескольких продуктах в виде белка или РНК. Продукты гена функционируют в составе генетических регуляторных сетей, результат работы которых реализуется на уровне фенотипа [89].

Совокупность генов организма составляют генотип. Генотип наряду с факторами окружающей среды и развитием определяют, каким будет фенотип. Передача генов потомству является основой наследования фенотипических признаков. Большинство биологических признаков являются полигенными, то есть находятся под влиянием многих генов. Гены могут изменяться в результате мутаций, изменяющих последовательность ДНК.

Вследствие мутаций в популяции гены существуют в различных вариантах, называемых аллелями. Разные аллели гена могут кодировать различающиеся версии белка, что может проявляться фенотипически. Гены наряду с участками ДНК, не содержащими генов, входят в состав генома, представляющего собой весь наследственный материал организма.

Генетическая информация у подавляющего большинства организмов закодирована в длинных молекулах ДНК. ДНК состоит из двух спирально закрученных полимерных цепей, мономерами которых служат четыре нуклеотида: аденозин, цитидин, гуанозин и тимидин. Остовом цепей ДНК служит чередующаяся последовательность пентозных сахаров и фосфатов [21].

Гены белков содержат кодирующую последовательность, состоящую из серии тринуклеотидных блоков – триплетов, которые соответствуют аминокислотам. Правило, по которому определяется, какому триpletу

соответствует какая аминокислота, называется генетическим кодом. Генетический код почти одинаков для всех известных организмов.

Наследственный материал организма хранится в одной или нескольких хромосомах, число которых специфично для вида. Хромосома состоит из одной очень длинной молекулы ДНК, которая может содержать тысячи генов. Область хромосомы, где находится ген, называется локусом. Каждый локус содержит определённый аллель гена. Представители популяции могут отличаться по аллелям гена, находящимся в одинаковых локусах хромосом [54].

Аллели – различные формы одного и того же гена, расположенные в одинаковых участках (локусах) гомологичных хромосом, определяют направление развития конкретного признака. В диплоидном организме может быть два одинаковых аллеля одного гена, в этом случае организм называется гомозиготным, или два разных, что приводит к гетерозиготному организму.

Нормальные диплоидные соматические клетки содержат два аллеля одного гена (по числу гомологичных хромосом), а гаплоидные гаметы – лишь по одному аллелю каждого гена. Для признаков, подчиняющихся законам Менделя, можно рассматривать доминантные и рецессивные аллели.

Если генотип особи содержит два разных аллеля, проявление признака зависит только от одного из них – доминантного. Рецессивный же аллель влияет на фенотип, только если находится в обеих хромосомах. Таким образом, доминантный аллель подавляет рецессивный.

Следует, однако, отметить, что, несмотря на разнообразие взаимодействия аллелей, порой весьма сложных, все они подчиняются первому закону Менделя – закону единообразия гибридов первого поколения.

Обычно в качестве обозначения аллеля применяют сокращение названия соответствующего гена до одной или нескольких букв. В случае наличия только 2 аллелей, чтобы отличить доминантный аллель от рецессивного, первую букву в обозначении доминантного пишут заглавной.

1.4. Роль провоспалительных цитокинов в патогенезе раневого процесса

Факторы роста впервые были открыты, вследствие их способности стимулировать митозы клеток в культуре без сыворотки. Как теперь установлено, они играют роль в клеточном делении, миграции, дифференциации, протеиновой экспрессии и продукции энзимов. Факторы роста могут оказывать эффект на клетки-мишени в виде паракриновой, аутокриновой, интеркриновой (действуя внутри клетки которая продуцирует их) или эндокриновой манере [237, 353, 209, 125, 77]. Почти все они являются пептидами, которые связываются с клетками-мишенями посредством высокоаффинной клеточной поверхности, на которой расположены рецепторы протеинов. Рецепторные связи обуславливают внутриклеточные реакции, которые, однако, до конца не выяснены. Многие факторы роста инициируют внутриклеточное фосфорилирование фрагментов тирозина в белок. Активация клеточного рецептора внутриклеточными киназами может также активировать G протеины (гуанин нуклеотидный регулятор протеинов) и, в свою очередь, активировать протеинкиназу C. В свою очередь, активация протеинкиназы C может способствовать внутриклеточному притоку кальция. Конечным результатом протеиновой энзиматической активации является нарушение генной экспрессии, ответственной за белковый синтез и клеточную пролиферацию. Факторы роста потенцируют заживление ран, стимулируя ангиогенез и клеточную пролиферацию, влияя на продукцию и деградацию экстрацеллюлярного матрикса и, одновременно, являются хемоаттрактантами для лейкоцитов, моноцитов и фибробластов [292, 299, 334, 204].

Имеется семь главных семейств факторов роста: эпидермального фактора роста (EGF), трансформирующего фактора роста-бета ($TGF\beta$), инсулиноподобного фактора роста (IGF), тромбоцитопроизводного фактора роста (PDGF), фактора роста фибробластов (FGF), интерлейкины (ILs) и колониестимулирующего фактора (CSF). Острые раны содержат различные

факторы роста, которые играют решающую роль в исходных фазах раневого заживления [124, 201, 78, 302]. PDGF, например, освобождаются из тромбоцитов, вскоре после тромбоза сосудов и достижения гемостаза. Процессы в начале раневого заживления отражают точный баланс между протеолитической активностью и синтезом матрикса, что приводит к не осложненному и быстрому раневому заживлению.

В хронических ранах, этот баланс нарушается [320, 336, 74, 120, 188]. Понимание нарушения равновесия факторов роста в хронических ранах может позволить использовать их в лечении данного вида ран. Раневое заживление происходит при контролируемой репликации специализированных клеток [251, 234, 338, 119, 103]. Жидкость, собранная из острых ран стимулирует синтез ДНК, увеличивая его в три раза, по сравнению с фибробластами, растущими в культуре без сыворотки. И, наоборот, жидкость, собранная из хронических ран уменьшает синтез ДНК в культуре фибробластов. D.M. Cooper et al. количественно продемонстрировали, что в хронических ранах снижен уровень PDGF, EGF и TGF β в сравнении с острыми ранами. По мнению других авторов, снижение концентрации факторов роста, вероятно, не может полностью объяснить уменьшение скорости раневого заживления. Например, язвы на почве венозной недостаточности и диабета не лишены полностью факторов роста. Факторы роста присутствуют, однако они могут быть блокированы в фибриновой муфте, окружающей капилляры, вследствие чего теряют свою активность. Даже если факторы роста присутствуют в хронической ране, раневые протеиназы могут нейтрализовать их эффект [127, 129, 34, 87, 280]. Для того, чтобы факторы роста оказывали положительное влияние на раневое заживление, необходимо присутствие минимальной критической концентрации физиологически активного гормона в ране [316, 365, 349, 351, 371]. Если факторы роста продуцируются недостаточно или быстро метаболизируются, раневое заживление будет нарушаться. Все эти факторы должны рассматриваться, когда планируются исследования по изучению влияния факторов роста на заживление ран [250, 263, 301, 339, 44]. Кроме того, надо

учитывать присутствие различных компонентов в разных ранах. Найти сравнимые популяции пациентов с ранами довольно сложно. В связи с этим, проведение рандомизированных, проспективных, плацебо-контролируемых испытаний с применением факторов роста трудно осуществимо.

В ряде исследований оценивался эффект влияния экзогенно внесенных факторов роста на заживление ран [328, 346, 364, 315, 345]. Одно из первых исследований было выполнено D.R. Knighton et al., которые применяли аутологичную смесь, полученную из тромбоцитов, содержащую PDGF, TGF- β , PDAF, PF4, производный из тромбоцитов эпидермальный фактор роста и другие неизвестные факторы. Результаты исследования показали ускорение раневого заживления по сравнению с контролем. При лечении пролежней PDGF-BB и bFGF были получены обнадеживающие результаты, а при использовании IL-1 β – положительного эффекта получено не было. Считается, что интерлейкины активируют макрофаги, гранулоциты и моноциты, а также стимулируют секрецию других факторов роста. Однако клиническое изучение IL-1 не показало какого-либо ускорения раневого заживления по сравнению с плацебо-лечеными пациентами. Для лечения язв на почве венозной недостаточности применяли EGF и TGF β [7, 212].

В исследованиях по эпителизации донорских мест после взятия расщепленного лоскута кожи показаны обнадеживающие результаты. Эти раны более однородны, что позволяло стандартизировать эти исследования. Первое из этих исследований, предпринято G.L. Brown et al.. Было продемонстрировано ускорение заживления донорских мест на 1 сутки при местном использовании EGF. Однако это различие клинически не имело большого значения. D.N. Herndon et al. использовали гормон роста у детей с ожогами, у которых забирали кожные трансплантаты. В этой ситуации наблюдалось ускорение заживления ран и уменьшение длительности госпитализации пациентов.

Несмотря на возрастающее число клинических исследований, демонстрирующих положительный эффект от местного применения факторов роста, сами по себе факторы роста не способствуют заживлению ран [350, 374,

313, 347]. Факторы роста являются своеобразными локальными стимуляторами процесса раневого заживления, способствующими преодолению ингибирующего действия различных неблагоприятных воздействий [281, 252, 59, 323, 304]. Изучение раневого заживления фетальных тканей помогает объяснить некоторые наблюдения, сделанные по отношению к хроническим ранам. Фетальные раны имеют малую тенденцию к рубцобразованию и в них не образуется заметных количеств грануляционной ткани. Интересно, что поврежденные фетальные ткани не содержат заметных количеств TGF β 1, тогда как раны взрослых содержат данную изоформу в избытке [287, 375]. Считается, что факторы роста семейства TGF в первую очередь ответственны за образование гипертрофического рубцобразования, особенно изоформы β 1 и β 2. Содержание коллагенового гидроксипролина также уменьшается. На модели ран у грызунов установлено, что добавление антител к воспалительным цитокинам TNF α и IL-1 способствует уменьшению образования послеожоговых рубцовых контрактур. Целью этих исследований была разработка методов, способствующих нормальному раневому заживлению при помощи использования раневых факторов роста, одновременно ингибируя чрезмерное формирование рубцовой ткани [312, 343, 369, 359, 348]. Несмотря на первичное закрытие раны, возможны отклонения от нормального процесса заживления в сторону его хронизации, обусловленного фибропролиферативными расстройствами [190, 12]. Эти отклонения характеризуются чрезмерным отложением коллагена, либо чрезмерной продукцией коллагена, протеогликанов и фибронектина, а также нарушением процесса деградации коллагенового структурного матрикса. E.A. Deitch et al. показали, что если в открытой ране длительность фазы воспаления сохраняется более чем 21 сутки, то имеется высокая вероятность гипертрофического рубцевания. Повышенное натяжение при ушивании раны, повреждая внутриклеточный цитоскелет фибробластов, приводит к возрастанию генной транскрипции TGF- β и других матриксных протеинов и цитокинов и, таким образом, может способствовать гипертрофическому рубцеванию. Ненормальный и чрезмерно

сформированный матрикс способствует образованию гипертрофического рубца.

Проводимые в настоящее время исследования сконцентрированы на изучении функции раневых фибробластов, их регуляции факторами роста и генной индукции [232, 271, 307, 115]. Жидкость, присутствующая в острых ранах интенсивно изучается. В заживающих ранах образуется фибриновый сгусток, играющий важную роль в гемостазе, закрытии раны и контроле бактериальной контаминации. Сгусток, однако, сам по себе физически повреждает эпителизацию раны и отложение коллагена. Поэтому, фибриновый сгусток должен быть удален до образования грануляционной ткани. Деградация сгустка происходит посредством воздействия раневых переваривающих энзимов, таких как коллагеназы, плазмин и протеогликаны, освобождаемые макрофагами, тучными клетками, эндотелиальными клетками, кератиноцитами и фибробластами. Мигрирующие кератиноциты, например, способствуют экспрессии активаторов урокиназы (uPA) и активаторов тканевого плазминогена (tPA) которые конвертируют плазминоген в активную форму – плазмин. Кератиноциты также способствуют повышению продукции раневой MMP (металлопротеинкиназа), таких как MMP-9 (желатиназа В), MMP-1 (кишечная коллагеназа), MMP-10 (stomelysin-2) и других. Присутствие MMP существенно для раневого заживления [367, 370, 376]. В то же время MMP могут быть также ответственны за невозможность заживления хронических ран. Последние данные показали, что хронические раны содержат много нейтрофилов, которые секретируют MMP-8 и эластазы, ведущие к чрезмерной белковой деградации и инактивации раневых факторов роста [256, 240, 244, 247, 245, 260]. В настоящее время известно четыре MMP которые в состоянии разрушать фибриллярный коллаген. MMP-1: секретируется главным образом кератиноцитами в краях раны. MMP-2 (желатиназа-2): мало изучена. Обычно находится в соотношении 1:1 к TIMP-2 (тканевых ингибиторов матриксных металлопротеиназ). MMP-8: экспрессируется главным образом раневыми нейтрофилами и найдена в высокой концентрации в раневых тканях при

наличии различных изъязвлений, как например, при пародонтозе, ревматоидном артрите и остеоартрите. MMP-13: локализуется только в опухолевых клетках при раке молочной железы. Роль в процессе раневого заживления не ясна. Хронические раны содержат высокие концентрации MMP в сравнении с острыми ранами. Например, нейтрофильная эластаза присутствует в концентрации в 10-40 раз выше в хронических ранах, чем в острых хирургических ранах. Высокий уровень протеолитической активности может привести к продолжительной деградации эндогенных соединений также как и дополнительных количеств гормонов роста в хронической ране [47, 51, 282, 195, 207]. Необходимо отметить, что когда имеет место раневая эпителизация, продукция MMP кератиноцитами прекращается. Одновременно с этим формируется десмосомальное прикрепление между кератиноцитами и базальной мембраной. Содержание MMP обычно регулируется TIMP-1 и TIMP-2. Изменение концентрации TIMP в ране может быть обусловлено снижением энзиматической деструкции эндогенных и экзогенных факторов роста, присутствующих в хронической ране.

Цитокины – различные белки, осуществляющие передачу сигналов между различными клетками организма [279, 231, 321, 242]. У человека идентифицировано более ста различных цитокинов, и постоянно появляются сообщения об открытии новых. Цитокины воздействуют на клетку, связываясь со специфическими рецепторами на цитоплазматической мембране и вызывают каскадную реакцию, ведущую к индукции, усилению или подавлению активности ряда регулируемых ими генов. Цитокины являются наиболее универсальным классом внутри- и межтканевых регуляторных веществ [253, 274, 168, 172, 205]. Они представляют собой гликопротеиды, которые в очень низких концентрациях оказывают влияние на реакции роста, пролиферации и дифференцировки клеток. Действие цитокинов обусловлено наличием рецепторов к ним на плазмолемме клеток-мишеней. Клетки различных тканей обладают большим количеством рецепторов к разнообразным цитокинам (от 10 до 10000 на клетку), эффекты которых нередко взаимно перекрываются, что

обеспечивает высокую надёжность функционирования этой системы внутриклеточной регуляции [248, 259, 242, 310, 326]. Наиболее важными закономерностями функционирования системы цитокинов являются локальность действия, индуцибельность, избыточность, взаимосвязанность и взаимодействие ее компонентов [236, 255, 305, 357]. Для цитокинов характерен сложный сетевой характер функционирования. Один цитокин может обладать несколькими эффектами, разные цитокины – одинаковыми эффектами. Цитокин может воздействовать на ряд клеток и тканей организма. В большинстве случаев клетка организма является мишенью нескольких цитокинов. Один цитокин может регулировать образование и функционирование другого. Обычно отдельные цитокины служат составляющими факторами, образующими целый комплексный цитокиновый сигнал [314, 358, 363, 356, 317].

Цитокины – ключевые гуморальные факторы воспаления, необходимые для реализации защитных функций врожденного иммунитета [267, 288, 156, 306]. В развитии воспаления участвуют три группы цитокинов – воспалительные, или провоспалительные цитокины, хемокины, колониестимулирующие факторы, а также функционально связанные факторы IL-12 и IFN γ [238, 319]. Цитокинам также принадлежит важная роль в подавлении и сдерживании воспалительной реакции. К противовоспалительным цитокинам относят трансформирующий фактор роста β (TGF β), IL-10 [276]; часто роль противовоспалительного фактора играет IL-4 [187, 215, 228, 202].

Выделяют 3 основных представителя группы провоспалительных цитокинов – TNF α , IL-1 и IL-6. Эти цитокины продуцируются в основном активированными моноцитами и макрофагами преимущественно в очаге воспаления. Провоспалительные цитокины могут вырабатываться также нейтрофилами, дендритными клетками, активированными В-, НК- и Т-лимфоцитами [308, 135, 286, 264]. В очаге проникновения патогенов цитокины первыми начинают синтезировать немногочисленные местные воспалительные макрофаги. Затем в процессе эмиграции лейкоцитов из кровотока численность клеток-продуцентов возрастает и их спектр расширяется. В частности, к синтезу

провоспалительных цитокинов подключаются стимулированные продуктами микроорганизмов и факторами воспаления эпителиальные, эндотелиальные, синовиальные, глиальные клетки, фибробласты.

Гены цитокинов относят к индуцибельным. Естественные индукторы их экспрессии – патогены и их продукты, действующие через TLR и другие патогенраспознающие рецепторы. Классический индуктор – бактериальный ЛПС. В то же время некоторые провоспалительные цитокины (IL-1, TNF α) сами способны индуцировать синтез провоспалительных цитокинов [318, 362, 360, 361, 366].

Провоспалительные цитокины синтезируются и секретируются достаточно быстро, хотя кинетика синтеза различных цитокинов этой группы неодинакова [265, 243, 196, 198]. В типичных случаях (быстрый вариант) экспрессию их мРНК отмечают через 15-30 мин после индукции, появление белкового продукта в цитоплазме – через 30-60 мин, содержание его во внеклеточной среде достигает максимума через 3-4 ч. Синтез цитокинов конкретной клеткой продолжается довольно непродолжительное время – обычно немногим больше суток. Не весь синтезируемый материал секретируется. Некоторое количество цитокинов экспрессируется на поверхности клетки или содержится в цитоплазматических гранулах. Выброс гранул могут вызывать те же активирующие сигналы, что и продукция цитокинов. Это обеспечивает быстрое (в течение 20 мин) поступление цитокинов в очаг поражения [219, 227, 222, 218, 214].

Провоспалительные цитокины выполняют многие функции [199, 184, 322, 368, 272]. Основная их роль – «организация» воспалительной реакции. Один из наиболее важных и ранних эффектов провоспалительных цитокинов – усиление экспрессии молекул адгезии на эндотелиальных клетках, а также на самих лейкоцитах, что приводит к миграции в очаг воспаления лейкоцитов из кровяного русла [309, 376, 327, 239, 261]. Кроме того, цитокины индуцируют усиление кислородного метаболизма клеток, экспрессии ими рецепторов для цитокинов и других факторов воспаления, стимуляцию выработки цитокинов, бактерицидных пептидов и т.д. [229, 170, 273, 325]. Провоспалительные

цитокины оказывают преимущественно местное действие. Попадание избыточно секретируемых провоспалительных цитокинов в циркуляцию способствует проявлению системных эффектов воспаления, а также стимулирует выработку цитокинов клетками, отдаленными от очага воспаления [372, 221, 233, 246]. На системном уровне провоспалительные цитокины стимулируют продукцию белков острой фазы, вызывают повышение температуры тела, действуют на эндокринную и нервную системы, а в высоких дозах приводят к развитию патологических эффектов (плоть до шока, подобного септическому).

Фактор некроза опухоли α (ФНО α или TNF α) – представитель другого семейства иммунологически значимых белков [241, 146, 11]. Это провоспалительный цитокин с широким спектром активности. Он синтезируется в виде функционально активной мембранной молекулы про-TNF α с молекулярной массой 27 кДа, представляющей трансмембранный белок II типа (т.е. его N-концевая часть направлена внутрь клетки). В результате протеолиза во внеклеточном домене формируется растворимый мономер с молекулярной массой 17 кДа. Мономеры TNF α спонтанно формируют тример с молекулярной массой 52 кДа, представляющий основную форму этого цитокина. Тример имеет колоколовидную форму, причем субъединицы соединяются своими C-концами, содержащими по 3 участка связывания с рецептором, тогда как N-концы друг с другом не связаны и не участвуют во взаимодействии с рецепторами (а следовательно, и в выполнении цитокином своих функций). При кислых значениях pH TNF α приобретает α -спиральную структуру, что обуславливает изменение некоторых его функций, в частности, усиление цитотоксичности. TNF – прототипический член большого семейства молекул суперсемейства TNF. К нему относят лимфотоксины, а также многие мембранные молекулы, участвующие в межклеточных взаимодействиях.

Основные продуценты TNF α – моноциты и макрофаги. Его секретируют также нейтрофилы, эндотелиальные и эпителиальные клетки, эозинофилы, тучные клетки, В- и Т-лимфоциты при их вовлечении в воспалительный процесс [149, 352, 46]. TNF α выявляют в кровотоке раньше других провоспалительных

цитокинов – уже через 20-30 мин после индукции воспаления, что связано со «сбрасыванием» клетками мембранной формы молекулы, а возможно также с выбросом TNF α в составе содержимого гранул.

Реализация функций TNF α связана преимущественно с действием через TNFRI (от tumor necrosis factor receptor I) – выключение соответствующего гена приводит к развитию тяжелого иммунодефицита, тогда как последствия инактивации гена TNFRII незначительны. На пике воспалительной реакции рецепторы ФНО α могут «сбрасываться» с мембраны и выходить в межклеточное пространство, где они связывают ФНО α , оказывая противовоспалительное действие [185, 261, 82]. В связи с этим растворимые формы TNFR используют при лечении хронических воспалительных заболеваний. При этом оказалось, что препарат на основе растворимого TNFRII оказался клинически наиболее эффективным.

Как и IL-1, TNF α усиливает экспрессию молекул адгезии, синтез провоспалительных цитокинов и хемокинов, белков острой фазы, ферментов фагоцитарных клеток и т.д. Наряду с IL-1, TNF α участвует в формировании всех основных местных, а также некоторых системных проявлений воспаления [268, 275, 88]. Он активирует эндотелиальные клетки, стимулирует ангиогенез, усиливает миграцию и активирует лейкоциты. TNF α в большей степени, чем IL-1, влияет на активацию и пролиферацию лимфоцитов. В комбинации с IFN γ TNF α индуцирует активность NO-синтазы фагоцитов, что значительно усиливает их бактерицидный потенциал. TNF α стимулирует пролиферацию фибробластов, способствуя заживлению ран [91, 330, 94]. При повышенной локальной выработке TNF α преобладают процессы повреждения тканей, проявляющиеся развитием геморрагического некроза. Помимо этого TNF α подавляет активность липопротеиновой липазы, что ослабляет липогенез и приводит к развитию кахексии.

Повышенное высвобождение TNF α и его накопление в циркуляции, например при действии высоких доз бактериальных суперантигенов, вызывает развитие тяжелой патологии – септического шока. Таким образом, действие

TNF α , направленное на выполнение защитной функции и поддержание гомеостаза, может сопровождаться тяжелыми токсическими эффектами (местными и системными), нередко служащими причиной смерти.

IL-6 – провоспалительный цитокин широкого действия [254, 329]. Он также служит прототипическим фактором семейства цитокинов, включающего, кроме собственно IL-6, онкостатин М (OSM), лейкемия-ингибирующий фактор (LIF), цилиарный нейротрофический фактор (CNTF), кардиотропин-1 (СТ-1), а также IL-11 и IL-31. Молекулярная масса IL-6 – 21 кДа. IL-6 вырабатывают моноциты и макрофаги, эндотелиальные, эпителиальные, глиальные, гладкомышечные клетки, фибробласты, Т-лимфоциты типа Th2, а также многие опухолевые клетки. Выработка IL-6 миелоидными клетками индуцируется при взаимодействии их TLR с микроорганизмами и их продуктами, а также под влиянием IL-1 и TNF α . При этом в течение 2 ч содержание IL-6 в плазме крови возрастает в 1000 раз [223, 216, 220, 225, 224].

Рецепторы всех факторов семейства IL-6 содержат общий компонент – цепь gp130, присутствующую практически на всех клетках организма. Второй компонент рецептора индивидуален для каждого цитокина. Специфическая цепь рецептора IL-6 (gp80) отвечает за связывание этого цитокина, тогда как gp130 участвует в передаче сигнала, поскольку связана с тирозинкиназами Jak1 и Jak2. При взаимодействии IL-6 с рецептором запускается следующая последовательность событий: IL-6-мономер взаимодействует с цепью gp80, происходит димеризация комплексов (2 молекулы цитокина – 2 цепи gp80), после чего к комплексу присоединяется 2 цепи gp130, что приводит к фосфорилированию Jak-киназ. Цепь gp80 легко «смывается» с клетки; в свободной форме она взаимодействует с цитокином, инактивируя его, т.е. выступает в качестве специфического ингибитора IL-6.

IL-6 участвует в индукции практически всего комплекса местных проявлений воспаления. Он влияет на миграцию фагоцитов, усиливая выработку СС-хемокинов, привлекающих моноциты и лимфоциты, и ослабляя продукцию хемокинов, привлекающих нейтрофилы. Провоспалительные эффекты IL-6

выражены слабее, чем у IL-1 и TNF α , в противоположность которым он не усиливает, а угнетает выработку провоспалительных цитокинов (IL-1, TNF α и IL-6) и хемокинов клетками, вовлеченными в воспалительный процесс. Таким образом, IL-6 сочетает свойства про- и противовоспалительных цитокинов и участвует не только в развитии, но и в ограничении воспалительной реакции.

IL-6 – основной фактор, индуцирующий в гепатоцитах экспрессию генов белков острой фазы. IL-6 влияет на различные этапы гемопоэза, в том числе на пролиферацию и дифференцировку стволовых клеток. Он служит ростовым фактором незрелых плазматических клеток, существенно усиливая гуморальный иммунный ответ. IL-6 влияет также на Т-лимфоциты, повышая активность цитотоксических Т-клеток [290, 261].

Основной изоформой, секретируемой клетками иммунной системы, является TGF β 1. Все TGF β состоят из 112 аминокислотных остатков. Структура TGF β 2 имеет 50% гомологию с TGF β 1 на протяжении первых 20 аминокислотных остатков и 85% – для фрагмента 21-36. Различий в функциональной активности между TGF β 1 и - β 2 не обнаружено. TGF β продуцируется многими типами клеток и тканей: активированными Т-лимфоцитами и макрофагами, тромбоцитами, почками, плацентой [174, 289, 332]. Фактор продуцируется в неактивной форме, содержащей наряду с основным димером фрагменты дополнительных цепей молекулы-предшественницы. Активация происходит в форме отщепления этих фрагментов с помощью протеиназ (плазмина, катепсина и др.). Мишенями TGF β служат также разнообразные клетки, поскольку экспрессия его высокоаффинного рецептора широко распространена [41, 229, 354]. При действии TGF β на иммунную систему преобладают ингибирующие эффекты. Фактор подавляет гемопоэз, синтез воспалительных цитокинов, ответ лимфоцитов на IL-2, -4 и -7, формирование цитотоксических NK- и Т-клеток. В то же время он усиливает синтез белков межклеточного матрикса, способствует заживлению ран, оказывает анаболическое действие. В отношении полиморфоядерных лейкоцитов TGF β выступает как антагонист воспалительных цитокинов. Выключение гена

TGF β приводит к развитию фатальной генерализованной воспалительной патологии, в основе которой лежит аутоиммунный процесс. Таким образом, он является элементом обратной регуляции иммунного ответа и, прежде всего, воспалительной реакции [335, 75]. В то же время TGF β важен и для развития гуморального ответа: он переключает биосинтез иммуноглобулинов на IgA-изотип [92, 107]. Считается, что факторы роста семейства TGF в первую очередь ответственны за гипертрофическое рубцеобразование, особенно изоформы β 1 и β 2. Изоформа TGF β 3 недавно описана и может оказывать ингибирующее действие на образование рубца, являясь природным антагонистом TGF β 1 и TGF β 2 изоформ. TGF β регулирует экспрессию β -интегрновых рецепторов, определяя взаимодействие клеток с компонентами внеклеточного матрикса. TGF β ингибирует многие функции лимфоцитов: пролиферацию T-клеток, созревание CD8⁺ – T-лимфоцитов, ингибируют активность макрофагов, угнетает выработку провоспалительных цитокинов, а также ИЛ-2, ИЛ-4 и ИНФ γ . Наряду с усилением синтеза цитокинов в ране наблюдается снижение синтеза белка p53, угнетающего клеточное деление. На заключительном этапе заживления раны синтез цитокинов прекращается, а синтез белка p53 снова усиливается.

Полиморфизм в генах воспалительного и иммунного ответа в основном связан с изменением функционирования белка, которое может затруднить распознавание бактерий иммунной системой и изменение уровня ответа цитокинов. TLR представляют собой семейство эволюционно высококонсервативных трансмембранных белков, которые в основном экспрессируются на поверхности иммунных клеток и служат рецепторами распознавания образов у млекопитающих [175, 186]. Они играют ключевую роль в иммунных реакциях путем регулирования воспалительных реакций и активации адаптивного иммунного ответа для устранения инфекционных патогенов и клеточного обломков [27, 278].

Лейкоциты экспрессируют паттерн-распознающие рецепторы, которые называются Toll-подобными рецепторами (TLR, Toll-like receptors). После взаимодействия с TLR микробов или микробных компонентов происходит

запуск передачи сигнала внутри клетки. Это приводит к повышению функциональной активности лейкоцитов, а также к экспрессии генов цитокинов. Активация TLR приводит к синтезу провоспалительных цитокинов и IFN- α/β . Провоспалительные цитокины стимулируют дальнейшее развитие воспалительной реакции. Известно, что Toll-подобные рецепторы (Toll-like receptors – TLRs) – это ключевые рецепторы врожденного иммунитета. В настоящее время у человека обнаружено 10 типов TLRs, которые экспрессируются главным образом на клетках врожденного иммунитета – нейтрофилах, моноцитах, макрофагах, дендритных клетках и др. Из них TLR-1, TLR-2, TLR-4, TLR-5 и TLR-6 расположены на наружной поверхности плазматической мембраны, тогда как остальные – TLR-3, TLR-7, TLR-8, TLR-9 и TLR-10 – являются внутриклеточными. TLRs распознают высококонсервативные структуры патогенных микроорганизмов, так называемые патоген-ассоциированные молекулярные паттерны (экзогенные лиганды), к которым относятся различные компоненты бактериальной стенки, такие как липополисахарид (ЛПС), пептидогликан (ПГ), флагеллин, а также ДНК микроорганизмов, вирусная РНК и др. Кроме того, установлены эндогенные лиганды TLRs, например белки теплового шока (Hsp-60, Hsp-70, Hsp-90, gp96), фибриноген, гиалуроновая кислота, фибронектин. Взаимодействие TLRs с лигандами, в ходе которого может иметь место димеризация отдельных рецепторов, например TLR2 и TLR1 или TLR2 и TLR6, с образованием соответствующих гетеродимеров TLR2/1 и TLR2/6, приводит к активации TLR-опосредованных сигнальных путей. Результатом такой активации является экспрессия генов провоспалительных цитокинов – фактора некроза опухоли альфа (ФНО α), интерлейкинов (ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-12), а также интерферонов I типа, противомикробных пептидов. Продукты этих генов участвуют в реакциях врожденного иммунитета и направляют развитие адаптивного иммунного ответа. TLR-опосредованная активация клеток врожденного иммунитета, таких как макрофаги и нейтрофилы, приводит также к образованию активных форм кислорода (АФК), которые обладают

цитотоксическим действием и являются важной преградой на пути развития инфекции и новообразований. Нарушения в функционировании TLR-опосредованных сигнальных путей, возникающие на уровне распознавания лигандов, экспрессии TLRs, трансдукции сигнала или выработки эффекторных молекул (АФК, цитокинов), а также полиморфизм генов TLRs могут быть причиной развития инфекционных, воспалительных, аутоиммунных, аллергических, онкологических и других заболеваний [28, 295]. В литературе широко обсуждаются механизмы функционирования TLR-зависимых сигнальных путей. Однако данных о влиянии различных лигандов TLRs на продукцию фагоцитами крови АФК недостаточно. Мало изучены количественные закономерности продукции АФК нейтрофилами при воздействии этими лигандами. В

Toll-Like-рецептор 4 (TLR4) играет важную роль в иммунитете, восстановлении тканей и регенерации. Для правильного заживления ран фаза воспаления должна быть хорошо скоординирована и не должна разливаться в фазу пролиферации и ремоделирования. Инфекционный статус раны также составляет важную переменную, которая решает судьбу раны [345, 81]. Длительное воспаление и инфекция приведут к образованию хронической раны, которая либо занимает много времени, чтобы залечить или вообще не заживать. Toll-подобные рецепторы (TLR) у млекопитающих являются гомологичными рецепторам Toll, обнаруженным у *Drosophila*, и, как известно, опосредуют врожденный иммунитет, продуцируя противомикробные пептиды наряду с различными хемокинами и цитокинами. TLR4 является одним из наиболее изученных членов семейства TLR и является ключевым эффектором иммунной системы. TLR4 играет важную роль в заживлении ран, и любой дисбаланс в опосредуемой TLR4 сигнале может аннулировать правильный каскад заживления ран. Ruzehaji et al. показали, что цитоскелетный белок Flightless I модулирует воспаление раны, ангиогенез и ремоделирование, которые действуют через сигнальный путь TLR4-MyD88. Дифференциальная экспрессия TLR4 в диабетических ранах человека приводит к ухудшению каскада

заживления ран и, наконец, к хроническим незаживающим язвам. Дерегулирование передачи сигналов TLR4 из-за одиночных нуклеотидных полиморфизмов (SNP) во внеклеточном домене TLR4 может изменить связывающую способность лиганда и нарушает про-и противовоспалительные цитокины, следовательно, модулирует риск хронического воспаления, тем самым задерживая лечение раны. Недавно были идентифицированы два косегрегационных SNP, которые приводят к изменению аминокислот во внеклеточном домене TLR4. Эти SNP, а именно Asp299Gly (rs4986790) и Thr399Ile (rs4986791), влияют на эффекторные функции, связанные с TLR4, различными способами. Apetoh et al. сообщили, что эти полиморфизмы снижают эффективность связывания TLR4 с его эндогенными и экзогенными лигандами, тогда как Prohinar et al. сообщили, что эти полиморфизмы уменьшают внеклеточное накопление функционального TLR4, что приводит к неадекватной сигнализации TLR4 в ответ на микробную инфекцию. Сообщается также, что еще три SNP, а именно rs11536858 (теперь объединенные в rs10759931), rs1927911 и rs1927914 гена TLR4, связаны с воспалительными заболеваниями, включая рак.

Ген TLR2 (толл-подобный рецептор 2, CD282, гомологичен на 31% с TLR6) локализован на хромосоме 4q32 и кодирует белок в 784 аминокислоты. TLR2 расположен в клеточной мембране и после взаимодействия с лигандом запускает каскад реакций, в результате которых активируется NF- κ B фактор. Доказано, что TLR2/TLR1 является преобладающим рецептором в клетках человеческого организма и обладает наиболее широким спектром специфичности из всех выявленных TLR, так как может образовывать функциональные гетеродимеры рецепторов (либо с TLR1, либо с TLR6), что позволяет взаимодействовать с разными лигандами, поэтому последние важны для сигналинга TLR2. При активации клетки через TLR2 развивается воспалительный ответ патологической или протективной направленности. TLR2 играет роль и в раннем образовании медиаторов воспаления, и в развитии хронической воспалительной патологии. Для гена TLR2 описаны два

полиморфизма TLR2(Arg753Gln) и TLR2(Arg677Trp), связанные с внутриклеточной частью молекулы (область TIR-домена), которые приводят к нарушению функции проведения сигнала от лигандов TLR2.

Изучение процесса раневого заживления в настоящее время находится на подъеме [311, 341, 327, 373, 249]. Углубление понимания биологии заживления острых и хронических ран, применение факторов роста, ингибиторов и активаторов энзимов вселяет надежду на успех лечения данной категории пациентов.

1.5. Возможности прогнозирования в медицинской практике

Прогноз медицинский (греч. prognosis) – предвидение вероятного возникновения заболевания или предсказание характера течения и исхода болезни, основанное на знании закономерностей развития патологических процессов. Прогноз, указывал Г.А. Захарьин, – «основывающееся на диагнозе предположение о будущем: о том, как пойдет болезнь, каких ждать перемен в первое время, каких в следующее; чем кончится болезнь – выздоровлением, полным или неполным, или смертью; как будет действовать назначенное лечение». Построение прогноза, т.е. прогнозирование, представляет собой особый вид познавательной деятельности врача. Теоретической основой прогнозирования является прогностика – наука, изучающая общие законы и методы разработки прогнозов. Термин «прогностика» употребляется в литературе и в другом, более широком смысле, обозначая теорию и практику прогнозирования вообще.

Значение прогноза определяется задачами, связанными с профилактикой, лечением и реабилитацией больных. Вся лечебно-диагностическая и профилактическая деятельность врача пронизана прогностическими предположениями и выводами. Врачу необходимо предвидеть опасность заболевания для здоровья и жизни не только больного, но и окружающих, эффект лечения и вероятные осложнения тех или иных лечебных мероприятий,

возможность утраты больным трудоспособности, чтобы вовремя принять меры для ее сохранения. Своевременное предвидение осложнений заболевания, побочных действий лекарственных препаратов, развития рецидивов болезни под влиянием определенных факторов окружающей среды является непременным условием успешной терапии и вторичной профилактики. Кроме того, соответствие действительного течения заболевания предсказанному косвенно подтверждает правильность диагноза.

Попытки определять прогноз заболеваний возникли в глубокой древности одновременно с появлением врачевания, т. к. именно предсказание исхода болезни (поправится человек или умрет, останется трудоспособным или будет инвалидом) – самое важное, что интересует больного и близких ему лиц в суждениях врача. К тому же от умения врача прогнозировать течение болезни в значительной мере зависела его профессиональная репутация. Поэтому, по мнению В.Х. Василенко, прогнозирование возникло в медицине раньше диагностики или, точнее сказать, в тот период развития медицины, когда и диагноз, и лечение были исключительно симптоматическими. Естественно, что прогноз в ту пору мог базироваться только на эмпирическом учете видимых симптомов, значение которых для исхода болезней оценивалось врачами древности иногда с поразительной тонкостью и глубиной (примером может быть прогностическое значение описанных Гиппократом изменений внешнего вида больного, известных сейчас как *facies Hippocratica*). Труды Гиппократа (прежде всего его «Prognosticum») содержат целый свод правил оценки прогностической значимости доступных для наблюдения признаков болезней (положение больного в постели, выражение его лица, окраска и температура кожного покрова и т. д.). В древности же возникли первые представления (иногда очень наивные) о риске заболеть тем или иным заболеванием, о возможности предвидеть и предупредить его.

С развитием научной медицины прогнозирование стало все больше опираться на диагностику, в частности на определение нозологической принадлежности заболевания, его этиологии и патогенеза, а также на учение об

индивидуальной и общественной гигиене. Не утратили, однако, значения и эмпирические элементы прогноза, основанные на наблюдении и врачебном опыте. Значительный вклад в учение о прогнозе внесли Н.И. Пирогов, С.П. Боткин, Г.А. Захарьин, А.А. Остроумов, видевшие залог достоверного медицинского прогнозирования в достижениях медицинской науки и общественно-исторической практики врачевания, преломленных сквозь призму собственного опыта врача. «Знание врача, его опытность и искусство обуславливают большую или меньшую верность предсказания», – писал С.П. Боткин.

Проблема логической структуры прогностического (как и диагностического) мышления разработана все еще крайне недостаточно [270, 144]. В логической интерпретации мыслительного процесса, лежащего в основе прогнозирования, существует несколько направлений. С.П. Боткин – сторонник гипотетической концепции диагноза – полагал, что «если самая диагностика больного представляет более или менее вероятную гипотезу, то предсказание, вытекающее из этой гипотезы, будет иметь еще меньшую степень вероятности, чем первая основная гипотеза». Однако сказанное С.П. Боткиным относится к современной ему характеристике диагноза и прогноза, неизмеримо менее достоверных, более гипотетичных по сравнению с нынешними. Ряд исследователей, считает, что логике прогностических умозаключений более соответствует индуктивная или гипотетико-индуктивная логическая структура. Между тем не вызывает сомнений, что, опираясь на высокую достоверность современной диагностики и современный уровень знаний о закономерностях развития патологических процессов, врач при построении прогноза делает заключения, как правило, идя от общего к частному, от причины к следствию. При этом прогностические умозаключения строятся на основе правильного условно-категорического или категорического силлогизма.

В клинической медицине могут быть выделены четыре класса (типа) прогностических задач:

1) прогнозирование состояния здоровья здоровых людей в обстановке воздействия на них патогенных факторов, в частности в экстремальных ситуациях;

2) прогнозирование риска заболевания;

3) прогнозирование течения болезни;

4) прогнозирование исхода болезни. Две последние задачи тесно связаны и обычно рассматриваются и решаются параллельно практически в каждом случае заболевания.

Прогноз состояния здоровья людей и жизнедеятельности их организма в необычных условиях бывает необходим в случаях, когда здоровому человеку предстоит подвергнуться воздействию определенных (иногда экстремальных) факторов, адаптация к которым потребует от организма значительных усилий. Прогнозирование влияния на человека таких факторов, как невесомость, высокая гравитация, гипокинезия, экстремальная физическая нагрузка требует обычно использования специальных нагрузочных тестов, позволяющих оценить функциональное состояние и адаптационные возможности определенных функциональных систем (сердечно-сосудистой системы, вестибулярного аппарата, локомоторного аппарата и др.).

Прогноз возможности заболевания связан с учетом этиологии и патогенеза определенных болезней, воздействия вредных бытовых и производственных факторов, индивидуальных особенностей человека (перенесенные ранее заболевания, наследственность, вредные привычки и др.) [19, 179]. Так, проживание человека в местности, где почва и вода характеризуются дефицитом йода, позволяет предвидеть развитие у него эндемического зоба. Наличие у ближайших родственников по отцовской и материнской линии сахарного диабета, а также рождение женщиной ребенка большого веса позволяют сформулировать представление о предиабете, т.е. состоянии, грозящем со значительной долей вероятности перейти в латентный или явный диабет. Предрасположенность к некоторым заболеваниям оценивается путем выявления так называемых факторов риска.

Широкое распространение получила такая форма прогнозирования возможности заболевания, как медико-генетическое консультирование (точнее, медико-генетическое прогнозирование), позволяющее количественно определить риск рождения ребенка с той или иной наследственной аномалией не только в больных, но и в здоровых семьях — так называемые спорадические случаи, наследование которых в родословной проследить не удастся.

Прогноз течения и исхода заболевания – наиболее распространенный в практической медицине вид медицинского прогнозирования [24, 151, 277]. Различают прогноз болезни (общий прогноз, прогноз нозологической формы) и прогноз больного (индивидуальный прогноз). Последний основывается на прогнозе болезни, но строится с учетом индивидуальных особенностей больного (возраста, иногда пола, индивидуальной иммунореактивности и др.).

Прогноз должен отвечать на целый ряд важных вопросов: закончится болезнь смертью и когда или больной будет жить (прогноз сохранения жизни, или витальный прогноз – *prognosis quoad vitam*), наступит ли выздоровление (прогноз выздоровления – *prognosis quoad valitudinem*), будет ли выздоровление полным или болезнь примет рецидивирующее течение, восстановится ли трудоспособность пациента (и в какой степени) или он будет инвалидом (социально-трудовой прогноз), сколько времени проживет больной (прогноз длительности жизни – *prognosis quoad longitudinem vitae*).

По своему содержанию прогноз может быть хорошим (благоприятным – *prognosis bona*), сомнительным (*prognosis dubia*), плохим (неблагоприятным – *prognosis mala*), очень плохим (*prognosis pessima*) и предвещающим летальный исход (*prognosis lethalis*).

Прогресс фармакологии и хирургии позволяет более оптимистично, чем раньше, оценивать ближайший прогноз даже безусловно смертельных заболеваний. При целом ряде тяжелых инвалидизирующих заболеваний (сахарном диабете, ревматоидном артрите, хронической недостаточности надпочечников) жизненный и трудовой прогноз в значительной степени зависит

от систематического проведения медикаментозной терапии, адекватного лечения осложнений или их профилактики.

Индивидуальный прогноз строится с учетом комплекса факторов, сложно и разнонаправленно влияющих на сопротивляемость организма больного действию болезнетворного агента, патогенез заболевания, формирование и становление защитных, приспособительных, компенсаторных реакций.

Одним из быстро прогрессирующих направлений в клинической медицине, несомненно, является прогнозирование заболеваний с помощью специальных шкал. Более точная оценка развития заболевания позволяет эффективнее использовать лечебные ресурсы, включая хирургическое лечение и дорогостоящие высокотехнологичные устройства [84, 57, 203]. Строго говоря, шкалы могут использоваться, если доказано, что их применение достоверно улучшает прогноз по сравнению с решениями, принимаемыми врачом без шкал (табл. 1.5.1.).

Таблица 1.5.1

Преимущества и недостатки прогностических шкал

Преимущества шкал	Недостатки шкал
Унификация принятия решения	Групповой прогноз
Нет существенной зависимости от опыта и квалификации врача.	Учет небольшого числа предикторов
	Неопределенность временного лага прогноза.
Количественная оценка состояния и прогноза	Статический характер прогноза
Автоматический расчет при электронной истории болезни	Зависимость от популяции
Возможность контроля	Ограниченность определенным заболеванием или вариантом болезни
	Многочисленность шкал и сложность выбора

Соответствие наблюдаемых и предсказанных исходов (калибровка), оценивается обычно с помощью критерия согласия Хосмера-Лемешева (χ^2) – чем ниже, тем лучше. Для решения вопроса о возможности применения шкалы последняя должна быть валидизирована. Проверка пригодности шкалы

проводится независимыми исследователями на других группах пациентов в разных регионах проживания, а не только на части пациентов данного исследования, не включенных в группу отбора прогностических факторов. Особенно важна проверка прогностических возможностей у пациентов разных возрастов, полов, рас, при распространенных коморбидных заболеваниях [116, 72, 83].

Результаты оригинального исследования сравнивают с результатами проверяющего исследования. Обычно статистика независимых исследований ниже, но именно на эту оценку и следует ориентироваться. Применение недостаточно проверенной шкалы может привести к существенным ошибкам.

Деление шкал на диагностические и лечебные порой весьма условно, так как выделение групп риска определяет дальнейшую тактику лечения.

Часто механическое использование шкал с принятием решения на основании только числа баллов приводит к выбору неоптимального лечения.

Выбор диагностической и лечебной программы должен учитывать прогноз заболевания [100, 191, 217].

Современная диагностика заболеваний включает дорогостоящие и высокочувствительные тесты, часто недостаточно специфичные с заметной долей ложноположительных результатов. Последние требуют дополнительного обследования и нередко сопровождаются избыточным лечением.

В этих условиях существенно повышается роль прогнозирования заболевания, позволяющая ранжировать пациентов в зависимости от степени риска и более адекватно назначать активное дорогостоящее и не всегда безопасное медикаментозное хирургическое лечение, рационально использовать ограниченные ресурсы системы здравоохранения [181, 153, 61].

Предикторы, включенные в шкалы, имеют определенные критерии, которые необходимо учитывать при работе со шкалой. Бывает, что один из критериев шкалы недоступен, поэтому при необходимости недостающее значение обычно заменяют нормальным, что может привести к снижению точности классификации.

При использовании шкал важно представлять, на каких популяциях пациентов шкала была разработана и валидизирована. Соответственно ее использование у других пациентов может привести к существенным ошибкам, что обусловлено использованием регрессионного анализа.

Одним из принципиальных ограничений шкал является невозможность индивидуальной оценки, т.к. шкалы могут лишь дать вероятностную оценку риска для группы пациентов с данными уровнями факторов риска. У каждого пациента событие может произойти либо не произойти. Например, если шкала прогнозирует риск смерти в 20%, неясно, данный пациент один из 20 в группе из 100 человек, которые умрут, или он один из 80, которые выживут. Выраженность прогностического критерия шкалы может сильно варьировать у разных пациентов.

На прогноз заболевания могут влиять многие факторы, которые игнорировались при разработке прогностической шкалы, например, семейный анамнез, раса, получаемая терапия, состояние психики (недавний стресс, депрессивное расстройство), метеорологические и гелиогеофизические факторы и т.д.

Заболевания развиваются во времени, и, соответственно, меняются симптомы и прогноз. Поэтому рекомендуется повторное использование шкал для уточнения оценок. В то же время распространенным недостатком большинства шкал является отсутствие динамического режима оценок и длительный интервал прогноза, который не дает врачу точного времени развития неблагоприятного события.

Факторы риска, используемые в шкалах, часто бывают неспецифическими и могут влиять на прогноз других заболеваний. Например, возраст, артериальное давление, дисфункция почек, класс сердечной недостаточности включены во многие шкалы. Поэтому шкалы, разработанные для одного заболевания, могут оказаться полезными и для других болезней.

Представляется перспективной разработка неспецифических моделей, позволяющих прогнозировать широкий класс заболеваний [117, 108, 48].

Шкалы не обладают 100% точностью и имеют немало ограничений. Поэтому разумно использовать шкалы в качестве подспорья для принятия клинического решения с учетом предпочтений пациентов, имеющихся ресурсов и реалий практического здравоохранения (рис. 1.5.1.). Именно в этом направлении развиваются новые концепции (персонифицированная, точная, пациент-ориентированная медицина), позволяющие преодолеть недостатки, присущие медицине, основанной на доказательствах, полученных в исследованиях больших групп пациентов.



Рис. 1.5.1. Место шкал прогноза в разработке программы лечения пациента

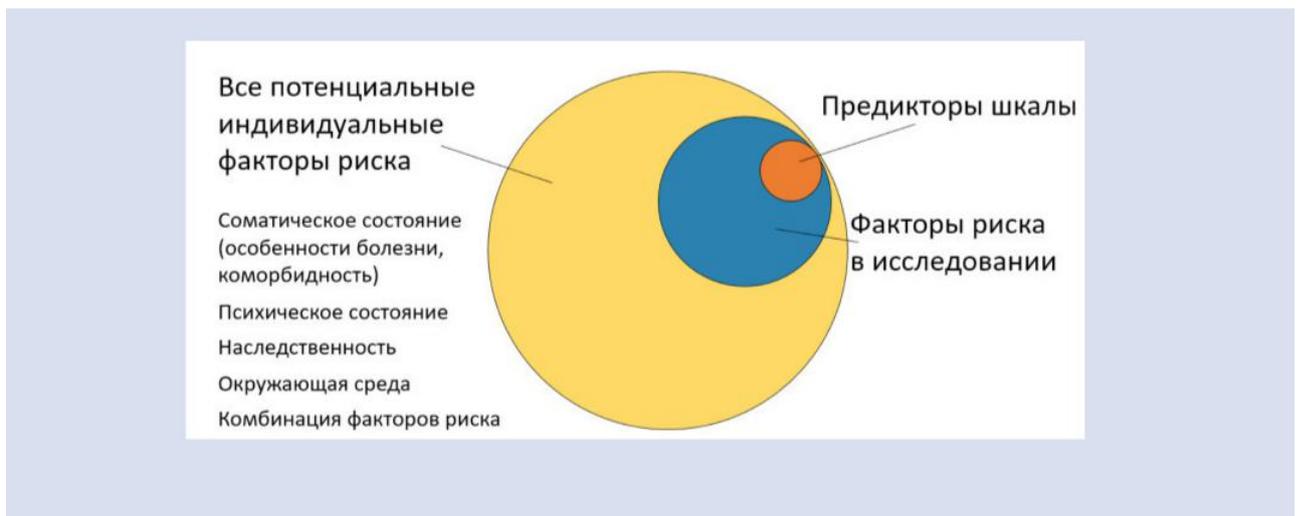


Рис.1.5.2. Соотношение потенциальных факторов риска и предикторов

Шкалы удобно использовать во врачебной практике (рис. 1.5.2.). На течение заболевания может влиять огромное число факторов – как средовых, так и самого организма. Влияние разных факторов может быть скрыто многочисленными шумовыми воздействиями и форму зависимости трудно определить даже приблизительно. В этих случаях традиционные линейные статистические методы оказываются недостаточно точными.

Весьма перспективным представляется машинное обучение, которое использует большие массивы данных (регистры, базы электронных медицинских документов), проводит поиск наиболее информативных переменных, выбирает оптимальные комбинации переменных и лучшие математические алгоритмы (регрессия, классификационное дерево, нейронные сети и другие) или их комбинацию для получения максимально точного прогноза. Учет большого числа данных, возможность самообучения, гибкость дают определенные преимущества машинному обучению перед традиционно используемыми в медицине моделями. Так, машинное обучение позволило существенно улучшить прогноз пациентов в критических состояниях по сравнению с известными шкалами и традиционной регрессионной моделью.

Вместе с тем, использование не отобранной когорты пациентов, а большого массива разнородных данных может снизить точность классификации рисков и близость прогноза к частоте реальных событий.

Таким образом, прогностические шкалы помогают практикующим врачам оценить возможные риски развития неблагоприятных событий для групп пациентов со сходными условиями, на этой основе принимать более эффективные диагностические лечебные решения с обязательным учетом позиции пациента, имеющихся ресурсов здравоохранения, особенностей болезни, коморбидности, генетических и средовых факторов.

Подытоживая литературный обзор, необходимо отметить следующие моменты: вооруженный конфликт в Донбассе имеет ряд своих особенностей, среди раненных преобладают пациенты, пострадавшие от высокоэнергетического оружия, что ведет, как правило, к комбинированным и

сочетанным травмам. Современные научные данные в изучении раневого процесса заставляют обратить пристальное внимание на изучение факторов роста, более тщательно детализировать течение раневого процесса. В то же время генный пул человеческого организма является заданной при рождении детерминантой, что неизбежно влияет на течение раневого процесса и исход заболевания – врач не в состоянии изменить генетический материал пациента, генетически обусловленное благоприятное или неблагоприятное течение процессов репарации тканей. Однако, для успешного прогнозирования исхода лечения, выбора оптимальной хирургической тактики, необходимо учитывать и полиморфизм генов. Таким образом, выделение наиболее значимых прогностических признаков и построение математической модели позволяет выбрать оптимальную тактику лечения.

ГЛАВА 2

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

2.1. Дизайн исследования

Нами были изучены результаты лечения 743 раненных и пострадавших, которые находились на стационарном лечении в ожоговом отделении Института неотложной и восстановительной хирургии им. В.К. Гусака МЗ ДНР с 2014 по 2019 гг.

Все больные были разделены на три группы. Первую группу составили 346 человек, которые были госпитализированы в ожоговое отделение непосредственно с места получения травмы, минуя промежуточные этапы лечения.

Вторую группу составили 305 человек, которые были доставлены в клинику через этап медицинской эвакуации – городская, районная больница, военный госпиталь и т.д.

В третью группу (основную) вошло 92 пациента, которые получали лечение на основании разработанной в клинике тактики, основанной на многофакторном анализе и прогнозировании исхода болезни. В основной группе концентрировались больные как доставленные непосредственно с места происшествия, так и через промежуточный этап эвакуации: 42 человека ($45,7 \pm 5,2\%$) поступили в ожоговый центр с места происшествия, 50 человек ($54,3 \pm 5,2\%$) через этап эвакуации. По знаковому критерию Z группы больных между собой сопоставимы.

Поступившие пациенты являлись как военнослужащими, так и гражданскими лицами. Летальные исходы в работе не учитывались. Летальность во всех группах колебалась в пределах 1,5-1,7%. Причинами смерти послужили травмы, несовместимые с жизнью, необратимый шок (ожоговый, травматический, геморрагический), крайне тяжелый сепсис.

Критериями включения в исследования были: возраст больных от 20 до 60 лет; наличие боевой или ожоговой травмы; отсутствие системной сопутствующей патологии, которая могла бы повлиять на течение раневого процесса (рак, сахарный диабет, заболевания щитовидной железы, заболевания соединительной ткани, некорректируемая сердечно-легочная недостаточность, хроническая венозная недостаточность и т.д.); непроникающие ранения мягких тканей. Критериями исключения являлись: возраст до 20 лет и старше 60 лет; здоровые люди; бытовые травмы; наличие сопутствующей системной патологии; проникающие полостные ранения. Пациенты с проникающими ранениями черепа, грудной клетки, брюшной полости получали лечение в профильных хирургических стационарах.

В первой и второй группах больных проводился ретроспективный анализ историй болезней поступивших раненных и пострадавших, в основной группе больных – проспективный анализ.

Все пациенты получали своевременную (с момента поступления) специализированную помощь, включающую в себя как хирургическое, так и консервативное лечение.

Исследование влияния молекулярно-генетических факторов на течение раневого процесса исследовали на больных, поступивших в клинику в средне-тяжелом состоянии. В качестве критерия, отражающего скорость восстановительного периода, использовали длительность нахождения больных в стационаре.

Методология исследования построена основе модели «случай-контроль». Этот метод предполагает сравнение двух относительно однородных выборок, различающихся по одному параметру. В данном исследовании группы имели отличия по длительности госпитального этапа лечения. Отбор пациентов для исследования осуществляли следующим образом. Были исключены пациенты, доставленные в ожоговый центр в течение 48 часов после получения травмы. Из анализа были также исключены пациенты, срок стационарного лечения которых был уникальным (т.е. встречался в выборке единожды) и мог быть отнесен к

категории случайных значений. Таким образом, были отобраны 217 больных, у которых среднее время нахождения в стационаре составило ($M \pm SE$): $17,09 \pm 0,65$ суток, что статистически не отличалось от общей группы ($t=0,745$; $p=0,457$).

Учитывая непараметрический характер распределения отобранных данных (тест Колмогорова-Смирнова – $p < 0,01$) описательная статистика и граничные значения показателя длительности стационарного лечения для указанной выборки могут быть представлены следующим образом: $Me (Q1; Q3)$: 14,00 (9,00; 21,00); 95% ДИ (2,5-97,5 перцентили) 7,00-48,00. Таким образом, были отобраны все пациенты, срок нахождения в стационаре которых соответствовал 95% и находился в границах от 7 до 48 суток госпитального лечения.

Были сформированы группы исследования I А (контрольная) и I Б (группа случаев). Все указанные пациенты (217 человек) распределены по возрастанию сроков стационарного лечения от минимального (7 суток) к максимальному (48 суток). Первые 60 пациентов с минимальными сроками образовали группу I А, Последние 60 пациентов с максимальными сроками лечения образовали группу I Б.

В работе была предпринята попытка осмыслить полученные результаты лечения больных в разных группах, вычленив наиболее значимые факторы, влияющие на исход заболевания, длительность лечения, количество выполненных операций.

На основании полученных результатов исследования была создана математическая прогностическая модель, позволяющая предположить с высоким процентом вероятности исход лечения, длительность лечения, количество выполненных операций.

Кроме того, учитывая, что подавляющее большинство больных это были мужчины трудоспособного возраста, мы попытались обозначить и социальную значимость проблемы, проведя краткий анализ инвалидизаций по результатам лечения.

2.2. Материал исследования

В исследуемых группах средний возраст больных составил $38,8 \pm 2,4$ лет. В первой группе средний возраст составил $38,8 \pm 2,3$ лет, во второй – $39,3 \pm 2,6$, в основной – $38,3 \pm 2,1$ лет ($p > 0,05$).

По гендерному признаку пострадавшие распределились следующим образом (табл. 2.2.1):

Таблица 2.2.1

Распределение больных по гендерному признаку, в % (абс. / $P \pm m$)

Группы больных	Мужчины, n=588	Женщины, n=155
Первая группа	272 / $78,6 \pm 2,2$	74 / $21,4 \pm 2,2$
Вторая группа	243 / $79,7 \pm 2,3$	62 / $20,3 \pm 2,3$
Основная группа	73 / $79,3 \pm 4,2$	19 / $20,7 \pm 4,2$
Всего, n=743 чел.	588 / $79,1 \pm 1,5$	155 / $20,9 \pm 1,5$

Таким образом, в каждой группе подавляющее большинство (от 78,6% до 79,7%) пострадавших составили мужчины, всего – 588 человек ($79,1 \pm 1,5\%$), женщин было 155 человек ($20,9 \pm 1,5\%$) по 20-21% в группах.

По нозологическим формам пострадавшие распределились следующим образом, данные приведены в табл. 2.2.2.

Анализируя данные табл. 2.2.2, можно прийти к следующим выводам:

1. у 367 ($49,4 \pm 1,8\%$) пострадавших были сочетанные и комбинированные поражения;

Таблица 2.2.2

Структура нозологических форм по группам сравнения, в % (абс. / $P \pm m$)

Нозологическая единица	Первая группа, n=346	Вторая группа, n=305	Основная группа, n=92
Изолированные ожоги	42 / 12,1 \pm 1,8	12 / 3,9 \pm 1,1* Δ	10 / 10,9 \pm 3,2
Изолированные огнестрельные ранения (множественные осколочные, пулевые)	65 / 18,8 \pm 2,1	54 / 17,7 \pm 2,2	12 / 13,0 \pm 3,5
Раны (некротические, гранулирующие)	26 / 7,5 \pm 1,4	146 / 47,9 \pm 2,9* Δ	9 / 9,8 \pm 3,1
Сочетанные повреждения	31 / 9,0 \pm 5,1	30 / 9,9 \pm 1,7	14 / 15,2 \pm 3,7
Комбинированные повреждения	182 / 52,6 \pm 2,7	63 / 20,6 \pm 2,3* Δ	47 / 51,1 \pm 5,2

Примечания.

1. * – означает статистически значимое различие с показателем в основной группе ($p < 0,05$).

2. Δ – означает статистически значимое различие с показателем в первой группе ($p < 0,05$).

2. во второй группе больных основную массу (47,9 \pm 2,9%) больных составили пациенты с ранами различной этиологии. Это объяснимо тем, что больные были направлены в клинику из других лечебных учреждений для ликвидации ран путем применения одного из видов реконструктивных операций;

3. получение изолированных огнестрельных ранений, как множественных осколочных, так и пулевых, колебалось в пределах 13,0-18,8%;

4. во второй группе больных 3,9 \pm 1,1% пострадавших в основном были доставлены по линии санавиации в краткие сроки после получения ожоговой травмы.

В свою очередь, был проведен анализ непосредственно боевой травмы у пострадавших – при огнестрельных ранениях, пулевых и множественных осколочных. При изучении результатов лечения в работу были включены непроникающие ранения конечностей, мягких тканей, т.к. пострадавшие с

проникающими полостными ранениями находились на лечении в хирургических стационарах. Данные приведены в табл. 2.2.3.

Таблица 2.2.3.

Структура огнестрельных ранений по группам сравнения, в % (абс. / $P \pm m$)

Огнестрельные ранения	Первая группа, n=346	Вторая группа, n=305	Основная группа, n=92
Слепые	43 / 12,4 \pm 1,8	37 / 12,1 \pm 1,9	8 / 8,7 \pm 2,9
Касательные	14 / 4,0 \pm 1,1	12 / 3,9 \pm 1,1	3 / 3,3 \pm 1,9
Сквозные	8 / 2,3 \pm 0,8	5 / 1,6 \pm 0,7	1 / 1,1 \pm 1,1
Всего	65 / 18,8 \pm 2,1	54 / 17,7 \pm 2,2	12 / 13,0 \pm 3,5

Таким образом, в процентном соотношении группы больных статистически идентичны ($p > 0,05$, критерий Стьюдента). Большую часть огнестрельных ранений в анализируемых группах больных составили слепые непроникающие ранения – в среднем 67,1 \pm 6,7%.

При ожоговой травме больные также были разделены согласно тяжести состояния, в зависимости от площади и глубины ожога. В анализируемую выборку больных вошли пациенты с изолированными ожогами и комбинированной травмой (табл. 2.2.4).

Таблица 2.2.4

Распределение пострадавших по степени тяжести ожогового поражения, в % (абс. / $P \pm m$)

Степень тяжести ожогового поражения	Первая группа, n=346	Вторая группа, n=305	Основная группа, n=92
Легкообожженные	12 / 3,5 \pm 1,0	14 / 4,6 \pm 1,2	4 / 4,3 \pm 2,1
Обожженные средней степени тяжести	29 / 8,4 \pm 1,5	12 / 3,9 \pm 1,1	5 / 5,4 \pm 2,4
Тяжелообожженные	37 / 10,7 \pm 1,7	5 / 1,6 \pm 0,7	4 / 4,3 \pm 2,1
Крайне тяжело обожженные	10 / 2,9 \pm 0,9	4 / 1,3 \pm 0,7	4 / 4,3 \pm 2,1
Всего	88 / 25,4 \pm 2,3	35 / 11,5 \pm 1,8	17 / 18,5 \pm 4,0

Кроме того, был проведен анализ обожженных больных по этиологическому фактору – ожог пламенем, ожог горячей одеждой, ожог кипятком и т.д. Данные приведены в табл. 2.2.5.

Таблица 2.2.5

Распределение обожженных пострадавших в зависимости от причины ожога, в % (абс. / $P \pm m$)

Причина ожога	Первая группа, n=346	Вторая группа, n=305	Основная группа, n=92
Ожог пламенем	13 / 3,8±1,0	7 / 2,3±0,9	4 / 4,3±2,1
Ожог пламенем и горячей одеждой	12 / 3,5±1,0	8 / 2,6±0,9	4 / 4,3±2,1
Ожог кипятком	26 / 7,5±1,4	11 / 3,6±1,1Δ	6 / 6,5±2,6
Ожог пламенем взрыва	12 / 3,5±1,0	3 / 1,0±0,6Δ	1 / 1,1±1,1
Электротравма	7 / 2,0±0,8	2 / 0,7±0,5Δ	1 / 1,1±1,1
Контактные ожоги	12 / 3,5±1,0	3 / 1,0±0,6Δ	1 / 1,1±1,1
Химические ожоги	6 / 1,7±0,7	1 / 0,3±0,3Δ	0
Всего	88 / 25,4±2,3	35 / 11,5±1,8Δ	17 / 18,5±4,0

Примечание: Δ – означает статистически значимое различие с показателем в первой группе ($p < 0,05$).

В первой группе больных был сосредоточен наиболее тяжелый контингент обожженных – 47 человек (53,4±5,3%), во второй – преобладали легкообожженные и обожженные средней тяжести – 26 человек (74,3±7,4%), в основной группе больных пациенты были распределены равномерно по степени тяжести ожогового поражения. Это объясняется тем, что пациенты первой группы или сразу непосредственно доставлялись в ожоговый центр с места происшествия, или были доставлены по линии санавиации в течение нескольких часов/суток после получения ожоговой травмы. Пациенты второй группы в основном направлялись в ожоговое отделение для решения вопроса о закрытии ожоговых ран в состоянии средней тяжести, наиболее тяжелые больные были эвакуированы ранее, в течение нескольких часов/суток от момента происшествия.

Также были проанализированы осложнения, сопровождавшие полученные травмы. Всего наблюдалось 292 (39,3±1,8%) случая осложненного течения полученной травмы. В первой группе больных отягощающие последствия травмы составили 143 случая (49,0±2,9%), во второй группе больных – 114

(39,0±2,8%), в основной группе – 35 (12,0±1,9%), от общего количества зафиксированных отягчающих последствий ранения или ожога.

Данные по группам больных приведены в табл. 2.2.6.

Таблица 2.2.6
Структура отягчающих последствий по группам сравнения, в % (абс. / P±m)

Отягчающие последствия травмы	Первая группа, n=346	Вторая группа, n=305	Основная группа, n=92
Шок (ожоговый, травматический, геморрагический)	41 / 11,8±1,7	8 / 2,6±0,9Δ	7 / 7,6±0,9
Кровотечение из раны	32 / 9,2±1,6	16 / 5,2±1,3Δ	4 / 4,3±2,1
Повреждения костей и суставов	26 / 7,5±1,4	17 / 5,6±1,3	6 / 6,5±2,6
Синдром длительного сдавления	12 / 3,5±1,0	5 / 1,6±0,7	3 / 3,3±1,9
Нагноение раны, вторичный некроз тканей	9 / 2,6±0,9*	48 / 15,7±2,1Δ	8 / 8,7±2,9
Ожог дыхательных путей, отравление продуктами горения	10 / 2,9±0,9	4 / 1,3±0,7*	6 / 6,5±2,6
Сепсис	13 / 3,8±1,0	16 / 5,2±1,3*	1 / 1,1±1,1
Всего	143 / 41,3±2,6	114 / 37,2±2,8	35 / 38,0±5,1

Примечания.

1. * – означает статистически значимое различие с показателем в основной группе (p<0,05).

2. Δ – означает статистически значимое различие с показателем в первой группе (p<0,05).

В среднем процент отягчающих последствий травмы по группам больных составил 38,8±2,8%. В первой группе больных у 96 (67,1±3,1%) больных эти последствия непосредственно угрожали жизни (шок, кровотечение, ожог дыхательных путей, сепсис). Во второй группе преобладали гнойно-септические осложнения – 64 (56,1±4,6%) пациента. В основной группе больных ярко выраженного доминирования одного из осложнений не выявлено.

У 159 (21,4±1,5%) пациентов была выявлена сопутствующая патология при поступлении. Данные приведены в табл. 2.2.7.

Таблица 2.2.7
Структура сопутствующей патологии по группам сравнения, в % (абс. / P±m)

Сопутствующая патология	Первая группа, n=346	Вторая группа, n=305	Основная группа, n=92
Хронические обструктивные заболевания легких	13 / 3,8±1,0	11 / 3,6±1,1	4 / 4,3±2,1
Острая алкогольная (наркотическая) интоксикация	12 / 3,5±1,0	8 / 2,6±0,9	3 / 3,5±1,9
Язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки	5 / 1,4±0,6	6 / 2,0±0,8	1 / 1,1±1,1
ИБС, гипертоническая болезнь	11 / 3,2±0,9	14 / 4,6±1,2	3 / 3,5±1,9
Переломы костей различной локализации	10 / 2,9±0,9	15 / 4,9±1,2	4 / 4,3±2,1
Острый/хронический панкреатит	4 / 1,2±0,6	3 / 1,0±0,6	1 / 1,1±1,1
Грыжевая болезнь	3 / 0,9±0,5	2 / 0,7±0,5	1 / 1,1±1,1
Туберкулез (закрытая форма, БК-)	3 / 0,9±0,5	1 / 0,3±0,3	1 / 1,1±1,1
Прочие (эпилепсия, венерологические заболевания и т.д.)	4 / 1,2±0,6	7 / 2,3±0,9	2 / 2,2±1,5
Всего	65 / 18,8±2,1	67 / 22,0±2,4	20 / 21,7±4,3

Таким образом, по основным нозологическим формам сопутствующей патологии группы больных сопоставимы (критерий Стьюдента).

В своей работе при оценке тяжести термической травмы мы использовали классификацию профессора Фисталя Э.Я., предложенную в 1999 г. и принятую в Украине 20 съездом хирургов Украины в г. Тернополе.

По тяжести термического поражения в зависимости от площади и глубины ожогов пораженных подразделяли на 4 группы:

1. легкообожженные: ожоги I-II степени площадью до 10% поверхности тела;

2. обожженные средней степени тяжести: ожоги I-II степени площадью от 10 до 20% поверхности тела; ожоги III-IV степени площадью менее 1% поверхности тела, не локализующиеся в функционально значимых областях;

3. тяжелообожженные: ожоги I-II степени площадью от 20 до 40% поверхности тела; ожоги III-IV степени площадью до 10% поверхности тела; поражение дыхательных путей, независимо от тяжести поражения кожного покрова;

4. крайне тяжелые: ожоги I-III степени площадью более 40% поверхности тела; ожоги III-IV степени площадью более 10% поверхности тела.

Для объективной оценки тяжести состояния пострадавших с комбинированной и сочетанной травмой, а также огнестрельными ранениями, были использованы шкалы «ВПХ-СП» (ВПХ – военно-полевая хирургия, С – состояние, П – поступление), «ВПХ-СГ» (табл. 2.2.8, табл. 2.2.9, табл. 2.2.10) (С – состояние, Г – госпитальная), ВПХ-СС (СС – мониторинг состояния в специализированных центрах).

На основании дисперсионного анализа для количественных признаков и таблиц были отобраны наиболее значимые диагностические симптомы, т.е. сформированы наборы признаков.

Суммирование баллов по каждому определяемому признаку и дальнейшее сопоставление по рассчитанным количественным градациям позволяют произвести оценку тяжести состояния пострадавшего при поступлении и в динамике лечебных мероприятий.

Шкала оценки тяжести состояния пострадавших при поступлении в
лечебное учреждение – «ВПХ-СП»

№ п/п	Симптомы	Значение симптомов	Оценка симптомов, баллы
1.	Кожные покровы	Обычный	1
		Синюшный	2
		Бледный	4
		Серый	7
2.	Характер внешнего дыхания	Нормальный	1
		Частое (>25 в мин)	5
		Патологическое	8
3.	Аускультативные изменения в легких	Отчетливое дыхание	1
		Ослабленное дыхание	3
		Отсутствие дыхания	7
4.	Речевой контакт	Нормальный	1
		Нарушен	3
		Отсутствует	6
5.	Реакция на боль	Сохранена	1
		Отсутствует	6
6.	Зрачковый или роговой рефлекс	Сохранен	1
		Отсутствует	8
7.	Величина зрачков	Нормальный	1
		Узкие	2
		Анизокория	4
		Широкие	6
8.	Характер пульса	Нет аритмии	1
		Есть аритмия	8
9.	Частота пульса, уд/мин	60-80	1
		81-100	3
		101-140	4
		<60 или >140	7
10.	Систолическое артериальное давление, мм.рт.ст.	101-140	1
		100-90 или >140	3
		70-80	4
		60-69	5
		40-59	7
		<40	8
11.	Ориентировочная величина кровопотери, мл	<500	1
		501-1000	3
		1001-2000	4
		2001-3000	6
		>3000	9
12.	Шумы кишечной перистальтики	Отчетливые	1
		Ослабленные	3
		Отсутствуют	5

Шкала оценки тяжести состояния пострадавших при поступлении в лечебное учреждение – «ВПХ-СГ»

№ п/п	Симптомы	Значение симптомов	Оценка симптомов, баллы
1.	Состояние сознания	Ясное	1
		Оглушение	3
		Сопор	6
		Кома	8
		Глубокая кома	9
2.	Характер внешнего дыхания	Нормальный	1
		Частое (>25 в мин)	6
		Патологическое	9
3.	Аускультативные изменения в легких	Везикулярное дыхание	1
		Ослабленное дыхание	3
		Влажные хрипы	6
4	Характер пульса	Нет аритмии	1
		Есть аритмия	6
5.	Частота пульса, уд/мин	60-80	1
		81-100	3
		101-140	4
		<60 или >140	7
		не определяется	9
6.	Систолическое артериальное давление, мм.рт.ст.	>100	1
		81-100	4
		61-80	8
		60 и	9
7.	Шумы кишечной перистальтики	Отчетливые	1
		Ослабленные	3
		Отсутствуют	5
8.	Суточный диурез	500-1500	1
		> 1500	2
		< 500	5
9.	Температура тела, С°	< 37	1
		37-38	2
		38	3
10.	Эритроциты крови, x10 ¹² /л	> 3,0	1
		3,0-2,6	2
		2,5 и <	4
11.	Лейкоциты крови, x10 ⁹ /л	8 и <	1
		8,1-10,0	2
		10,1-15,0	3
		15,0	4
12.	Палочкоядерные лейкоциты, %	< 10	1
		11-20	2
		> 20	4
13.	Общий белок, г/л	> 60	1
		< 60	3
14.	Азот мочевины, моль/л	< 4,0	1
		> 4,0	3
15.	Эритроциты мочи, шт в п.зр.	< 10	1
		> 10	3
16.	Белок мочи, %	Нет белка	1
		< 0,03	2
		> 0,03	3

**Шкала оценки тяжести состояния пострадавших при поступлении в
специализированный центр – «ВПХ-СС»**

№ п/п	Показатель и его градация	Балл
1.	ЦНС Баллы шкалы ком Глазго	
	14-15 – ясное сознание	1
	11-13 – оглушение	3
	8-10 – сопор	6
	5-7 – поверхностная кома	8
	3-4 – глубокая кома	9
	Транспорт газов	
2.	Характер внешнего дыхания	
	Нормальное	1
	Частое (более 20 в 1 минуту)	6
	Патологический ритм	9
	ВВЛ	6
	ИВЛ	9
3.	Газовый состав крови	
	P_{aO_2}/F_{iO_2}	
	Более 300	1
	150-300	4
	Менее 150	8
	$HbO_2, \%$	
	Более 94	1
	93-90	5
	Менее 90	9
	$pCO_2, \text{ мм.рт.ст.}$	
	32-50	1
	50-60	2
	Более 60 или менее 32	4
4.	Гемодинамика	
	Характер пульса	
	Нет аритмии	1
	Есть аритмия	6
5.	Частота пульса	
	60-90	1
	91-140	5
	Менее 60 или более 140	7
	Не определяется на периферических артериях	8
	Не определяется на центральных артериях	9
6.	сАД (мм рт.ст.)	
	Более 100	1
	81-100	4
	61-80	8
	60 и менее	9
7.	Ионотропная поддержка (дофамин более 5 мкг*кг/мин)	
	Не проводится	1
	Проводится	8
8.	Ударный индекс (мл/м ²)	
	Более 40	1
	28-40	3
	Менее 28	5
	Система крови	
9.	Эритроциты крови $1 \times 10^{12}/л$	
	Более 3,0	1
	3,0-2,6	5
	Менее 2,6	9
10.	Фибриноген, г/л	

	2,3-4,0	1
	Менее 2,3 или более 4,0	3
11.	Время свертывания по Ли-Уайту, мин	
	5-12	1
	12-16	3
	Менее 5	5
	Более 16	8
Функция почек		
12.	Диурез почасовый, мл/ч	
	Более 60	1
	Менее 60	3
13.	Креатинин, ммоль/л	
	0,14 и менее	1
	Более 0,14	3
14.	Мочевина, ммоль/л	
	8,3 и менее	1
	Более 8,3	3
Функция печени, ЖКТ		
15.	Общий билирубин (ммоль/л)	
	20,5 и менее	1
	Более 20,5	4
16.	Шумы кишечной перистальтики	
	Отчетливые	1
	Ослабленные	3
	Отсутствуют	5
17.	Общий белок (г/л)	
	Более 60	1
	60-50	3
	Менее 60	5
Эндотоксикоз		
18.	Средние молекулы, 254 и (или) 280 нм (кратность увеличения по сравнению с нормой)	
	x1	1
	x2	3
	x3	5
	x4 и более	7
19.	Индекс интоксикации мочи	
	БОЛЬШЕ индекса интоксикации крови	1
	РАВЕН индексу интоксикации крови или МЕНЬШЕ на 50 и менее %	4
	МЕНЬШЕ индекса интоксикации крови на 50 и более %	9
ССВО, сепсис		
20.	Температура тела, градусы Цельсия	
	35,9-37,0	1
	37,1-38,0	4
	Менее 35,9 и более 38,0	9
21.	Лейкоциты крови, $1 \times 10^9/\text{л}$	
	4,0-8,0	1
	8,1-12,0	2
	Более 12,0 или менее 4,0	3
22.	Палочкоядерные лейкоциты, %	
	Менее 10	1
	11-20	2
	Более 20	4
23.	Бактериемия	
	Не определяется, и нет явно инфекционного очага	1
	Определяется, и/или есть явно инфекционный очаг	5
<p>Примечание: курсивом обозначены градации показателей, позволяющие диагностировать синдром острого повреждения легких и его крайнюю форму – респираторный дистресс-синдром взрослых, жирным шрифтом выделены градации показателей, характеризующих ССВО и сепсис</p>		

Интерпретация данных качественных понятий при характеристике тяжести состояния пострадавших приведены в таблице 2.2.11.

Таблица 2.2.11

Количественная оценка границ традиционных качественных понятий при характеристике тяжести состояния раненных и пострадавших

Качественная (традиционная) градация тяжести состояния	Шкалы	Количественное выражение тяжести, баллы
Средней тяжести	ВПХ-СП	13-20
	ВПХ-СГ	23-32
	ВПХ-СС	33-49
Средне-тяжелое	ВПХ-СП	21-31
	ВПХ-СГ	33-40
	ВПХ-СС	50-69
Тяжелое, крайне тяжелое	ВПХ-СП	32-45
	ВПХ-СГ	41-50
	ВПХ-СС	70-98

При оценке тяжести ожоговой травмы использовали МИТП (модифицированный индекс тяжести поражения), который был разработан в ожоговом центре ИНВХ им. В.К. Гусака (табл. 2.2.12).

Таблица 2.2.12

Модифицированный индекс тяжести поражения при ожоговой травме

Показатели оценки	Единицы оценки, баллы
1% ожога I степени	1
1% ожога II степени	2
1% ожога III степени	3
1% ожога IV степени	4
ТИТ легкой степени	15
ТИТ средней степени тяжести	30
ТИТ тяжелой степени	45
Комбинация с механической травмой средней степени тяжести	10
Комбинация с механической травмой тяжелой степени тяжести	30
Сопутствующее заболевания в стадии компенсации	10
Сопутствующее заболевание в декомпенсации	30
При поражении более 30 баллов МИТП и пролонгации терапии более 8 часов	10
При поражении более 30 баллов МИТП и пролонгации до 24 часов	15
При поражении более 30 баллов МИТП и пролонгации более чем 24 часа	20
На каждый год возраста пострадавшего свыше 60 лет	1

Интерпретация МИТП:

Прогноз благоприятен, лёгкий ожоговый шок – МИТП до 30 баллов.

Прогноз относительно благоприятен, средней тяжести ожоговый шок – МИТП 31-60 баллов.

Прогноз сомнителен, тяжелый ожоговый шок – МИТП 61-90 баллов.

Прогноз неблагоприятен, крайне тяжелый ожоговый шок – МИТП свыше 91 баллов.

Таким образом, МИТП оценивает не только прогноз при ожогах (с учетом площади ожога, глубины поражения, возраста пострадавшего, комбинированной травмы, сопутствующей патологии, характера и своевременности предоставления медицинской помощи), но и течение ожоговой болезни, степень ожогового шока (а, следовательно, и тактику врача).

В соответствии с приведенными шкалами и классификацией, пострадавшие были разделены по тяжести состояния при поступлении. Данные приведены в таблице 2.2.13.

Таблица 2.2.13

Распределение больных по тяжести состояния при поступлении, в % (абс. / $P \pm m$)

Тяжесть состояния	Первая группа, n=346	Вторая группа, n=305	Основная группа, n=92
Средней тяжести	96 / 27,7±2,4	93 / 30,5±2,6	22 / 24,0±4,4
Средне-тяжелое	98 / 28,3±2,4*	125 / 41,0±2,8Δ	44 / 47,8±5,2
Тяжелое, крайне тяжелое	152 / 43,9±2,7*	87 / 28,5±2,6Δ	26 / 28,3±4,7

Примечания.

1. * – означает статистически значимое различие с показателем в основной группе ($p < 0,05$).

2. Δ – означает статистически значимое различие с показателем в первой группе ($p < 0,05$).

При анализе данных, приведенных в таблице 2.2.13, можно сделать вывод, что наиболее в первой группе больных сосредоточился наиболее тяжелый контингент больных (44,0±2,7%), во второй группе больных преобладали пациенты в средне-тяжелом состоянии (41,0±2,8%), такая картина наблюдалась и

в основной группе пациентов ($47,8 \pm 5,2\%$). Это объясняется направлением пациентов с ранами различных локализаций, вторичным некрозом тканей или нагноением в ране из городских, районных больниц ДНР для решения вопроса о выполнении реконструктивных операций.

Среди выполненных операций выделяли:

1. первичная (вторичная) хирургическая обработка раны;
2. некрэктомия + ксенопластика;
3. некрэктомия + комбинированная пластика;
4. некрэктомия + пластика местными тканями;
5. некрэктомия + аутодермотрансплантация;
6. дермабразия + ксенопластика;
7. аутодермотрансплантация (в т.ч. многоэтапные);
8. пластика лоскутом с осевым кровоснабжением;
9. ампутации конечностей и сегментов;
10. выполнение остеосинтеза;
11. ультразвуковая кавитация с различными вариантами пластики;
12. VAC-терапия с дальнейшими вариантами пластики.

Большинство пациентов были оперированы как в экстренном порядке, так и в раннем плановом – 701 ($94,3 \pm 0,8\%$) пациент, 42 ($5,7 \pm 0,8\%$) пострадавших были пролечены консервативно, с использованием раневых покрытий, ксенокожи, мазей на гидрофильной основе. Данные по группам больных приведены в таблице 2.2.14.

Таблица 2.2.14

Количество оперированных больных, в % (абс. / $P \pm m$)

Сопутствующая патология	Первая группа, n=346	Вторая группа, n=305	Основная группа, n=92
Оперировано	331 / $95,7 \pm 1,1$	282 / $92,5 \pm 1,5$	88 / $95,7 \pm 2,1$
Пролечено консервативно	15 / $4,3 \pm 1,1$	23 / $7,5 \pm 1,5$	4 / $4,3 \pm 2,1$

В таблице 2.2.15 приведены данные о распределении оперативных

вмешательств по группам больных с применением системы «damage control surgery».

Таблица 2.2.15

Структура оперативных вмешательств по группам сравнения,
в % (абс. / $P \pm m$)

Операция	Первая группа, n=346	Вторая группа, n=305	Основная группа, n=92
Оперативное лечение в один этап			
Первичная хирургическая обработка раны + пластика местными тканями	17 / 4,9 \pm 1,2	5 / 1,6 \pm 0,7 Δ	6 / 6,5 \pm 2,6
Первичная хирургическая обработка раны + комбинированная пластика	18 / 5,2 \pm 1,2	7 / 2,3 \pm 0,9 Δ	5 / 5,4 \pm 2,4
Первичная хирургическая обработка раны + пластика расщепленным лоскутом	16 / 4,6 \pm 1,1	8 / 2,6 \pm 0,9	4 / 4,3 \pm 2,1
Первичная хирургическая обработка раны + остеосинтез	10 / 2,9 \pm 0,0	13 / 4,3 \pm 1,2	5 / 5,4 \pm 2,5
Первичная хирургическая обработка раны + пластика лоскутом с осевым кровоснабжением	12 / 3,5 \pm 1,0	10 / 3,3 \pm 1,0	3 / 3,3 \pm 1,9
Некрэктомия + комбинированная пластика	20 / 5,8 \pm 1,3	11 / 3,6 \pm 1,1	3 / 3,9 \pm 1,9
Некрэктомия + пластика местными тканями	22 / 6,4 \pm 1,3	18 / 5,9 \pm 1,3	4 / 4,3 \pm 2,1
Некрэктомия/дермобразия + ксенопластика	19 / 5,5 \pm 1,2	12 / 3,9 \pm 1,1	5 / 5,4 \pm 2,4
Ультразвуковая кавитация + пластика местными тканями	20 / 5,8 \pm 1,3	16 / 5,2 \pm 1,3	3 / 3,3 \pm 1,9
VAC-терапия + пластика местными тканями	14 / 4,0 \pm 1,1	13 / 4,3 \pm 1,2	3 / 3,3 \pm 1,9
Ампутации конечностей и сегментов	6 / 1,7 \pm 0,7	14 / 4,6 \pm 1,2* Δ	1 / 1,1 \pm 1,1
Вторичная хирургическая обработка раны + пластика местными тканями	6 / 1,7 \pm 0,7	14 / 4,6 \pm 1,2 Δ	2 / 2,2 \pm 1,5
Вторичная хирургическая обработка раны + комбинированная пластика	8 / 2,3 \pm 0,8	15 / 4,9 \pm 1,2	2 / 2,2 \pm 1,5
Вторичная хирургическая обработка раны + пластика расщепленным лоскутом	7 / 2,0 \pm 0,8	9 / 3,0 \pm 1,0	3 / 3,3 \pm 1,9
Вторичная хирургическая обработка раны + остеосинтез	0	2 / 0,7 \pm 0,5	0
Вторичная хирургическая обработка раны + пластика лоскутом с осевым кровоснабжением	10 / 2,9 \pm 0,9	6 / 2,0 \pm 0,8	3 / 3,3 \pm 1,9
Оперативное лечение по системе «damage control surgery»			
Вторичная хирургическая обработка раны + наложение вторичных швов	35 / 10,1 \pm 1,6	31 / 10,2 \pm 1,7	10 / 10,9 \pm 3,2
Вторичная хирургическая обработка	40 / 11,6 \pm 1,7	18 / 5,9 \pm 1,3 Δ	10 / 10,9 \pm 3,2

раны + повторная пластика			
Ультразвуковая кавитация + пластика местными тканями + повторная пластика	15 / 4,3±1,1	10 / 3,3±1,0	6 / 6,5±2,6
VAC-терапия + пластика местными тканями + повторная пластика	14 / 4,0±1,1	11 / 3,6±1,1	5 / 5,4±2,4
Этапные пластики расщепленным лоскутом	22 / 6,4±1,3	39 / 12,8±1,9*Δ	3 / 3,3±1,9

Примечания.

1. * – означает статистически значимое различие с показателем в основной группе ($p < 0,05$).

2. Δ – означает статистически значимое различие с показателем в первой группе ($p < 0,05$).

Таким образом, анализируя полученные данные, можно прийти к выводу, что по гендерному составу, возрасту, нозологическим единицам, наличию сопутствующей патологии, выполненным операциям, группы больных репрезентативны.

2.3. Методы исследования

Патоморфологический метод. Гистологическому исследованию подлежали ткани, удаленные во время первичной или вторичной хирургической обработки раны. Исследовались кожные края, иссеченные ткани в пределах здоровых.

Из фиксированного в формалине материала изготавливались парафиновые блоки. Срезы окрашивались гематоксилином и эозином, для оценки количества и степени зрелости коллагеновых волокон использовалась окраска пикрофуксином по ван Гизону [38, 39].

Гистологические препараты были изучены под светооптическим микроскопом Olympus BX-40, микрофотографирование произведено цифровой фотокамерой Olympus U-TV1X с программным обеспечением Olympus DP-Soft.

Бактериологический метод. Был применен один из наиболее важных и достоверных критериев оценки качества лечения – метод количественного определения микроорганизмов в 1 г ткани. С его помощью можно объективно оценивать результат лечения, контролировать сроки закрытия раны, а также

проводить сравнительную оценку эффективности медикаментозных средств, применяемых для местного лечения ран и ожогов.

При обсемененности раны выше «критического числа» 10^5 микробных тел в 1 г тканей в жизнеспособных тканях развивается нагноение. Данный уровень микробной обсемененности является одним из основных факторов риска генерализации инфекции и сепсиса.

Изучение динамики микробной обсемененности гнойных ран осуществляли следующим образом. После хирургической обработки раны (первичной или вторичной), в качестве материала для определения исходного уровня бактериальной обсемененности иссекали кусочки ткани из дна и стенок раны. Данную процедуру повторяли в течение 3 дней в тех случаях, когда рана оказывалась закрыта неполностью. Иссеченные участки массой 1 г помещали в ступку и растирали с физиологическим раствором из расчета 1:10.

Для определения количества каждого вида бактерий, находящихся в исследуемом содержимом, использовали метод «секторных посевов».

Он основан на определении числа микробных клеток в 1 мл материала (КОЕ/мл). Петлей диаметром 2 мм проводили посев в определенные сектора чашки Петри на каждой среде. В секторе А посевной материал бактериологической петлей производили посев на питательную среду (30-40 штрихов). После этого петлю прожигали и производили 4 штриховых посева из сектора А в I, аналогичным образом из I во II и из II в III, прожигая петлю после посева из каждого сектора. Чашки инкубировали при 37°C 18-24 ч, после чего подсчитывали число колоний, выросших в разных секторах.

На каждого больного расходовали 3 чашки Петри со средами: среда 5% кровяной агар, среда Эндо, среда ЖСА (желточно-солевой агар).

Иммуноферментный метод. Измерение содержания цитокинов и кортизола в плазме крови осуществляли с помощью набора реактивов «Стероид ИФА-кортизол» (АлькорБио, РФ). В тест-системе использован принцип конкурентного иммуноферментного анализа. Референтное значение содержания кортизола в крови – 220-509 нмоль/л [16].

Интенсивность окраски продуктов иммуноферментативной реакции, измеряли на планшетном ридере «Multiscan EX» Thermo Electron Corp. (Финляндия) при длине волны 450 нм. Концентрацию кортизола рассчитывали по калибровочному графику зависимости оптической плотности от содержания вещества в стандартных пробах.

Метод изучения полиморфизма генов. Анализ генетических полиморфизмов rs1800629 гена TNF α (SNP G308A; генная локализация 6p21.3), rs1800471 гена TGF β 1 (SNP G915C, Arg25Pro; генная локализация 19p13.1), rs5743708 гена TLR2 (SNP G2258A, Arg753Gln, генная локализация 4q31.3-4q32), rs3775291 гена TLR3 (SNP C1234T, Leu412Phe, генная локализация 4q35.1), rs4986790 гена TLR4 (SNP A896G, Asp299Gly, генная локализация 9q33.1) проводили с помощью метода молекулярного типирования – PCR SSP (полимеразная цепная реакция с аллель-специфическими праймерами) с дальнейшей электрофоретической детекцией продуктов амплификации.

Для получения ДНК необходимой чистоты и достаточной молекулярной массы применяли метод выделения геномной ДНК из лейкоцитов цельной венозной крови с использованием стандартных реактивов «ДНК-экспресс-кровь» НПФ «Литех» (РФ).

Принцип метода ПЦР основанный на использовании процесса амплификации ДНК и заключается в многократном повторении циклов температурной денатурации ДНК, отжига праймеров, с дальнейшим накоплением полинуклеотидных цепей из этих праймеров с участием фермента Taq-полимеразы.

С каждым образцом выделенной ДНК проводили амплификацию с двумя аллель-специфическими праймерами, соответствующим контексту SNP для

каждого полиморфизма исследуемых генов; rs1800629 гена TNF α (G/A), rs1800471 гена TGFb1 (G/C), rs5743708 гена TLR2 (G/A), rs3775291 гена TLR3 (C/T), rs4986790 гена TLR4 (A/G) (табл. 2.3.1.).

Таблица 2.3.1.

Характеристика исследуемых полиморфизмов генов TNF α , TGFb1, TLR2, TLR3, TLR4

Ген	Хромосомная локализация	Генный полиморфизм	Белковый продукт	Аллельный полиморфизм (кодон)
TNF α	6p21.3	rs1800629	Фактор некроза опухоли альфа	G308A
TGFb1	19p13.1	rs1800471	Трансформирующий фактор роста бета-1	G915C Arg25Pro
TLR2	4q31.3-4q32	rs5743708	Толлподобный рецептор 2	G2258A Arg753Gln
TLR3	4q35.1	rs3775291	Толлподобный рецептор 3	C1234T Leu412Phe
TLR4	9q33.1	rs4986790	Толлподобный рецептор 4	A896G Asp299Gly

Каждый цикл амплификации в присутствии фермента Taq-полимеразы приводил к удвоению числа копий аллель-специфических областей, что позволяет за 30-40 циклов «наработать» (синтезировать) фрагмент ДНК в количестве, достаточном для детекции. В качестве наборов реагентов для амплификации использовали «SNP-экспресс, TNF α G-308A», «SNP-экспресс, TGFb1 Arg25Pro», «SNP-экспресс, TLR2 Arg753Gln», «SNP-экспресс, TLR3 Leu412Phe», «SNP-экспресс, TLR4 Asp299Gly» НПФ «Литех» (РФ).

ПЦР проводили на амплификаторе «GeneAmp PCR System 2400» (Applied Biosystems, Inc., США). Реакционную смесь помещали в прогретые до 94°C лунки термоциклера. Программа дальнейшей инкубации приведена в таблице 2.3.2.

Таблица 2.3.2.

Программа амплификации для аллельных полиморфизмов генов TNF α , TGFb1, TLR2, TLR3, TLR4

Блок программы	Температура, °С	Продолжительность, с	Количество циклов
1	93	60	1
2	93	10	35
	64	10	
	72	20	
3	72	60	1
4	10	хранение	-

Детекцию аллель-специфических фрагментов ДНК осуществляли в 3% агарозном геле, приготовленном на TAE-буфере, после электрофореза в горизонтальной камере при напряжении электрического поля 10 В/см от источника постоянного тока «Эльф-4» (ООО «ДНК-Технология», РФ).

Каждая проба ДНК занимала в геле 2 лунки. В первую лунку вводили амплифицированную реакционную смесь с праймерами (ампликонами), специфичными к G-аллели, во вторую – к A-аллели для гена TNF α . Для гена TGFb1-в первую лунку вводили ампликоны, специфичные к Arg-маркеру, во вторую – к Pro-маркеру. Для гена TLR2 в первую лунку вводили ампликоны специфичные к Arg-маркеру, во вторую – к Gln-маркеру. Для гена TLR3 – к Leu-маркеру и Phe-маркеру, для TLR4 – к Asp-маркеру и Gly-маркеру, соответственно. Для окрашивания фрагментов ДНК использовали 1% раствор бромистого этидия (5 мкл на 50 мл использованного геля). Визуализация окрашенных фрагментов ДНК осуществляли в проходящем ультрафиолетовом свете при длине волны 312 нм в трансиллюминаторе «TFX-20 M» («VilberLourmat», Франция).

Типовой вид геля после электрофореза представлен на рис. 2.3.1. Анализ изображения позволяет сделать три типа выводов для каждой исследованной пробы: гомозигота по аллели 1 при наличии полосы только в первой дорожке,

гомозигота по аллели 2 при наличии полосы только во второй дорожке; гетерозигота при наличии полос в обеих дорожках.



Рис. 2.3.1. Фрагмент геля после электрофореза продуктов амплификации при типовом анализе аллельного полиморфизма генов TNF α , TGFb1, TLR2, TLR3, TLR4:

I, II, III, IV, V – номера исследуемых образцов;

1 – дорожки содержат фрагменты ДНК, специфичные к аллели 1;

2 – дорожки содержат фрагменты ДНК, специфичные к аллели 2.

образцы I и II – генотип G/G гена TNF α ; генотип Arg/Arg гена TGFb1; генотип Arg/Arg гена TLR2; генотип Leu/Leu гена TLR3; генотип Asp/Asp гена TLR4;

образец V – генотип A/A гена TNF α ; генотип Pro/Pro гена TGFb1; генотип Gln/Gln гена TLR2; генотип Phe/Phe гена TLR3, генотип Gly/Gly гена TLR4;

образцы III и IV – генотип G/A гена TNF α ; генотип Arg/Pro гена TGFb1; генотип Arg/Gln гена TLR2; генотип Leu/Phe гена TLR3; генотип Asp/Gly гена TLR4.

Клинический метод. Изучение структуры полученных ранений и ожогов; изучение сроков доставки в специализированный центр; длительность стационарного лечения; количество выполненных операций; ближайшие и отдаленные послеоперационные осложнения; процент инвалидизаций.

Математический анализ. Математическая обработка полученных результатов проводилась с использованием пакетов программ Microsoft Excel 2010, STATISTICA 10 (StatSoft Inc., USA), онлайн-калькулятора (<http://gen-exp.ru/calculatoror.php>).

Для выявления соответствия распределений генотипов ожидаемым значениям при равновесии Харди-Вайнберга (HWE) и для сравнения распределений частот генотипов и аллелей в двух субпопуляциях использовался критерий χ^2 Пирсона с поправкой Йейтса [148, 167].

Достоверность различий в распределении частот генотипов и аллелей при сравнении групп «случай-контроль» оценивали с помощью анализа таблиц сопряженности (3×2 и 2×2 , соответственно) по критерию χ^2 . Степень ассоциации генотипов и аллелей с патологией определяли по величине отношения шансов – ОШ (Odds Ratio, OR). Статистическую значимость увеличения риска подтверждала величина ОШ больше 1, при условии, что она попадала в 95 % доверительный интервал (95% ВІ). Соответственно, на значимость снижения риска указывала величина ОШ менее 1. Таким образом, ОШ=1 трактовали как «отсутствие ассоциаций»; ОШ>1 – как «положительную ассоциацию», ОШ<1 – как «отрицательную ассоциацию» генотипа с исследованной патологией. Значения уровня $p < 0,05$ рассматривались как статистически значимые.

Для представления результатов измерения показателя рассчитывалось его среднее значение с указанием ошибки среднего ($\bar{X} \pm m$), для представления показателя частоты проявления качественного признака рассчитывалась его частота и ее ошибка ($\% \pm m\%$) [26, 121].

При сравнении средних значений двух выборок использовался критерий Стьюдента (в случае нормального закона распределения анализируемых данных) либо критерий Вилкоксона (когда закон распределения отличался от нормального). При сравнении частоты встречаемости качественных признаков для двух выборок использовался критерий χ^2 .

При сравнении средних значений для 3 и более групп были использованы методы множественных сравнений. Во всех случаях достоверными считали отличия при уровне значимости $p < 0,05$.

Для построения прогностической модели использована технология многофакторной логистической регрессии с пошаговым включением независимых переменных из программного пакета GLZ (Statistica 10, StatSoft, Inc. США) [110, 13].

При разработке логистической модели в качестве зависимой переменной уравнения регрессии использовали переменную идентификатора группы (ID).

Отбор оптимальных предикторов осуществляли по методу максимального правдоподобия. Эффективность последних, оценивалась интервальным методом на основе статистики Вальда (Wald), а общую адекватность модели – с использованием диаграммы операционной характеристики (ROC), по которой рассчитывали площадь под ROC-кривой – AUC, ее ошибку и 95% доверительный интервал (95% ДИ). Кроме этого для модели вычисляли коэффициент максимального правдоподобия (Log-Likelihood) и χ^2 .

ГЛАВА 3

ОСОБЕННОСТИ ДИНАМИКИ РАНЕВОГО ПРОЦЕССА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ВИДА ПОВРЕЖДЕНИЯ, ТЯЖЕСТИ СОСТОЯНИЯ ПАЦИЕНТОВ

Всего патоморфологическому и бактериологическому исследованию подверглись 162 пациента ($21,8 \pm 1,5\%$) от общего числа больных. При гистологическом и бактериологическом контроле течения раневого процесса в первой группе больных исследования проводили у 62 ($18,0 \pm 2,1\%$) пострадавших с ранами и ожогами, во второй группе – у 68 пациентов ($22,3 \pm 2,4\%$), в основной – у 32 ($34,8 \pm 5,0\%$) пациентов с ранами и ожогами различных локализаций. Исследуемые группы были репрезентативны. По нозологическим формам в исследуемой бактериологическим методом выборке пациентов, пациенты распределились следующим образом. Данные приведены в таблице 3.1.

Таблица 3.1

Распределение больных по нозологическим единицам, в % (абс. / $P \pm m$)

Нозологическая единица	Первая группа, n=346	Вторая группа, n=305	Основная группа, n=92
Ожоги	5 / $1,4 \pm 0,6$	7 / $2,3 \pm 0,9$	6 / $6,5 \pm 2,6$
Огнестрельные ранения	7 / $2,0 \pm 0,8$	12 / $3,9 \pm 1,1$	6 / $6,5 \pm 2,6$
Раны (гранулирующие, некротические)	7 / $2,0 \pm 0,8$	24 / $7,9 \pm 1,6\Delta$	5 / $5,4 \pm 2,4$
Сочетанная травма	18 / $5,2 \pm 1,2$	12 / $3,9 \pm 1,1$	7 / $7,6 \pm 2,8$
Комбинированная травма	25 / $7,2 \pm 1,4$	13 / $4,3 \pm 1,2$	8 / $8,7 \pm 2,9$

Примечание: 1. Δ – означает статистически значимое различие с показателем в первой группе ($p < 0,05$).

Как следует из данных таблицы 4.1, в первой группе больных преобладали пациенты с комбинированной и сочетанной травмой – $69,3 \pm 5,9\%$, в то же время, во второй группе больных большую часть пациентов составили пострадавшие с ранами различной этиологии и огнестрельными ранениями, как пулевыми, так и

множественными осколочными – $53,0 \pm 4,7\%$. Это объясняется тем, что в эту группу вошли пациенты, которые были направлены в клинику для решения вопроса о выполнении реконструктивных операций по закрытию ран из городских, районных больниц ДНР. В основной группе больных все больные по нозологиям были распределены относительно равномерно.

Такая же тенденция наблюдалась и при распределении этой выборки больных по тяжести состояния. Данные приведены в таблице 3.2.

Таблица 3.2

Распределение больных по тяжести состояния при поступлении,
в % (абс. / $P \pm m$)

Тяжесть состояния	Первая группа, n=346	Вторая группа, n=305	Основная группа, n=92
Средней тяжести	96 / $27,7 \pm 2,4$	93 / $30,5 \pm 2,6$	22 / $24,0 \pm 4,4$
Средне-тяжелое	98 / $28,3 \pm 2,4^*$	125 / $41,0 \pm 2,8\Delta$	44 / $47,8 \pm 5,2$
Тяжелое, крайне тяжелое	152 / $44,0 \pm 2,7^*$	87 / $28,5 \pm 2,6\Delta$	26 / $28,2 \pm 4,7$

Примечания.

1. * – означает статистически значимое различие с показателем в основной группе ($p < 0,05$).

2. Δ – означает статистически значимое различие с показателем в первой группе ($p < 0,05$).

В первой группе больных преобладал наиболее тяжелый контингент – $88,7 \pm 6,2\%$, во второй группе – половина больных поступила в средне-тяжелом состоянии, в основной группе – больные были распределены относительно равномерно по тяжести состояния.

В данной выборке больных, у которых проводились исследования, ликвидировать раны одномоментно путем выполнения различных реконструктивно-восстановительных операций удалось у 126 больных ($77,8 \pm 3,2\%$) – согласно системе «damage control surgery» на 3 этапе лечения. У 26 пациентов ($16,0 \pm 2,9\%$) оперативное лечение выполнялось в два этапа. У 10 больных ($6,2 \pm 1,9\%$) мы были вынуждены прибегнуть к многоэтапному хирургическому лечению.

Материал для исследований брали из стенок раны на 1-2, 7, 12 сутки после оперативного лечения.

При гистологическом контроле у больных первой и основной групп, которые поступили в ожоговый центр в среднем через 48 часов после получения травмы, первое, что обращает на себя внимание – это обширные кровоизлияния, разрыв и фрагментация коллагеновых волокон, умеренный некроз дермы и подкожной клетчатки вдали от раневой поверхности (рис. 3.1, рис. 3.2) – зона вторичного некроза. При этом некротический детрит и геморрагическая инфильтрация служат питательной средой для микроорганизмов.

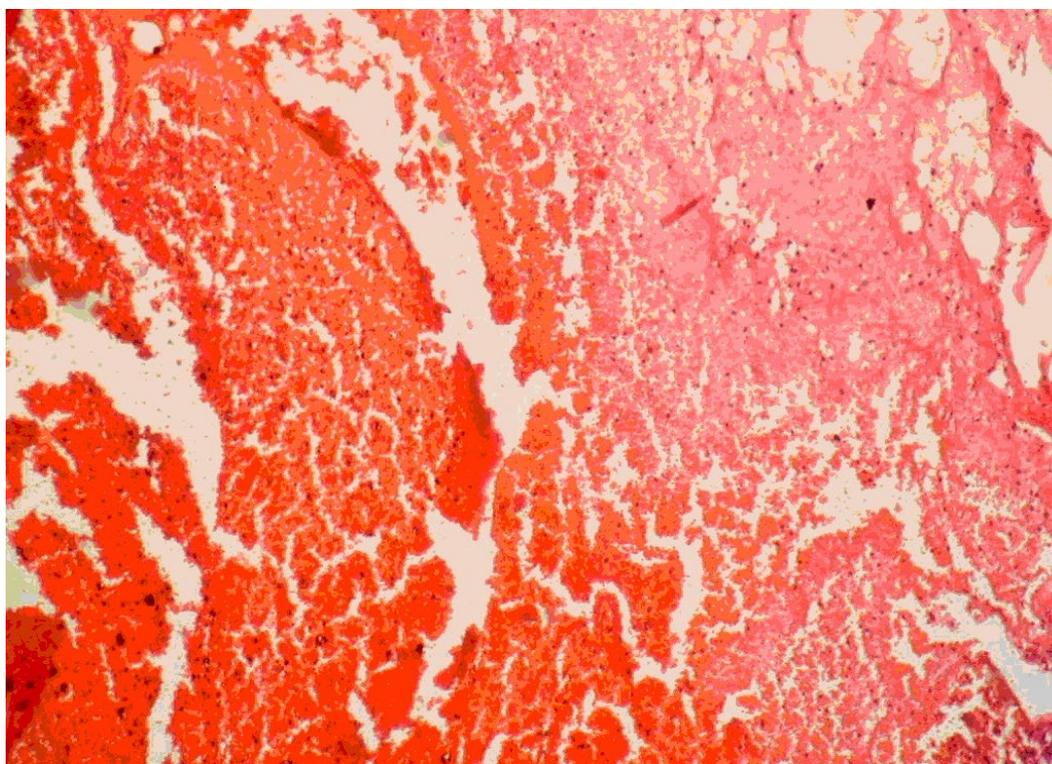


Рис. 3.1. Некроз дермы, крупные кровоизлияния. Окраска гематоксилинов и эозином. Ув. x100.

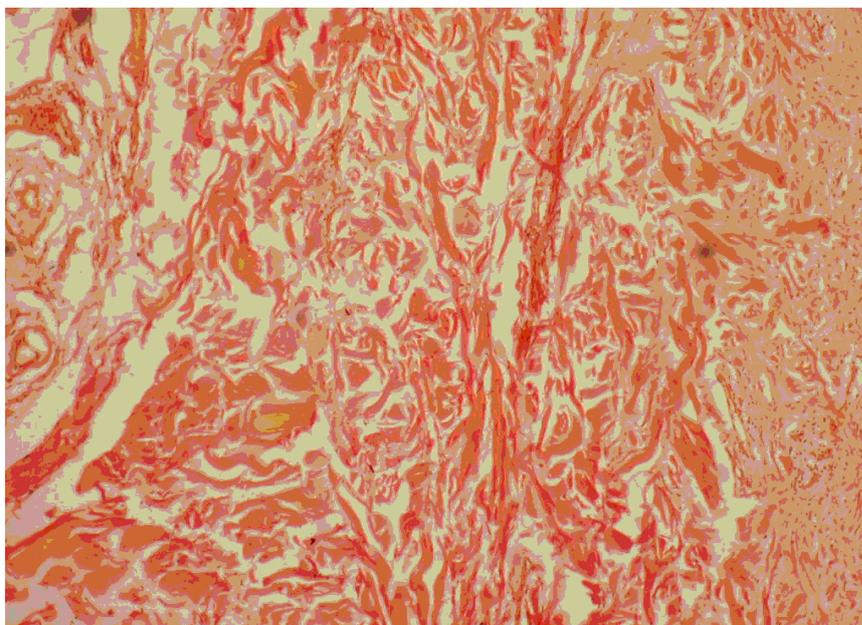


Рис. 3.2. Разрыв и фрагментация коллагеновых волокон дермы. Окраска по ван Гизону. Ув. x100.

При исследовании иссеченных краев раны в ближайшее после получения травмы время есть признаки травматического повреждения в виде кровоизлияний, фрагментации коллагеновых волокон; при этом отсутствуют выраженный некроз и гнойное воспаление (рис. 3.3., рис. 3.4). Через 48 часов в краях раны появляются полиморфноядерные нейтрофилы, но присутствует зона паранекроза (рис. 3.5).

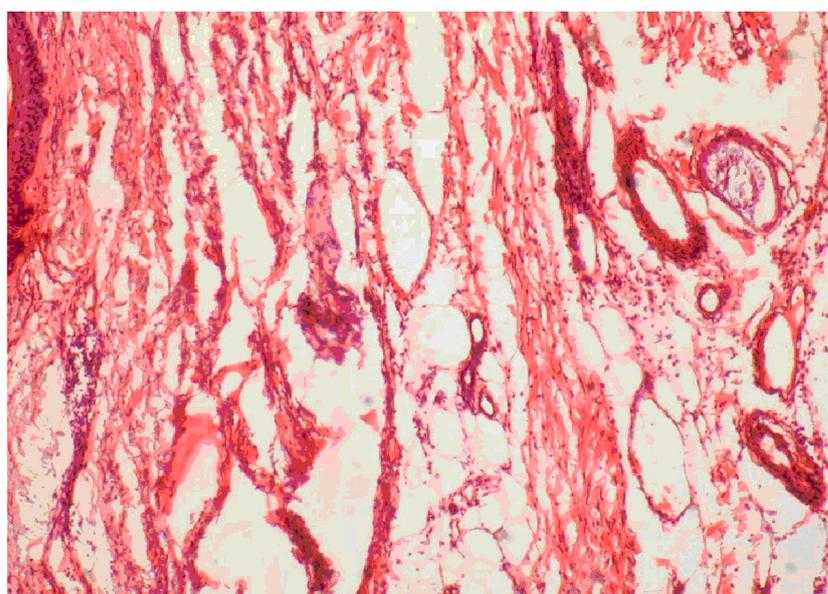


Рис. 3.3. Фрагментация волокон дермы; отсутствие гнойного воспаления. Окраска гематоксилином и эозинов. Ув. x100.

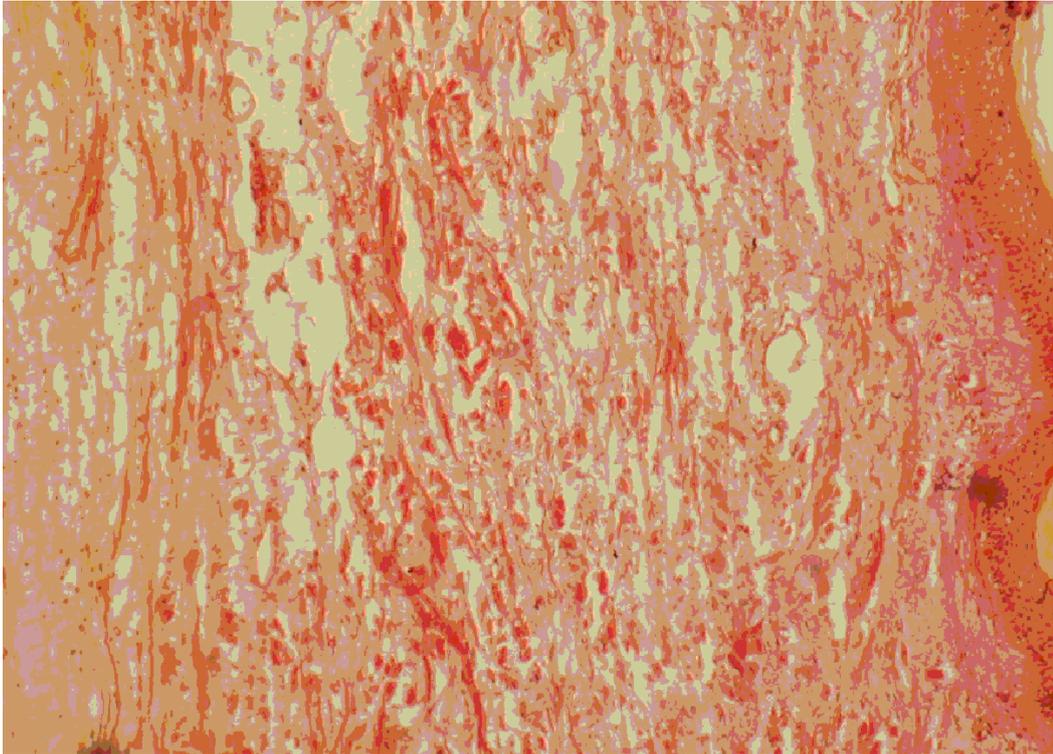


Рис. 3.4. Фрагментация волокон дермы; отсутствие гнойного воспаления. Окраска по ван Гизону. Ув. x100.

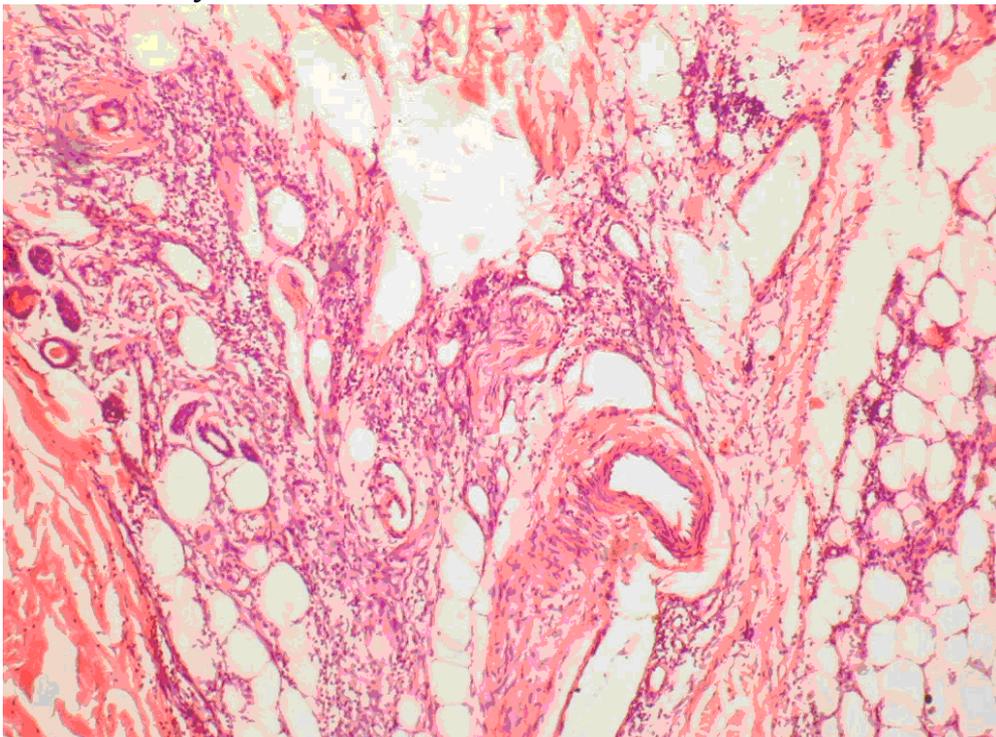


Рис. 3.5. Слабая до умеренной инфильтрации полиморфноядерными нейтрофилами дермы и подкожной клетчатки. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. x100.

Во второй группе, больные которой поступали в клинику через промежуточный этап эвакуации, – обширные поля некроза (рис. 3.6), гнойное

воспаление дермы (рис. 3.7), флегмона подкожной клетчатки (рис. 3.8), колонии микроорганизмов среди некротизированной ткани и/или гнойного экссудата (рис. 3.9, рис. 3.10).

Также отмечается выраженное увеличение содержания коллагена, огрубение дермы спустя 10-12 суток рядом с участками некроза и гнойного воспаления (рис. 3.11, рис. 3.12). Разрастание грануляционной ткани избыточно, в её составе отмечается большое количество полиморфноядерных нейтрофилов, что свидетельствует об инфицировании раны гноеродной флорой (рис. 3.13, рис. 3.14).

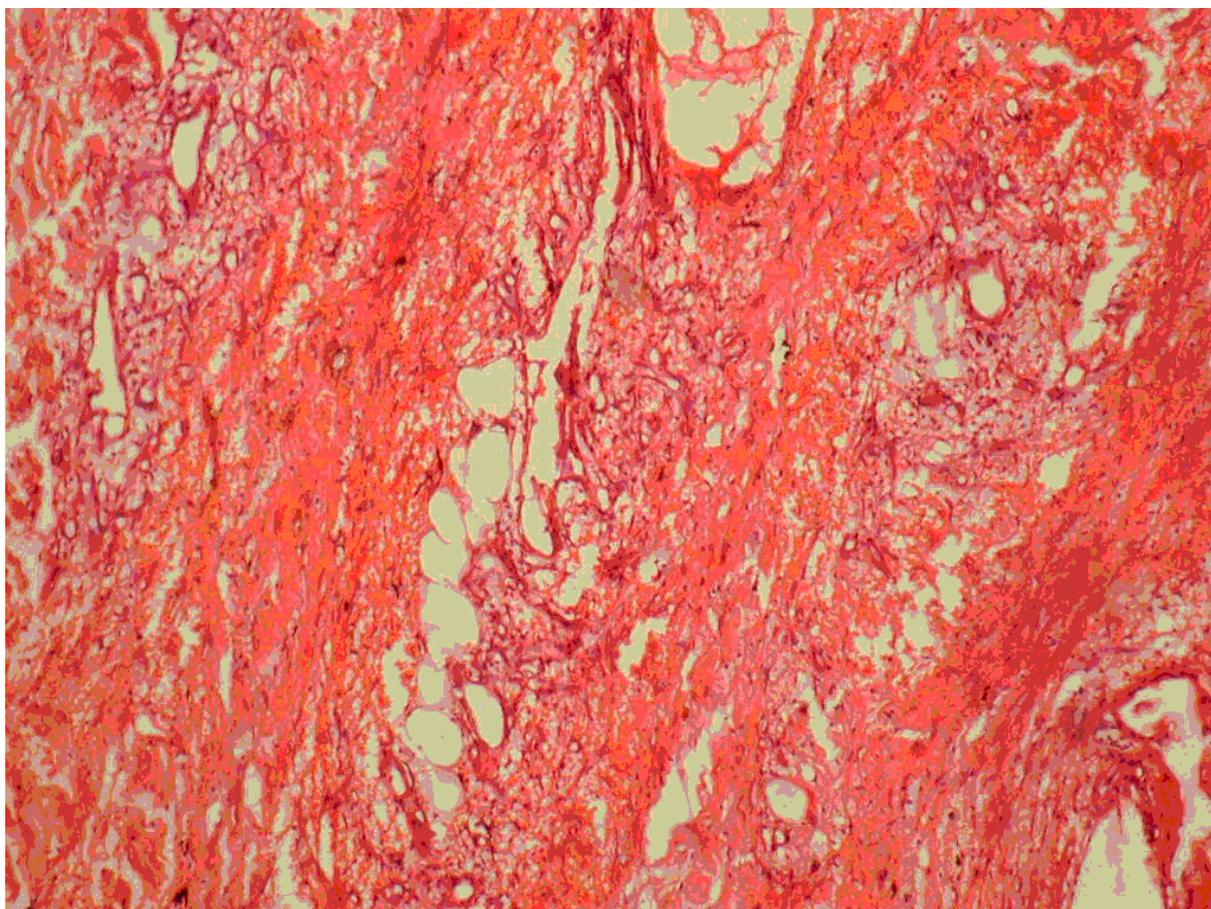


Рис. 3.6. Обширные поля некроза, кровоизлияние в дерме. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. x100.

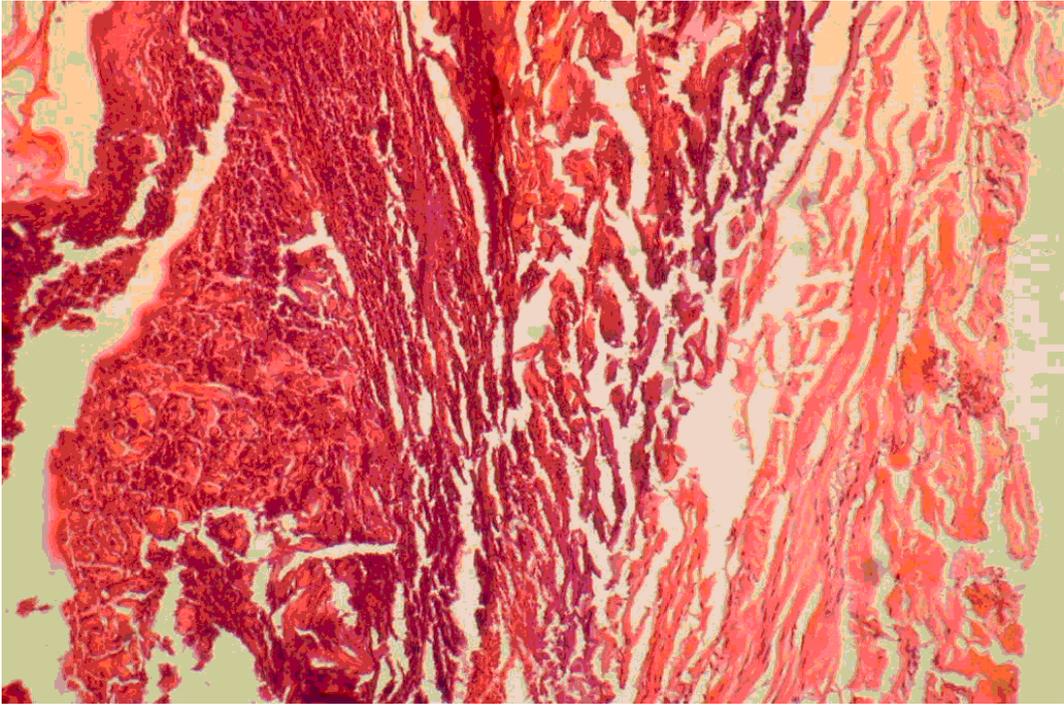


Рис. 3.7. Гнойное воспаление в дерме. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. x100.

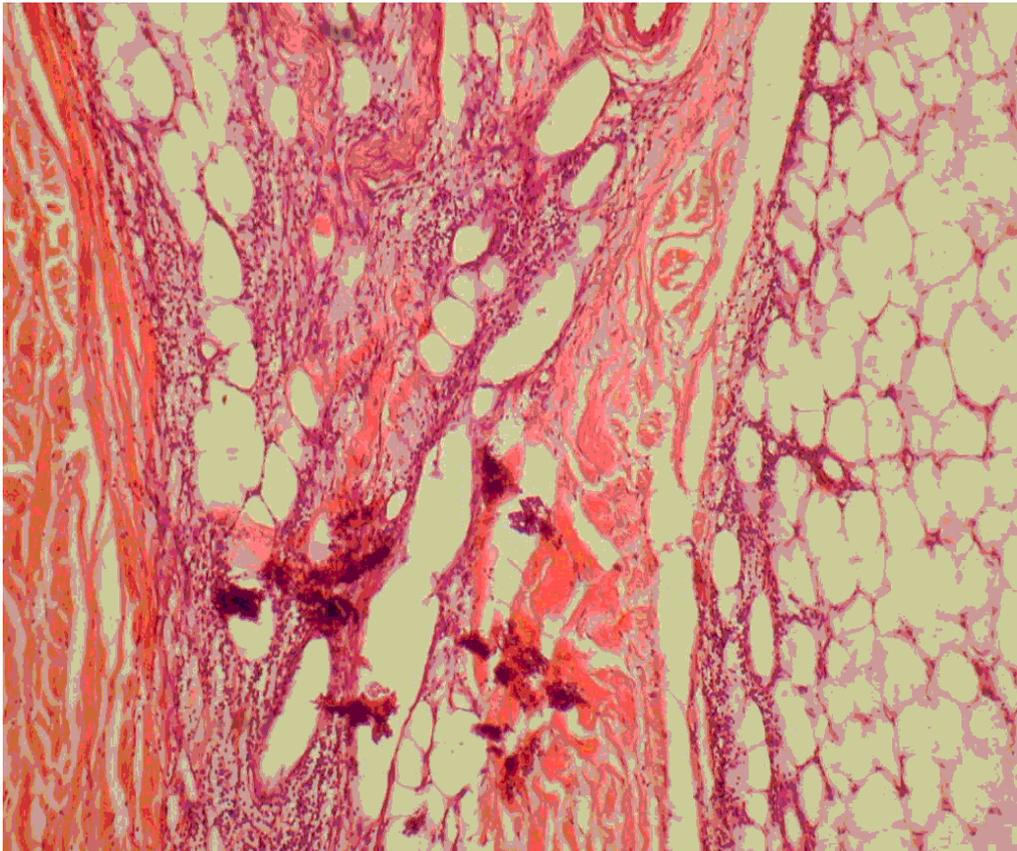


Рис. 3.8. Разлитое гнойное воспаление в подкожной клетчатке. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. x100.

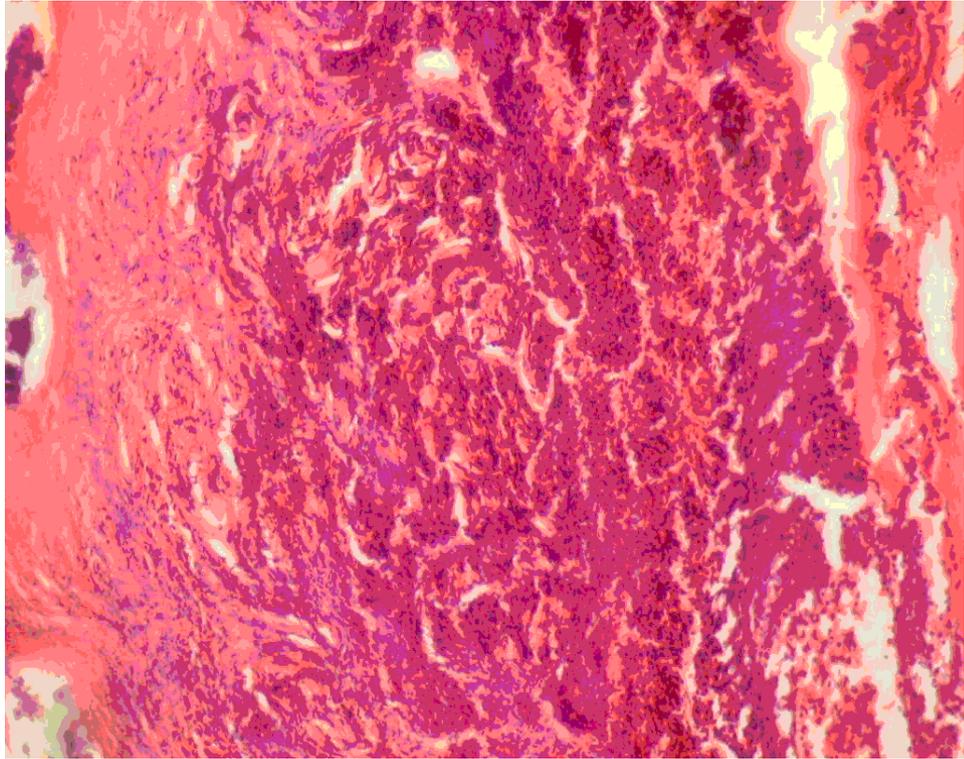


Рис. 3.9. Некроз, гнойное воспаление, колонии микроорганизмов в дерме. Окраска гематоксилином и эозинов. Ув. х100.

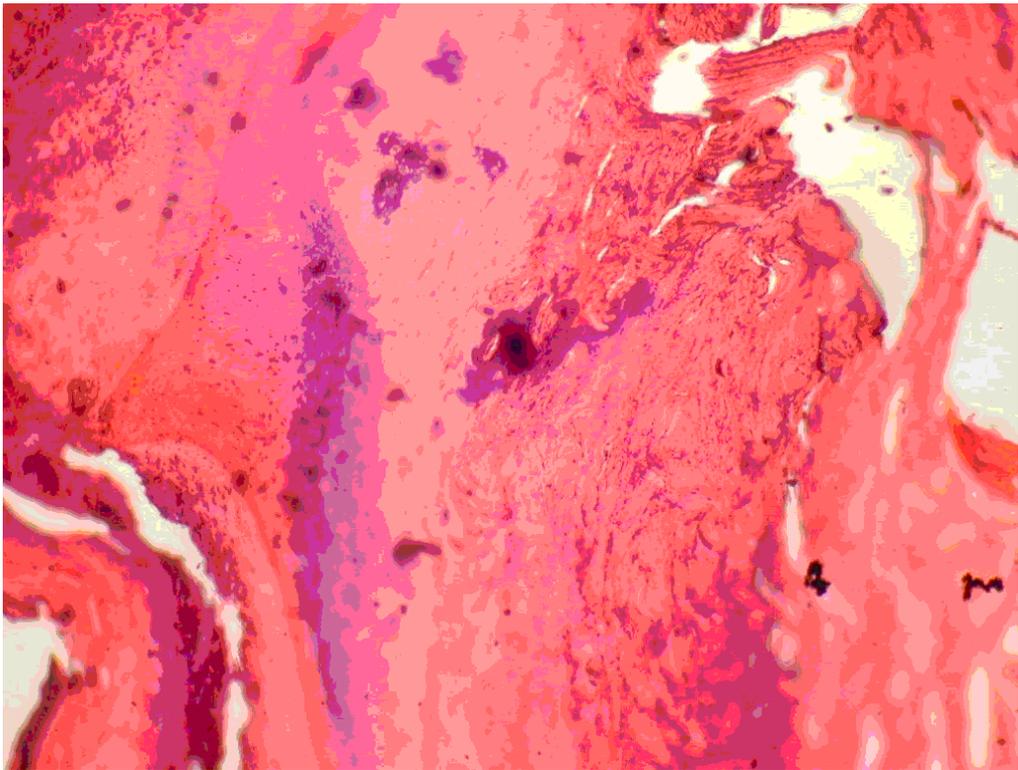


Рис. 3.10. Колонии микроорганизмов среди некротического детрита. Окраска гематоксилином и эозинов. Ув. х200.

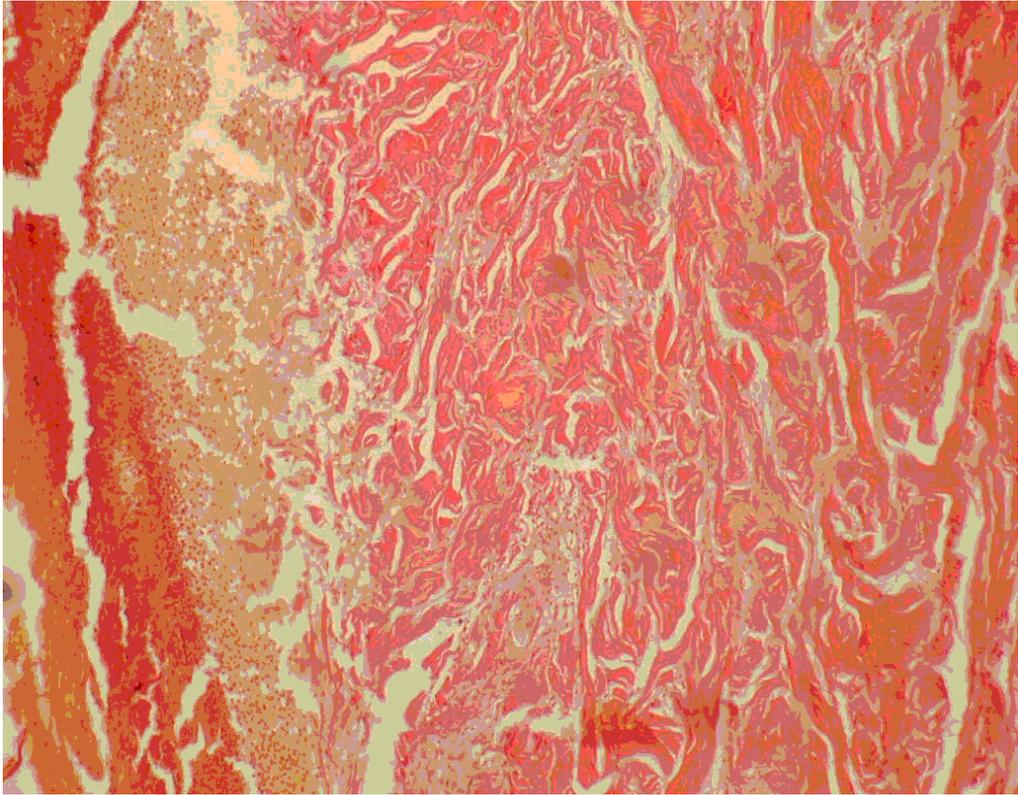


Рис. 3.11. Резкое увеличение количества коллагена в дерме вблизи очагов некроза и гнойного воспаления. Окраска по ван Гизону. Ув. x100.

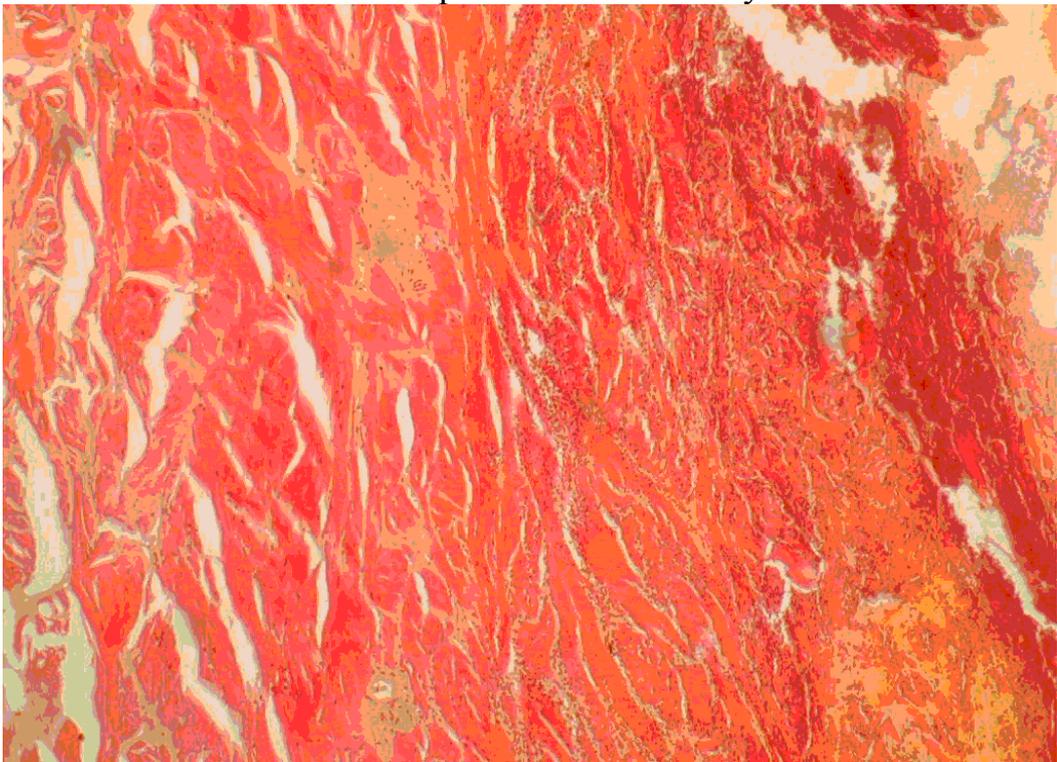


Рис. 3.12. Резкое увеличение количества коллагена в дерме вблизи очагов некроза и гнойного воспаления. Окраска по ван Гизону. Ув. x200.

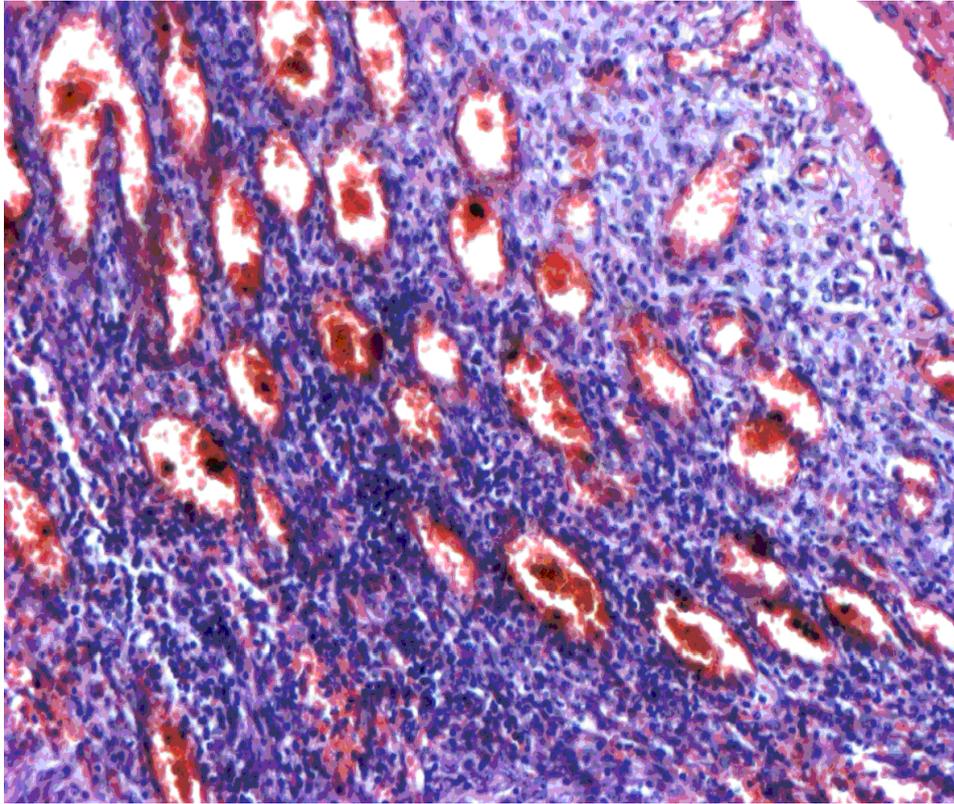


Рис. 3.13. Избыточное разрастание грануляционной ткани. Окраска гематоксилином и эозинов. Ув. x100.

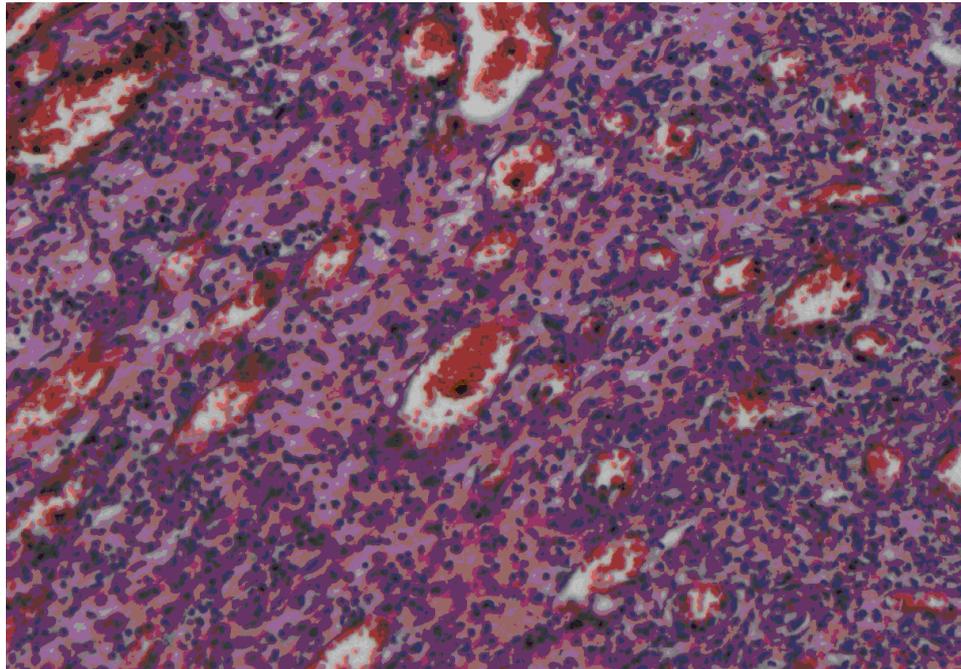


Рис. 3.14. Большое количество нейтрофилов в составе грануляционной ткани, начало синтеза коллагеновых волокон. Окраска гематоксилином и эозинов. Ув. x200.

При бактериологическом контроле результаты бактериологического исследования раневого отделяемого были положительными у всех пациентов в данной выборке.

При этом у 75 больных ($46,3 \pm 2,9\%$) флора представлена монокультурой.

У 87 пациентов ($53,7 \pm 3,9\%$) пациентов микробный пейзаж был представлен ассоциациями микроорганизмов.

При изучении флоры, представленной монокультурой, было выявлено, что большинство идентифицированных микроорганизмов составили грамположительные микроорганизмы – 52 ($69,3 \pm 5,3\%$), среди которых чаще всего определялся золотистый стафилококк – 39 человек ($75,0 \pm 6,0\%$). Кроме золотистого стафилококка, также были отмечены зеленящий стрептококк – у 8 пациентов ($15,4 \pm 5,0\%$) и эпидермальный стафилококк – у 5 человек ($9,6 \pm 4,1\%$).

Грамотрицательная монокультура была выделена у 23 больных ($30,7 \pm 5,3\%$). В ряду грамотрицательных бактерий преобладали кишечная палочка – 11 случаев ($47,8 \pm 10,4\%$) и протей – 12 человек ($52,2 \pm 10,4\%$).

Микробный пейзаж смешанной флоры в основном был представлен ассоциациями микроорганизмов: золотистый стафилококк и кишечная палочка – 21 случай ($24,1 \pm 4,6\%$), золотистый стафилококк и синегнойная палочка – 32 случая ($36,8 \pm 5,2\%$), протей и синегнойная палочка – 12 человек ($13,8 \pm 3,7\%$), золотистый стафилококк, протей и синегнойная палочка – 22 человека ($25,3 \pm 4,7\%$).

Во всех случаях при бактериологическом контроле исходное количество бактерий в тканях раны после хирургической обработки раны составило 104-108 на 1 г ткани.

С целью верификации полученных данных, для сравнительного анализа брались только наиболее часто встречающиеся микроорганизмы, представленные монокультурой и микробными ассоциациями: золотистый стафилококк, кишечная палочка, золотистый стафилококк и синегнойная палочка, синегнойная палочка и протей.

На 7 сутки после операции количество микробов в тканях ран больных, которых оперировали более одного раза, статистически различимо снизилось ($p < 0,01$). Микробная обсемененность тканей гнойной раны на 7 сутки оказалась ниже «критического числа» у 30 больных ($83,3 \% \pm 6,2 \%$).

На 12 сутки после поступления на среды при изучении микробной обсемененности тканей у всех больных был выявлен рост единичных микроорганизмов.

Исследование чувствительности к антибиотикам, показало, что наиболее эффективными препаратами, как к грамположительным, так и к грамотрицательным микроорганизмам были полусинтетические пенициллины (амоксиклав), цефалоспорины 2-4 поколений (цефазолин, цефотаксим, цефоперазон, цефепим), производные орнидазола (метрогил) и клиндамицин (далацин Ц), а также антибиотики резерва (меропенем, ванкомицин, тиенам).

Таким образом, полученные нами результаты свидетельствуют, что характер раневого процесса в организме не зависит от вида повреждающего фактора, тяжести состояния раненого, протекает фазно. На начальном этапе повреждающий фактор вызывает в ране умеренно выраженный некроз, кровоизлияние, фрагментацию волокон дермы. В нашем исследовании этот этап (по классификации М.И. Кузина, 1990), характеризуется фазой воспаления, в которой преобладали проявления сосудистых изменений. В их числе – вазоконстрикция, сменяющаяся вазодилатацией. В это время происходила экссудация с выходом плазменных белков и форменных элементов крови в зону повреждения. В ране выпадал фибрин, что хорошо видно на представленных фотографиях, происходила инфильтрация окружающих тканей нейтрофилами, выявлялся тканевой отек.

На следующем этапе (период очищения раны от погибших тканей) фибрин подвергался фибринолизу. Со вторых суток раневого процесса в ране появлялись микроорганизмы и в ней формировались разные по площади зоны некроза (вторичная альтерация). Воспалительный процесс становился гнойным. Наиболее выраженное гнойное воспаление выявлялось при несвоевременной или неадекватной хирургической обработке ран. Такой характер фазы воспаления имел место в группе пациентов, поступивших на этап специализированной хирургической помощи с опозданием или после пребывания на этапе квалифицированной помощи (из отделений районных и городских больниц).

Продолжительность фазы воспаления при отсутствии осложнений – до 7 суток (со дня выполнения реконструктивно-восстановительных операций).

В 57% случаев микробный пейзаж раны был представлен ассоциациями микроорганизмов. Золотой стафилококк и кишечная палочка выявлены у 24,6% больных, золотистый стафилококк и синегнойная палочка – в 36,8%, протей и синегнойная палочка – у 25,3% больных.

Во время второй фазы раневого процесса (фазы регенерации) происходило образование и созревание грануляционной ткани. В эту фазу осуществлялась миграция в рану фибробластов с образованием коллагена, сосудов и развитием грануляций на месте тканевого дефекта. Клинически выявлялось уменьшение экссудации и отека, заполнение грануляционной тканью всего раневого дефекта. В зависимости от размеров раны и состояния поврежденных тканей продолжительность этой фазы у пациентов трех исследованных групп была разная, но она не превышала 4 недель. Минимальной она была у пациентов первой группы.

Последняя фаза раневого процесса – фаза эпителизации – не имела четкого разграничения во времени. Она начиналась одновременно с образованием грануляционной ткани и происходила от краев раны. Процесс эпителизации мог продолжаться до нескольких месяцев и его сроки окончания зависели от состояния регионарного кровообращения, иммунитета, анемии, сопутствующих заболеваний и степени микробной контаминации. Заканчивался он в основном уже после выписки пациентов.

Выводы:

1. Течение раневого процесса не зависит от вида повреждающего фактора и тяжести состояния раненого. Оно имеет фазное развитие. Выраженность фаз, начиная от первой фазы – воспаления, характеризуется степенью повреждения тканей и особенностями индивидуальной воспалительной реакции.

2. В периоде очищения раны от погибших тканей в ране появляются микроорганизмы, возникает вторичная альтерация и воспалительный процесс становится гнойным. В 57% случаев микробный пейзаж раны представлен

ассоциациями микроорганизмов. Золотой стафилококк и кишечная палочка выявлены у 24,6% больных, золотистый стафилококк и синегнойная палочка – в 36, 8%, протей и синегнойная палочка – у 25,3% больных.

3. Выраженность и продолжительность фазы гнойно-воспалительного процесса увеличивается при несвоевременной и неадекватной хирургической обработке ран и неэффективной антибиотикотерапии. Максимальный период фазы воспаления имел место в группе раненых, которые поступали на этап специализированной хирургической помощи с опозданием или после перевода из отделений районных и городских больниц.

ГЛАВА 4

ВЛИЯНИЕ ЦИТОКИНОВ И КОРТИЗОЛА НА СКОРОСТЬ И КАЧЕСТВО РЕПАРАТИВНЫХ ПРОЦЕССОВ У ПОСТРАДАВШИХ

Исследование влияния молекулярно-генетических факторов на течение раневого процесса исследовали на больных, поступивших в клинику в средне-тяжелом состоянии.

В качестве критерия, отражающего скорость восстановительного периода, использовали длительность нахождения больных в стационаре.

Методология исследования построена основе модели «случай-контроль». Этот метод предполагает сравнение двух относительно однородных выборок, различающихся по одному параметру. В данном исследовании группы имели отличия по длительности госпитального этапа лечения. Отбор пациентов для исследования осуществляли следующим образом. Были исключены пациенты, доставленные в ожоговый центр в течение 48 часов после получения травмы. Из анализа были также исключены пациенты, срок стационарного лечения которых был уникальным (т.е. встречался в выборке единожды) и мог быть отнесен к категории случайных значений. Таким образом, были отобраны 217 больных, у которых среднее время нахождения в стационаре составило ($M \pm SE$): $17,09 \pm 0,65$ суток, что статистически не отличалось от общей группы ($t=0,745$; $p=0,457$).

Учитывая непараметрический характер распределения отобранных данных (тест Колмогорова-Смирнова – $p < 0,01$) описательная статистика и граничные значения показателя длительности стационарного лечения для указанной выборки могут быть представлены следующим образом: Me ($Q1$; $Q3$): 14,00 (9,00; 21,00); 95% ДИ (2,5-97,5 перцентили) 7,00-48,00. Таким образом, были отобраны все пациенты, срок нахождения в стационаре которых соответствовал 95% и находился в границах от 7 до 48 суток госпитального лечения.

Формирование групп исследования I А (контрольная) и I Б (группа случаев) продемонстрировано на рис. 4.1 Все указанные пациенты (217 человек) распределены по возрастанию сроков стационарного лечения от минимального

(7 суток) к максимальному (48 суток). Синим цветом выделены первые 60 пациентов с минимальными сроками, которые образовали группу I А, красным – последние 60 пациентов с максимальными сроками лечения, образовавшие группу I Б.

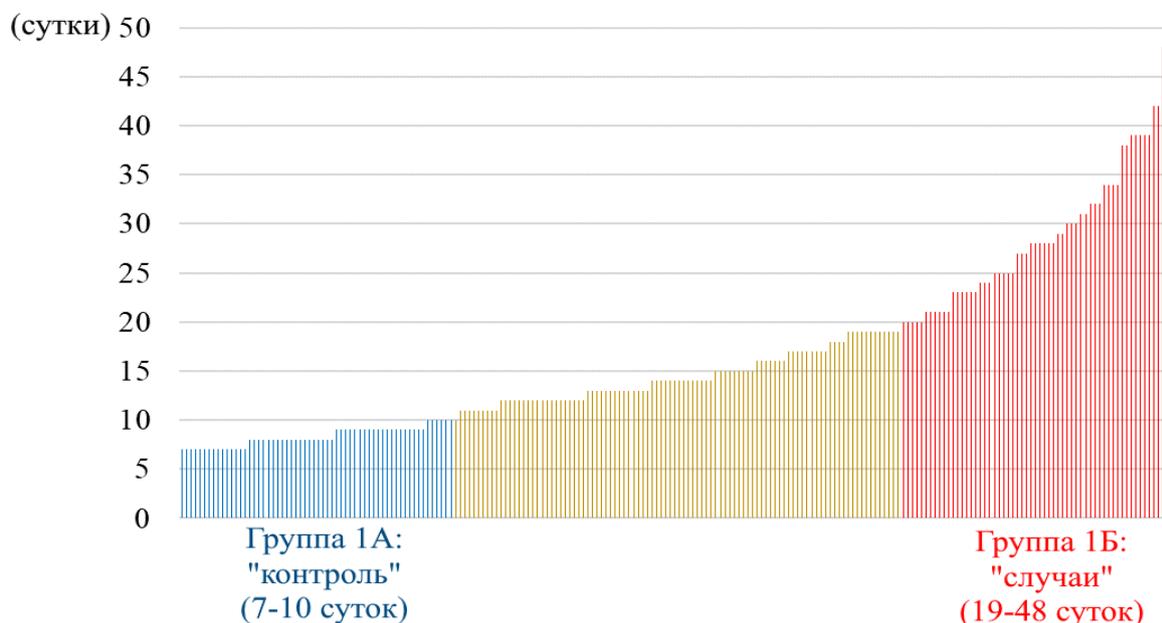


Рис. 4.1. Диаграмма распределения больных в исследуемых группах. По вертикальной оси отложен срок нахождения на стационарном лечении (сутки). Все пациенты ($n=217$) распределены по возрастанию времени стационарного лечения. Синим цветом из общего числа выделены 60 пациентов, вошедших в контрольную группу (I А) со сроками лечения от 7 до 10 суток, красным 60 пациентов группы сравнения (I Б) со сроками лечения от 19 до 48 суток.

Рассматривая механизм репаративной регенерации полученных повреждений как типовой патологический процесс воспаления, включающий компоненты альтерации, сосудистой реакции и пролиферации, целесообразным является изучение как местных так и системных факторов регуляции и их влияния на длительность и характер регенераторно-восстановительных процессов. Характер, динамика и прогноз течения воспаления в ранах являлись результатом патогенетически обусловленных взаимосвязей профилей как про- так противовоспалительных цитокинов и уровня глюкокортикоидов.

Обобщенные данные исследований маркеров цитокинового профиля приведены в таблице 4.1.

Таблица 4.1

Сравнительная характеристика содержания в крови маркеров цитокинового профиля

Период наблюдения	Группы	Уровень цитокинов крови в контрольной группе и группах пациентов с ожогами	Сравнение	
			с контролем	между группами
TGFβ₁; 19218(15900; 22140) пг/мл				
1-2 сутки лечения	I А	23494 (20778; 25849)	Z=4,98; p<0,001	Z=2,74; p=0,006
	I Б	21349 (19537; 23,698)	Z=2,95; p=0,003	
Период выписки из стационара	I А	26166 (22618; 28589)	Z=5,99; p<0,001	Z=3,88; p<0,001
	I Б	22949 (20673; 24627)	Z=4,11; p<0,001	
TNFα; 25,12 (22,01; 28,78) пг/мл				
1-2 сутки лечения в стационаре	I А	57,19 (51,84; 61,83)	Z=8,44; p<0,001	Z=4,99; p<0,001
	I Б	67,12 (58,67; 74,51)	Z=8,44; p<0,001	
Период выписки из стационара	I А	41,86 (37,22; 46,31)	Z=8,28; p<0,001	Z=8,42; p<0,001
	I Б	64,75 (57,47; 71,84)	Z=8,44; p<0,001	
IL-6; 5,72 (3,35; 7,56) пг/мл				
1-2 сутки лечения в стационаре	I А	55,87 (48,98; 62,59)	Z=8,44; p<0,001	Z=9,41; p<0,001
	I Б	23,51 (21,32; 27,38)	Z=8,44; p<0,001	
Период выписки из стационара	I А	38,39 (31,34; 42,08)	Z=8,44; p<0,001	Z=8,71; p<0,001
	I Б	21,83 (18,59; 24,44)	Z=8,44; p<0,001	
IL-10; 14,19 (10,40; 16,80) пг/мл				
1-2 сутки лечения в стационаре	I А	24,33 (21,49; 26,81)	Z=8,09; p<0,001	Z=0,17; p=0,860
	I Б	23,86 (21,25; 27,34)	Z=8,22; p<0,001	
Период выписки из стационара	I А	36,86 (31,87; 39,49)	Z=8,33; p<0,001	Z=7,96; p<0,001
	I Б	24,13 (20,92; 27,99)	Z=8,12; p<0,001	
IFNγ; 10,46 (8,44; 12,77) пг/мл				
1-2 сутки лечения в стационаре	I А	14,67 (21,74; 16,17)	Z=5,20; p<0,001	Z=1,12; p=0,260
	I Б	13,67 (11,89; 16,01)	Z=4,54; p<0,001	
Период выписки из стационара	I А	13,45 (12,03; 15,59)	Z=4,51; p<0,001	Z=3,71; p<0,001
	I Б	15,58 (13,75; 17,08)	Z=6,71; p<0,001	

Примечания:

Формат отображения для количественных переменных: Me (Q1; Q3);

Z – z-статистика для рангового критерия Манна-Уитни;

p – достоверность различий между группами (принимается при $p < 0,05$).

Анализ значений TGF β 1 у пациентов в 1-2 сутки при поступлении в ожоговое отделение позволил определить статистически достоверные отличия медианы контрольной группы и групп пациентов, получивших ожоги, а также межгрупповые различия (рис. 4.2). Так в I А группе уровень TGF β 1 увеличился в 1,22 раза ($p < 0,001$), а в I Б группе – в 1,11 раза ($p = 0,003$) в сравнении с показателями в контрольной группе, что указывало на невысокий уровень влияния фактора роста и позволило рассматривать регенерацию в группе I Б как процесс с митогенным потенциалом со сниженной активностью.

Исследуемые значения уровня TGF β 1 в период выписки пациентов, как I А так и I Б группы характеризовались увеличением медианы в 1,36 раза в I А группе и 1,19 раза в I Б группе в сравнении с контролем ($p < 0,001$), что являлось незначительным, но статистически достоверным, свидетельствуя о стимулирующем влиянии фиброгенных факторов в фазе пролиферации.

Сравнивая динамику содержания TGF β 1 в крови между группами пациентов с ожогами на этапах поступления и выписки из стационара, удалось установить достоверное повышение фактора роста, как в I А так и в I Б группе в 1,11 и 1,08 раза, соответственно ($p < 0,001$) (табл. 4.2). Отличительной особенностью динамики синтеза TGF β 1 являлась большая активность в I А по сравнению с I Б группой. По нашему мнению, в I А группе продукция TGF β 1 соответствовала адекватному течению раневого процесса и являлась критерием эффективного заживления, соответствуя благоприятному неосложненному течению процессов репарации. В I Б группе гипопродукция TGF β 1 сопровождалась вялотекущим пролонгированным течением раневого процесса с присоединением микробных факторов и экссудативного компонента.

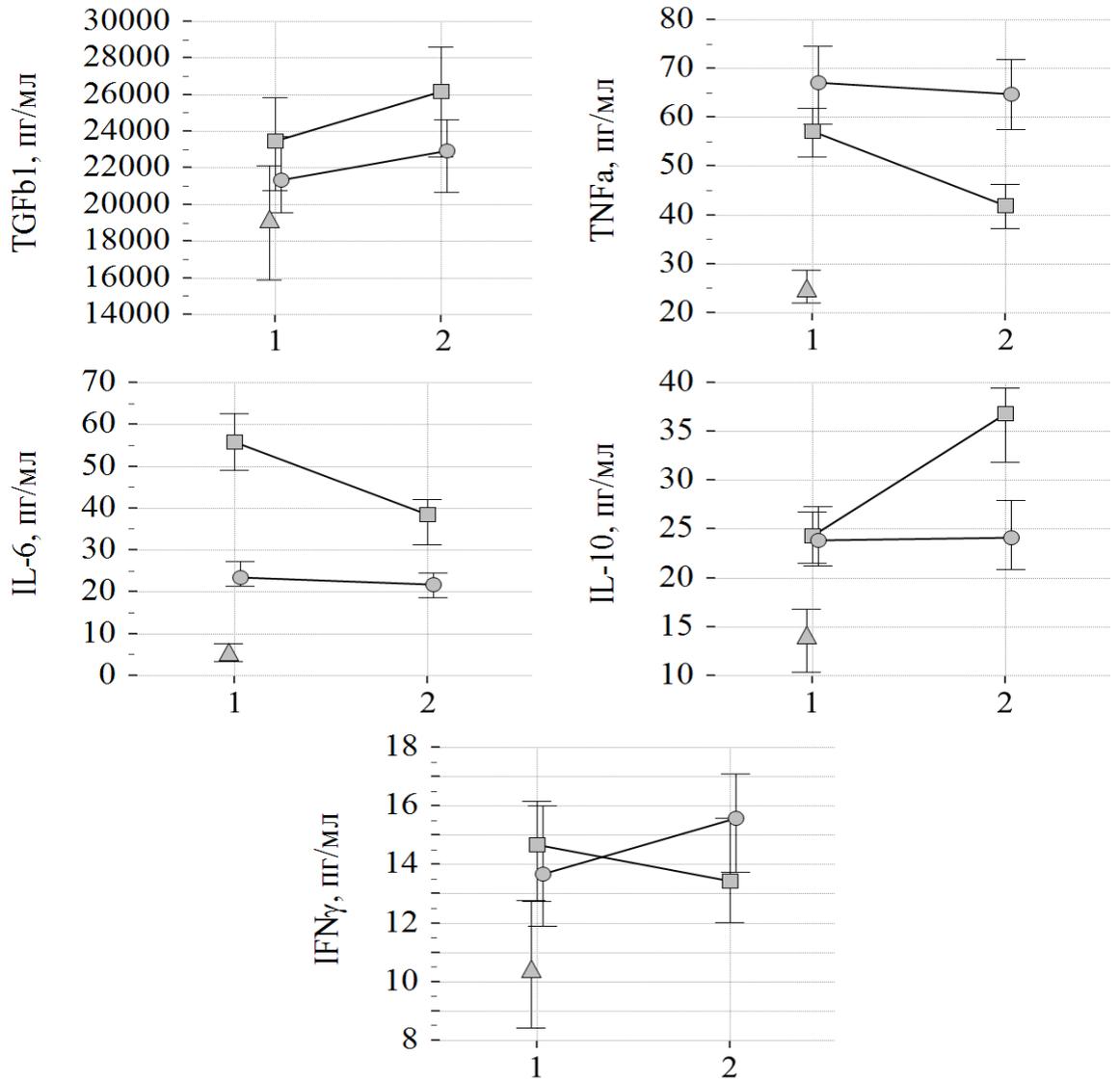


Рис. 4.2 . Динамика содержания цитокинов в крови в контроле и в группах пациентов с ожоговой травмой. Треугольными маркерами обозначены показатели контрольной группы, квадратными – группы I А, круглыми – группы I Б. По горизонтальной оси отмечены периоды исследования цитокинов: 1 – 1-2 сутки госпитализации; 2 – день выписки из стационара.

Содержание в крови цитокинов в 1-2 сутки госпитализации и в день выписки из стационара

Показатели	Группы 1А, n=60 1Б, n=60	Период исследования маркеров цитокинового профиля		Внутри- групповые сравнения
		1-2 сутки госпитализации	День выписки	
TGFβ1, пг/мл	1А	23494 (20778; 25849)	26166 (22618; 28589)	Z=4,01; p<0,001
	1Б	21349 (19537; 23,698)	22949 (20673; 24627)	Z=4,07; p<0,001
TNFα, пг/мл	1А	57,19 (51,84; 61,83)	41,86 (37,22; 46,31)	Z=6,56; p<0,001
	1Б	67,12 (58,67; 74,51)	64,75 (57,47; 71,84)	Z=2,36; p=0,018
IL-6, пг/мл	1А	55,87 (48,98; 62,59)	38,39 (31,34; 42,08)	Z=6,73; p<0,001
	1Б	23,51 (21,32; 27,38)	21,83 (18,59; 24,44)	Z=5,87; p<0,001
IL-10, пг/мл	1А	24,33 (21,49; 26,81)	36,86 (31,87; 39,49)	Z=6,71; p<0,001
	1Б	23,86 (21,25; 27,34)	24,13 (20,92; 27,99)	Z=1,31; p=0,190
IFNγ, пг/мл	1А	14,67 (21,74; 16,17)	13,45 (12,03; 15,59)	Z=2,50; p=0,012
	1Б	13,67 (11,89; 16,01)	15,58 (13,75; 17,08)	Z=6,67; p<0,001

Примечания:

Формат отображения для количественных переменных: Me (Q1; Q3);

Z – z-статистика для рангового критерия Вилкоксона;

p – достоверность различий между группами (p<0,05)

TGFβ1 являясь одним из ключевых клеточных медиаторов, участвующих в регуляции клеточного роста, воспаления, пролиферации и дифференцировки, внеклеточной матричной регенерации активно стимулирует сложную систему фибробласта как источника биосинтеза компонентов межклеточного матрикса, способствующих процессам репарации ран.

Исследование провоспалительного цитокина TNFα показало, что пациенты I А и I Б групп имели статистически достоверное увеличение медианных значений TNFα пациентов контрольной группы в 2,27 и 2,67 раза,

соответственно, ($p < 0,001$) в 1-2 сутки пребывания в стационаре, при этом достоверно в 1,17 раза уровень TNF α в группе I Б был выше, чем в группе I А. Высокая продукция цитокина TNF α была направлена на изменения микроциркуляции, активацию форменных элементов для привлечения гуморальных и клеточных медиаторов воспаления, участвующих в индуцировании воспалительных явлений. Заживление ран к моменту выписки из стационара, сопровождалось достоверным снижением концентрации TNF α крови в 1,37 раза в I А группе. В I Б группе динамика TNF α имела тенденцию к достоверному уменьшению в сравнении с начальным периодом лечения, превышая контрольный уровень в 2,58 раза ($p < 0,001$). В I А группе показатели TNF α превышали контрольный уровень к моменту выписки в 1,67 раза ($p < 0,001$), свидетельствуя о сохраняющемся влиянии провоспалительного цитокина на раневой процесс в группе с благоприятным неосложненным течением. В I Б группе сохраняющийся высокий уровень TNF α на протяжении всего периода лечения ран свидетельствовал о хронизации воспалительного процесса и вялотекущем течении регенераторных процессов.

TNF α вырабатывается активированными макрофагами, В-лимфоцитами, Т-лимфоцитами, НК-клетками, нейтрофилами, тканевыми базофилами, фибробластами, эндотелиальными клетками и др. и участвует в регуляции и функционировании тканевого гомеостаза. Особая роль TNF α как медиатора воспаления заключается в повышении проницаемости эндотелия, миграции нейтрофилов и макрофагов в очаг воспаления, усилению прокоагулянтных и ослаблению антикоагулянтных свойств эндотелия.

Исследование в крови IL-6 у пострадавших в 1-2 сутки лечения в стационаре показало статистически значимое увеличение его концентрации в I А группе в 9,77 раза, в I Б группе в – 4,11 раза по сравнению с контролем ($p < 0,001$) (табл. 4.1.1), что указывало на более выраженный реактивный ответ у пациентов I А группы, стимулирующий механизмы воспалительной альтерации. Уровень IL-6 при выписке оставался повышенным, но в меньшей степени, чем при поступлении, так в I А группе IL-6 был достоверно увеличен в 6,7 раза и 3,8 раза

в I Б группе по сравнению с контрольной группой ($p < 0,001$). Реакция на ожоговую травму в I А группе проявлялась значимым снижением ИЛ-6 в 1,45 раза в динамике лечения, а в I Б группе минимальным уменьшением в 1,07 раза ($p < 0,001$) (рис. 4.2).

На наш взгляд, провоспалительный эффект ИЛ-6 при повреждениях обусловлен активной миграцией раневых фибробластов, продуцирующих компоненты основного вещества соединительной ткани и волокон, такие как протеогликаны, эластин, коллаген, необходимые для восстановления поврежденных тканей. Несмотря на однонаправленность реакции ИЛ-6 в исследуемых группах (рис. 5.1.2), механизмы эффективного заживления ран, вероятно, имели различные регуляторные влияния. Если в I А группе гиперпродукция ИЛ-6 стимулировала реакции неспецифической защиты в I фазе раневого процесса и процессы коллагенообразования и иммунореактивности во II-III фазах, то сравнительно небольшая продукция ИЛ-6 в I Б группе, видимо, была обусловлена тормозящим влиянием гиперкортизолемии, неактивным нейтрофильным и макрофагальным фагоцитозом, угнетением Т- и В-лимфоцитарной межклеточной кооперации, сопровождающейся длительным вялотекущим заживлением ран.

В альтеративную фазу воспаления секреция провоспалительных цитокинов TNF α , ИЛ-1 β и ИЛ-6 происходит последовательно и способствует регуляции воспалительного процесса. В дальнейшем ИЛ-6 начинает подавлять секрецию TNF α и ИЛ-1 β , активирует синтез белков острой фазы воспаления, стимулирует синтез гормонов гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы, участвующих в патогенезе воспаления, что указывает на медиаторные эффекты ИЛ-6 как, про- так и противовоспалительного влияния.

При сравнении показателей противовоспалительного цитокина ИЛ-10 в крови в исследуемых группах в 1-2 сутки лечения в стационаре было выявлено его статистически достоверное увеличение в 1,7 и 1,6 раза в I А и I Б группе, соответственно, по сравнению с контролем ($p < 0,001$) (табл. 4.1.1). Исследование ИЛ-10 в период выписки из стационара показало значимое увеличение его

содержания в 2,6 раза в I А группе и 1,7 раза в I Б группе ($p < 0,001$), по сравнению с контролем. Анализ динамики уровня IL-10 в I А группе за период лечения в стационаре показал достоверный рост в 1,7 раза, а в I Б группе незначительное увеличение IL-10 в процессе лечения являлось недостоверным ($p = 0,190$). Полученные результаты отражали активность провоспалительных реакций в I А группе и их влияние на процесс эффективного заживления. В I Б группе низкая продукция IL-10 в течение всего периода наблюдения свидетельствовала о слабо выраженном противовоспалительном влиянии, угнетении и замедлении процессов репаративной регенерации.

Исследование IFN γ в группах обожженных больных в 1-2 сутки госпитализации в специализированное отделение показало достоверное увеличение его содержания в I А и I Б в 1,4 раза и 1,3 раза по сравнению с контролем ($p < 0,001$) (табл. 4.1). Различия в уровнях IFN γ между группами в начальном периоде лечения термической травмы являлись незначительными и недостоверными ($p = 0,260$).

В процессе лечения содержание IFN γ не имело выраженной динамики и к моменту выписки оставалось повышенным в I А группе в 1,3 раза, а в I Б группе в 1,46 раза в сравнении с контролем ($p < 0,001$) (рис. 5.2). Сравнивая динамику IFN γ в обеих группах при поступлении и выписке из стационара очевидным являлось его снижение в I А группе ($p = 0,012$), но превышающем контрольные значения и статистически значимое увеличение в I Б группе ($p < 0,001$). Как следует из вышесказанного, уменьшение содержания IFN γ к моменту выписки из стационара в I А группе и наметившаяся тенденция к нормализации его показателей соответствует процессу активной пролиферации и рубцевания ран, а в I Б группе тенденция к увеличению IFN γ в процессе лечения ран и более длительные сроки заживления ран свидетельствовали о слабовыраженным стимулирующим влиянием IFN γ на процессы пролиферации.

Взаимодействие IFN γ с рецепторами клеточной поверхности является первым необходимым этапом начала его действия. Действие IFN γ приводит к увеличению функциональной активности антигенпрезентирующих клеток,

усилению сенсibilизации Т-хелперов, увеличению цитотоксичности моноцитов, повышению секреции лимфокинов, таких как $TNF\alpha$ и IL-2. $IFN\gamma$ резко усиливает эффекторные функции макрофагов и их антимикробную активность за счет повышения продукции супероксидных и нитрооксидных радикалов.

Уровень $IFN\gamma$ отражает степень активности дифференцировки Th1-лимфоцитов и моноцитов-макрофагов. Th1-опосредованный ответ подавляет образование соединительной ткани за счет продукции $IFN\gamma$, обладающего иммунорегуляторным и антипролиферативным действием.

В репаративных процессах при ожогах важная роль отводится Т-клеткам. Моноциты-макрофаги, активированные медиаторами Т-хелперов ($CD4^+$), выделяют фиброгенные цитокины, стимулирующие пролиферацию фибробластов и синтез коллагена. Активация Th2 с повышением продукции IL-4, IL-5, IL-10 и IL-13 связана с фиброгенезом, тогда как Th1-опосредованный ответ подавляет образование соединительной ткани за счет продукции $IFN\gamma$ и IL-12. Также, известно, что $IFN\gamma$ способен подавлять синтез коллагена гладкомышечными клетками и увеличивать синтез металлопротеиназ макрофагами.

Продукция $IFN\gamma$ является не только маркером активации макрофагов, нейтрофилов, лимфоцитов, но и определяет регуляторные межклеточные взаимодействия в связи со значительными изменениями адгезивных свойств мембран клеток и экспрессии рецепторов для медиаторов, что существенно для механизмов формирования патологического процесса, его течения и исхода.

Изучение содержания кортизола у больных с травмой было обусловлено его ролью в стресс-реализующем влиянии на метаболические реакции, характер межклеточных взаимодействий в очаге повреждения, секреторную активность клеток-продуцентов цитокинов и экспрессирующих рецепторы цитокинов. Именно, механизмы действия глюкокортикоидов являются пусковыми в определении специфических изменений продукции цитокинов и факторов роста, участвующих в регуляции стадий раневого процесса.

У пациентов I А и I Б групп в 1-2 сутки после госпитализации отмечено увеличение содержания кортизола крови в сравнении с показателями контрольной группы в 1,3 раза и 1,6 раза, соответственно, что являлось статистически достоверным ($p < 0,001$) (табл. 4.3).

Таблица 4.3

Содержание в крови кортизола

Показатели	Контроль, n=40	Группы I А, n=60 I Б, n=60		Сравнения	
				с контролем	между группами
Кортизол, нмоль/л	365,77 (273,60; 453,52)	I А	479,75 (351,99; 581,44)	Z=3,59; p<0,001	Z=5,14; p<0,001
		I Б	589,62 (545,79; 662,33)	Z=7,65; p<0,001	

Примечания:

Формат отображения для количественных переменных: Me (Q1; Q3);

Z – z-статистика для рангового критерия Манна-Уитни;

p – достоверность различий между группами ($p < 0,05$).

Уровень кортизола в I Б группе был достоверно увеличен в 1,26 раза в сравнении с I А группой ($p < 0,001$). Гиперкортизолемиа в группах с ожоговыми ранами свидетельствовала о гиперреактивном модулирующем влиянии гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы на воспалительный процесс в результате действия флогогенного фактора. Степень воспалительной реакции тканей при термической травме определяется действием как первичного повреждающего фактора, так и влиянием факторов вторичной альтерации, образующимися в результате реакции тканей на ожоговую травму в ранние сроки и представлены продуктами распада тканевых белков и фибриногена, а также гемолиза эритроцитов и микробными агентами. Более выраженная реакция гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы в I Б группе, вероятно, являлась отражением нейрогуморальных влияний системного воспалительного ответа организма на ожоговую травму.

Для вычисления граничных значений кортизола в контрольной группе был выполнен статистический анализ 95 % выборки пациентов, что соответствовало интервалу от 2,5 % до 97,5 % перцентилей. Количественные показатели

кортизола контрольной группы 365,77 (273,60; 453,52) нмоль/л с помощью 95 % интервала, включающего значения от 2,5 до 97,5 перцентилей, были распределены в пределах от 199,03 до 572,62 нмоль/л (табл. 4.4).

Таблица 4.4

Граничные значения содержания в крови кортизола в контрольной группе и распределение пациентов по группам в зависимости от уровня кортизола в 1-2 сутки госпитализации

Группы	<199,03 (low)	95 % интервал для контрольных значений: 199,03 - 572,62 (normal)	>572,62 (high)
I А, n=60, n (f)	0 (0,000)	43 (0,717)	17 (0,283)
I Б, n=60, n (f)	0 (0,000)	21 (0,350)	39 (0,650)
$\chi^2=16,20; p<0,001$			

Примечания:

Формат отображения данных: n (f) – количество и частота пациентов в группах, соответственно;

95 % интервал значений содержания в крови кортизола в контрольной группе – интервал, включающий значения от 2,5 до 97,5 перцентилей;

χ^2 – критерий Пирсона;

p – достоверность различий между группами (p<0,05).

Среди пациентов I А группы к категории нормальных значений относились 43 человека, а из I Б группы – 21 человек. Значения кортизола <199,03 нмоль/л оценивались как низкие, и не были обнаружены ни в контрольной группе, ни в группах больных с ожогами. Уровень кортизола >572,62 считался превышающим норму и обнаруживался у 17 пациентов I А группы и у 39 пациентов I Б группы. Распределение пациентов в группах в зависимости от количественных значений кортизола являлось статистически значимым ($\chi^2=16,20; p<0,001$).

Далее исследовано содержание цитокинов TGF β 1, TNF α , IL-6, IL-10 и IFN γ в крови у пациентов I А и I Б групп в зависимости от уровня кортизола. Полученные данные приведены в таблице 4.5.

С помощью критерия Mann-Whitney установлено влияние кортизола на уровень TGF β 1 в крови в период 1-2 суток лечения у пациентов I А (Z=5,66; p<0,001) и I Б группы (Z=6,34; p<0,001). Сравнение количественных показателей

TGFβ1 у пациентов с нормальным и высоким содержанием кортизола показало отсутствие значимых различий между I А (p=0,943) и I Б (p=0,154) группами.

Таблица 4.5

Содержание в крови TGFβ1, TNFα, IL-6, IL-10 и IFNγ в 1-2 сутки госпитализации и при выписке из стационара в зависимости от уровней кортизола в крови по группам наблюдения (срокам стационарного лечения)

Период исследования крови, сутки	Уровень кортизола	Группы		Сравнение между группами («I А» vs «I Б»)
		I А, n=60	I Б, n=60	
TGFβ1				
1-2	Norm	24487(23106; 26700)	24529 (23632; 25590)	Z=0,07; p=0,943
	High	19504 (17392; 20313)	20511 (18061; 21142)	Z=1,42; p=0,154
		Z=5,66; p<0,001	Z=6,34; p<0,001	
День выписки	Norm	27692(25957; 29690)	24463 (23724; 26478)	Z=3,04; p=0,002
	High	20683 (18932; 22479)	21458 (19177; 23515)	Z=0,53; p=0,593
		Z=4,92; p<0,001	Z=4,14; p<0,001	
Сравнение между периодами исследования («1-2 сут»vs«День выписки»):				
	Norm	Z*=3,24; p=0,001	Z*=0,22; p=0,821	
	High	Z*=2,48; p=0,013	Z*=5,04; p<0,001	
TNFα				
1-2	Norm	56,45 (51,04; 60,08)	73,95 (68,08; 84,20)	Z=5,82; p<0,001
	High	61,50 (56,34; 64,87)	62,43 (54,82; 68,72)	Z=0,78; p=0,433
		Z=2,47; p=0,013	Z=4,14; p<0,001	
День выписки	Norm	39,91 (35,55; 44,66)	71,16 (66,18; 86,95)	Z=6,36; p<0,001
	High	47,01 (41,86; 52,33)	60,75 (53,24; 67,90)	Z=4,45; p<0,001
		Z=3,23; p=0,001	Z=4,06; p<0,001	
Сравнение между периодами исследования («1-2 сут»vs«День выписки»):				
	Norm	Z*=5,47; p<0,001	Z*=2,07; p=0,039	
	High	Z*=3,62; p<0,001	Z*=1,53; p=0,125	
IL-6				
1-2	Norm	55,43 (48,83; 64,87)	24,28 (21,80; 28,17)	Z=6,40; p<0,001
	High	57,41 (50,43; 60,60)	23,14 (21,21; 26,24)	Z=5,90; p<0,001
		Z=0,05; p=0,961	Z=1,24; p=0,215	
День выписки	Norm	39,47 (34,14; 42,65)	22,44 (20,24; 26,39)	Z=5,76; p<0,001
	High	35,08 (28,82; 38,47)	21,16 (18,05; 23,35)	Z=5,54; p<0,001
		Z=1,93; p=0,053	Z=1,56; p=0,117	
Сравнение между периодами исследования («1-2 сут» vs«День выписки»):				
	Norm	Z*=5,72; p<0,001	Z*=3,67; p<0,001	
	High	Z*=3,62; p<0,001	Z*=4,59; p<0,001	
IL-10				
1-2	Norm	24,60 (22,37; 26,98)	25,66 (21,75; 30,02)	Z=0,71; p=0,475
	High	21,88 (20,79; 26,63)	22,99 (21,16; 26,89)	Z=0,64; p=0,521
		Z=1,41; p=0,158	Z=1,67; p=0,094	
День выписки	Norm	37,03 (31,73; 40,65)	28,02 (21,63; 30,20)	Z=4,90; p<0,001
	High	34,86 (32,06; 38,72)	23,37 (20,64; 27,21)	Z=5,43; p<0,001
		Z=0,61; p=0,544	Z=2,06; p=0,039	
Сравнение между периодами исследования («1-2 сут.» vs«День выписки»):				
	Norm	Z*=5,67; p<0,001	Z*=1,55; p=0,122	
	High	Z*=3,62; p<0,001	Z*=0,38; p=0,706	

IFN γ				
1-2	Norm	14,83 (13,09; 16,41)	15,57 (12,85; 16,79)	Z=0,28; p=0,775
	High	13,77 (11,86; 16,15)	13,33 (11,33; 14,70)	Z=0,64; p=0,521
		Z=1,16; p=0,247	Z=1,94; p=0,052	
День выписки	Norm	13,69 (12,13; 16,19)	17,08 (14,31; 18,68)	Z=2,96; p=0,003
	High	12,52 (11,05; 14,53)	15,41 (13,61; 16,50)	Z=3,37; p<0,001
		Z=1,79; p=0,074	Z=1,81; p=0,070	
Сравнение между периодами исследования («1-2 сут.» vs «День выписки»):				
	Norm	Z*=1,72; p=0,084	Z*=3,97; p<0,001	
	High	Z*=1,92; p=0,055	Z*=5,38; p<0,001	

В период выписки также было установлено влияние кортизола в целом на уровень TGF β 1 у пациентов I А (Z=4,92; p<0,001) и I Б группы (Z=4,14; p<0,001). Выявленные различия в показателях TGF β 1у больных с нормальным содержанием кортизола в I А и I Б группах являлись достоверными (p=0,002). Сравнение количественных показателей TGF β 1 у пациентов с высоким содержанием кортизола показало отсутствие значимых различий между I А и I Б группами (p=0,593) (рис. 4.3).

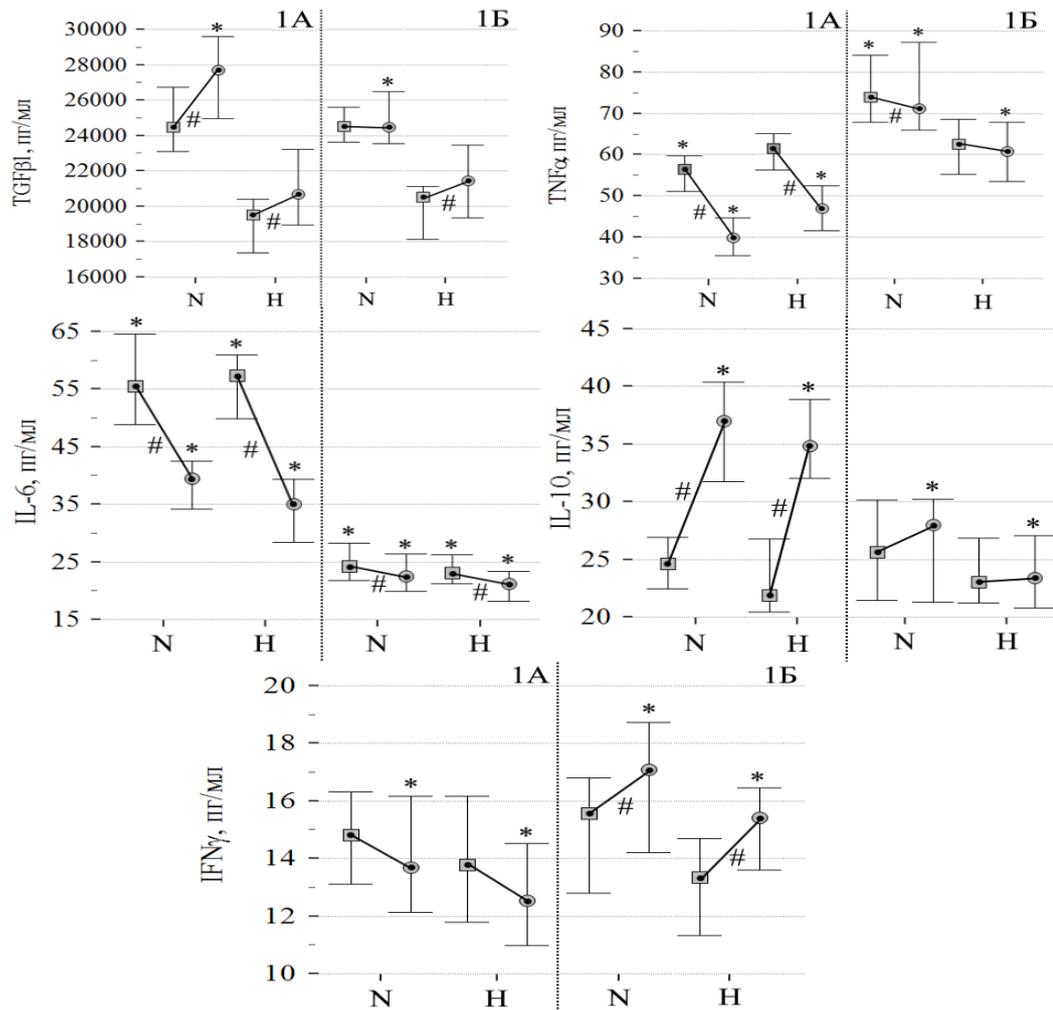


Рис. 4.3. Содержание в крови TGFβ1, TNFα, IL-6, IL-10 и IFNγ в группах пациентов с ожоговой травмой (I A и I Б) в зависимости от уровней содержания в крови кортизола (N–нормальный (199,03-572,62 нмоль/л), H–высокий (>572,62 нмоль/л) – по горизонтальным осям) в 1-2 сутки госпитализации (квадратные маркеры) и при выписке из стационара (круглые маркеры). * – достоверности различий показателя между группами (p<0,05); # – достоверности различий показателя между периодами исследования крови в группах (p<0,05).

При анализе изменений количества TGFβ1 в I A группе между начальным периодом лечения и выпиской из стационара имели место достоверные отличия между больными с нормальным уровнем кортизола (p=0,001) так и между больными с повышенным уровнем кортизола (p=0,013). При этом TGFβ1 у пациентов с нормальным кортизолом был выше в 1,34 раза по сравнению с группой с высоким кортизолом, свидетельствуя о противоположной направленности влияния кортизола на продукцию митогенного фактора роста. В

I Б группе различия между уровнем TGF β 1 с высоким содержанием кортизола являлись достоверными ($p < 0,001$), а у лиц с нормальным содержанием кортизола достоверность отсутствовала ($p = 0,821$). Влияние гиперкортизолемии на продукцию TGF β 1 сопровождалось торможением пролиферативных реакций в ранах и удлинением сроков лечения в стационаре.

Гиперпродукция кортизола оказывает тормозящее влияние на клеточную миграцию в ране уже с первых часов развития воспалительной реакции, что связано с уменьшением проницаемости гемокapилляров, клеточных мембран и основного вещества соединительной ткани. В первую очередь, ослабление миграции характерно для лимфоцитов, и, клеток, обладающих фагоцитарной активностью: нейтрофилов с неспецифической защитой, так и моноцитов-макрофагов, принимающих участие в иммунном ответе.

Глюкортикоиды действуют через Wnt-сигнальный путь, влияют на дифференцировку стромальных стволовых клеток, ингибируют пролиферацию, миграцию, и индуцируют клеточную дифференцировку. Кроме того, глюкокортикоиды ингибируют влияние факторов роста, которые непосредственно стимулируют миграцию и пролиферацию клеток, что вызывает нарушение репаративной регенерации и приводит к длительной персистенции раневых дефектов.

Далее исследовано влияние динамики кортизола на уровень TNF α в крови в период поступления в стационар для I А ($Z = 2,47$; $p = 0,013$) и I Б групп ($Z = 4,14$; $p < 0,001$). Такие же результаты получены и при исследовании влияния кортизола на уровень TNF α к моменту выписки пациентов из ожогового отделения для I А ($Z = 3,23$; $p = 0,001$) и I Б групп ($Z = 4,06$; $p < 0,001$). Сравнение концентрации TNF α у больных I А и I Б групп в 1-2 сутки госпитализации с нормальным содержанием кортизола показало достоверное увеличение его в 1,3 раза ($p < 0,001$), а у пациентов с высоким уровнем кортизола достоверных отличий не выявлено ($p = 0,433$). К моменту выписки больных из стационара концентрация TNF α значимо увеличивалась при наличии нормальных показателей кортизола в 1,78 раза ($p < 0,001$), а при высоких значениях кортизола в 1,3 раза ($p < 0,001$), что

свидетельствовало об угнетении провоспалительного влияния TNF α на фоне глюкокортикоидной активности.

Сравнение количественных показателей TNF α между периодами исследования в I А группе показало их достоверное уменьшение в 1,3-1,4 раза как у больных с нормо- ($p < 0,001$) так и с гиперкортизолемией ($p < 0,001$). В I Б группе достоверное снижение TNF α было отмечено у лиц с нормальным содержанием кортизола ($p = 0,039$), а при высокой продукции кортизола динамика снижения была незначительной и не имела признаков достоверности ($p = 0,125$). Вероятно, длительная и интенсивная продукция TNF α на фоне активного синтеза кортизола вызывала регуляторный дисбаланс в очаге раневого воспаления, с одной стороны активацию клеточных и гуморальных факторов, а с другой – угнетение пролиферации и дифференцировки раневых фибробластов, лимфоцитов и моноцитов-макрофагов.

Изучение влияния кортизола на уровень IL-6 указывало на его отсутствие в I А ($Z = 0,05$; $p = 0,961$) и I Б группах ($Z = 1,24$; $p = 0,215$) в период поступления в стационар. Такая же ситуация с отсутствием влияния кортизола на содержание IL-6 складывалась и в период выписки пациентов в I А ($Z = 1,93$; $p = 0,053$) и в I Б группе ($Z = 1,56$; $p = 0,117$).

При сравнении пациентов I А и I Б групп в ранние сроки лечения с нормальным содержанием кортизола обнаружено значимое уменьшение IL-6 в 2,28 раза ($p < 0,001$), с высоким содержанием кортизола – IL-6 снижался в 2,48 раза ($p < 0,001$), указывая на торможение регуляторной активности IL-6 в группе с низким пролиферативным потенциалом. В период выписки из стационара концентрация IL-6 достоверно снижалась при сравнении I А и I Б групп у лиц с нормальным ($p < 0,001$) и высоким ($p < 0,001$) уровнем кортизола, указывая на несущественную роль IL-6 в реализации экссудативно-пролиферативных механизмов воспалительной реакции при ожоговой травме.

Сравнение концентрации IL-6 в I А группе между периодами наблюдения в зависимости от содержания кортизола показало его достоверное уменьшение в 1,4 при нормальных значениях кортизола ($p < 0,001$) и в 1,6 раза ($p < 0,001$) при

высоком уровне кортизола. Также и в I Б группе концентрация IL-6 достоверно снижалась ($p < 0,001$), но в меньшей степени (рис. 5.1.3).

Определение влияния кортизола на содержание противовоспалительного цитокина IL-10 показало его отсутствие в исследуемых группах больных (в I А группе – $Z=1,41$; $p=0,158$ и в I Б группе – $Z=1,67$; $p=0,094$) в 1-2 сутки госпитализации. К моменту выписки наличие влияния кортизола на уровень IL-10 определялось в I Б группе: $Z=2,06$; $p=0,039$. В I А группе влияние кортизола на продукцию IL-10 отсутствовало ($Z=0,61$; $p=0,544$).

Уровень IL-10 в группах с нормальным и высоким содержанием кортизола в период 1-2 суток стационарного лечения не имел достоверных различий между I А ($p=0,475$) и I Б ($p=0,521$) группами. В период выписки в I Б группе содержание IL-10 достоверно снижалось: у больных с нормокортизолемией – в 1,32 раза ($p < 0,001$), с гиперкортизолемией – в 1,5 раза ($p < 0,001$), свидетельствуя об уменьшении противовоспалительных эффектов IL-10 на фоне гиперфункции коркового вещества надпочечников, замедлении процесса заживления ожоговых ран в I Б группе.

Сравнение количественных показателей IL-10 с помощью рангового критерия Вилкоксона между периодами исследования в I А группе показало его достоверное увеличение в 1,5 и в 1,6 раза у пациентов с нормальными ($p < 0,001$) и высокими значениями кортизола ($p < 0,001$) к моменту выписки из стационара, соответственно. В I Б группе существенных различий при сравнении IL-10 между больными с нормальным и высоким уровнем кортизола не обнаружено, $p=0,122$ и $p=0,706$, соответственно.

Анализ данных по влиянию кортизола на уровень IFN γ показал отсутствие статистических значений на начальном этапе госпитализации в I А группе ($Z=1,16$; $p=0,247$) и в I Б группе ($Z=1,94$; $p=0,052$). Также было показано отсутствие влияния кортизола на уровень IFN γ в период выписки больных из стационара как в I А группе ($Z=1,79$; $p=0,074$), так и в I Б группе ($Z=1,81$; $p=0,070$).

Сравнение показателей $IFN\gamma$ у больных с нормальным и высоким содержанием кортизола в 1-2 сутки госпитализации показало отсутствие значимой разницы в I А ($p=0,775$) и в I Б группе ($p=0,521$). В период выписки из стационара содержание $IFN\gamma$ достоверно увеличивалось в I Б группе у лиц с нормальным ($p=0,003$) и высоким уровнем кортизола ($p<0,001$), подтверждая влияние активности синтеза кортизола на продукцию $IFN\gamma$ и его участия в регуляции механизмов пролиферации.

При сравнении показателей $IFN\gamma$ в I А группе, исследованных на этапах поступления и выписки из ожогового отделения, статистической достоверности между ними не выявлено как при нормальном ($p=0,084$) так и при высоком ($p=0,055$) содержании кортизола. В I Б группе различия в количестве $IFN\gamma$ между сроками лечения при разных уровнях кортизола являлись достоверными ($p<0,001$). Как видно из рис. 1.3, в I Б группе динамика $IFN\gamma$ имела тенденцию к увеличению, вероятно, обуславливая триггерное влияние на цитокиновый каскад провоспалительного действия.

Характер, динамика и прогноз течения воспаления в ранах является результатом патогенетически обусловленных взаимосвязей профилей как про- так противовоспалительных цитокинов и уровня глюкокортикоидов.

Таким образом, динамика цитокинов про- и противовоспалительного действия, фактора роста $TGF\beta 1$ и кортизола в процессе лечения ожоговых ран являлась отражением единства и взаимосвязи воспаления и регенерации, как неразрывных компонентов тканевой реакции на повреждение. Реакция $IFN\gamma$ как одного из первоочередных пусковых медиаторов воспаления в ране обеспечивала активацию провоспалительных цитокинов $TNF\alpha$ и $IL-6$ для обеспечения адекватной фазы гидратации и очищения раны от поврежденных участков ткани, погибших клеток, экссудата, микробных патогенов. С первых суток достоверное увеличение количества $IFN\gamma$ в 1,4 раза в I А группе и 1,3 раза в I Б группе указывало на его инициирующее влияние на компонент альтерации с ее преобладанием в I А группе. Достоверное увеличение $TNF\alpha$ в 2,28 и 2,67 раза и $IL-6$ в 9,76 и 4,11 раза в I А и I Б группах свидетельствовало о выраженной

активности сосудисто-клеточной реакции тканевых базофилов, нейтрофилов, эндотелиоцитов и моноцитов-макрофагов. Гиперреактивность ИЛ-6 в I А группе обеспечивала быстрый и эффективный ответ клеток раневого дефекта при повреждении, и, наоборот, в I Б группе слабая стимуляция эндотелия и структур периваскулярного пространства создавала неблагоприятный фон воспалительной реакции с тенденцией длительной экссудации в ране. Увеличение противовоспалительного цитокина ИЛ-10 в 1,7 раза в обеих группах по сравнению с контролем свидетельствовало о наличии регенераторного потенциала и стимуляции клеток раневого дефекта к пролиферации и дифференцировке. Об усилении митогенного потенциала свидетельствовала реакция фактора роста TGFβ1 с достоверным увеличением его количества в обеих группах, но в большей степени в I А группе. В период выписки из стационара уровень TGFβ1 достоверно увеличился в 1,36 раза в I А, и в 1,19 раза в I Б группе, свидетельствуя о большем влиянии на заживление ожоговых ран в группе I А. Уровень кортизола достоверно увеличивался в 1,3 и 1,6 раза в I А и I Б группе, что способствовало торможению воспалительных эффектов, в том числе и замедлению пролиферации, активации реакций катаболизма, нарушению дедифференцировки и бласттрансформации лимфоцитов.

При исследовании цитокинов в динамике раневого процесса выявлена разнонаправленность реакции IFNγ, выражавшаяся в достоверном снижении его количества в I А ($p=0,012$), и увеличении в полтора раза по сравнению с контролем в I Б группе ($p<0,001$), что являлось отражением продолжающегося альтеративно-экссудативного воспаления, привлечением в рану медиаторов воспаления клеточного и гуморального происхождения. Гиперпродукция IFNγ в I Б группе сопровождалась устойчивым повышенным содержанием TNFα 64,75 (57,47; 71,84) пг/мл по сравнению с контролем 25,12 (22,01; 28,78) пг/мл и длительным заживлением ран, указывая на хроническое течение, и, наоборот, в I А группе достоверное уменьшение TNFα до 41,86 (37,22; 46,31) пг/мл в 1,67 раза в сравнении с контролем сопровождалось быстрым и неосложненным течением раневого процесса. Для динамики ИЛ-6 характерно снижение значений

в обеих группах, но с достоверным превышением контрольных показателей в 6,7 и 3,8 раза ($p < 0,001$), что свидетельствовало о его стимулирующем влиянии на активную пролиферацию фибробластов, синтезирующих коллаген, эластин, гликозаминогликаны, протеогликаны необходимые для процесса рубцевания соединительной ткани. IL-10 характеризовался разнонаправленными реакциями в исследуемых группах больных: в I А группе – ростом в 2,67 раза, а в I Б группе – в 1,7 раза по сравнению с контролем ($p < 0,001$), что сопровождалось активным увеличением протективных факторов заживления ран в I А группе и значительно меньшим влиянием в I Б группе.

Выводы:

1. Заживление раны – сложный клеточно-опосредованный ответ организма на повреждение, который становится возможным при хорошо организованном и точном взаимодействии гуморальных и клеточных факторов репаративной регенерации у пациентов с ожоговой травмой.
2. Концентрация в сыворотке крови величины трансформирующего фактора роста ($TGF\beta 1$), провоспалительных цитокинов - $TNF\alpha$, IL-6, противовоспалительных цитокинов – $IFN\gamma$, IL-10, а также кортизола отражает характер течения раневого процесса при ожоговой травме.
3. Все изученные гуморальные показатели, характеризующие состояние репаративной регенерации, у пострадавших по сравнению с нормой возрастают ($p < 0,01$).
4. Для неблагоприятного течения раневого процесса характерны максимальные отклонения этих показателей от уровня нормы. При этом в наибольшей степени блокируется синтез $TGF\beta 1$, активируется продукция $TNF\alpha$, IL-6 и кортизола, а секреция $IFN\gamma$, IL-10, наоборот, снижается ($p < 0,05$).
5. С величиной гуморальных факторов репарации связаны изменения в составе клеточных популяций раны, а также нарушения в характере реакции микрососудов и в производстве фибробластами коллагена. При неблагоприятном течении раневого процесса $IFN\gamma$ и IL-10 не могут

подавить чрезмерную продукцию провоспалительных цитокинов TNF α , IL-6 ($p < 0,01$).

6. Гиперкортизолемиа неблагоприятно влияет на продукцию TGF β 1, что тормозит миграцию лейкоцитов и пролиферацию фибробластов и эпителиоцитов в ране и увеличивает сроки лечения пациентов. Уровень гиперкортизолемиа не влияет на продукцию TNF α , IL-6, IFN γ и IL-10 ($p < 0,01$).
7. Высокий уровень экспрессии провоспалительных цитокинов является причиной замедления ангиогенеза и формирования грануляционной ткани у пациентов с неблагоприятным течением раневого процесса.

ГЛАВА 5

ВЛИЯНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ПОЛИМОРФИЗМОВ НА ТЕЧЕНИЕ РАНЕВОГО ПРОЦЕССА

5.1. Дизайн исследования

Исследование полиморфизмов генов TGF β 1, TNF α , TLR2, TLR3 и TLR4 велось по следующему плану:

1. Проверка частот генотипов на соответствие равновесию Харди-Вайнберга.

2. Анализ распределения аллелей и генотипов TGF β 1, TNF α , TLR2, TLR3 и TLR4 у больных I Б группы (группы сравнения), находившихся на длительном стационарном лечении от 19 до 48 суток в сравнении с больными I А группы (группы контроля), получавших лечение в условиях стационара в течение 7-10 суток.

3. Оценка влияния полиморфизма генов TGF β 1, TNF α , TLR2, TLR3 и TLR4 на длительность стационарного лечения.

4. Анализ распределения аллелей и генотипов генов TGF β 1, TNF α , TLR2, TLR3 и TLR4 в группах больных с ожогами с уровнем цитокинов, участвующих в регуляции пролиферации, а также регуляции специфической и неспецифической защиты.

5. Установление генетических комбинаций, участвующих в формировании воспалительно-регенераторной реакции.

6. Создание прогностической модели генетического риска репаративной регенерации у больных.

Анализ распределения больных по группам показал (табл. 5.1.1), что медиана возраста существенно не отличалась в исследуемых группах ($p=0,815$), по полу также не выявлено значимых различий ($p=0,816$), количество мужчин в обеих группах преобладало над численностью женщин. Длительность

стационарного лечения для больных I А группы составила 8,00 (7,50; 9,00) суток, для I Б группы – 28,00 (23,00; 33,00) суток ($p < 0,001$).

Таблица 5.1.1

Клинические показатели пациентов групп контроля и сравнения

Показатели		Группа сравнения (n=60)	Группа контроля (n=60)	Критерии сравнения
Пол	М	49 (81,67 %)	48 (80,00 %)	$\chi^2=0,054$; $p=0,816$
	Ж	12 (20,00 %)	11 (18,33 %)	
Возраст, лет		39,00 (31,50; 46,00)	39,50 (30,00; 53,50)	$Z=0,233$; $p=0,815$
Длительность стационарного лечения, сутки		28,00 (23,00; 33,00)	8,00 (7,50; 9,00)	$Z=9,445$; $p < 0,001$

Примечания:

Формат отображения для номинальной переменной: - n (%);

Формат отображения для количественных переменных: Me (Q1; Q3);

χ^2 – критерий Пирсона;

Z – z-статистика для критерия Манна-Уитни;

p – достоверность различий между группами ($p < 0,05$).

5.2. Связь полиморфизма rs1800471 (G915C Arg25Pro) гена TGF β 1 с характером течения раневого процесса

В данном разделе был проведен анализ результатов определения ассоциации полиморфизма rs1800471 гена TGF β 1 с характером течения раневого процесса, клинико-лабораторными показателями, которые характеризуют тяжесть его течения, развитие осложнений.

Распределение генотипов в контрольной группе, согласно наших данных (рис.6.2.1), сравнивали с результатами Программы 1000 Genomes Project Phase 3 (<http://www.internationalgenome.org/>).

В Программе для определения частот генотипов rs1800471 гена TGF β 1 генотип G/G определялся с частотой 0,871 (в наших исследованиях – 0,8), гетерозигота G/C – 0,117 (в наших исследованиях – 0,167), гомозигота C/C –

0,012 (в наших исследованиях – 0,033) (табл. 5.2.1). Частоты генотипов rs1800471 в европейской популяции были сопоставимы с данными I A группы (контрольной) ($\chi^2=3,106$; $p=0,212$), что свидетельствовало о совпадении наших результатов с данными европейской популяции.

Таблица 5.2.1

Сравнительный анализ частот генотипов и аллелей полиморфизма rs1800471 генаTGFB1 контрольной группы I A с данными для европейской популяции

Генотипы/ Аллели	Данные Программы 1000 Genomes Project Phase 3 для европейской популяции	I A группа (контроль)	Критерии сравнения
GG	0,871	0,800	$\chi^2=3,106$; $p=0,212$
GC	0,117	0,167	
CC	0,012	0,033	
G	0,929	0,883	$\chi^2=3,260$; $p=0,071$
C	0,071	0,117	

Сравнение распределения аллелей пациентов I A группы (контрольной) (рис. 5.2.2) с данными Программы 1000 Genomes Project Phase 3 для европейской популяции показало, что аллель G rs1800471 определена с частотой 0,929 (в наших исследованиях – 0,883), аллель C – 0,071 (в наших исследованиях – 0,117). Частоты аллелей rs1800471 в европейской популяции были сопоставимы с данными I A группы (контрольной) ($\chi^2=3,26$; $p=0,071$). Таким образом, результаты I A (контрольной) группы как по распределению генотипов, так и аллелей соответствовали данным Программы 1000 Genomes Project Phase 3 для европейской популяции.

Тест Харди-Вайнберга для контролей и случаев соответствовал случайному характеру наследования (соответственно, $\chi^2=2,197$; $df=1$; $p=0,333$ и $\chi^2=3,256$; $df=1$; $p=0,196$).

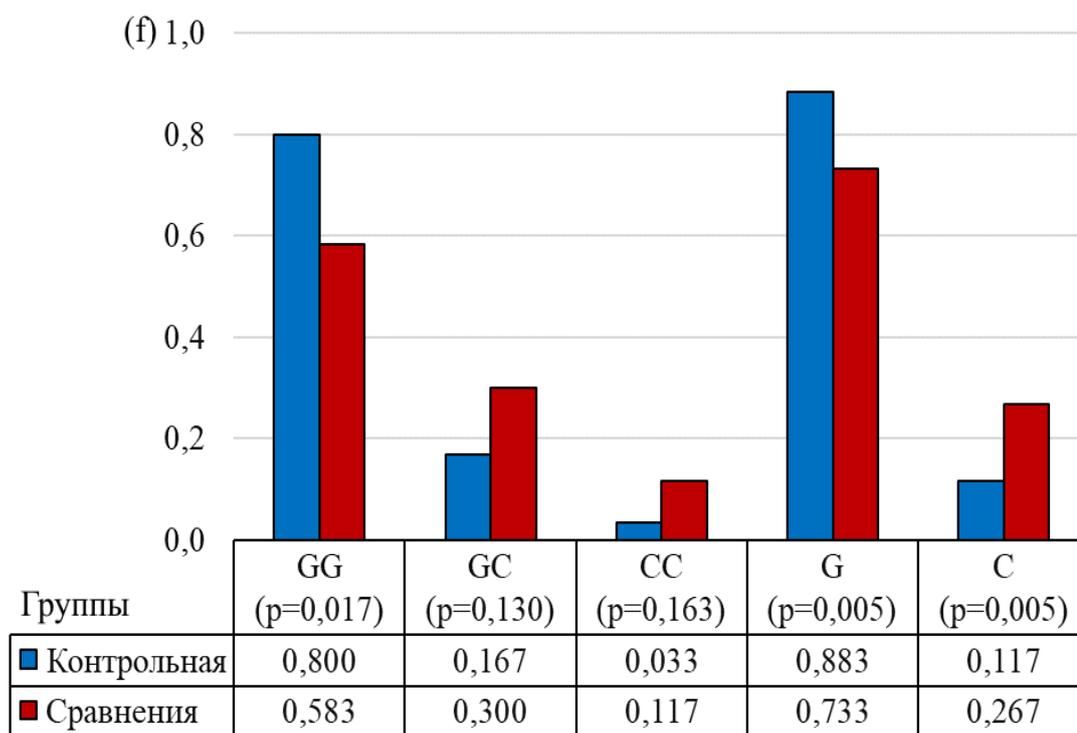


Рис. 5.2.1. Распределение генотипов и аллелей rs1800471 гена TGFb1 по группам и статистическая значимость различий между ними (p) по критерию ТМФ₂.

Далее проводилось статистическое сравнение распределения генотипов и аллелей у больных I А и I Б групп с различными сроками заживления ран после травмы. Для этого вначале была проанализирована общая тенденция частот генотипов и аллелей, затем – частотные разницы, которые указывали на влияние генотипов и аллелей на развитие процессов репарации, в завершение, – для различий, значимых по критерию χ^2 , рассмотрены отношение шансов и 95 % доверительный интервал, или – ассоциация со скоростью и характером заживления ран (генетический риск).

Как свидетельствовали данные, представленные на рис. 5.2.1, в группе I Б отмечено достоверное уменьшение частоты гомозиготного генотипа G/G (в 1,37 раза; p=0,017) в сравнении с I А (контрольной) группой. Увеличение частот гетерозиготного генотипа G/C и минорного генотипа C/C (соответственно, в 1,8 и 3,5 раза) в сравнении с контролем было статистически не значимым (соответственно, p=0,13 и 0,16). Также у больных группы I Б отмечено статистически значимое уменьшение частоты аллели G (в 1,2 раза; p=0,005) и

увеличение частоты минорной аллели С (в 2,28 раза; $p=0,005$) в сравнении с контролем.

Таким образом, можно утверждать, что распределение полиморфных аллелей rs1800471 гена TGFb1 отличалось в исследуемых группах.

Результат проверки влияния распределения частот генотипов и аллелей rs1800471 гена TGFb1 на течение раневого процесса после травмы и степень их ассоциации с характером заживления ран и длительностью лечения в стационаре приведены в таблице 5.2.2.

Таблица 5.2.2

Распределение генотипов и аллелей rs1800471 гена TGFb1 в группах и их ассоциация с наличием групповых различий (длительностью стационарного лечения)

Генотипы	Группа сравнения (I Б группа) (n=60)	Контрольная группа (I А группа) (n=60)	χ^2	p	ОШ	95% ДИ
GG	35 (0,583)	48 (0,800)	7,100	0,029	0,35	0,15-0,79
GC	18 (0,300)	10 (0,167)			2,14	0,89-5,14
CC	7 (0,117)	2 (0,033)			3,83	0,76-19,26
Аллели	n=120	n=120				
G	88 (0,733)	106 (0,883)	8,677	0,003	0,36	0,18-0,72
C	32 (0,267)	14 (0,117)			2,75	1,38-5,48

Примечания:

Формат отображения данных: n (%);

χ^2 – критерий Пирсона;

p – достоверность различий между группами.

ОШ – отношение шансов;

95% ДИ – 95% доверительный интервал для ОШ.

Распределение генотипов и аллелей rs1800471 гена TGFb1 имело связь с длительностью течения раневого процесса и лечением в специализированном стационаре, что и было подтверждено при определении влияния частот генотипов и аллелей на характер заживления ран (табл. 5.2.2).

Анализ влияния генотипов по таблице сопряженности 3x3 показал наличие связи rs1800471 гена TGFb1 с увеличением сроков заживления ран ($\chi^2=7,100$; $p=0,029$). Генотипами риска являлись гетерозиготный генотип G/C,

который в 2,14 раза повышал риск (ОШ=2,14; 95% ДИ 0,89-5,14) и минорный генотип С/С, который в 3,83 раза повышал риск длительного и осложненного заживления ран (ОШ=3,83; 95% ДИ 0,76-19,26). Дикий генотип G/G снижал эти шансы (ОШ=0,35; 95% ДИ 0,15-0,79), что указывало на его протективный эффект.

Сравнение частот аллелей по таблице сопряженности 2x2 показал наличие влияния аллельного полиморфизма ($\chi^2=8,677$; $p=0,003$) rs1800471 гена TGFb1 на длительность и течение раневого процесса после повреждения в сравнении с контролем. Минорная аллель С повышала риск длительного заживления ран в 2,75 раза (ОШ=2,75; 95% ДИ 1,38-5,48), а аллель дикого типа G – понижала риск (ОШ=0,36; 95% ДИ 0,18-0,72). Таким образом, генетическим фактором риска длительного течения репаративных процессов ран было наличие в генотипе минорной аллели С полиморфизма rs1800471 гена TGFb1 (т.е., гетеро- и гомозиготного минорного генотипов).

Далее было проанализировано влияние полиморфизма rs1800471 гена TGFβ1 на уровень фактора роста TGFβ1 у пациентов I А и I Б групп в сроки поступления в специализированное отделение и выписки, соответствующее выздоровлению и заживлению ран. Полученные данные представлены в таблице 5.2.3.

Исходя из того, что полиморфизм rs1800471 гена TGFβ1 влияет на уровень продукта данного гена, было проанализировано влияние генотипов и аллелей rs1800471 гена TGFβ1 у носителей различных его вариантов на уровень TGFβ1 – одного из основных маркеров репаративной регенерации.

Таблица 5.2.3

Содержание в крови TGFβ1 у пациентов в 1-2 сутки поступления и период выписки из стационара в зависимости от генотипов и аллелей rs1800471 гена TGFβ1 в исследуемых группах (срокам стационарного лечения)

Период наблюдения, сутки	Генотипы, аллели	Группы		Сравнение между группами («IA» vs «IB»)	
		I A, n=60	I B, n=60		
1-2	GG	24188 (22649; 26251)	23477(22188; 24651)	Z=1,58;p=0,114	
	GC	19059(17392; 19632)	19777(18332; 20761)	Z=1,41;p=0,157	
	CC	16380(15813; 16946)	16191(15276; 17522)	U=6,00;p=0,884	
	H=28,33; p<0,001		H=44,65; p<0,001		
	G	23940(21761; 26096)	22872(21116; 24394)	Z=2,91;p=0,003	
	C	17,829(16945; 19504)	18196(16550; 19942)	Z=0,13;p=0,895	
	Z=5,64;p<0,001		Z=7,27;p<0,001		
День выписки	GG	27293(22649; 26252)	24463(23316; 26478)	Z=3,37;p<0,001	
	GC	20039(18932; 20827)	20707(19979; 21478)	Z=1,22;p=0,221	
	CC	17188(17042; 17334)	16560(15261; 18084)	U=6,00;p=0,884	
	H=27,77; p<0,001		H=45,65; p<0,001		
	G	26481(21761; 28920)	23731(22472; 25505)	Z=4,97;p<0,001	
	C	19004(17334; 20683)	18929(17128; 20787)	Z=0,27;p=0,784	
	Z=5,59;p<0,001		Z=7,39;p<0,001		
Сравнение между периодами исследования («1-2 сут.» vs «День выписки»):					
	GG	Z*=3,58;p<0,001	Z*=2,55;p=0,011		
	GC	Z*=1,68;p=0,093	Z*=3,72;p<0,001		
	CC	T=0,00;p=0,180	T=11,00;p=0,612		
	G	Z*=5,31;p<0,001	Z*=4,62;p<0,001		
	C	Z*=2,35;p=0,018	Z*=3,62;p<0,001		

Примечания:

Z – z-статистика для рангового критерия Манна-Уитни (U);

Z* – z-статистика для рангового критерия Вилкоксона (T);

H – критерий Крускала-Уоллиса;

Курсивом отмечены статистические различия между генотипами и аллелями;

p – достоверность различий между группами (p<0,05).

Исследование с помощью критерия Kruskal-Wallis влияния генотипов rs1800471 гена TGFβ1 на количественные изменения TGFβ1 в крови показало его наличие в период 1-2 суток начала лечения в стационаре в I A (H=28,33; p<0,001) и I B группе (H=44,65; p<0,001) (рис. 5.2.2).

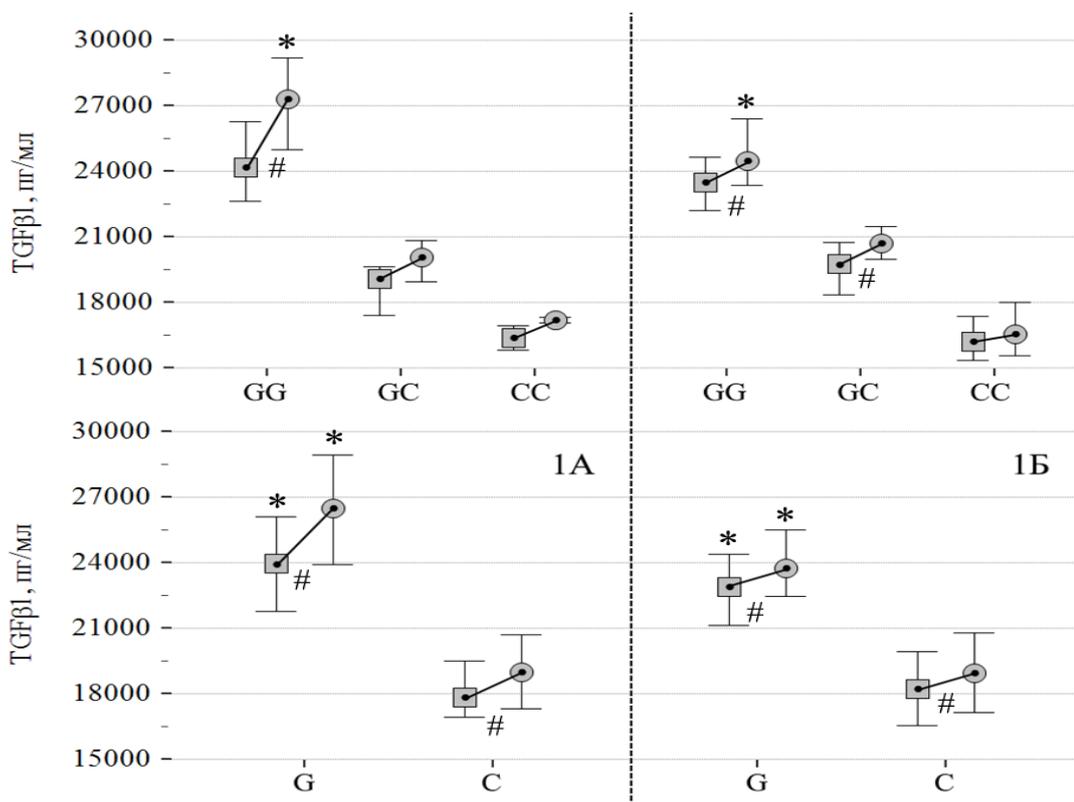


Рис. 5.2.2. Содержание в крови TGFβ1 (пг/мл) в I A и I Б группах в зависимости от генотипов и аллелей rs1800471 гена TGFβ1 (по горизонтальным осям) в 1-2 сутки (обозначены квадратными маркерами) госпитализации и при выписке из стационара (обозначены круглыми маркерами). * – достоверности различий между группами ($p < 0,05$); # – достоверности различий между периодами наблюдения в группах ($p < 0,05$).

Проверка с помощью критерия Mann-Whitney показала наличие влияния аллелей rs1800471 гена TGFβ1 на уровень TGFβ1 в крови пациентов в 1-2 сутки с момента госпитализации в I A и I Б группах, соответственно, ($Z=5,64$; $p < 0,001$ и $Z=7,27$; $p < 0,001$).

При сравнении влияния генотипов rs1800471 гена TGFβ1 на содержание TGFβ1 в крови пациентов I A и I Б групп в начальном периоде лечения было выявлено отсутствие влияния (для GG – $p=0,114$; для GC – $p=0,157$; для CC – $p=0,884$). Межгрупповое сравнение для аллелей rs1800471 гена TGFβ1 показало фактическое влияние на уровень TGFβ1 аллели дикого типа G ($p=0,003$) и отсутствие влияния минорной аллели C ($p=0,895$). При этом содержание в крови TGFβ1 у носителей аллели G являлось повышенным в сравнении с показателями, выявленными у лиц, имеющих аллель C. Полученные результаты

демонстрировали протективную роль аллели дикого типа G в продукции фактора роста TGFβ1 в I A группе уже в первые сутки лечения и активной стимуляции процессов репарации.

Анализ влияния генотипов rs1800471 гена TGFβ1 с помощью критерия Kruskal-Wallis на содержание фактора роста TGFβ1 в крови у пациентов I A и I Б групп к моменту выписки из стационара, соответствующее заживлению ран установил факт наличия их влияния: для I A группы – $H=27,77$; $p<0,001$ и для I Б группы – $H=45,65$; $p<0,001$. Сравнение между группами уровней TGFβ1 у носителей генотипа GG показало, что в I A группе концентрация TGFβ1 составляла 27293 (22649; 26252) пг/мл, а в I Б группе 24463 (23316; 26478) пг/мл. Расчет для генотипа дикого типа GG показал наличие влияния на продукцию TGFβ1 в обеих группах ($Z=3,37$; $p<0,001$). Для генотипов GC и CC выявлено отсутствие их влияния на продукцию TGFβ1 при сравнительном межгрупповом анализе: ($p=0,221$ и $p=0,884$), соответственно для I A и I Б групп.

Далее исследовалось наличие влияния аллелей rs1800471 гена TGFβ1 на уровень TGFβ1 крови на этапе выписки больных из стационара. В I A группе имел место факт влияния аллелей ($Z=5,59$; $p<0,001$) на продукцию TGFβ1, при этом уровень TGFβ1 26481 (21761; 28920) пг/мл был выше в 1,4 раза при наличии аллели дикого типа G протективного типа в сравнении с уровнем TGFβ1 19004 (17334; 20683) пг/мл у носителей минорной аллели C. Это непосредственно указывало на патогенетическую роль минорной аллели C на длительность течения репаративной регенерации. В I Б группе было определено влияние аллелей на содержание TGFβ1 ($Z=7,39$; $p<0,001$), при этом уровень его 23731 (22472; 25505) пг/мл у носителей аллели дикого типа G был в 1,25 раза выше, чем при наличии минорной аллели C 18929 (17128; 20787) пг/мл, что свидетельствовало о ее минимальном влиянии на активность пролиферативных процессов при заживлении ран.

При сравнении между группами уровней TGFβ1 у носителей аллелей G показало, что в I A группе концентрация TGFβ1 составляла 26481 (21761; 28920) пг/мл, а в I Б группе несколько ниже – 23731 (22472; 25505) пг/мл, что

подтверждалось влиянием аллели G на уровень TGFβ1 в обеих группах ($p < 0,001$), указывая на зависимость продукции фактора роста TGFβ1 на сроки заживления ран. Незначительная динамика TGFβ1 у носителей аллели C I A и I B групп показала отсутствие влияния минорной аллели C на продукцию TGFβ1 ($p = 0,784$), что непосредственно указывало на слабо выраженную эффективность заживления ран и увеличение продолжительности лечения.

Сравнение уровней TGFβ1 крови с помощью рангового критерия Вилкоксона между периодами поступления и выписки из стационара показало, что в I A группе носительство GG генотипа обуславливало стимулирующее влияние на динамику роста TGFβ1 с 24188 (22649; 26251) пг/мл до 27293 (22649; 26252) пг/мл ($p < 0,001$). У пациентов с генотипами GC и CC количественные изменения TGFβ1 за период наблюдения были незначительными, что выражалось в отсутствии их влияние на продукцию TGFβ1 ($p = 0,093$ и $p = 0,180$, соответственно). Для носителей аллели G динамика роста TGFβ1 за период лечения в стационаре имела достоверные показатели ($p < 0,001$) и указывала на активное влияние G аллели на продукцию TGFβ1 и благоприятное течение раневого процесса. У пациентов с наличием аллели C незначительное увеличение TGFβ1 за время лечения являлось достоверным ($p = 0,018$), но в меньшей степени.

В I B группе концентрации TGFβ1 у носителей GG и GC генотипов достоверно увеличивалась за время лечения ($p = 0,011$) и ($p < 0,001$), соответственно, способствуя тем самым, протективному влиянию на процессы пролиферации и рубцевания. Однако, менее выраженная продукция TGFβ1 и замедленная скорость заживления ран свидетельствовали о влиянии факторов нейроэндокринной регуляции, факторов как неспецифической так и специфической защиты на течение раневого процесса. Динамика уровня TGFβ1 у лиц с генотипом CC не являлась достоверной ($p = 0,612$) что свидетельствовало о негативном влиянии минорного генотипа CC на продукцию ростового фактора TGFβ1, ответственного за активную регуляцию процессов репарации.

Уровень TGFβ1 у пациентов IB группы, имеющих аллели G и C достоверно отличался в период поступления и выписки из ожогового отделения ($p < 0,001$) и ($p < 0,001$), соответственно, свидетельствуя о протективном влиянии аллели G на скорость течения раневого процесса. Определение низких значений TGFβ1 в динамике наблюдения у носителей аллели C непосредственно указывало на патогенетическую роль минорной аллели C как фактора риска в нарушении репаративной регенерации.

В соответствии с вышесказанным, наличие генотипа CC и аллели C были связаны с меньшими величинами ростового фактора TGFβ1. Из чего следует, что патогенетическая роль полиморфизма rs1800471 гена TGFβ1 заключалась в уменьшении продукции TGFβ1 в крови и снижении скорости течения раневого процесса и заживления ран.

5.3. Связь полиморфизма rs1800629 гена TNFα с длительностью и характером течения раневого процесса

В этом разделе была определена связь полиморфизма rs1800629 гена TNFα с особенностями течения процесса заживления ран, полученных в результате травмы, а также – связь с длительностью течения раневого процесса и факторами, индуцирующими фазы воспалительной реакции раневого процесса.

При сравнении результатов распределения генотипов и аллелей в IA (контрольной) группе в нашем исследовании и результатами Программы 1000 Genomes Project Phase 3 (<http://www.internationalgenome.org/>) установлено, что для европейской популяции дикий генотип G/G был определен с частотой 0,744 (в наших исследованиях – 0,70), гетерозигота G/A – 0,245 (в наших исследованиях – 0,25), минорная гомозигота A/A – 0,012 (в наших исследованиях – 0,05). Таким образом, наши результаты сходились с данными частот для европейской популяции.

При сравнении распределения аллелей в IA (контрольной) группе (рис. 5.3.1) с данными Программы 1000 Genomes Project Phase 3 установлено для

европейской популяции, что аллель G была определена с частотой 0,866 (в наших исследованиях – 0,825), минорная аллель A – 0,134 (в наших исследованиях – 0,175).

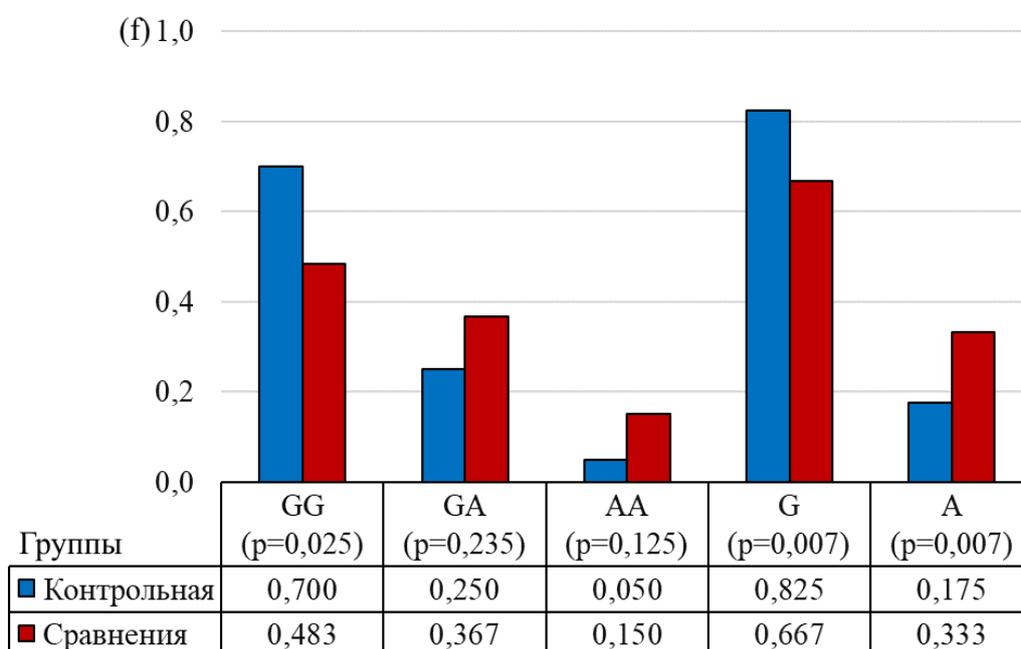


Рис. 5.3.1. Распределение генотипов и аллелей rs1800629 гена TNF α по группам и статистическая значимость различий между ними (p) по критерию ТМФ₂.

Таким образом, результаты I A (контрольной) группы как по распределению генотипов, так и аллелей соответствовали данным Программы 1000 Genomes Project Phase 3 для европейской популяции. Определение статистической значимости различий в распределении частот в европейской популяции и нашем исследовании показало следующие результаты: для генотипов $\chi^2=5,005$; p=0,082, для аллелей $\chi^2=1,494$; p=0,221. Действительно, существенных расхождений результатов исследований не выявлено.

Далее было проведено статистическое сравнение распределения генотипов и аллелей у пациентов I A (контрольной) группы и I Б группы (сравнения). Были проанализированы общая тенденция частот генотипов и аллелей, затем частотные разницы, которые указывали на влияние генотипов и аллелей на характер и скорость течения процессов заживления ран, и для различий, значимых по критерию χ^2 , рассмотрены отношения шансов и 95 %

доверительный интервал, т.е., ассоциация со скоростью заживления ран или генетический риск процесса репаративной регенерации.

По данным, представленным на рис. 5.3.1, в группе пациентов I Б было отмечено статистически значимое уменьшение частоты гомозиготного генотипа дикого типа G/G в 1,45 раза, $p=0,025$ в сравнении с группой пациентов I А (контрольной). Увеличение частоты гетерозиготного генотипа G/A и минорного генотипа A/A (в 1,47 и 3,0 раза, соответственно) в сравнении с I А (контрольной) группой не имело статистической значимости ($p=0,235$ и $p=0,125$, соответственно). Также у пациентов I Б группы с длительным заживлением ран отмечено статистически достоверное уменьшение частоты аллели дикого типа G (в 1,24 раза, $p=0,007$) и увеличение частоты минорной аллели A (в 1,9 раза, $p=0,007$) в сравнении с группой I А (контрольной).

Таким образом, очевидным явилось то, что распределение генотипа G/G и обеих аллелей rs1800629 гена TNF α достоверно отличалось у пациентов группы I Б с длительным и осложненным течением заживления ран в сравнении с группой I А (контрольной). Исходя из этого, далее было рассчитано влияние распределения частот генотипов и аллелей (табл. 6.3.1) на скорость и характер течения раневого процесса, и степень их ассоциации.

Тест Харди-Вайнберга для контролей и случаев соответствовал случайному характеру наследования генотипов ($\chi^2=1,081$, $df=2$, $p=0,582$ и $\chi^2=1,838$, $df=2$, $p=0,399$, соответственно).

Анализ влияния генотипов по таблице сопряженности 3x3 (табл. 5.3.1) показал наличие связи rs1800629 гена TNF α с увеличением сроков заживления ран ($\chi^2=6,705$; $p=0,035$). Генотипами риска являлись гетерозиготный генотип G/A, который в 1,74 раза повышал риск (ОШ=1,74; 95% ДИ 0,79-3,81) и минорный генотип A/A, который в 3,35 раза повышал риск (ОШ=3,35; 95% ДИ 0,86-13,07). Дикий генотип G/G снижал эти шансы (ОШ=0,40; 95% ДИ 0,19-0,85), что указывало на его протективный эффект в патогенезе раневого процесса.

Таблица 5.3.1

Распределение генотипов и аллелей rs1800629 гена TNF α по группам и их ассоциация с наличием групповых различий (длительностью стационарного лечения)

Генотипы	Группа сравнения (I Б группа) n=60 (%)	Контрольная группа (I А группа) n=60 (%)	χ^2	p	ОШ	95% ДИ
GG	29 (0,483)	42 (0,700)	6,705	0,035	0,40	0,19-0,85
GA	22 (0,367)	15 (0,250)			1,74	0,79-3,81
AA	9 (0,150)	3 (0,050)			3,35	0,86-13,07
Аллели	n=120	n=120				
G	80 (0,667)	99 (0,825)	7,902	0,005	0,42	0,23-0,78
A	40 (0,333)	21 (0,175)			2,36	1,29-4,32

Примечания:

Формат отображения данных: n (%);

χ^2 – критерий Пирсона;

p – достоверность различий между группами.

ОШ – отношение шансов;

95% ДИ – 95% доверительный интервал для ОШ.

При изучении аллельного полиморфизма rs1800629 гена TNF α выявлена связь, имеющая достоверность, с длительным и осложненным течением раневого процесса, при этом минорная аллель А увеличивала в 5,6 раза шансы более тяжелого заживления и пролонгированного стационарного лечения (ОШ=2,36; 95% ДИ 1,29-4,32), тогда как аллель дикого типа G эти шансы уменьшала в 2,4 раза (ОШ=0,42; 95% ДИ 0,23-0,78).

Таким образом, показано, что минорная аллель А rs1800629 увеличивала шансы более длительного стационарного лечения и была фактором осложненного пролонгированного раневого процесса, шансы неблагоприятного течения репаративной регенерации увеличивались в 2,36 раза (p=0,005), тогда как аллель дикого типа G можно считать протективным фактором.

Далее, в соответствии с планом исследования, было проверено влияние генотипов и аллелей rs1800629 гена TNF α на скорость течения раневого процесса на содержание провоспалительного цитокина TNF α в крови, что на наш взгляд, позволило бы определить наличие влияния генотипа на сроки стационарного

лечения и скорость заживления ран. Влияние полиморфизма rs1800629 гена TNF α на содержание TNF α в крови представлено в таблице 5.3.2.

Таблица 5.3.2

Содержание в крови TNF α у пациентов в 1-2 сутки госпитализации и при выписке из стационара в зависимости от генотипов и аллелей rs1800629 гена TNF α в исследуемых группах (срокам стационарного лечения)

Время забора крови, сутки	Генотипы, аллели	Группы		Сравнение между группами («1А» vs «1Б»)
		1А, n=60	1Б, n=60	
1-2	GG	56,39(51,39; 59,26)	58,18(52,40; 62,59)	Z=1,82;p=0,069
	GA	61,50(50,95; 64,87)	72,70(68,34; 74,77)	Z=4,53;p<0,001
	AA	77,09(73,15; 80,50)	84,20(83,36; 87,58)	U=0,00;p=0,016
		H=12,39; p<0,002	H=49,24; p<0,001	
	G	56,51 (51,39; 60,39)	62,27 (55,54; 67,51)	Z=4,79;p<0,001
	A	64,58 (57,64; 73,15)	79,36 (71,88; 84,20)	Z=4,54;p<0,001
		Z=3,65;p<0,001	Z=7,56;p<0,001	
День выписки	GG	39,67(35,56; 43,64)	56,65(51,03; 61,30)	Z=6,42;p<0,001
	GA	49,32(42,87; 52,33)	70,58(67,86; 72,20)	Z=5,09;p<0,001
	AA	56,35(54,71; 63,51)	87,79(85,79; 89,68)	U=0,00;p=0,016
		H=24,79; p<0,001	H=49,24; p<0,001	
	G	40,48 (35,69; 44,66)	60,29 (52,91; 65,13)	Z=10,33;p<0,001
	A	50,57 (48,03; 54,71)	73,84 (70,27; 87,37)	Z=6,37;p<0,001
		Z=5,29;p<0,001	Z=7,56;p<0,001	
Сравнение между периодами исследования («1-2 сут» vs «День выписки»)				
	GG	Z*=5,54;p<0,001	Z*=1,03;p=0,304	
	GA	Z*=3,12;p=0,002	Z*=4,11;p<0,001	
	AA	T=0,00;p=0,109	T=13,00;p=0,260	
	G	Z*=8,44;p<0,001	Z*=2,50;p=0,012	
	A	Z*=3,84;p<0,001	Z*=2,20;p=0,027	

Примечания:

Z – z-статистика для рангового критерия Манна-Уитни (U);

Z* – z-статистика для рангового критерия Вилкоксона (T);

H – критерий Крускала-Уоллиса;

Курсивом отмечены статистические различия между генотипами и аллелями;

p – достоверность различий между группами (p<0,05).

Исследование с помощью критерия Kruskal-Wallis влияния генотипов rs1800629 гена TNF α на количественные показатели TNF α в крови указывало на

его наличие в период 1-2-х суток пребывания в противоожоговом центре в I А (N=12,39; p=0,002) и I Б группе (N=49,24; p<0,001) (рис. 5.3.2).

При этом уровень TNF α в I А группе у пациентов с минорным генотипом AA был достоверно повышен в 1,37 раза по сравнению с носителями дикого генотипа GG (p=0,002). В I Б группе уровень TNF α у лиц с генотипом AA превышал показатели в 1,45 раза у пациентов с генотипом GG (p<0,001).

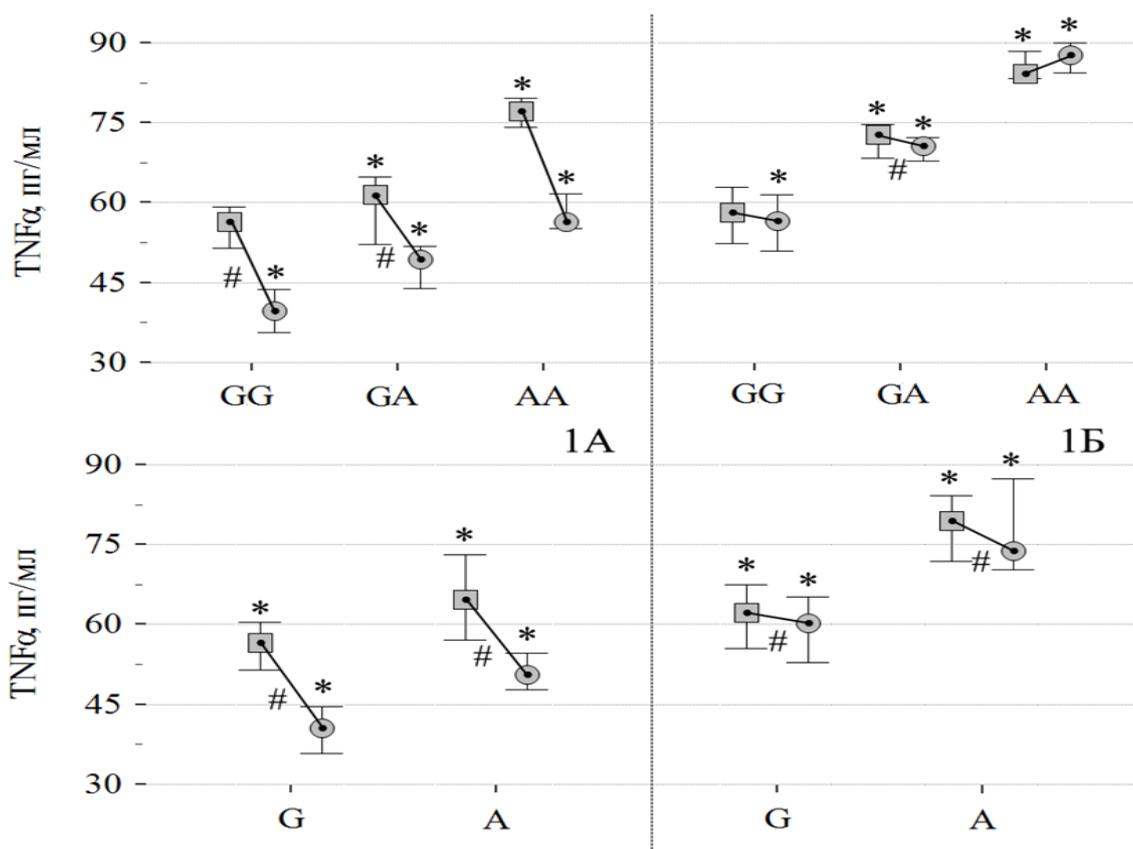


Рис. 5.3.2. Содержание в крови TNF α (пг/мл) в группах наблюдения (I А и I Б) в зависимости от генотипов и аллелей rs1800629 гена TNF α (по горизонтальным осям) в 1-2 сутки (квадратные маркеры) госпитализации и при выписке из стационара (круглые маркеры). * – достоверные различия между группами (p<0,05); # – достоверные различия между периодами исследования крови (p<0,05).

Проверка по критерию Mann–Whitney показала наличие влияния аллелей на содержание TNF α в I А и I Б группах: Z=3,65; p<0,001 и Z=7,56; p<0,001, соответственно. Увеличение уровня TNF α у носителей AA генотипа в сравнении с GG генотипом I А группы было в 1,14 раза, а в I Б группе уровень TNF α у лиц с исследуемыми генотипами был выше в 1,27 раза. Полученные данные указывали

на патогенетическую роль генотипа GG и минорной аллели G в усилении продукции TNF α и замедлении процесса заживления ран.

Сравнение количественных показателей TNF α с помощью критерия Kruskal-Wallis у носителей GG, GA и AA генотипов I A и I Б групп показало достоверное увеличение для лиц с генотипами GA и AA: $Z=4,53$; $p<0,001$ и $U=0,00$; $p=0,016$, соответственно. Различия в количестве TNF α у пациентов с GG генотипом I A и I Б групп не имели статистической достоверности ($p=0,069$). Увеличение концентрации TNF α у лиц с G аллелью значимо увеличивалось при сопоставлении I A и I Б групп ($p<0,001$), у пациентов с аллелью A содержание TNF α было выше в I Б группе в 1,22 раза по сравнению с I A группой ($p<0,001$), что подтверждало предположение о патогенном влиянии TNF α на пролонгированное течение раневого процесса. Наличие минорной аллели A сопровождалось интенсивной продукцией TNF α с затяжным течением процесса заживления ран.

Для генотипов rs1800629 гена TNF α было установлено влияние на содержание TNF α крови в период выписки больных из стационара для I A и I Б групп $H=24,79$; $p<0,001$ и $H=49,24$; $p<0,001$, соответственно. При этом концентрация TNF α в крови у больных I A группы с минорным генотипом AA была в 1,42 раза выше, чем у лиц с GG генотипом. В I Б группе также отмечался прирост уровня TNF α в крови у носителей AA генотипа в 1,22 раза в сравнении с носителями генотипа GG.

С помощью критерия Mann–Whitney определено наличие влияния аллелей G и A rs1800629 гена TNF α на содержание TNF α : для I A группы – $Z=5,29$; $p<0,001$ и $Z=7,56$; $p<0,001$ – для I Б группы. У пациентов с минорной аллелью A концентрация TNF α в I A и I Б группах была выше в 1,25 и 1,22 раза, соответственно, чем у носителей аллели дикого типа G.

Анализ полученных результатов показал, что у пациентов I Б группы, имеющих генотипы GG и GA, содержание TNF α в крови было выше в 1,43 раза, чем у лиц I A группы, а у носителей AA генотипа уровень TNF α повышался в 1,56 раза, что указывало на патогенетическую роль генотипа AA в заживлении

ран. Для больных с аллелями G и A определено накопление TNF α в крови в обеих группах с преобладанием в I Б группе.

Сравнение количественных показателей TNF α крови с использованием рангового критерия Вилкоксона между сроками поступления и выписки из стационара показало, что в I А группе носительство GG и GA генотипов сопровождалось достоверным снижением уровня цитокина TNF α в 1,42 и 1,25 раза в течение периода лечения ($p < 0,001$ и $p = 0,002$, соответственно), что свидетельствовало о торможении провоспалительного эффекта TNF α , протективном влиянии данных генотипов на благоприятное течение воспалительного процесса в ране в динамике лечения. У пациентов с AA генотипом I А группы достоверных различий между количеством TNF α в исследуемые периоды лечения не обнаружено ($p = 0,109$).

У носителей аллелей G и A уменьшение количества TNF α в процессе лечения являлось достоверным ($p < 0,001$), что соответствовало ускоренной положительной динамике заживления ран вследствие снижения повреждающего действия провоспалительного цитокина.

В I Б группе динамика концентрации TNF α между начальным и завершающим периодами лечения в стационаре у носителей GG и AA генотипов была не существенной и не имела статистической значимости ($p = 0,304$ и $p = 0,260$, соответственно). У лиц, имеющих генотип GA, уменьшение уровня TNF α являлось достоверным ($p < 0,001$). Для носителей аллелей G и A I Б группы незначительное уменьшение количества TNF α в крови являлось статистически достоверным ($p = 0,012$) и ($p = 0,027$), соответственно, но по сути, свидетельствовало о преобладании повреждающих факторов воспалительной реакции на процесс заживления ран с увеличением сроков лечения.

5.4. Связь полиморфизма rs5743708 гена TLR2 с длительностью и характером течения раневого процесса

В данном разделе исследована связь полиморфизма rs5743708 гена TLR2 с особенностями течения процесса заживления ран, а также – связь с развитием осложнений раневого процесса и факторами, индуцирующими патогенетические звенья раневого процесса.

При сравнении результатов распределения генотипов и аллелей в I A (контрольной) группе в нашем исследовании и результатами Программы 1000 Genomes Project Phase 3 (<http://www.internationalgenome.org/>) для европейской популяции установлено, что дикий генотип G/G был определен с частотой 0,952 (в наших исследованиях – 0,97), гетерозигота G/A – 0,048 (в наших исследованиях – 0,083), минорная гомозигота A/A – 0,000 (в наших исследованиях – 0,000). Таким образом, наши результаты сошлись с данными частот для европейской популяции.

При сравнении распределения аллелей в I A (контрольной) группе (рис. 5.4.1) с данными Программы 1000 Genomes Project Phase 3 для европейской популяции установлено, что аллель G была определена с частотой 0,976 (в наших исследованиях – 0,958), минорная аллель A – 0,024 (в наших исследованиях – 0,042).

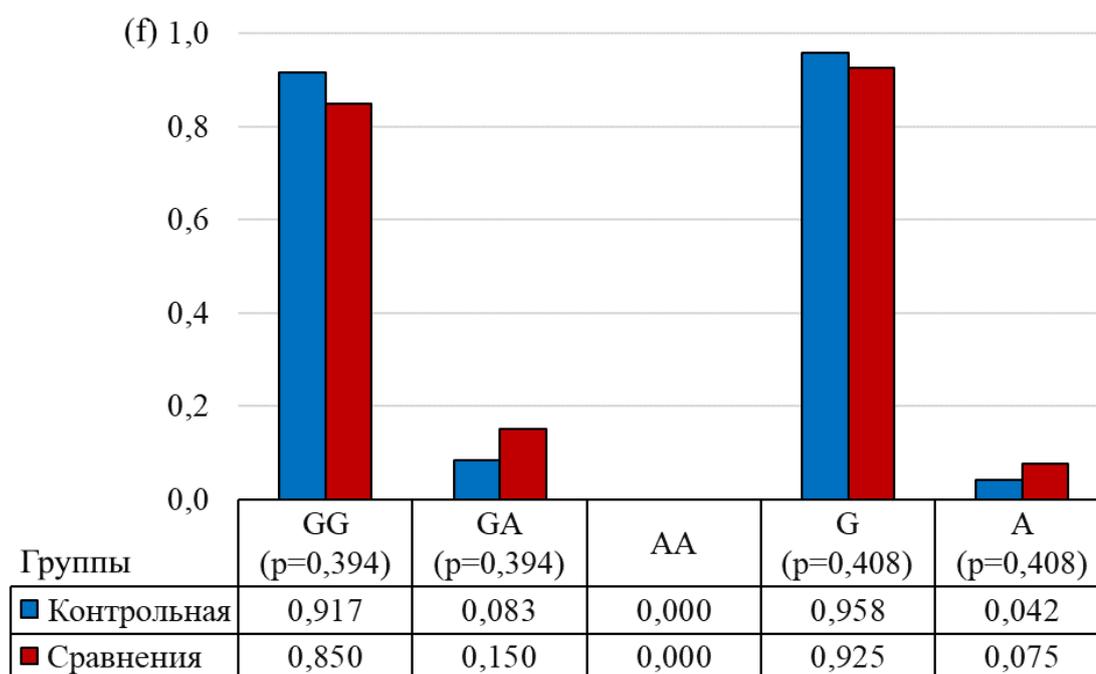


Рис. 5.4.1. Распределение генотипов и аллелей rs5743708 гена TLR2 по группам и статистическая значимость различий между ними (p) по критерию ТМФ₂.

Из вышесказанного следует что, результаты I A (контрольной) группы как по распределению генотипов, так и аллелей соответствовали данным Программы 1000 Genomes Project Phase 3 для европейской популяции. Определение статистической достоверности различий в распределении частот в европейской популяции и нашем исследовании показало следующие результаты: для генотипов $\chi^2=1,390$; $p=0,238$, для аллелей $\chi^2=1,364$; $p=0,243$. Действительно, существенных расхождений результатов исследований не выявлено.

Далее было проведено статистическое сравнение распределения генотипов и аллелей у пациентов I A (контрольной) группы и I Б группы (сравнения). Были проанализированы: общая тенденция частот генотипов и аллелей, частотные разницы, которые указывали на влияние генотипов и аллелей на длительность течения процессов заживления ран, и для различий, значимых по критерию χ^2 , рассмотрены отношения шансов и 95 % доверительный интервал, т.е., ассоциация со скоростью заживления ран или генетический риск скорости пролиферации и рубцевания раневого дефекта.

Как свидетельствовали данные, представленные в графике и таблице рис. 6.4.1, отмечено недостоверное уменьшение частоты дикого генотипа G/G (в 1,08 раза; $p=0,394$) в группе I Б в сравнении с группой I А (контрольной). Увеличение частоты гетерозиготного генотипа G/A (в 1,8 раза; $p=0,394$) в группе I Б в сравнении с группой I А (контрольной) не являлось статистически достоверным. Для минорного генотипа A/A как в I А (контрольной) группе, так и в группе I Б не определены носители среди пациентов, что было характерно и для европейской популяции. Распределение полиморфных аллелей rs5743708 гена TLR2 показало, что у больных I А и I Б групп статистических различий не выявлено ($p=0,408$).

Тест Харди-Вайнберга для контролей и случаев соответствовал случайному характеру наследования генотипов ($\chi^2=0,113$; $p=0,987$ и $\chi^2=0,394$; $p=0,857$, соответственно).

Далее было проанализировано влияние частот генотипов и аллелей rs5743708 гена TLR2 на наличие групповых различий, отражающих сроки лечения ран в специализированном стационаре (табл. 5.4.1).

Таблица 5.4.1

Распределение генотипов rs5743708 гена TLR2 по группам и их ассоциация с наличием групповых различий (длительностью стационарного лечения)

Генотипы	Группа сравнения (I Б группа) (n=60)	Контрольная группа (I А группа) (n=60)	χ^2	p	ОШ	95% ДИ
GG	51 (0,850)	55 (0,917)	1,283	0,257	0,51	0,16-1,63
GA	9 (0,150)	5 (0,083)			1,94	0,61-6,18
AA	0 (0,000)	0 (0,000)			-	-
Аллели	n=120	n=120				
G	111 (0,925)	115 (0,958)	1,209	0,272	0,54	1,17-1,65
A	9 (0,075)	5 (0,042)			1,86	0,61-5,74

Примечания:

Формат отображения данных: n (%);

χ^2 – критерий Пирсона;

p – достоверность различий между группами.

ОШ – отношение шансов;

95% ДИ – 95% доверительный интервал для ОШ.

Анализ влияния генотипов rs5743708 гена TLR2 по таблице сопряженности (3x3) показал отсутствие статистической значимости их связи с длительностью лечения в исследуемых группах ($\chi^2=1,283$; $p=0,257$). Сравнение частот аллельного полиморфизма G и A в таблице сопряженности (2x2), в свою очередь, указывало на отсутствие статистической значимости их влияния на длительность стационарного лечения ожоговых ран ($\chi^2=1,209$; $p=0,272$).

Одним из основных механизмов TLR2 является, в первую очередь, узнавание и взаимодействие с PAMPs (Pathogen-associated molecular patterns) с проведением индукционного сигнала, указывающего на присутствие патогена и ведущего к активации защитных неспецифических реакций при раневом процессе. Выявление в наших исследованиях гетерозиготного генотипа G/A с минимальными частотами в группах (I A – 0,083 и I B – 0,150), отсутствие минорной аллели A в обеих группах, может способствовать меньшей экспрессии толл-подобного рецептора и ограничению его патологического эффекта. Аллель A негативно влияет на проведение сигнала в клетку при активации рецептора посредством PAMPs, т. е., в организме при наличии минорной аллели может наблюдаться пониженное содержание медиаторов воспаления, что увеличивает риск генерализованного развития инфекции с септическими осложнениями.

5.5. Связь полиморфизма rs3775291 гена TLR3 с длительностью и характером течения раневого процесса

В данном разделе проанализированы результаты распределения частот генотипов и аллелей rs3775291 гена TLR3 у больных. Также изучена связь полиморфизма rs3775291 гена TLR3 с длительностью стационарного лечения, а, именно, скоростью течения раневого процесса и эффективным заживлением.

Сравнение результатов распределения генотипов и аллелей в I A (контрольной) группе пациентов в проведенном нами исследовании (см. рис. 5.5.1) и результатами Программы 1000 Genomes Project Phase 3

(<http://www.internationalgenome.org/>) для европейской популяции показало, что дикий генотип С/С в европейской популяции имел частоту 0,447 (в наших исследованиях – 0,517), гетерозиготный вариант генотипа С/Т – 0,457 (в наших исследованиях – 0,400), вариант минорной гомозиготы Т/Т распределялся с частотой – 0,095 (в наших исследованиях – 0,082). Итак, результаты проведенного нами исследования сходились с данными частот для европейской популяции.

Сравнение распределения аллелей пациентов I A (контрольной) группы с данными Программы 1000 Genomes Project Phase 3 (<http://www.internationalgenome.org/>) для европейской популяции выявило следующее. Аллель дикого типа С в европейской популяции определялась с частотой 0,676 (в наших исследованиях – 0,717), минорная аллель Т – 0,324 (в наших исследованиях – 0,324). Таким образом, результаты распределения генотипов и аллелей у пациентов I A (контрольной) группы соответствовали распределению генотипов и аллелей для европейской популяции по данным Программы 1000 Genomes Project Phase 3.

Определение статистической достоверности различий в распределении частот в европейской популяции и нашем исследовании показало следующие результаты: для генотипов $\chi^2=1,040$; $p=0,595$, для аллелей $\chi^2=0,765$; $p=0,382$, что указывало на отсутствие расхождений с результатами исследований.

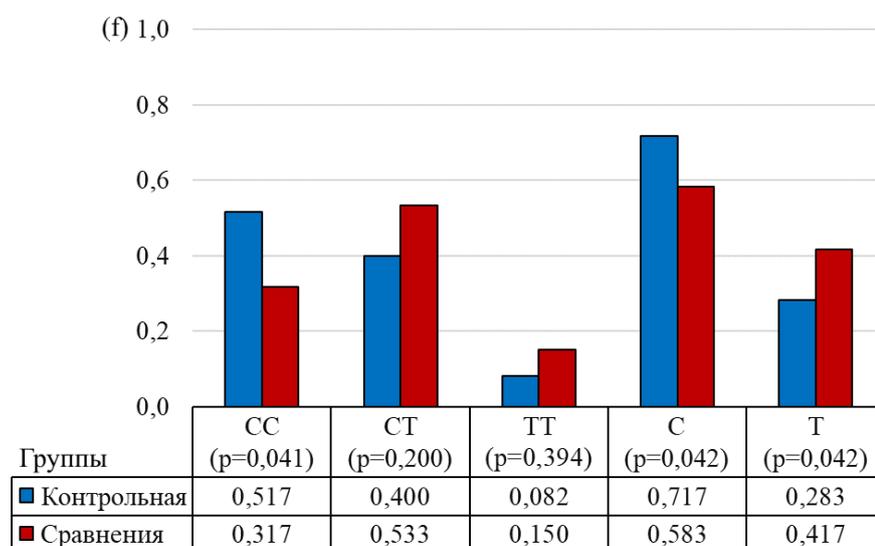


Рис. 5.5.1. Распределение генотипов и аллелей rs3775291 гена TLR3 по группам и статистическая значимость различий между ними (p) по критерию $TM\Phi_2$.

У больных IB группы в сравнении с IA (контрольной) группой (рис. 5.5.1) были отмечены следующие статистически значимые различия: уменьшение частоты гомозиготного генотипа дикого типа C/C в 1,64 раза ($p=0,041$), аллели C в 1,23 раза ($p=0,042$) и увеличением частоты минорной аллели T в 1,47 раза ($p=0,042$). Увеличение частоты гетерозиготного генотипа C/T в 1,3 раза ($p=0,2$) и минорного гомозиготного генотипа T/T в 1,83 раза ($p=0,394$) не имело статистической достоверности.

Результаты изучения влияния распределения частот генотипов и аллелей полиморфизма rs3775291 гена TLR3 на характер течения раневого процесса у обожженных больных и степень их ассоциации с длительностью стационарного лечения и эффективного заживления представлены в таблице 6.5.1.

Тест Харди-Вайнберга для контролей и случаев соответствовал случайному характеру наследования ($\chi^2=0,014$; $p=1,037$ и $\chi^2=0,566$; $p=0,787$, соответственно).

Таблица 5.5.1

Распределение генотипов rs3775291 гена TLR3 по группам и их ассоциация с наличием групповых различий (длительностью стационарного лечения)

Генотипы	Группа сравнения (IB группа) (n=60)	Контрольная группа (IA группа) (n=60)	χ^2	p	ОШ	95% ДИ
CC	19 (0,317)	31 (0,517)	5,166	0,076	0,43	0,21-0,91
CT	32 (0,533)	24 (0,400)			1,71	0,83-3,54
TT	9 (0,150)	5 (0,082)			1,94	0,61-6,18
Аллели	n=120	n=120				
C	70 (0,583)	86 (0,717)	4,669	0,031	0,55	0,32-0,95
T	50 (0,417)	34 (0,283)			1,81	1,05-3,09

Примечания:

Формат отображения данных: n (%);

χ^2 – критерий Пирсона;

p – достоверность различий между группами.

ОШ – отношение шансов;

95% ДИ – 95% доверительный интервал для ОШ.

Анализ результатов влияния генотипов, приведенный в таблице сопряженности (3x3) показал, что полиморфизм rs3775291 не имел связи с наличием различий между группами I А и I Б, а именно, с длительностью заживления ран и лечения в специализированном стационаре ($\chi^2=5,166$; $p=0,076$). Сравнение частот аллелей показало, что $\chi^2=4,67$; $p=0,031$, показало наличие связи аллельного полиморфизма rs3775291 с длительностью процессов репаративной регенерации и, соответственно, со сроками лечения. Минорная аллель Т в 1,8 раза увеличивала шансы развития осложнений и длительного течения процесса заживления (ОШ=1,81; 95% ДИ 1,05-3,09), тогда как аллель дикого типа С уменьшала шансы развития осложнений раневого процесса в 1,8 раза (ОШ=0,55; 95% ДИ 0,32-0,95).

Так как минорная аллель Т увеличивала шансы длительного заживления ран с осложненным течением раневого процесса, то ее наличие можно было рассматривать как фактор риска репаративной регенерации ран, вызванных травмой, а наличие аллели дикого типа С указывало на протективную роль в механизмах эффективной репарации.

5.6. Связь полиморфизма rs4986790 гена TLR4 с длительностью и характером течения раневого процесса

Данный раздел посвящен определению роли полиморфизма rs4986790 гена TLR4 в развитии репаративных процессов при повреждениях, анализу результатов распределения частот генотипов и аллелей rs4986790 гена TLR4 у больных и изучению связи полиморфизма rs4986790 гена TLR4 с длительностью пребывания на стационарном лечении, т.е., скоростью заживления.

При сравнении результатов распределения генотипов и аллелей в I А (контрольной) группе больных в проведенном нами исследовании (см. рис. 5.1) и результатами Программы 1000 Genomes Project Phase 3 (<http://www.internationalgenome.org/>) для европейской популяции было выявлено, что дикий генотип А/А в европейской популяции имел частоту 0,893

(в наших исследованиях – 0,817), гетерозиготный вариант генотипа A/G – 0,101 (в наших исследованиях – 0,183), вариант минорной гомозиготы G/G определен с частотой – 0,006 (в наших исследованиях – 0,000). Таким образом, результаты частотного анализа исследованных нами генотипов имели сходные данные с частотами для европейской популяции.

При сравнении распределения аллелей пациентов I A (контрольной) группы (рис. 5.6.1) с данными Программы 1000 Genomes Project Phase 3 (<http://www.internationalgenome.org/>) для европейской популяции выявило следующее. Аллель дикого типа A в европейской популяции определялась с частотой 0,943 (в наших исследованиях – 0,908), минорная аллель G – 0,057 (в наших исследованиях – 0,092). Таким образом, данные по распределению частот генотипов и аллелей у пациентов I A (контрольной) группы соответствовали распределению частот генотипов и аллелей для европейской популяции по данным Программы 1000 Genomes Project Phase 3.

Определение статистической достоверности различий в распределении частот в европейской популяции и нашем исследовании показало следующие результаты: для генотипов $\chi^2=1,040$; $p=0,595$, для аллелей $\chi^2=0,765$; $p=0,382$, что указывало на отсутствие расхождений с результатами проведенных нами исследований.

При анализе частот генотипов и аллелей в европейской популяции и контрольной группе нашего исследования были получены следующие результаты: для генотипов $\chi^2=3,976$; $p=0,137$, для аллелей $\chi^2=0,440$; $p=0,507$, свидетельствующие о сопоставимости результатов исследований.

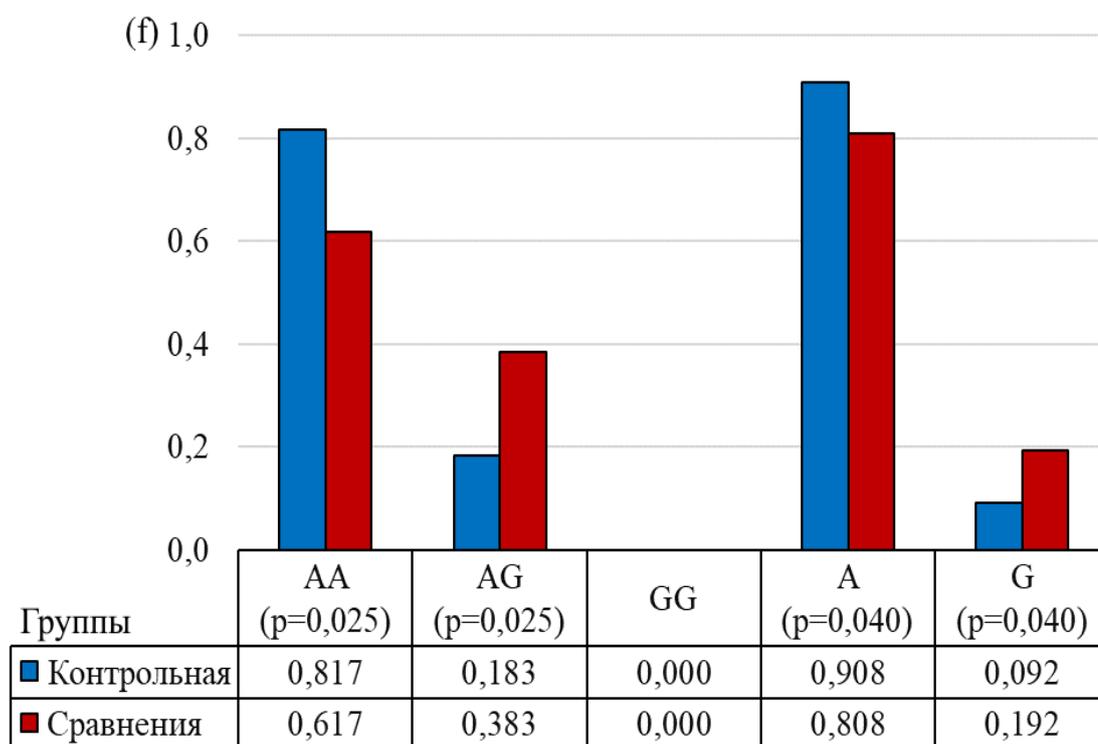


Рис. 5.6.1. Распределение генотипов и аллелей rs4986790 гена TLR4 по группам и статистическая значимость различий между ними (p) по критерию ТМФ₂.

У пациентов I А (контрольной) и I Б групп (рис. 6.6.1) выявлены следующие статистически значимые различия: уменьшение частоты гомозиготного генотипа дикого типа А/А в 1,3 раза (p=0,025), аллели А в 1,12 раза (p=0,04) и увеличение частоты гетерозиготного варианта А/Г в 2,1 раза (p=0,025) минорной аллели G в 2,09 раза (p=0,042). В I А и I Б группах пациентов при генотипировании минорный генотип G/G не обнаружен.

Далее было рассчитано влияние распределения частот генотипов и аллелей (табл. 5.6.1) на характер течения раневого процесса у больных и степень их ассоциации с длительностью лечения в стационаре и скоростью эффективного заживления ран.

Тест Харди-Вайнберга для контролей и случаев соответствовал случайному характеру наследования ($\chi^2=0,611$; p=0,769 и $\chi^2=3,373$; p=0,193, соответственно).

Таблица 5.6.1

Распределение генотипов rs4986790 гена TLR4 по группам и их ассоциация с наличием групповых различий (длительностью стационарного лечения)

Генотипы	Группа сравнения (I Б группа) (n=60)	Контрольная группа (I А группа) (n=60)	χ^2	p	ОШ	95% ДИ
AA	37 (0,617)	49 (0,817)	9,687	0,002	0,36	0,16-0,83
AG	23 (0,383)	11 (0,183)			2,77	1,20-6,39
GG	0 (0,000)	0 (0,000)			-	-
Аллели	n=120	n=120				
A	97 (0,808)	109 (0,908)	4,914	0,027	0,43	1,20-0,92
G	23 (0,192)	11 (0,092)			2,35	1,09-5,07

Примечания:

Формат отображения данных: n (%);

χ^2 – критерий Пирсона;

p – достоверность различий между группами.

ОШ – отношение шансов;

95% ДИ – 95% доверительный интервал для ОШ.

Распределение генотипов и аллелей rs4986790 гена TLR4 в I А и I Б группах сопровождалось появлением связи с длительностью течения раневого процесса и лечением, что и было подтверждено при определении влияния частот генотипов и аллелей на скорость заживления ран (табл. 5.6.1).

Анализ влияния генотипов по таблице сопряженности 3x3 показал наличие связи rs4986790 гена TLR4 с продолжительностью заживления ($\chi^2=9,687$; $p=0,002$). Генотипом риска выявился гетерозиготный генотип A/G, который в 2,77 раза повышал риск длительного пребывания в стационаре (ОШ=2,77; 95% ДИ 1,20-6,39). Минорный генотип G/G не определялся. Дикий генотип A/A снижал шансы неосложненного течения раневого процесса в 2,78 раза (ОШ=0,36; 95% ДИ 0,16-0,83), что указывало на его благоприятный регенераторно-репаративный эффект.

Сравнение частот аллелей по таблице сопряженности 2x2 показал наличие влияния аллельного полиморфизма ($\chi^2=4,914$; $p=0,027$) rs4986790 гена TLR4 на длительность и течение раневого процесса в сравнении с контролем. Минорная аллель G повышала риск более длительного заживления ран в 2,35 раза (ОШ=2,35; 95% ДИ 1,09-5,07), а аллель дикого типа A – понижала риск

продолженного течения раневого процесса в 2,33 раза (ОШ=0,43; 95% ДИ 1,20-0,92).

Таким образом, генетическим фактором риска длительного осложненного течения репаративных процессов являлось наличие в генотипе минорной аллели G полиморфизма rs4986790 гена TLR4 и гетерозиготного варианта генотипа A/G.

Выводы:

1. Гены факторов TGFb1, TNF α , TLR2, TLR3, TLR4 принимают активное участие в воспалительно-регенераторной реакции организма на травму. Наличие у этих генов полиморфизмов rs1800471, rs1800629, rs3775291, rs4986790 и отдельных комбинаций генов в аллелях способно увеличить длительность стационарного лечения пострадавших.
2. Распределение генотипов и аллелей rs1800471 гена TGFb1 ассоциировано с длительным лечением ожоговых ран в стационаре $\chi^2 = 7,100$; $p = 0,029$ и $\chi^2 = 8,677$; $p = 0,003$, соответственно. Наличие генотипов GC и CC, минорной аллели C увеличивало шансы длительного и осложненного течения раневого процесса в 2,14 раза (ОШ = 2,14; 95 % ДИ 0,89-5,14), в 3,83 раза (ОШ = 3,83; 95 % ДИ 0,76-19,26) и в 2,75 раза (ОШ = 2,75; 95 % ДИ 1,38-5,48), соответственно. Наличие аллели C сопровождалось снижением продукции TGFb1 в 1,4 раза и замедленной репарацией ожоговых ран в сравнении с носителями аллели G ($p < 0,001$).
3. Распределение генотипов и аллелей rs1800629 гена TNF α ассоциировано с длительным лечением ожоговых ран в стационаре $\chi^2 = 6,705$; $p = 0,035$ и $\chi^2 = 7,902$; $p = 0,005$, соответственно. Наличие минорной аллели A повышало шансы длительности репарации ран в 2,36 раза (ОШ = 2,36; 95 % ДИ 1,29-4,32), присутствие аллели A в генотипах GA и AA увеличивало шансы длительного лечения ран в 1,7 раза (ОШ = 1,74; 95 % ДИ 0,79-3,81) и 3,35 раза (ОШ = 3,35; 95 % ДИ 0,86-13,07) и обуславливало хроническое течение раневого процесса под влиянием высокого уровня TNF α крови ($p < 0,001$) на протяжении всего периода лечения.

4. Полиморфизмы генов rs3775291 гена TLR3 и rs4986790 гена TLR4 влияют на длительность репаративной регенерации ожоговых ран: для rs3775291 гена TLR3 увеличение риска в 1,81 раза (ОШ = 1,81; 95 % ДИ 1,05-3,09) ассоциировано с минорной аллелью Т ($\chi^2 = 4,67$; $p = 0,031$); для rs4986790 гена TLR4 – с генотипом AG ($\chi^2 = 9,687$; $p = 0,002$) и минорной аллелью G ($\chi^2 = 4,91$; $p = 0,027$) с увеличением риска в 2,77 раза (ОШ = 2,77; 95 % ДИ 1,20-6,39) и в 2,35 раза (ОШ = 2,35; 95 % ДИ 1,09-5,07), соответственно, длительности заживления ран. При анализе rs5743708 гена TLR2 не выявлено значимой связи с длительностью репаративной регенерации.
5. Распределение сочетанных вариантов генотипов и аллелей rs3775291 гена TLR3 и rs4986790 гена TLR4 ассоциировано с течением раневого процесса $\chi^2 = 13,03$; $p = 0,023$ и $\chi^2 = 11,53$; $p = 0,009$, соответственно. Наличие вариантов СТ-AG и ТТ-AG увеличивало шансы длительного заживления ран в 6,51 раза (ОШ = 6,51; 95 % ДИ 1,38-30,79) и 6,56 раза (ОШ = 6,56; 95 % ДИ 1,76-56,22). Комбинация аллелей Т-G увеличивала шансы хронического течения раневого процесса в 6,51 раза (ОШ = 6,51; 95 % ДИ 1,83-22,59). Наличие сочетанных вариантов ТТ-AG и Т-G сопровождалось статистически значимо меньшим уровнем IL-6, IL-10 и IFN γ в крови ($p < 0,001$), в сравнении с генетическими вариантами, содержащими аллели дикого типа С и А, в течение всего периода лечения ран.

ГЛАВА 6

МАТЕМАТИЧЕСКОЕ ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ТЕЧЕНИЯ РАНЕВОГО ПРОЦЕССА

Практическое использование результатов молекулярно-генетических исследований, как правило реализуется через построение индивидуальных генетических прогнозов, основанных на разработке математических моделей, способных рассчитывать те или иные особенности течения заболевания, его осложнений, а также эффективности лечения. При этом высокая точность и долгосрочная актуальность таких прогнозов основывается на стабильности и неизменности на протяжении жизни человека его генотипа.

Результаты проведенного исследования подтвердили наличие ассоциативной связи между полиморфными генотипами генов TGFB1, TNF, TLR-3 и TLR-4, являющихся детерминантами репаративных процессов и длительностью стационарного лечения изучаемого контингента больных. На этом основании, казалось вполне целесообразным разработать математическую модель для прогнозирования вероятности длительного срока госпитального этапа лечения, на основе индивидуальной комбинации полиморфных генотипов указанных генов.

Для построения прогностической модели использована технология многофакторной логистической регрессии с пошаговым включением независимых переменных из программного пакета GLZ (Statistica 10, StatSoft, Inc. США). В анализ были включены все пациенты групп 1А и 1Б, которые по клиническим характеристикам травмы были относительно однородными. Как было указано ранее в 1А группу вошли 60 больных с коротким сроком госпитального лечения: от 7 до 10 суток. Группу 1Б составили 60 пациентов с длительностью стационарного лечения от 19 до 48 суток.

Учитывая особенности формирования групп при разработке логистической модели в качестве зависимой переменной уравнения регрессии использовали переменную идентификатора группы (ID). Последнюю конвертировали в

биномиальный показатель следующим образом: у всех пациентов 1А группы идентификатору присваивали индикаторное значение «0» (ID=0), что соответствовало менее продолжительному периоду стационарного лечения; у пациентов 1Б группы – «1» (ID=1). Этот индикатор характеризовал более длительный срок госпитального этапа.

В качестве независимых переменных при построении регрессионного уравнения были использованы индикаторные значения полиморфных генотипов генов TGFB1, TNF, TLR-3 и TLR-4. Конвертацию категориальных показателей генотипирования в индикаторные осуществляли следующим образом: для rs1800471 гена TGFB1 генотипу GG присваивали значение «101» (GG=101); генотипу GC – «102» (GC=102); генотипу CC – «103» (CC=103). Аналогичным образом делали преобразования для генотипов остальных генов: rs1800629 гена TNF (GG=101; GA=102; AA=103); rs3775291 гена TLR-3 (CC=101; CT=102; TT=103) и rs4986790 гена TLR-4 (AA=101; AG=102; GG=103).

Отбор оптимальных предикторов осуществляли по методу максимального правдоподобия. Эффективность последних, оценивалась интервальным методом на основе статистики Вальда (Wald), а общую адекватность модели – с использованием диаграммы операционной характеристики (ROC), по которой рассчитывали площадь под ROC-кривой – AUC, ее ошибку и 95% доверительный интервал (95% ДИ). Кроме этого для модели вычисляли коэффициент максимального правдоподобия (Log-Likelihood) и χ^2 .

Результат расчетов β -коэффициентов для независимых переменных (предикторов) логистической регрессии и их статистическая значимость представлены в таблице 6.1.

Степень влияния предикторов на зависимую переменную определенная по абсолютным значениям их β -коэффициентов указала на наибольший удельный вес в прогнозе длительной госпитализации индикаторных значений генотипа rs1800629 гена TNF и наименьший – генотипа rs4986790 гена TLR-4, а именно:

$$TNF |1,394| > TGFB1 |1,200| > TLR-3 |1,021| > TLR-4 |0,703|$$

Таблица 6.1

Коэффициенты предикторов регрессионной модели прогнозирования вероятности длительной госпитализации и их статистическая значимость

Предиктор	$\beta \pm SE$	Wald	95% ДИ	p
Генотип rs1800471 гена TGFB1	1,200±0,367	10,69	0,481-1,918	0,001
Генотип rs1800629 гена TNF	1,394±0,376	13,77	0,658-2,130	<0,001
Генотип rs3775291 гена TLR-3	1,021±0,362	7,96	0,312-1,731	0,005
Генотип rs4986790 гена TLR-4	0,730±0,047	6,12	0,637-0,822	0,013
Постоянная	-440,805±94,167	21,91	-(625,369-256,241)	<0,001

Примечания:

- $\beta \pm SE$ – коэффициенты регрессионного уравнения и их стандартная ошибка;
- Wald – статистика Вальда;
- 95% ДИ – 95% доверительный интервал для коэффициентов;
- p – достоверность различий с нулевой гипотезой (принимается при $p < 0,05$).

При этом знаки β -коэффициентов указывали на прямую зависимость итоговой переменной уравнения от индикаторных значений предикторов. Степень влияния предикторов на зависимую переменную была оценена в процентном отношении согласно формулы:

$$d_k = \frac{\beta_k^2 * 100\%}{\sum_{i=1}^n \beta_i^2}$$

- где: d – влияние предиктора на зависимую переменную регрессии в %;
- β – β -коэффициенты регрессии;

Полученные результаты были следующими: индикаторные значения генотипа rs1800629 гена TNF оказывали влияние на расчет вероятности прогноза длительной госпитализации пациентов с травмой на 39,19 %, генотипа rs1800471 гена TGFB1 – на 29,04 %, генотип rs3775291 гена TLR-3 – на 21,02 % и генотипа rs4986790 гена TLR-4 – на 10,75 %. При этом вероятность длительной госпитализации была выше у пациентов при наличии в генотипах аллелей риска.

Принимая во внимание результаты регрессионного анализа в качестве математического выражения разработанной модели прогноза длительного

стационарного лечения может быть использована формула в следующей редакции:

$$P_{\text{дг}} = 1/(1+e^{-(440,805+1,200*TGFB1+1,394*TNF+1,021*TLR3+0,730*TLR4)}),$$

где: $P_{\text{дг}}$ – вероятность длительной госпитализации;
 TGFB1 – индикаторное значение генотипа rs1800471 гена TGFB1 (GG=101; GC=102; CC=103);
 TNF – индикаторное значение генотипа rs1800629 гена TNF (GG=101; GA=102; AA=103);
 TLR3 – индикаторное значение генотипа rs3775291 гена TLR-3 (CC=101; CT=102; TT=103);
 TLR4 – индикаторное значение генотипа rs4986790 гена TLR-4 (AA=101; AG=102; GG=103).

Адекватность разработанной регрессионной модели характеризует диаграмма операционной характеристики (ROC) представленная на рис. 6.1. Значимость связи между предикторами и итоговой переменной разработанной модели описывают следующие параметры: $AUC=0,782 \pm 0,043$ (95% ВИ 0,659-0,818). Эти показатели статистически значимо отличались от 0,5 (значение AUC, принятое для нулевой гипотезы) – $p < 0,001$. Коэффициент максимального правдоподобия модели: $\text{Log-Likelihood} = -67,06$; $\chi^2 = 116,96$.

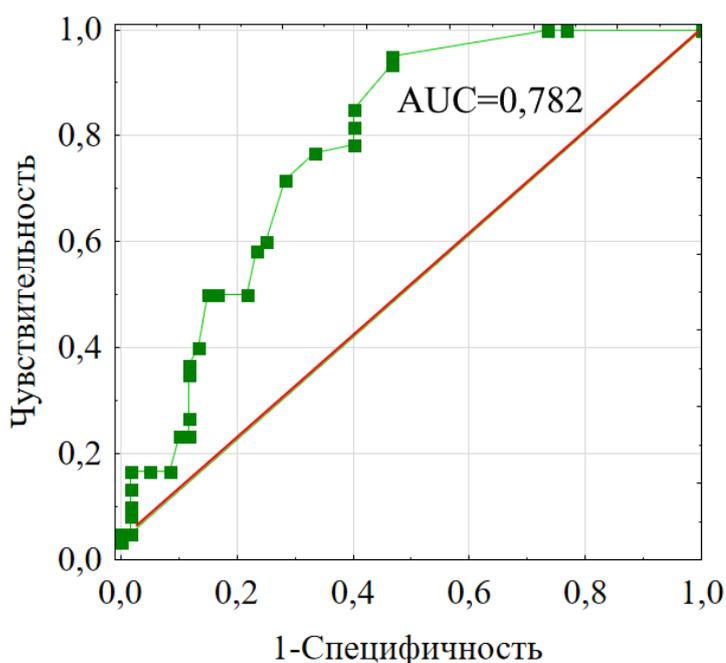


Рис. 6.1. ROC-диаграмма для модели расчета вероятности длительной госпитализации. Красной линией отмечена граница нулевой гипотезы ($AUC=0,5$).

Следует отметить, что логистические модели, решающие вопросы бинарной классификации, всегда требуют критической оценки значения точки отсечения (cut-off) на вероятностной кривой, которая разделяет два класса результатов, а именно негативный и позитивный прогнозы изучаемого события. Для нашей модели это относительно короткий и длительный сроки госпитального лечения, соответственно. С целью определения точки отсечения была проведена оценка баланса между чувствительностью, специфичностью и точностью прогноза разработанной регрессионной модели. Результат анализа представлен на диаграмме (рис. 6.2).

Как следует из представленной диаграммы точка равновесия чувствительности, специфичности и точности логистической регрессионной модели соответствует значению вероятности $P_x=0,534$. Увеличение значения точки отсечения выше указанного приведет к снижению безошибочного прогноза случаев с длительным стационарным лечением и, в то же время, повысит правильность прогноза для непродолжительного периода госпитализации. Уменьшение значения точки отсечения приведет к противоположному результату. В этой связи на диаграмме было найдено такое граничное значение вероятности, при котором существенно возрастает безошибочность прогноза длительной госпитализации без существенной потери показателя точности системы в целом – $Р_{opt.}=0,417$.

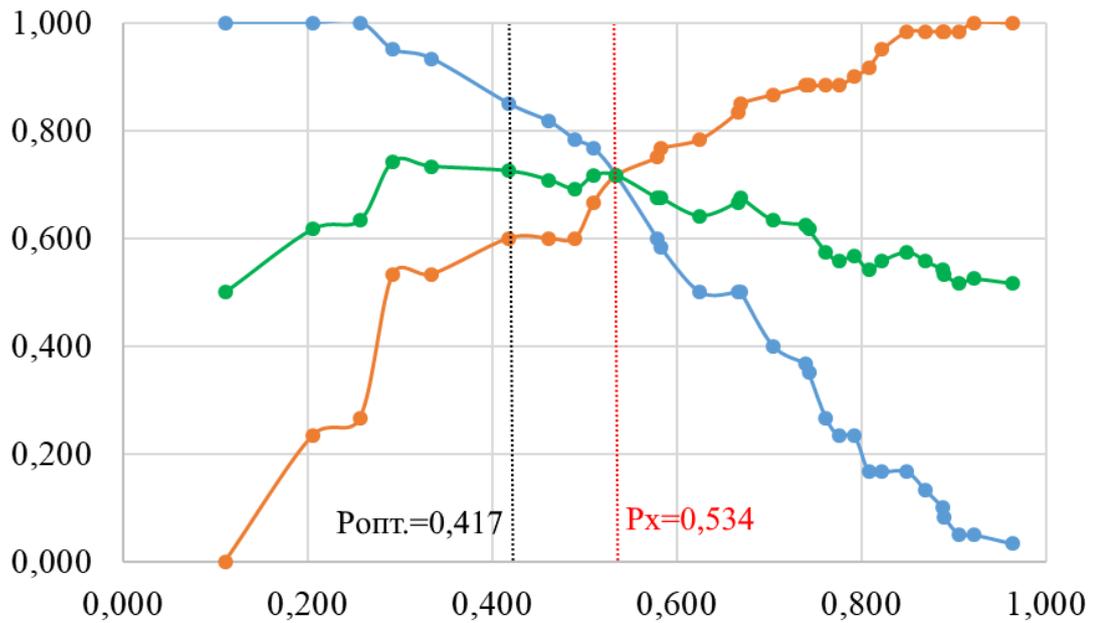


Рис. 6.2. Зависимость чувствительности, специфичности и точности от вероятности длительного стационарного лечения.

Чувствительность (изображено голубым цветом), специфичность (оранжевым), точность (зеленым), значения отложены по вертикальной оси;

Вероятность длительного стационарного лечения отложены по горизонтальной оси.

Граница вероятности для точки равновесия системы $P_x=0,534$, отмечена красной пунктирной линией. Граница оптимальной вероятности $P_{opt.}=0,417$, отмечена черной пунктирной линией.

Классификационные характеристики модели для точки равновесия и оптимальной точки приведены в таблице 6.2.

Таблица 6.2

Классификационные характеристики регрессионной модели прогнозирования
длительного стационарного лечения

Cut-off	Прогноз	Факт, n	Прогноз, n	Правильность прогноза, %	Точность модели, %
Rx=0,534	Длительная госпитализация	60	43	71,67 %	71,67 %
	Менее длительная госпитализация	60	43	71,67 %	
Ropt.=0,417	Длительная госпитализация	60	51	85,00 %	75,00 %
	Менее длительная госпитализация	60	39	65,00 %	

Примечания:

Cut-off – значение вероятности для точки разделяющей данные прогноза;
Длительная госпитализация – 19-48 суток (пациенты 1Б группы);
Менее длительная госпитализация – 7-10 суток (пациенты 1А группы).

Таким образом, проведенный анализ показал, что при использовании в качестве точки отсечения значения Ropt.=0,417 может быть достигнуто 85,0 % безошибочное прогнозирование длительного госпитального лечения при общей точности разработанной регрессионной модели 75,0%.

Прогнозирование значений показателя длительности госпитализации (койко-день) и количества выполненных операций на основе общеклинических данных и результатов генотипирования. Разработка математических моделей способных прогнозировать особенности клинического течения заболевания у каждого конкретного пациента в настоящее время является неотъемлемой частью обеспечения эффективной медицинской помощи. Несмотря на значительный объем работ, проведенных в этом направлении, создание прогностических моделей для отдельных лечебных учреждений остается актуальной в связи с существованием объективных факторов, лежащих в основе особенностей и различий в организации их работы. В связи с этим, разработка прогностических алгоритмов на основе массива данных, полученных в пределах отдельных медицинских объединений, призвана обеспечить высокую точность

прогноза и повысить эффективность лечебно-диагностического процесса в целом.

Результаты проведенного исследования подтвердили наличие взаимосвязей между общеклиническими показателями, характеризующими тяжесть и течение патологического процесса и данными генотипирования генов TGFB1, TNF α , TLR-3 и TLR-4, механизмы действия которых, как было установлено, распространяются на процессы репарации. Было также определено, что сочетания полиморфных генотипов ассоциированы с длительностью стационарного лечения больных, что нашло свое практическое использование в разработке математической модели для индивидуального генетического прогноза длительной госпитализации.

Далее была предпринята попытка разработки моделей прогнозирования двух важных клинических показателей, характеризующих течение болезни и выздоровления пациентов, к которым мы отнесли длительность стационарного лечения – показатель койко-дня и общее количество выполненных операций.

Для построения прогностической модели использована технология множественной линейной регрессии из программного пакета Statistica 10 (StatSoft, Inc. США). В анализ были включены пациенты, отобранные из первой группы. Из массива данных были исключены пациенты, доставленные спустя 48 часов с момента получения травмы и имеющие сроки лечения менее 7 суток, как не прошедшие полный цикл терапевтических и хирургических методов лечения по причинам немедицинского характера, а также больные находящиеся на лечении более 90 суток. Из анализа были также исключены пациенты, срок стационарного лечения которых был уникальным (т.е. встречался в выборке единожды) и мог быть отнесен в категорию случайных значений. Таким образом, были отобраны 256 больных в возрасте 39,0 (31,0; 49,5) лет, среди них 209 мужчин (81,64 %) и 47 женщин (18,36 %). Длительность доставки пациентов в стационар составила 3,0 (2,0; 8,5) часов. В состоянии средней тяжести поступили 16 пациентов (6,25 %), в средне-тяжелом состоянии – 148 пациентов (57,81 %) и

в тяжелом состоянии – 92 (35,94 %). Длительность стационарного лечения составила 14,0 (9,50; 23,5) койко-дней.

Сравнение общеклинических показателей у пациентов первой группы с описанной выше выборкой представлены в таблице 6.3. Анализ данных показал отсутствие статистических различий между общеклиническими данными пациентов первой группы в сравнении с аналогичными показателями у пациентов, отобранных для проведения регрессионного анализа, что указывает на репрезентативность сформированной выборки ($p > 0,05$ во всех сравнениях). В этом аспекте следует также отметить отсутствие различий в распределении количества проведенных операций между группами ($\chi^2 = 4,52$; $p = 0,868$).

Таблица 6.3

Общеклинические показатели пациентов

Показатели		1 группа все пациенты (n=346)	1 группа отобранные (n=256)	Критерии сравнения
Пол	М	279 (80,64 %)	209 (81,64 %)	$\chi^2 = 0,10$; $p = 0,756$
	Ж	67 (19,36 %)	47 (18,36 %)	
Тяжесть при поступле-нии	Средней тяжести	40 (11,56 %)	16 (6,25 %)	$\chi^2 = 5,87$; $p = 0,053$
	Средне-тяжелое	201 (58,09 %)	148 (57,81 %)	
	Тяжелое, крайне тяжелое	105 (30,35 %)	92 (35,94 %)	
Возраст, лет		38,0 (31,0; 47,0)	39,0 (31,0; 49,5)	$Z = 0,233$; $p = 0,815$
Длительность доставки в стационар, часы		3,0 (2,0; 12,0)	3,0 (2,0; 8,5)	$Z = 1,44$; $p = 0,150$
Длительность стационарного лечения, сутки		12,0 (8,0; 21,0)	13,0 (9,5; 22,5)	$Z = 1,93$; $p = 0,057$

Примечания:

Формат отображения для номинальной переменной: - n (%);

Формат отображения для количественных переменных: Me (Q1; Q3);

χ^2 – критерий Пирсона;

Z – z-статистика для критерия Манна-Уитни;

p – достоверность различий между группами (принимается при $p < 0,05$).

Отбор предикторов регрессионных уравнений осуществляли из числа

переменных, доступных для получения и регистрации в течении 1-2 суток после поступления пациентов в стационар, а именно: «Пол» пациента (для расчетов использована биномиальная переменная: М – мужчины; Ж – женщины, которым присваивали индикаторные значения: 101 для «М» и 102 для «Ж»); «Возраст» и «Длительность доставки в стационар» (использованы непрерывные значения переменных: годы и часы, соответственно), а также «Тяжесть больного при поступлении» (использованы порядковая переменная со следующими характеристиками: 1 – соответствует состоянию средней тяжести; 2 – средне-тяжелому состоянию и 3 – тяжелому и крайне тяжелому состоянию).

Кроме данных указанных выше, в процесс разработки регрессионных уравнений был включен расчетный показатель $P_{дг}$, характеризующий величину вероятности длительного стационарного лечения пациентов, основанный на данных генотипирования полиморфизмов rs1800471 гена TGFB1, rs1800629 гена TNF α , rs3775291 гена TLR-3 и rs4986790 гена TLR-4. Как было установлено ранее, все значения $P_{дг} \geq 0,417$ в 85,0 % безошибочно прогнозировали длительное госпитальное лечение пациентов.

В контексте разработки моделей, прогнозирующих значение показателя «койко-день» и «количество выполненных операций», было принято решение конвертировать $P_{дг}$ в биномиальный показатель следующим образом: всем значениям $P_{дг} \geq 0,417$ присвоить индикаторное значение «1», характеризующее категорию «Генетически обусловленная длительная госпитализация», связанная с наличием у пациентов аллелей риска, а остальным – «0» – «Менее длительная госпитализация», обусловленная протективным генотипом.

Отбор оптимальных предикторов осуществляли с помощью статистической обработки по методу наименьших квадратов с пошаговым изъятием неэффективных предикторов. Эффективность последних, оценивалась интервальным методом на основе статистики Стьюдента (t – критерий), а общую адекватность модели – с использованием коэффициентов множественной корреляции (R), коэффициента детерминации (R^2) и критерия Фишера (F). С

помощью непараметрической статистики сравнивали фактические и прогнозируемые результаты.

Прогноз значений показателя длительности госпитализации (койко-дня). В качестве зависимой переменной для расчета коэффициентов регрессионного уравнения прогноза значения показателя «койко-день» были использованы непрерывные данные «Длительность стационарного лечения» (сутки).

Результаты первичного отбора предикторов представлены на диаграмме Парето (рис. 6.3).

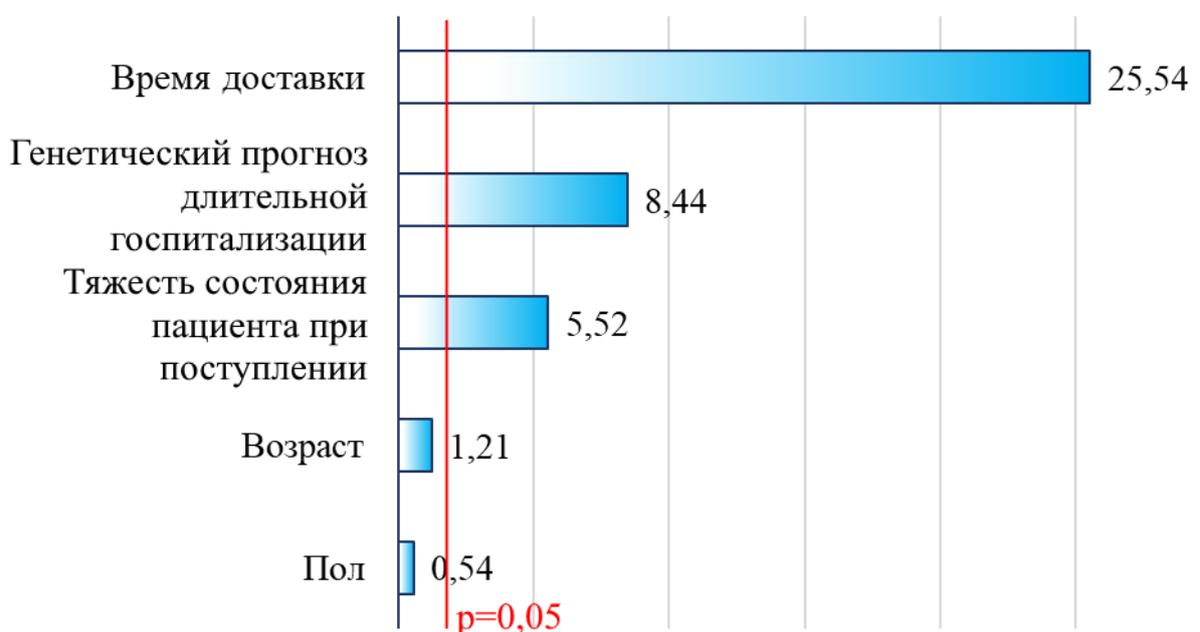


Рис. 6.3. Диаграмма Парето для независимых переменных регрессионного уравнения прогноза величины показателя «Койко-день». Цифрами рядом со столбиками диаграммы указаны абсолютные значения критерия t для соответствующих независимых переменных, включенных в отбор предикторов регрессионного уравнения. Красным пунктиром обозначен предел, соответствующий нулевой гипотезе ($p=0,05$).

В связи с тем, что параметры двух переменных: «Возраст» и «Пол» статистически не отличались от нулевой гипотезы, они были исключены из дальнейшей разработки. Показатели, β -коэффициенты которых удовлетворяли критериям отбора и их характеристики, приведенные в таблице 6.4.

Таблица 6.4

Коэффициенты предикторов регрессионной модели прогнозирования значений показателя «койко-день» и их статистическая значимость

Предиктор	$\beta \pm SE$	t	p
Длительность доставки в стационар	0,533±0,021	25,58	<0,001
Тяжесть при поступлении	4,327±0,782	5,53	<0,001
Генетически обусловленная длительная госпитализация	9,883±1,182	8,36	<0,001
Постоянная	-1,432±0,683	2,25	0,012

Примечания:

$\beta \pm SE$ – коэффициенты регрессионного уравнения и их стандартная ошибка;

t – критерий Стьюдента;

p – достоверность различий с нулевой гипотезой (принимается при $p < 0,05$).

Абсолютные величины коэффициентов регрессии позволили расположить предикторы в ряд по убыванию их относительного вклада в прогнозирование итоговой переменной регрессионного уравнения: «Генетически обусловленная длительная госпитализация» > «Тяжесть при поступлении» > «Длительность доставки в стационар»:

$$|9,883| > |4,327| > |0,533|,$$

при этом знаки коэффициентов демонстрировали прямую связь с итоговой переменной.

Степень влияния предикторов на зависимую переменную была оценена в процентном отношении согласно формулы. В результате расчетов было установлено, что переменная «Генетически обусловленная длительная госпитализация» оказывала влияние на значение показателя «Койко-день» на 83,71 %, «Тяжесть при поступлении» – на 16,05 % и «Длительность доставки в стационар» – на 0,24 %.

Таким образом, формула для расчета величины «койко-день» (КД) может быть представлена следующим образом:

$$\text{КД} = -1,432 + 9,883 \cdot \text{ГП} + 4,327 \cdot \text{ТС} + 0,533 \cdot \text{ДД},$$

где: КД – величина показателя «Койко-день» (сутки), конвертированная в целое число;

ГП – индикаторные значения для генетического прогноза длительной госпитализации: 1 – генетически обусловленная длительная госпитализация; 0 – менее длительная госпитализация, обусловленная протективным генотипом;

ТС – порядковые значения, характеризующие тяжесть состояния пациента при поступлении: 1 – средней тяжести; 2 – средне-тяжелое; тяжести; 3 – тяжелое;

ДД – длительность доставки в стационар (часы).

Исследование основных вычислительных характеристик регрессионного уравнения показало высокую степень влияния предикторов на расчетный показатель: коэффициент множественной корреляции $R=0,916$; коэффициент детерминации, который характеризовал соответствие модели фактическим данным $R^2=0,839$, критерий $F=419,17$ ($p<0,001$).

На рис. 6.4 представлено графическое отображения указанных параметров зависимости между фактическими и расчетными данными.

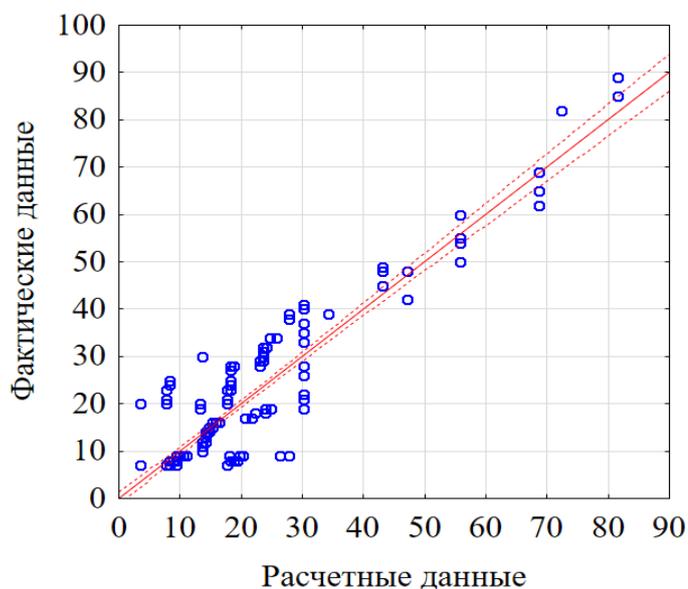


Рис. 6.4. Зависимость между фактическими (изображены голубыми кружками) и расчетными (изображены красной сплошной линией) значениями показателя «Койко-день». Красными пунктирными линиями ограничен 95 % доверительный интервал. Коэффициент детерминации модели $R^2=0,839$.

Описательная статистики фактических данных и результатов прогноза показателя «Койко-день» представлены на рис. 6.5, а анализ их различий в таблице 6.5.

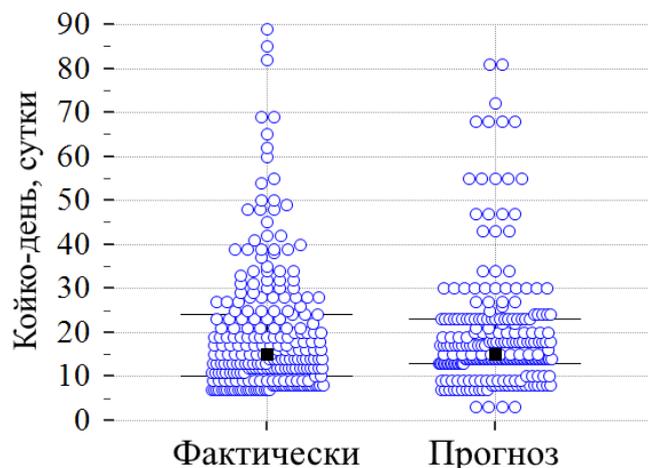


Рис. 6.5. Фактические и прогнозируемые значения показателя «Койко-день». Ме (Q1; Q3) вариационных рядов изображены черными квадратами и линиями, соответственно.

Таблица 6.5

Статистические данные для фактического и прогнозируемого показателя «Койко-день» и различия между ними

Показатели	Фактические данные	Прогноз
Медиана	15	15,25
1-й квартиль	10	13,65
3-й квартиль	24	23,03
Минимальный	7	3,43
Максимальный	89	81,47
Тест Вилкоксона для зависимых переменных	$Z=1,62; p=0,106$	

Проведенный анализ фактических и прогнозируемых разработанной моделью величин показателя «Койко-день» не установил статистических различий между исследуемыми вариационными рядами, что подтверждает

валидность разработанной модели прогнозирования с показателем соответствия $R^2=0,839$.

Прогноз значений показателя «количество выполненных операций». В качестве зависимой переменной для расчета коэффициентов регрессионного уравнения прогноза значений показателя «Количество выполненных операций» были использованы данные «Количество выполненных операций».

Результаты первичного отбора предикторов представлены на диаграмме Парето (рис.6.6).

Анализ диаграммы показал, что параметры переменной «Возраст» статистически не отличались от нулевой гипотезы, в связи с чем этот показатель был исключен из дальнейшей обработки.

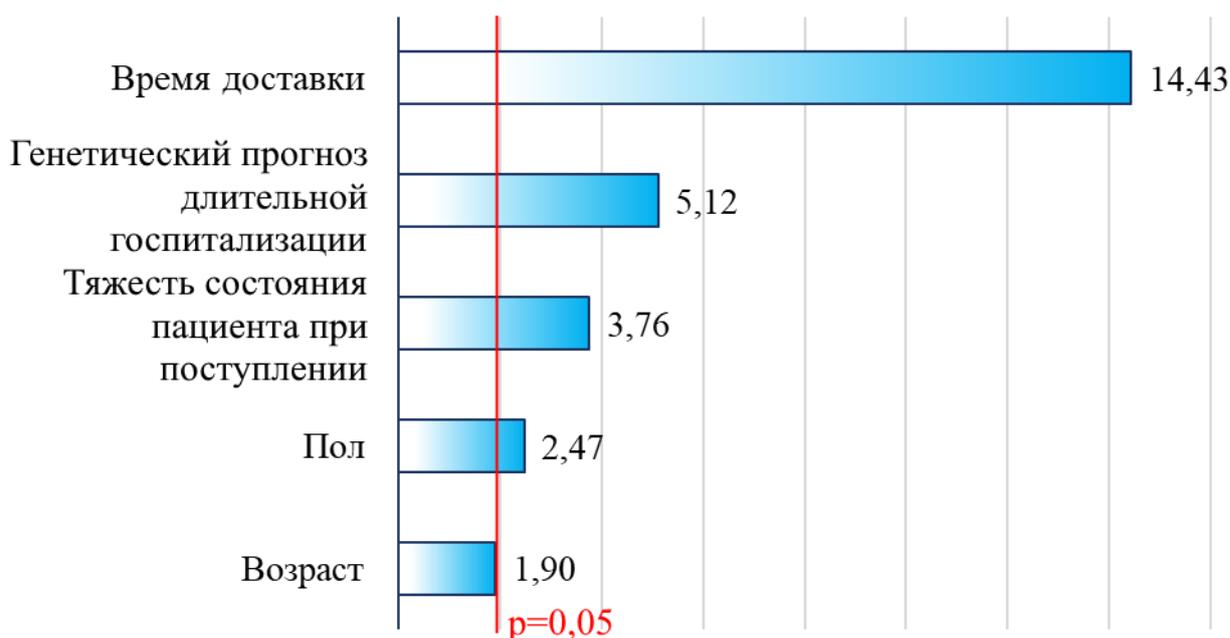


Рис. 6.6. Диаграмма Парето для независимых переменных регрессионного уравнения прогноза величины показателя «Количество выполненных операций». Цифрами рядом со столбиками диаграммы указаны абсолютные значения критерия t для соответствующих независимых переменных, включенных в отбор предикторов регрессионного уравнения. Красным пунктиром обозначен предел, соответствующий нулевой гипотезе ($p=0,05$).

Показатели, удовлетворяющие критериям отбора и их статистические характеристики приведенные в таблице 6.6.

Таблица 6.6

Коэффициенты предикторов регрессионной модели прогнозирования значений показателя «Количество выполненных операций» и их статистическая значимость

Предиктор	$\beta \pm SE$	t	p
Пол	-0,320±0,115	-2,77	0,006
Длительность доставки в стационар	0,041±0,003	14,36	<0,001
Тяжесть при поступлении	0,361±0,096	3,75	<0,001
Генетически обусловленная длительная госпитализация	0,695±1,142	4,89	<0,001
Постоянная	31,754±11,683	2,72	0,007

Примечания:

- $\beta \pm SE$ – коэффициенты регрессионного уравнения и их стандартная ошибка;
- t – критерий Стьюдента;
- p – достоверность различий с нулевой гипотезой (принимается при $p < 0,05$).

Абсолютные величины коэффициентов регрессии позволили расположить предикторы в ряд по убыванию относительно их вклада в прогнозирование искомой переменной регрессионного уравнения: «Генетически обусловленная длительная госпитализация» > «Тяжесть при поступлении» > «Пол» > «Длительность доставки в стационар». Те же данные в цифровом выражении:

$$|0,695| > |0,361| > |-0,320| > |0,041|,$$

при этом знаки коэффициентов регрессии для переменных «Генетически обусловленная длительная госпитализация», «Тяжесть при поступлении» и «Длительность доставки в стационар» указывали на прямую связь с итоговой переменной, а для переменной «Пол» – обратную связь.

Степени влияния предикторов на зависимую переменную в процентном отношении показали, что переменная «Генетически обусловленная длительная госпитализация» оказывала влияние на значение показателя «Количество выполненных операций» на 67,33 %, «Тяжесть при поступлении» – на 18,17 % и «Пол» – на 14,27 % и «Длительность доставки в стационар» – на 0,23 %.

Таким образом, формула для расчета величины «Количество выполненных операций» (КО) может быть представлена следующим образом:

$$КО = 31,754 + 0,695*ГП + 0,361*ТС - 0,320*П + 0,041*ДД,$$

где: КО – величина показателя «Количество выполненных операций» (расчетное значение конвертируется в целое число);

ГП – индикаторные значения для генетического прогноза длительной госпитализации: 1 – генетически обусловленная длительная госпитализация; 0 – менее длительная госпитализация, обусловленная протективным генотипом;

ТС – порядковые значения, характеризующие тяжесть состояния пациента при поступлении: 1 – средней тяжести; 2 – средне-тяжелое; 3 – тяжелое;

П – индикаторные значения, характеризующие пол пациентов: 101 – мужской, 102 – женский;

ДД – длительность доставки в стационар (часы).

Основные вычислительные характеристики регрессионного уравнения прогноза величины показателя «Количество выполненных операций» демонстрировали высокую степень влияния предикторов на расчетный показатель: коэффициент множественной корреляции $R=0,804$; коэффициент детерминации, характеризующий соответствие расчетных данных фактическим: $R^2=0,647$, критерий Фишера, оценивающий значимость уравнения в целом: $F=109,68$ ($p<0,001$).

Графическое отображение зависимости между фактическими и расчетными данными, которые описаны выше, представлено на рис. 6.7.

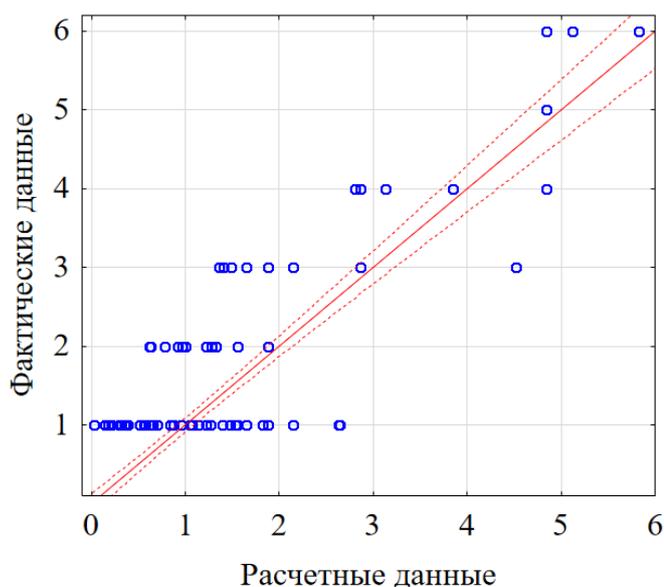


Рис. 6.7. Зависимость между фактическими (голубые кружки) и расчетными данными (красная сплошная линия) показателя «Количество выполненных операций». Красными пунктирными линиями ограничен 95% доверительный интервал. Коэффициент детерминации модели $R^2=0,647$.

Данные описательной статистики для фактических и прогнозируемых значений показателя «Количество выполненных операций» представлены на рис. 6.8, а анализ их различий приведен в таблице 6.7.

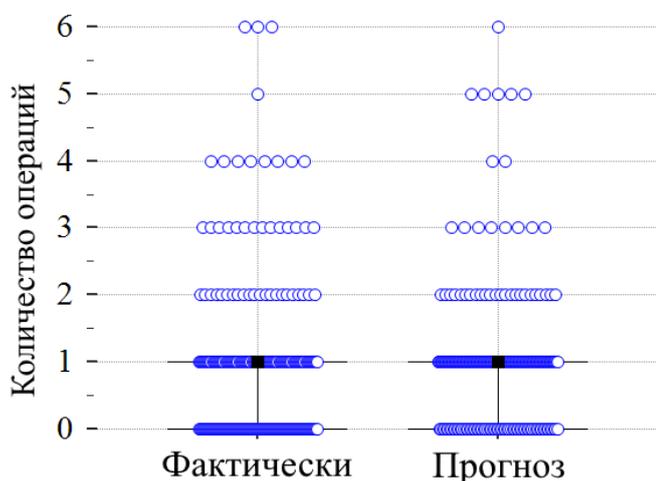


Рис. 6.8. Фактические и прогнозируемые значения показателя «Количество выполненных операций». Ме (Q1; Q3) вариационных рядов изображены черными квадратами и линиями, соответственно.

Таблица 6.7

Распределение фактических и прогнозируемых данных количества выполненных операций и различия между ними

Количество операций	Фактические данные n (%)	Прогноз n (%)
0	112 (43,75 %)	99 (41,02 %)
1	94 (36,72 %)	105 (43,75 %)
2	24 (9,38 %)	23 (8,98 %)
3	14 (5,47 %)	8 (3,13 %)
4	8 (3,13 %)	2 (0,78 %)
5	1 (0,39 %)	5 (1,95 %)
6	3 (1,17 %)	1 (0,39 %)
Всего:	256 (100,00 %)	256 (100,00 %)
Критерий Пирсона	$\chi^2=9,92; p=0,128$	

Проведенный анализ фактических и прогнозируемых значений показателя «Количество выполненных операций» не установил статистических различий

между ними, что подтверждает эффективность разработанной модели прогнозирования с показателем соответствия $R^2=0,647$.

Разработаны математические модели для прогнозирования значений показателей длительности госпитального лечения и количества операций у больных. В качестве предикторов регрессионных уравнений были использованы общеклинические показатели: пол пациента (П), длительность доставки в стационар (ДД) и тяжесть состояния при поступлении (ТС), а также данные генетического прогноза длительности госпитализации (ГП), рассчитанного с использованием результатов генотипирования полиморфизмов rs1800471 гена TGFB1, rs1800629 гена TNF α , rs3775291 гена TLR-3 и rs4986790 гена TLR-4. По степени влияния на показатель длительности госпитализации (койко-день) предикторы расположились следующим образом: ГП (83,71 %) > ТП (16,05 %) > ДД (0,24 %), при этом все показатели демонстрировали прямую связь с итоговой переменной со следующими характеристиками: коэффициент множественной корреляции $R=0,916$; коэффициент детерминации $R^2=0,839$, критерий $F=419,17$ ($p<0,001$). По степени влияния на количество операций предикторы расположились следующим образом: ГП (67,33 %) > ТП (18,17 %) > П (14,27 %) > ДД (0,23 %), при этом все показатели оказывали прямое влияние, тогда как «Пол пациента» – обратное влияние на итоговую переменную с общими параметрами: коэффициент множественной корреляции $R=0,804$; коэффициент детерминации $R^2=0,647$, критерий Фишера $F=109,68$ ($p<0,001$). При сравнении фактических и прогнозируемых значений показателя длительности госпитализации (койко-дня) достоверных различий не обнаружено ($Z=1,62$; $p=0,106$). Аналогичный результат был получен при сравнении распределения частот фактического и прогнозируемого количества выполненных операций ($\chi^2=9,92$; $p=0,128$).

В графическом виде интерфейс модели представлен на рис. 6.9.

$R = 0,804$; коэффициент детерминации $R^2 = 0,647$, критерий Фишера $F = 109,68$ ($p < 0,001$).

3. Разработанная математическая модель имеет общую точность, равную 75 %, чувствительность – 85 % и специфичность – 65 %.

ГЛАВА 7

ОПТИМИЗАЦИЯ ЛЕЧЕБНОЙ ТАКТИКИ С УЧЕТОМ ПРОГНОЗА ИСХОДА ЛЕЧЕНИЯ И ОЦЕНКА ЕЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ

Оптимальным подходом к лечению боевой травмы и ожоговой болезни является одномоментная и окончательная ликвидация всех имеющихся повреждений. Однако, у ряда пострадавших тяжесть состояния, длительность оперативного вмешательства, скорость и этапность доставки в специализированный центр, могут превысить функциональные возможности организма. Кроме того, окончательное, исчерпывающее восстановление поврежденных органов и структур на операционном столе могут привести к развитию тяжелых послеоперационных осложнений как в ближайшем, так и в отдаленном послеоперационном периоде [235, 141, 9].

В связи с этим, в ожоговом центре ИНВХ им. В.К. Гусака было использовано использование тактики запрограммированного многоэтапного хирургического лечения (ЗХМЛ). По данным Гуманенко Е.К. (2008), такой подход полностью себя оправдывает в условиях современных локальных войн и вооруженных конфликтов.

«Damage control surgery» – это запрограммированная многоэтапная хирургическая тактика, направленная на предупреждение развития неблагоприятного исхода ранений и ожогов путем сокращения объема первого оперативного вмешательства и смещения окончательного восстановления поврежденных органов до стабилизации состояния пострадавшего [33, 31, 32].

По данным литературы, хирургическая тактика «damage control surgery» применяется у пострадавших, которые при поступлении в специализированный центр находятся на пределе физиологических компенсаторных функций организма [6, 105, 141, 140]. При этом, в том числе и в ожоговом центре ИНВХ, выполнялись три этапа данной тактики:

1 этап – временная или окончательная остановка кровотечения, временное закрытие ран;

2 этап – интенсивная терапия до стабилизации основных жизненно важных функций организма;

3 этап – повторное оперативное вмешательство, направленное на коррекцию всех выявленных повреждений.

Нами были выделены наиболее важные критерии для применения «damage control surgery» по жизненным показаниям (рис. 7.1):

- повреждение крупных магистральных сосудов;
- наличие обширного глубокого ожога;
- тяжелые сопутствующие повреждения органов и систем при сочетанной и комбинированной травме (переломы костей черепа, таза, мультиорганные повреждения внутренних органов);
- нестабильная гемодинамика, требующая инфузионной поддержки;
- электрическая нестабильность миокарда;
- планируемое длительное оперативное вмешательство (более 90 минут).



Рис. 7.1. Раненные, поступившие в отделение

Кроме того, нами учитывались и медико-социальные показатели:

- массовое поступление пострадавших;
- ограниченность сил и средств при медикаментозной поддержке пострадавшего.

После выполнения первого этапа, т.е. ликвидации непосредственной угрозы жизни пациента, проводился второй этап ЗХМЛ, включающий в себя проведение интенсивной терапии [173, 182, 194].

Основное место в интенсивной терапии занимала инфузионная терапия. Главные принципы раннего инфузионного лечения пациентов – это как можно более быстрое восстановление значительных потерь воды, белка и электролитов и ОЦК [291, 333, 337, 20, 49, 67].

Расчет трансфузионно-инфузионной терапии проводился по формуле: в первые 24 часа: 5000 мл в сутки + раствор Рингера 2000 мл в сутки. Половина от рассчитанного количества вводилась на протяжении первых восьми часов со времени травмы и последняя половина вводилась в следующие 16 часов. Это являлось только компенсацией фактических потребностей, которая должна быть привязанная к адекватному диурезу (0,5-1 мл/кг/час).

Соблюдалось правило четырех катетеров: катетер в центральной вене (или в 1-2 периферических венах), мочевого катетер, гастральный (энтеральный) зонд, катетер в носоглотке для оксигенотерапии (или кислородная маска).

Проводился постоянный мониторинг четырех основных показателей гемодинамики: АД, ЧСС, ЦВД, почасового диуреза. Поддерживали эти показатели на следующем уровне: систолическое АД – 90-130 мм.рт.ст., ЦВД – 40-60 мм.вод.ст., диурез (без стимуляции) – не менее чем 50 мл/час, ЧСС – не более 100 в минуту. Восстановление ОЦК проводилось в максимально короткий срок. Для этого с момента поступления вводили быстрое (иногда – струйное) внутривенное введение жидкости до достижения положительных значений ЦВД.

Велось определение уровня гипоксии (чрезкожная пульсоксиметрия, показатели газов артериальной крови, транспорта кислорода) на фоне мониторинга ОЦК, При относительно слабом оснащении ожогового центра ИНВХ аппаратурой для такого мониторинга, оптимальным вариантом оценки этих важнейших течения считали постоянное динамическое наблюдение за АД, ЦВД, пульсом, почасовым диурезом, показателями центральной температуры.

Начиная с восьмого часа после травмы, в терапию включали нативные коллоиды. Оптимальным соотношением между коллоидными и безколлоидными растворами является соотношение 1:4, то есть на 1 л растворов, которые переливаются, 250 мл приходилось на нативные синтетические коллоидные растворы (плазма, 10-20% раствор альбумина, растворы крахмала, декстрана, желатины и др.).

Важнейшей составляющей комплексной терапии являлась антибиотикотерапия [93, 105, 134]. Предпочтение отдавалось назначению полусинтетических пенициллинов, цефалоспоринов 2-4 поколений, фторхинолов. В случаях, когда рана была обильно загрязнена (ожоговый струп, обрывки одежды в ране, инородные предметы и т.д.), считали целесообразным назначение антибиотиков резерва – ванкомицина, цефепима, меропенема, тиенама.

При развитии явлений декомпенсации сердечно-сосудистой системы, нарушений сердечного ритма с помощью средств инотропной поддержки (дофамина, допамина, добутрекса или их аналогов), антиаритмических препаратов (бета-блокаторов и др.), создавали нормальные условия для работы сердца и проведения в полном объеме инфузионно-трансфузионной терапии для быстрого восстановления ОЦК и ликвидации системной гипоксии.

Инфузионная терапия дополнялась гастроэнтеральным введением жидкостей при отсутствии у пострадавших диспепсических явлений.

В первые часы после травмы старались не добиваться искусственной быстрой нормализации КЩС, чтобы не ликвидировать защитную реакцию организма. Коррекция КЩС раствором бикарбоната натрия проводилась только при значениях pH менее 7,2.

Энтеральное питание начинали в пределах 6-12 часов, внутривенное введение жидкости уменьшали, как только возрастало тонкокишечное всасывание. После 48 часов потребности в жидкости обеспечивали обеспечить через зонд.

Важное значение придавали назначению глюкокортикостероидных препаратов. С первых часов терапии в/в вводили 4-8 мг дексаметазона 2-4 раза в сутки (или преднизолон, гидрокортизон в соответствующих дозах).

С целью коррекции свертывающей системы крови, вводили гепарин (или фракционированные гепарины) с антиагрегантными препаратами по схеме: 5 тыс. ЕД гепарина через 4 часа. В качестве антиагрегантных препаратов также использовали пентоксифиллин, дипиридамол, никотиновую кислоту. С этой же целью используют в небольших количествах низкомолекулярные декстраны, растворы сорбита, маннита.

Для подавления чрезмерного протеолиза применяли контрикал и подобные препараты. Для профилактики стрессовых эрозий и язв ЖКТ применяли H₂-блокаторы, альмагель.

Другим направлением лечения стала направленная поддержка метаболизма макроэргов и обеспечения синтетических реакций адаптации. Вводили полного комплекса витаминов, включая сочетание витаминов E, B₁₂ (до 200-500 мкг) и относительно больших доз аскорбиновой кислоты (5-10-15 мл).

Значительное внимание уделяли мероприятиям, направленным на обезболивание, согревания и седацию тяжело пострадавших. При выраженном психомоторном нарушении, которое сопровождалось высокой тахикардией, вводили наркотические анальгетики с барбитуратами. При гипострессорной реакции использовали димедрол, транквилизаторы (седуксен, рогипнол и др.).

Важнейшим принципом лечения неврологических расстройств являлся динамический контроль и, при необходимости, коррекция деятельности центров регуляции. Оценка функционального состояния высших центров регуляции быстро изменялись в зависимости от степени выраженности гиповолемии.

Критериями, которые указывали на стабилизацию состояния, считали адекватное сознание, нормализация показателей «красной крови», нормализация показателей центральной гемодинамики, ЦВД, почасового диуреза и поддержание их в пределах нормальных значений при снижении интенсивности

введения жидкости, а также нормализация показателей КЩС и газового состава крови [166, 193, 169, 177].

Все оперированные больные были разделены в свою очередь на группы в соответствии с этапностью хирургического лечения. Данные приведены в таблице 7.1.

Таблица 7.1

Этапность хирургического лечения

Этапы лечения	Первая группа	Вторая группа	Основная группа
Оперативное лечение в один этап (ПХО, ВХО+закрытие раны)	205 (61,9±2,7%)	173 (61,3±2,9%)	54 (61,4±5,2%)
ЗМХЛ – 2 операции	48 (14,6±1,9%)	32 (11,3±1,9%)	21 (23,8±4,5%)
ЗМХЛ – 3 операции	56 (16,9±2,1%)	35 (12,4±1,9%)	10 (11,4±3,4%)
ЗМХЛ – 4 и более операций	22 (6,6±1,4%)	39 (13,8±2,1%)	3 (3,4±1,9%)
Всего	331 (100%)	282 (100%)	88 (100%)

Таким образом, большая часть больных, от 61,4±5,2% до 61,9±2,9%, были оперированы в один этап, как правило, выполнялась первичная или вторичная хирургическая обработка раны, рана закрывалась при помощи какого-либо вида пластики или расщепленным лоскутом. У 38,6±5,2% (основная группа), 38,1±2,7% и 38,7±2,9% в первой и второй группах больных соответственно, применялась система запрограммированного многоэтапного хирургического лечения.

Предлагаемая нами тактика лечения основана на применении ЗМХЛ в несколько более расширенном варианте, включающем в себя прогнозирование исхода лечения на основании разработанной модели (рис. 7.2).

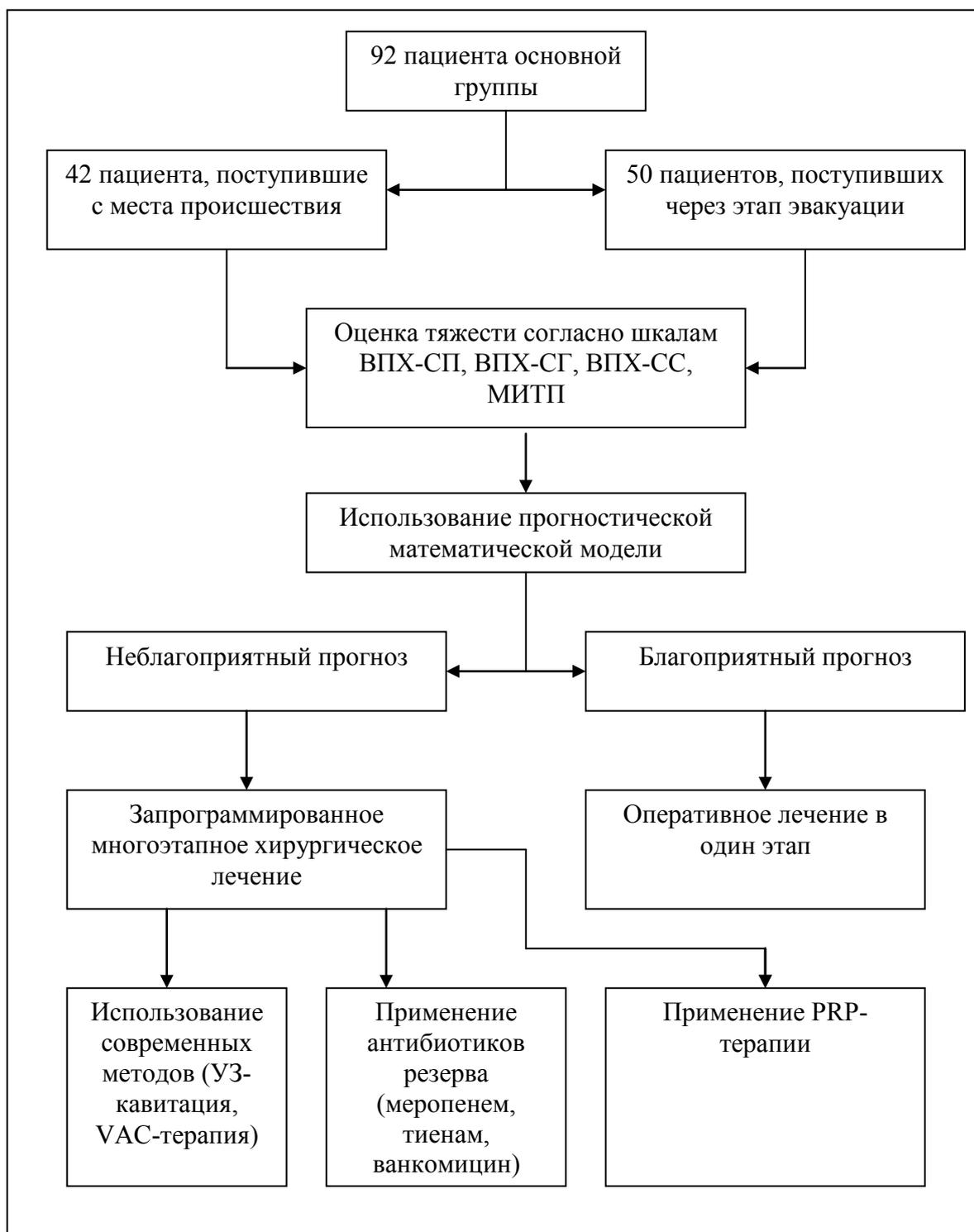


Рис.7.2. Тактика лечения, основанная на модель прогноза

При предполагаемом неблагоприятном исходе лечения, снижении выраженности репаративных процессов, применялась тактика ЗХМЛ, широко использовались современные высокотехнологичные методы лечения – УЗ-

кавитация, VAC-терапия [226], PRP-терапия, в течение 1-2 суток после поступления назначались антибиотики резерва.

На основании предлагаемой тактики лечения были сформулированы следующие положения:

1. Организация помощи раненым и обожженным в системе гражданского здравоохранения должна основываться на принципе одно/малоэтапной транспортировки с преимущественной доставкой в специализированный центр, располагающий достаточным уровнем кадрового и материально-технического обеспечения.

2. При благоприятном прогнозе показана первичная хирургическая обработка огнестрельных, комбинированных, сочетанных ранений и ожоговой травмы с сочетанием первичной пластикой в случае отсутствия продолжающегося кровотечения, напряженных гематом, глубокого (субфасциального) ожога и полноценным обеспечением послеоперационного периода (рис. 7.3, рис. 7.4, рис. 7.5).



Рис. 7.3. Осколочное скальпированное ранение правой голени



Рис. 7.4. ПХО, некрэктомия, аутодермотрансплантация



Рис. 7.5. Осколочная рана правой голени

3. При обнажении или повреждении сосудисто-нервных пучков, костных структур, суставов, их поверхностей, применение локальных лоскутов с осевым типом кровоснабжения является приоритетным методом пластики многокомпонентных раневых дефектов (рис. 7.6, рис. 7.7).

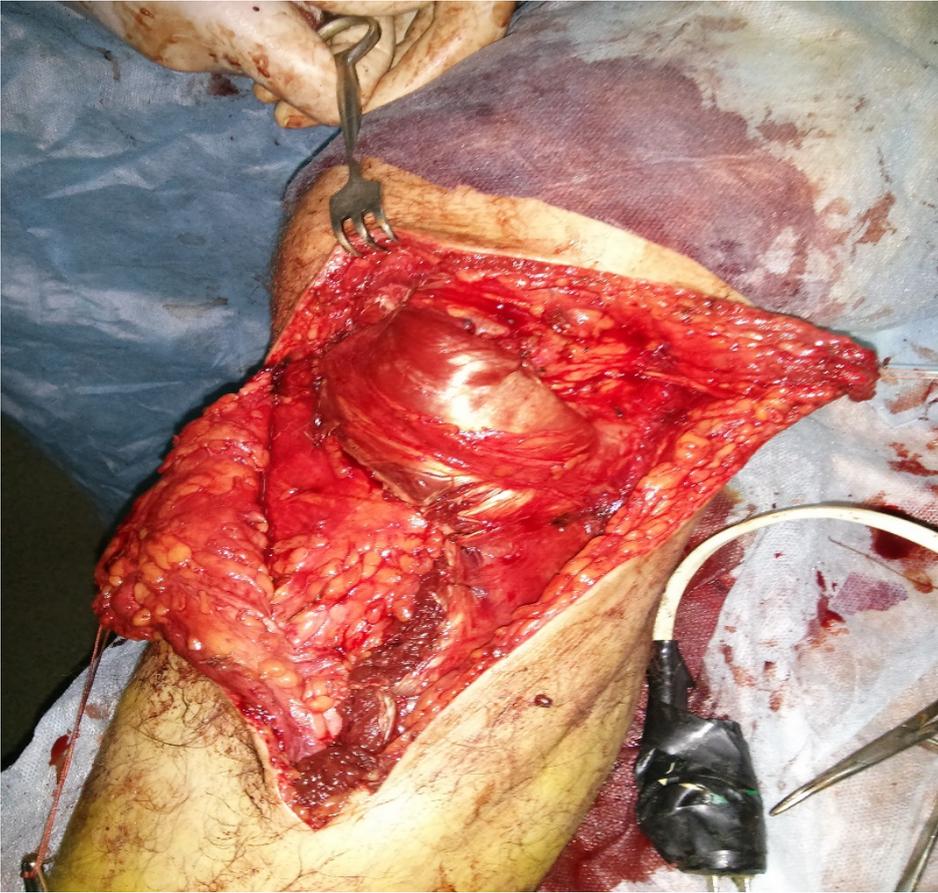


Рис. 7.6. Выполнение первично-реконструктивной операции с пластикой дефекта большеберцовой кости медиальной головкой икроножной мышцы



Рис. 7.7. Вид после операции

4. При неблагоприятном прогнозе исхода лечения – выполняется хирургическая обработка раны с применением современных способов лечения как метода профилактики послеоперационных осложнений (этап запрограммированного многоэтапного хирургического лечения) (рис. 7.8, рис. 7.9, рис. 7.10, рис. 7.11, рис. 7.12, рис. 7.13, рис. 7.14).



Рис. 7.8. Комбинированная минно-взрывная травма. Осколочное ранение правой голени, левой ягодицы (срок доставки в ожоговый центр – 72 часа).



Рис. 7.9. Рассечение раны, декомпрессивная фасциотомия, вскрытие раневых каналов, удаление инородных тел и нежизнеспособных тканей, УЗ-кавитация, первичная пластика не проводится.

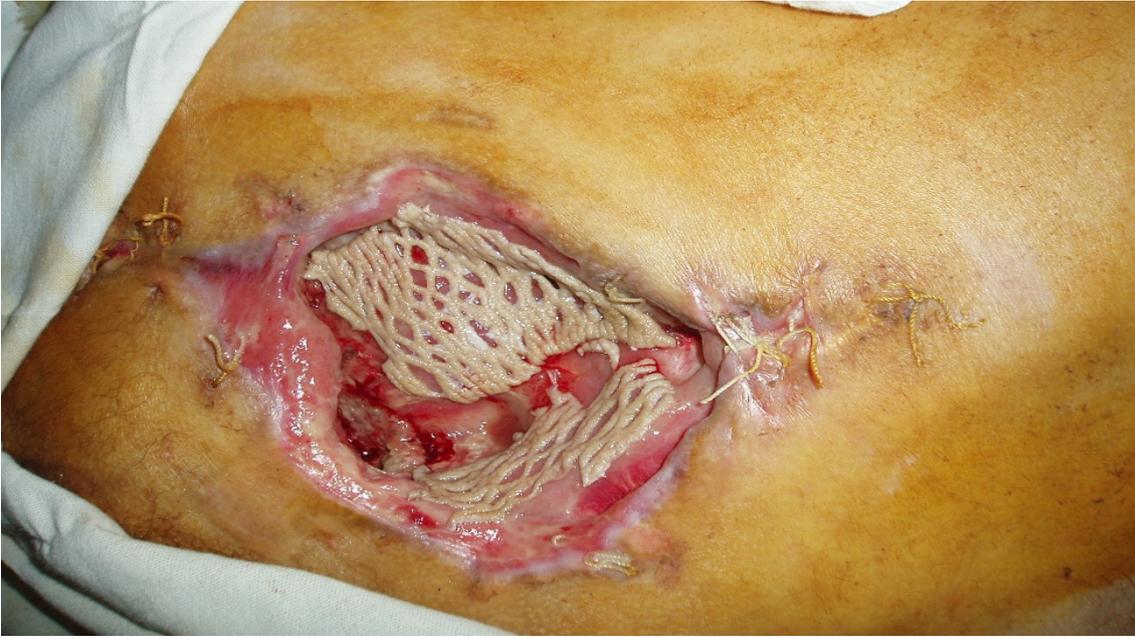


Рис. 7.10. Вид раны ягодичной области после комбинированной пластики (завершающий этап ЗМХЛ).



Рис. 7.11. Рана голени после вторичной хирургической обработки и пластики расщепленным лоскутом



Рис. 7.12. Скальпированная минно-взрывная травма правой голени, прогноз неблагоприятный



Рис. 7.13. Вак-повязка



Рис. 7.14. Аутодермотрансплантация

5. Обязательным элементом хирургической обработки (первичной и вторичной) является фасциотомия с целью ликвидации или профилактики развития синдрома длительного сдавления (рис. 7.15, рис. 7.16).



Рис. 7.15. Синдром длительного сдавления. Рана после выполнения хирургической обработки без фасциотомии через 10 суток. После выполнения ВХО – обнажена плечевая артерия.



Рис. 7.16. Выполнение комбинированной кожной пластики, вид на 4 сутки после операции.

6. Раны и ожоги после выполнения как первичной, так и вторичной хирургической обработки должны быть по возможности быстро закрыты одним из методов пластики тканей, что ведет как к сокращению количества операций, так и к сокращению длительности стационарного лечения, уменьшению количества осложнений (рис. 7.17, рис. 7.18, рис. 7.19).



Рис. 7.17. Осколочные ранения голени



Рис. 7.18. Промежуточный этап лечения



Рис. 7.19. Осколочные ранения обеих голеней, выполнение комбинированной пластики, результаты лечения.

7. Отсутствие индивидуально-дифференцированного прогноза при выборе тактики оперативного лечения, операция, основанная на субъективных показателях, ведет к неизбежным повторным оперативным вмешательствам, увеличению сроков стационарного лечения, увеличению количества осложнений (рис. 7.20, рис. 7.21., рис. 7.22, рис. 7.23, рис. 7.24).



Рис. 7.20. Осколочные ранения бедра и туловища, нагноение раны на 4 сутки, при ретроспективном моделировании раневого процесса – прогноз неблагоприятный.



Рис. 7.21. Вторичная хирургическая обработка раны, вскрытие гнойных затеков, пластика местными тканями



Рис. 7.22. Осколочное ранение правой голени, отсутствие моделирование процесса (прогноз неблагоприятный), состояние на 2 сутки после выполнения комбинированной пластики, полный лизис аутотрансплантатов



Рис. 7.23. Некрэктомия, повторная аутодермотранслатация



Рис. 7.24. Через 2 месяца после операции

8. Применение современных методов лечения при ранениях и ожоговой травме (УЗ-кавитации и Vac-дренирования) при неблагоприятном прогнозе течения раневого процесса, позволяет выполнить более радикальную хирургическую обработку раны без избыточной хирургической агрессии и позволяет избежать многоэтапного хирургического лечения.

9. Индивидуально-дифференцированный подход (основанный на применении математической модели с учетом наиболее важных предикторов исхода лечения) при выборе способа, времени и объема оперативного пособия необходим при оказании специализированной хирургической помощи в наиболее ранние сроки.

На основании предлагаемого индивидуально-дифференцированного подхода к лечению раненных и пострадавших на основе прогнозирования исхода полученной травмы, удалось снизить количество операций, средний койко-день, количество осложнений в ближайшем и отдаленном послеоперационном периоде, процент инвалидизаций.

При анализе полученных результатов лечения, были изучены клинические и организационные параметры госпитализации: скорость доставки раненных и пострадавших в специализированный центр, длительность стационарного лечения, количество выполненных операций.

В первой группе больных средняя скорость доставки пациентов в специализированный ожоговый центр составила $42 \pm 4,5$ часа, во второй группе пациентов – $180 \pm 12,7$ часа, в основной группе больных – $56 \pm 8,5$ часов.

Средняя длительность стационарного лечения в первой группе больных составила $33,5 \pm 3,4$ суток, во второй группе пациентов – $48,5 \pm 5,8$ суток, в основной группе больных – $24,3 \pm 2,5$ суток.

Среднее количество операций на одного человека в первой группе больных составило $2,8 \pm 0,5$, во второй группе больных – $4,5 \pm 1,2$, в основной группе – $1,9 \pm 0,6$ операций.

Был проведен анализ ранних послеоперационных осложнений во всех группах больных. Данные приведены в таблице 7.1.

Таблица 7.1

Структура ранних послеоперационных осложнений по группам сравнения, в % (абс. / $P \pm m$)

Осложнение	Первая группа, n=346	Вторая группа, n=305	Основная группа, n=92
Пневмония	2 / $0,6 \pm 0,4$	8 / $2,7 \pm 0,9 \Delta$	0
Сепсис	4 / $1,2 \pm 0,6$	7 / $2,5 \pm 0,9$	0
Тромбоэмболия легочной артерии	2 / $0,6 \pm 0,4$	4 / $1,4 \pm 0,7$	1 / $1,1 \pm 1,1$
Острая сердечная недостаточность	2 / $0,6 \pm 0,4$	3 / $1,1 \pm 0,6$	1 / $1,1 \pm 1,1$
Токсическая энцефалопатия	3 / $0,9 \pm 0,5$	4 / $1,4 \pm 0,7$	0
Кровотечение из раны	2 / $0,6 \pm 0,4$	2 / $0,7 \pm 0,5$	1 / $1,1 \pm 1,1$
Вторичное нагноение раны	2 / $0,6 \pm 0,4$	3 / $1,1 \pm 0,6$	0
Лизис лоскута / трансплантата	1 / $0,3 \pm 0,3$	3 / $1,1 \pm 0,6$	0
Несостоятельность швов на ране	3 / $0,9 \pm 0,5$	3 / $1,1 \pm 0,6$	0
Компартмент-синдром	2 / $0,6 \pm 0,4$	4 / $1,4 \pm 0,7$	0
Всего осложнений	23 / $6,9 \pm 1,4$ (4,2-9,7)	41 / $14,5 \pm 2,1^* \Delta$ (10,4-18,7)	3 / $3,4 \pm 1,9$ (0,0-7,2)
Без осложнений	308 / $93,1 \pm 1,8$	241 / $85,5 \pm 2,1^* \Delta$	85 / $96,7 \pm 1,9$
Всего оперированных больных	331 / $95,7 \pm 1,1$	282 / $92,5 \pm 1,5$	88 / $95,7 \pm 2,1$

Примечания.

1. * – означает статистически значимое различие с показателем в основной группе ($p < 0,05$).

2. Δ – означает статистически значимое различие с показателем в первой группе ($p < 0,05$).

При анализе таблицы 7.1, можно сделать вывод, что в первой группе больных ранние послеоперационные осложнения наблюдались у 23 ($6,9 \pm 1,8\%$) больных, во второй группе больных – у 41 ($14,5 \pm 2,1\%$) пациента, в основной группе больных осложнения возникли у 3 ($3,4 \pm 1,9\%$) пострадавших. В остальных случаях послеоперационный период протекал гладко во всех группах больных.

Были также проанализированы и отдаленные результаты лечения (от 6 месяцев до 1 года после выписки из стационара) (табл. 7.2). В Институте неотложной и восстановительной хирургии им. В.К. Гусака отсутствует собственное поликлиническое отделение, в связи с чем, удалось проследить судьбу 527 больных ($70,9 \pm 1,7\%$), находившихся на стационарном лечении и самостоятельно являвшихся на контрольные осмотры. Среди всех осмотренных в отдаленном послеоперационном периоде отдаленные послеоперационные осложнения были выявлены у 153 больных ($20,6 \pm 1,5\%$ – от общего количества больных).

Таблица 7.2

Структура отдаленных послеоперационных осложнений раненных и пострадавших (от 6 до 12 месяцев), в % (абс. / $P \pm m$)

Отдаленные послеоперационные осложнения	Первая группа, n=346	Вторая группа, n=305	Основная группа, n=92
Рубцовые деформации, в т.ч. с изъязвлением	39 / $11,3 \pm 1,7$	9 / $3,0 \pm 1,0 \Delta$	6 / $6,5 \pm 2,6$
Травматические и вынужденные ампутации конечностей	6 / $1,7 \pm 0,7$	14 / $4,6 \pm 1,2 * \Delta$	1 / $1,1 \pm 1,1$
Посттравматические артриты	2 / $0,6 \pm 0,4$	12 / $3,9 \pm 1,1 \Delta$	0
Посттравматический остеомиелит	2 / $0,6 \pm 0,4$	16 / $5,2 \pm 1,3 \Delta$	0
Трофические язвы и перианевые экземы	6 / $1,7 \pm 0,0$	18 / $5,9 \pm 1,3 \Delta$	2 / $2,2 \pm 1,5$
Психоневрологические расстройства	2 / $0,6 \pm 0,4$	9 / $3,0 \pm 1,0 \Delta$	1 / $1,1 \pm 1,1$
Последствия контузий (баротравмы)	1 / $0,3 \pm 0,3$	5 / $1,6 \pm 0,7$	0
Всего	58 / $16,8 \pm 2,0$	83 / $27,2 \pm 2,5 * \Delta$	10 / $10,9 \pm 3,2$

Примечания.

1. * – означает статистически значимое различие с показателем в основной группе ($p < 0,05$).

2. Δ – означает статистически значимое различие с показателем в первой группе ($p < 0,05$).

По нашим данным, из 527 больных, у которых были прослежены отдаленные результаты лечения, отдаленные послеоперационные осложнения были зафиксированы у 151 пациента ($28,7 \pm 2,0\%$).

При анализе таблицы 7.2, можно сделать вывод, что наибольший процент осложнений ($27,2 \pm 2,5\%$) приходится на пациентов второй группы, существенно меньше ($16,8 \pm 2,0\%$) у больных первой группы и является наименьшим ($10,1 \pm 3,2\%$) у больных основной группы. Это объясняется, на наш взгляд, нерациональной хирургической тактикой при оказании специализированной помощи у больных второй группы, где при эвакуации использовался дополнительный этап лечения.

При дальнейшем изучении результатов лечения, была прослежена медико-социальная составляющая, т.е. количество пациентов, получивших группу инвалидности в срок от 6 месяцев до 1 года после выписки из стационара. Всего было инвалидизировано 120 пациентов ($79,5 \pm 3,3\%$) из 151 пациента с неблагоприятными отдаленными послеоперационными результатами. Данные приведены в таблице 7.3.

Таблица 7.3

Инвалидизация пациентов, в % (абс. / $P \pm m$)

Группа инвалидности	Первая группа, n=346	Вторая группа, n=305	Основная группа, n=92
1 группа	8 / $2,3 \pm 0,8$	12 / $3,9 \pm 1,1$	1 / $1,1 \pm 1,1$
2 группа	15 / $4,3 \pm 1,1^*$	18 / $5,9 \pm 1,3^*$	1 / $1,1 \pm 1,1$
3 группа	26 / $7,5 \pm 1,4^*$	37 / $12,1 \pm 1,9^* \Delta$	2 / $2,2 \pm 1,5$
Всего	49 / $14,2 \pm 1,9^*$	67 / $22,0 \pm 2,4^* \Delta$	4 / $4,3 \pm 2,1$

Примечания.

1. * – означает статистически значимое различие с показателем в основной группе ($p < 0,05$).

2. Δ – означает статистически значимое различие с показателем в первой группе ($p < 0,05$).

Показатели инвалидизации от общего числа больных в исследуемых группах, составили: в первой группе 49 человек ($14,2 \pm 1,9\%$), во второй группе 67 человек ($22,0 \pm 2,4\%$), в основной группе 4 человека ($4,3 \pm 2,1\%$).

Выводы:

1. Предложена тактика хирургического лечения, основанная на математическом прогнозе исхода заболевания, включающая в себя индивидуально-дифференцированный подход к выполнению реконструктивных операций.

2. Средняя длительность стационарного лечения в первой группе больных составила $33,5 \pm 3,4$ суток, во второй группе пациентов – $48,5 \pm 5,8$ суток, в основной группе больных наименьшие $24,3 \pm 2,5$ суток, $p < 0,01$.

3. Среднее количество операций на одного человека в первой группе больных составило $2,8 \pm 0,5$; во второй группе больных – $4,5 \pm 1,2$; в основной группе наименьшие $1,9 \pm 0,6$ операций, $p < 0,05$.

4. В первой группе больных ранние послеоперационные осложнения наблюдались у $6,9\% \pm 1,8\%$ больных, во второй группе больных – у $14,5\% \pm 2,1\%$ пациентов, в основной группе больных наименьшие осложнения возникли у $3,3\% \pm 1,9\%$ пострадавших, $p < 0,01$. Наибольший процент осложнений в отдаленном послеоперационном периоде ($27,2\% \pm 2,5\%$) приходится на пациентов второй группы, существенно меньше ($16,8\% \pm 2,0\%$) у больных первой группы и является наименьшим ($10,1\% \pm 3,2\%$) у больных основной группы, $p < 0,01$.

5. Показатели инвалидизации составили: в первой группе $14,2\% \pm 1,9\%$, во второй группе $22,0\% \pm 2,4\%$, в основной группе наименьшие $4,3\% \pm 2,1\%$, $p < 0,01$.

ОБОБЩЕНИЕ И АНАЛИЗ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Кардинальные изменения в характере ведения войны и видах применяемых вооружений произошли в последние десятилетия. Возрастание поражающих характеристик стрелкового оружия и частоты применения, различных минно-взрывных устройств и боеприпасов обусловило изменение структуры и значительное увеличение тяжести боевых повреждений, характеризующихся наличием зон поражения. В работах авторов, изучавших проблему оказания помощи раненым и пострадавшим во время чрезвычайных ситуаций, к числу которых, несомненно, можно отнести и боевые действия, особое внимание уделяется этапности, маршрутизации и скорости эвакуации раненных и пострадавших. Эти же положения были подтверждены и работами донецких хирургов и спасателей, которые оказывали помощь раненым в ходе вооруженного конфликта на Донбассе в 2014-2019 гг.

В специфических условиях продолжающегося военного конфликта в Донбассе раненые и пострадавшие с боевыми повреждениями получают полный объем медицинской помощи в гражданских лечебных учреждениях, располагающихся на небольшом расстоянии от места ведения боевых действий. В то же время значительный коечный фонд, квалифицированный кадровый состав, наличие современной лечебно-диагностической базы создают возможность решать задачи специализированной медицинской помощи раненым и пострадавшим с боевыми повреждениями.

В настоящее время отсутствуют научно обоснованные и адаптированные к существующим особенностям оказания специализированной помощи в гражданских лечебных учреждениях рекомендации по лечению раненых и пострадавших. Это обуславливает актуальность изучения специфики боевых повреждений в условиях локального военного конфликта в Донбассе и настоятельную необходимость разработки оптимизированных подходов и методов их органосохраняющего и восстановительного лечения.

Совокупность вышеизложенных факторов, по мнению авторов, дала возможность выйти на многофакторный анализ и прогноз течения раневого процесса, на основании чего возможна разработка рациональной хирургической тактики с использованием созданной математической модели.

К основным перспективным направлениям современной хирургии открытых боевых повреждений относятся: модифицированные методы первичной хирургической обработки раны, динамический активный хирургический контроль состояния раны, локальная и регионарная терапия с использованием современных методов лечения ран и раневых покрытий, возможно раннее закрытие раневых дефектов. Вместе с тем недостаток доказательных данных и опыта применения этих подходов в условиях гражданского здравоохранения стали побудительным мотивом для проведения данного исследования.

Диссертационная работа выполнена согласно плану научно-исследовательской работы кафедры комбустиологии и пластической хирургии ФИПО ГОО ВПО ДОННМУ ИМ. М.ГОРЬКОГО и является фрагментом темы «Изучение ближайших и отдаленных результатов лечения больных с термическими поражениями, ранами, хроническими эрозивно-язвенными поражениями кожи, разработка и оптимизация методики ранней хирургической реабилитации пострадавших», шифр УН 19.03.09.

Целью данного исследования было: на основании выделенных наиболее значимых предикторов исхода травмы и созданной математической модели патогенетически обосновать тактику ранней специализированной хирургической помощи пострадавшим с ранами и ожогами.

Нами были изучены результаты лечения 743 раненных и пострадавших, которые находились на стационарном лечении в ожоговом отделении Института неотложной и восстановительной хирургии им. В.К. Гусака МЗ ДНР с 2014 по 2019 гг.

Все больные были разделены на три группы. Первую группу составило 346 человек, которые были госпитализированы в ожоговое отделение

непосредственно с места получения травмы, минуя промежуточные этапы лечения. Вторую группу составили 305 человек, которые были доставлены в клинику через этап медицинской эвакуации – городская, районная больница, военный госпиталь и т.д. В третью группу (основную) вошло 92 пациента, которые получали лечение на основании разработанной в клинике тактики, основанной на многофакторном анализе и прогнозировании исхода болезни. В основной группе концентрировались больные как доставленные непосредственно с места происшествия, так и через промежуточный этап эвакуации: 42 человека ($45,7 \pm 5,2\%$) поступили в ожоговый центр с места происшествия, 50 человек ($54,3 \pm 5,2\%$) через этап эвакуации.

Поступившие пациенты являлись как военнослужащими, так и гражданскими лицами. Летальные исходы в работе не учитывались. Летальность во всех группах колебалась в пределах $1,5-1,7\% \pm 0,6\%$. Причинами смерти послужили травмы, несовместимые с жизнью, необратимый шок (ожоговый, травматический, геморрагический), крайне тяжелый сепсис.

Средний возраст больных составил $38,8 \pm 2,4$ лет. В первой группе средний возраст составил $38,8 \pm 2,3$ лет, во второй – $39,3 \pm 2,6$, в основной – $38,3 \pm 2,1$ лет. Возрастные группы включали в себя контингент больных от 20 до 60 лет. Подавляющее большинство пострадавших составили мужчины – 588 человек ($79,1 \pm 1,5\%$), женщин было 155 человек ($20,9 \pm 1,5\%$).

При анализе структуры нозологических единиц, можно прийти к следующим выводам: у 367 ($49,4 \pm 1,8\%$) пострадавших были сочетанные и комбинированные поражения; во второй группе больных основную массу ($47,9 \pm 2,9\%$) больных составили пациенты с ранами различной этиологии. Это объяснимо тем, что больные были направлены в клинику из других лечебных учреждений для ликвидации ран путем применения одного из видов реконструктивных операций; получение изолированных огнестрельных ранений, как множественных осколочных, так и пулевых, колебалось в пределах $13,0-18,8\%$; во второй группе больных $3,9 \pm 1,1\%$ пострадавших в основном были

доставлены по линии санавиации в краткие сроки после получения ожоговой травмы.

В первой группе больных был сосредоточен наиболее тяжелый контингент обожженных – 47 человек ($53,4 \pm 5,3\%$), во второй – преобладали легкообожженные и обожженные средней тяжести – 26 человек ($74,3 \pm 7,4\%$), в основной группе больных пациенты были распределены равномерно по степени тяжести ожогового поражения.

Также были проанализированы осложнения, сопровождавшие полученные травмы. Всего наблюдалось 292 ($39,3 \pm 1,8\%$) случая осложненного течения полученной травмы. В первой группе больных отягощающие последствия травмы составили 143 случая ($49,0 \pm 2,9\%$), во второй группе больных – 114 ($39,0 \pm 2,8\%$), в основной группе – 35 ($12,0 \pm 1,9\%$), от общего количества зафиксированных отягчающих последствий ранения или ожога.

В среднем процент отягощающих последствий травмы по группам больных составил $38,8 \pm 2,8\%$. В первой группе больных у 96 ($67,1 \pm 3,1\%$) больных эти последствия непосредственно угрожали жизни (шок, кровотечение, ожог дыхательных путей, сепсис). Во второй группе преобладали гнойно-септические осложнения – 64 ($56,1 \pm 4,6\%$) пациента. В основной группе больных ярко выраженного доминирования одного из осложнений не выявлено.

В первой группе больных сосредоточился наиболее тяжелый контингент больных ($44,0 \pm 2,7\%$), во второй группе больных преобладали пациенты в средне-тяжелом состоянии ($41,0 \pm 2,8\%$), такая картина наблюдалась и в основной группе пациентов ($47,8 \pm 5,2\%$).

Среди выполненных операций выделяли:

1. первичная (вторичная) хирургическая обработка раны;
2. некрэктомия + ксенопластика;
3. некрэктомия + комбинированная пластика;
4. некрэктомия + пластика местными тканями;
5. некрэктомия + аутодермотрансплантация;
6. дермабразия + ксенопластика;

7. аутодермотрансплантация (в т.ч. многоэтапные);
8. пластика лоскутом с осевым кровоснабжением;
9. ампутации конечностей и сегментов;
10. выполнение остеосинтеза;
11. ультразвуковая кавитация с различными вариантами пластики;
12. VAC-терапия с дальнейшими вариантами пластики.

Всего патоморфологическому и бактериологическому исследованию подверглись 162 пациента ($21,8 \pm 1,5\%$) от общего числа больных. Материал для исследований брали из стенок раны на 1-2, 7, 12 сутки после оперативного лечения. При гистологическом контроле у больных первой и основной групп, которые поступили в ожоговый центр в среднем через 48 часов после получения травмы, первое, что обращает на себя внимание – это обширные кровоизлияния, разрыв и фрагментация коллагеновых волокон, умеренный некроз дермы и подкожной клетчатки вдали от раневой поверхности (– зона вторичного некроза. При этом некротический детрит и геморрагическая инфильтрация служат питательной средой для микроорганизмов. При исследовании иссеченных краев раны в ближайшее после получения травмы время есть признаки травматического повреждения в виде кровоизлияний, фрагментации коллагеновых волокон; при этом отсутствуют выраженный некроз и гнойное воспаление. Через 48 часов в краях раны появляются полиморфноядерные нейтрофилы, но присутствует зона паранекроза.

Во второй группе, больные которой поступали в клинику через промежуточный этап эвакуации, – обширные поля некроза, гнойное воспаление дермы, флегмона подкожной клетчатки, колонии микроорганизмов среди некротизированной ткани и/или гнойного экссудата. Также отмечается выраженное увеличение содержания коллагена, огрубение дермы спустя 10-12 суток рядом с участками некроза и гнойного воспаления. Разрастание грануляционной ткани избыточно, в её составе отмечается большое количество полиморфноядерных нейтрофилов, что свидетельствует об инфицировании раны гноеродной флорой.

При бактериологическом контроле результаты бактериологического исследования раневого отделяемого были положительными у всех пациентов в данной выборке. При этом у 75 больных ($46,3 \pm 2,9\%$) флора представлена монокультурой. У 87 пациентов ($53,7 \pm 3,9\%$) пациентов микробный пейзаж был представлен ассоциациями микроорганизмов. При изучении флоры, представленной монокультурой, было выявлено, что большинство идентифицированных микроорганизмов составили грамположительные микроорганизмы – 52 ($69,3 \pm 5,3\%$), среди которых чаще всего определялся золотистый стафилококк – 39 человек ($75,0 \pm 6,0\%$). Кроме золотистого стафилококка, также были отмечены зеленящий стрептококк – у 8 пациентов ($15,4 \pm 5,0\%$) и эпидермальный стафилококк – у 5 человек ($9,6 \pm 4,1\%$). Грамотрицательная монокультура была выделена у 23 больных ($30,7 \pm 5,3\%$). В ряду грамотрицательных бактерий преобладали кишечная палочка – 11 случаев ($47,8 \pm 10,4\%$) и протей – 12 человек ($52,2 \pm 10,4\%$). Микробный пейзаж смешанной флоры в основном был представлен ассоциациями микроорганизмов: золотистый стафилококк и кишечная палочка – 21 случай ($24,1 \pm 4,6\%$), золотистый стафилококк и синегнойная палочка – 32 случая ($36,8 \pm 5,2\%$), протей и синегнойная палочка – 12 человек ($13,8 \pm 3,7\%$), золотистый стафилококк, протей и синегнойная палочка – 22 человека ($25,3 \pm 4,7\%$).

Во всех случаях при бактериологическом контроле исходное количество бактерий в тканях раны после хирургической обработки раны составило 104-108 на 1 г ткани. На 7 сутки после операции количество микробов в тканях ран больных, которых оперировали более одного раза, статистически различимо снизилось ($p < 0,01$). Микробная обсемененность тканей гнойной раны на 7 сутки оказалась ниже «критического числа» у 30 больных ($83,3 \% \pm 6,2 \%$). На 12 сутки после поступления на среды при изучении микробной обсемененности тканей у всех больных был выявлен рост единичных микроорганизмов.

Исследование чувствительности к антибиотикам, показало, что наиболее эффективными препаратами, как к грамположительным, так и к грамотрицательным микроорганизмам были полусинтетические пенициллины

(амоксиклав), цефалоспорины 2-4 поколений (цефазолин, цефотаксим, цефоперазон, цефепим), производные орнидазола (метрогил) и клиндамицин (далацин Ц), а также антибиотики резерва (меропенем, ванкомицин, тиенам).

Исследование влияния молекулярно-генетических факторов на течение раневого процесса исследовали на больных, поступивших в клинику в средне-тяжелом состоянии.

В качестве критерия, отражающего скорость восстановительного периода, использовали длительность нахождения больных в стационаре.

Методология исследования построена основе модели «случай-контроль». Этот метод предполагает сравнение двух относительно однородных выборок, различающихся по одному параметру. В данном исследовании группы имели отличия по длительности госпитального этапа лечения. Отбор пациентов для исследования осуществляли следующим образом. Были исключены пациенты, доставленные в ожоговый центр в течение 48 часов после получения травмы. Из анализа были также исключены пациенты, срок стационарного лечения которых был уникальным (т.е. встречался в выборке единожды) и мог быть отнесен к категории случайных значений. Таким образом, были отобраны 217 больных, у которых среднее время нахождения в стационаре составило ($M \pm SE$): $17,09 \pm 0,65$ суток, что статистически не отличалось от общей группы ($t=0,745$; $p=0,457$).

Все указанные пациенты распределены по возрастанию сроков стационарного лечения от минимального (7 суток) к максимальному (48 суток).

Рассматривая механизм репаративной регенерации полученных повреждений как типовой патологический процесс воспаления, включающий компоненты альтерации, сосудистой реакции и пролиферации, целесообразным является изучение как местных так и системных факторов регуляции и их влияния на длительность и характер регенераторно-восстановительных процессов.

Характер, динамика и прогноз течения воспаления в ранах являлись результатом патогенетически обусловленных взаимосвязей профилей как про- так противовоспалительных цитокинов и уровня глюкокортикоидов.

Динамика цитокинов про- и противовоспалительного действия, фактора роста $TGF\beta 1$ и кортизола в процессе лечения являлась отражением единства и взаимосвязи воспаления и регенерации, как неразрывных компонентов тканевой реакции на повреждение. Реакция $IFN\gamma$ как одного из первоочередных пусковых медиаторов воспаления в ране обеспечивала активацию провоспалительных цитокинов $TNF\alpha$ и $IL-6$ для обеспечения адекватной фазы гидратации и очищения раны от поврежденных участков ткани, погибших клеток, экссудата, микробных патогенов. С первых суток достоверное увеличение количества $IFN\gamma$ в 1,4 раза в I А группе и 1,3 раза в I Б группе указывало на его инициирующее влияние на компонент альтерации с ее преобладанием в I А группе. Достоверное увеличение $TNF\alpha$ в 2,28 и 2,67 раза и $IL-6$ в 9,76 и 4,11 раза в I А и I Б группах свидетельствовало о выраженной активности сосудисто-клеточной реакции тканевых базофилов, нейтрофилов, эндотелиоцитов и моноцитов-макрофагов. Гиперреактивность $IL-6$ в I А группе обеспечивала быстрый и эффективный ответ клеток раневого дефекта при повреждении, и, наоборот, в I Б группе слабая стимуляция эндотелия и структур периваскулярного пространства создавала неблагоприятный фон воспалительной реакции с тенденцией длительной экссудации в ране. Увеличение противовоспалительного цитокина $IL-10$ в 1,7 раза в обеих группах по сравнению с контролем свидетельствовало о наличии регенераторного потенциала и стимуляции клеток раневого дефекта к пролиферации и дифференцировке. Об усилении митогенного потенциала свидетельствовала реакция фактора роста $TGF\beta 1$ с достоверным увеличением его количества в обеих группах, но в большей степени в I А группе. В период выписки из стационара уровень $TGF\beta 1$ достоверно увеличился в 1,36 раза в I А, и в 1,19 раза в I Б группе, свидетельствуя о большем влиянии на заживление ран в группе I А. Уровень кортизола достоверно увеличивался в 1,3 и 1,6 раза в I А и I Б группе, что способствовало торможению воспалительных эффектов, в том числе и замедлению пролиферации, активации реакций катаболизма, нарушению дифференцировки и бласттрансформации лимфоцитов.

При исследовании цитокинов в динамике раневого процесса выявлена разнонаправленность реакции $IFN\gamma$, выражавшаяся в достоверном снижении его количества в I А ($p=0,012$), и увеличении в полтора раза по сравнению с контролем в I Б группе ($p<0,001$), что являлось отражением продолжающегося альтеративно-экссудативного воспаления, привлечением в рану медиаторов воспаления клеточного и гуморального происхождения. Гиперпродукция $IFN\gamma$ в I Б группе сопровождалась устойчивым повышенным содержанием $TNF\alpha$ 64,75 (57,47; 71,84) пг/мл по сравнению с контролем 25,12 (22,01; 28,78) пг/мл и длительным заживлением ран, указывая на хроническое течение, и, наоборот, в I А группе достоверное уменьшение $TNF\alpha$ до 41,86 (37,22; 46,31) пг/мл в 1,67 раза в сравнении с контролем сопровождалось быстрым и неосложненным течением раневого процесса. Для динамики IL-6 характерно снижение значений в обеих группах, но с достоверным превышением контрольных показателей в 6,7 и 3,8 раза ($p<0,001$), что свидетельствовало о его стимулирующем влиянии на активную пролиферацию фибробластов, синтезирующих коллаген, эластин, гликозаиногликаны, протеогликаны необходимые для процесса рубцевания соединительной ткани. IL-10 характеризовался разнонаправленными реакциями в исследуемых группах больных: в I А группе – ростом в 2,67 раза, а в I Б группе – в 1,7 раза по сравнению с контролем ($p<0,001$), что сопровождалось активным увеличением протективных факторов заживления ран в I А группе и значительно меньшим влиянием в I Б группе.

Таким образом, в данном фрагменте исследования нами показано, что заживление раны – сложный клеточно-опосредованный ответ организма на повреждение, который становится возможным при хорошо организованном и точном взаимодействии гуморальных и клеточных факторов репаративной регенерации у пациентов с ожоговой травмой. Концентрация в сыворотке крови величины трансформирующего фактора роста ($TGF\beta 1$), провоспалительных цитокинов – $TNF\alpha$, IL-6, противовоспалительных цитокинов – $IFN\gamma$, IL-10, а также кортизола отражает характер течения раневого процесса при ожоговой травме. Все изученные гуморальные показатели, характеризующие состояние

репаративной регенерации, у пострадавших по сравнению с нормой возрастают ($p < 0,01$). Для неблагоприятного течения раневого процесса характерны максимальные отклонения этих показателей от уровня нормы. При этом в наибольшей степени блокируется синтез $TGF\beta 1$, активируется продукция $TNF\alpha$, $IL-6$ и кортизола, а секреция $IFN\gamma$, $IL-10$, наоборот, снижается ($p < 0,05$). С величиной гуморальных факторов репарации связаны изменения в составе клеточных популяций раны, а также нарушения в характере реакции микрососудов и в производстве фибробластами коллагена. При неблагоприятном течении раневого процесса $IFN\gamma$ и $IL-10$ не могут подавить чрезмерную продукцию провоспалительных цитокинов $TNF\alpha$, $IL-6$ ($p < 0,01$). Гиперкортизолемиа неблагоприятно влияет на продукцию $TGF\beta 1$, что тормозит миграцию лейкоцитов и пролиферацию фибробластов и эпителиоцитов в ране и увеличивает сроки лечения пациентов. Уровень гиперкортизолемии не влияет на продукцию $TNF\alpha$, $IL-6$, $IFN\gamma$ и $IL-10$ ($p < 0,01$). Высокий уровень экспрессии провоспалительных цитокинов является причиной замедления ангиогенеза и формирования грануляционной ткани у пациентов с неблагоприятным течением раневого процесса.

На следующем этапе исследования был проведен анализ результатов определения ассоциации полиморфизма rs1800471 гена $TGF\beta 1$ с характером течения раневого процесса, клинико-лабораторными показателями, которые характеризуют тяжесть его течения и развитие осложнений.

В Программе для определения частот генотипов rs1800471 гена $TGF\beta 1$ генотип G/G определялся с частотой 0,871 (в наших исследованиях – 0,8), гетерозигота G/C – 0,117 (в наших исследованиях – 0,167), гомозигота C/C – 0,012 (в наших исследованиях – 0,033) (табл. 2.1). Частоты генотипов rs1800471 в европейской популяции были сопоставимы с данными I A группы (контрольной) ($\chi^2 = 3,106$; $p = 0,212$), что свидетельствовало о совпадении наших результатов с данными европейской популяции.

Анализ влияния генотипов по таблице сопряженности показал наличие связи rs1800471 гена $TGF\beta 1$ с увеличением сроков заживления ран ($\chi^2 = 7,100$;

$p=0,029$). Генотипами риска являлись гетерозиготный генотип G/C, который в 2,14 раза повышал риск (ОШ=2,14; 95% ДИ 0,89-5,14) и минорный генотип C/C, который в 3,83 раза повышал риск длительного и осложненного заживления ран (ОШ=3,83; 95% ДИ 0,76-19,26). Дикий генотип G/G снижал эти шансы (ОШ=0,35; 95% ДИ 0,15-0,79), что указывало на его протективный эффект.

Была определена связь полиморфизма rs1800629 гена TNF α с особенностями течения процесса заживления ран, полученных в результате травмы, а также – связь с длительностью течения раневого процесса и факторами, индуцирующими фазы воспалительной реакции раневого процесса.

При сравнении результатов распределения генотипов и аллелей в I A (контрольной) группе в нашем исследовании и результатами Программы 1000 Genomes Project Phase 3 (<http://www.internationalgenome.org/>) установлено, что для европейской популяции дикий генотип G/G был определен с частотой 0,744 (в наших исследованиях – 0,70), гетерозигота G/A – 0,245 (в наших исследованиях – 0,25), минорная гомозигота A/A – 0,012 (в наших исследованиях – 0,05). Таким образом, наши результаты сходились с данными частот для европейской популяции.

При сравнении распределения аллелей в I A (контрольной) группе с данными Программы 1000 Genomes Project Phase 3 установлено для европейской популяции, что аллель G была определена с частотой 0,866 (в наших исследованиях – 0,825), минорная аллель A – 0,134 (в наших исследованиях – 0,175).

Сравнение количественных показателей TNF α крови с использованием рангового критерия Вилкоксона между сроками поступления и выписки из стационара показало, что в I A группе носительство GG и GA генотипов сопровождалось достоверным снижением уровня цитокина TNF α в 1,42 и 1,25 раза в течение периода лечения ($p<0,001$ и $p=0,002$, соответственно), что свидетельствовало о торможении провоспалительного эффекта TNF α , протективном влиянии данных генотипов на благоприятное течение воспалительного процесса в ране в динамике лечения. У пациентов с AA

генотипом I A группы достоверных различий между количеством TNF α в исследуемые периоды лечения не обнаружено ($p=0,109$).

У носителей аллелей G и A уменьшение количества TNF α в процессе лечения повреждений являлось достоверным ($p<0,001$), что соответствовало ускоренной положительной динамике заживления ран вследствие снижения повреждающего действия провоспалительного цитокина.

В I B группе динамика концентрации TNF α между начальным и завершающим периодами лечения в стационаре у носителей GG и AA генотипов была не существенной и не имела статистической значимости ($p=0,304$ и $p=0,260$, соответственно). У лиц, имеющих генотип GA, уменьшение уровня TNF α являлось достоверным ($p<0,001$). Для носителей аллелей G и A I B группы незначительное уменьшение количества TNF α в крови являлось статистически достоверным ($p=0,012$) и ($p=0,027$), соответственно, но по сути, свидетельствовало о преобладании повреждающих факторов воспалительной реакции на процесс заживления ран с увеличением сроков лечения.

Проанализированы результаты распределения частот генотипов и аллелей rs3775291 гена TLR3 у больных . Также изучена связь полиморфизма rs3775291 гена TLR3 с длительностью стационарного лечения, а, именно, скоростью течения раневого процесса и эффективным заживлением.

Сравнение результатов распределения генотипов и аллелей в I A (контрольной) группе пациентов в проведенном нами исследовании и результатами Программы 1000 Genomes Project Phase 3 (<http://www.internationalgenome.org/>) для европейской популяции показало, что дикий генотип C/C в европейской популяции имел частоту 0,447 (в наших исследованиях – 0,517), гетерозиготный вариант генотипа C/T – 0,457 (в наших исследованиях – 0,400), вариант минорной гомозиготы T/T распределялся с частотой – 0,095 (в наших исследованиях – 0,082). Итак, результаты проведенного нами исследования сходились с данными частот для европейской популяции.

Сравнение распределения аллелей пациентов I A (контрольной) группы с данными Программы 1000 Genomes Project Phase 3

(<http://www.internationalgenome.org/>) для европейской популяции выявило следующее. Аллель дикого типа С в европейской популяции определялась с частотой 0,676 (в наших исследованиях – 0,717), минорная аллель Т – 0,324 (в наших исследованиях – 0,324). Таким образом, результаты распределения генотипов и аллелей у пациентов I А (контрольной) группы соответствовали распределению генотипов и аллелей для европейской популяции по данным Программы 1000 Genomes Project Phase 3.

У больных I Б группы в сравнении с I А (контрольной) группой были отмечены следующие статистически значимые различия: уменьшение частоты гомозиготного генотипа дикого типа С/С в 1,64 раза ($p=0,041$), аллели С в 1,23 раза ($p=0,042$) и увеличением частоты минорной аллели Т в 1,47 раза ($p=0,042$). Увеличение частоты гетерозиготного генотипа С/Т в 1,3 раза ($p=0,2$) и минорного гомозиготного генотипа Т/Т в 1,83 раза ($p=0,394$) не имело статистической достоверности.

Анализ результатов влияния генотипов показал, что полиморфизм rs3775291 не имел связи с наличием различий между группами I А и I Б, а именно, с длительностью заживления ран и лечения в специализированном стационаре ($\chi^2=5,166$; $p=0,076$). Сравнение частот аллелей показало, что $\chi^2=4,67$; $p=0,031$, показало наличие связи аллельного полиморфизма rs3775291 с длительностью процессов репаративной регенерации ран и, соответственно, со сроками лечения. Минорная аллель Т в 1,8 раза увеличивала шансы развития осложнений и длительного течения процесса заживления (ОШ=1,81; 95% ДИ 1,05-3,09), тогда как аллель дикого типа С уменьшала шансы развития осложнений раневого процесса в 1,8 раза (ОШ=0,55; 95% ДИ 0,32-0,95).

Так как минорная аллель Т увеличивала шансы длительного заживления ран с осложненным течением раневого процесса, то ее наличие можно было рассматривать как фактор риска репаративной регенерации ран, а наличие аллели дикого типа С указывало на протективную роль в механизмах эффективной репарации.

Роль полиморфизма rs4986790 гена TLR4 в развитии репаративных процессов, анализ результатов распределения частот генотипов и аллелей rs4986790 гена TLR4 у больных с травмой и изучению связи полиморфизма rs4986790 гена TLR4 с длительностью пребывания на стационарном лечении, т.е., скоростью заживления.

При сравнении результатов распределения генотипов и аллелей в I А (контрольной) группе больных в проведенном нами исследовании и результатами Программы 1000 Genomes Project Phase 3 (<http://www.internationalgenome.org/>) для европейской популяции было выявлено, что дикий генотип A/A в европейской популяции имел частоту 0,893 (в наших исследованиях – 0,817), гетерозиготный вариант генотипа A/G – 0,101 (в наших исследованиях – 0,183), вариант минорной гомозиготы G/G определен с частотой – 0,006 (в наших исследованиях – 0,000). Таким, образом, результаты частотного анализа исследованных нами генотипов имели сходные данные с частотами для европейской популяции.

При сравнении распределения аллелей пациентов I А (контрольной) группы (рис. 6.1) с данными Программы 1000 Genomes Project Phase 3 (<http://www.internationalgenome.org/>) для европейской популяции выявило следующее. Аллель дикого типа А в европейской популяции определялась с частотой 0,943 (в наших исследованиях – 0,908), минорная аллель G – 0,057 (в наших исследованиях – 0,092). Таким образом, данные по распределению частот генотипов и аллелей у пациентов I А (контрольной) группы соответствовали распределению частот генотипов и аллелей для европейской популяции по данным Программы 1000 Genomes Project Phase 3.

У пациентов I А (контрольной) и I Б групп выявлены следующие статистически значимые различия: уменьшение частоты гомозиготного генотипа дикого типа A/A в 1,3 раза ($p=0,025$), аллели А в 1,12 раза ($p=0,04$) и увеличение частоты гетерозиготного варианта A/G в 2,1 раза ($p=0,025$) минорной аллели G в 2,09 раза ($p=0,042$). В I А и I Б группах пациентов при генотипировании минорный генотип G/G не обнаружен.

Анализ влияния генотипов по таблице сопряженности показал наличие связи rs4986790 гена TLR4 с продолжительностью заживления ($\chi^2=9,687$; $p=0,002$). Генотипом риска выявился гетерозиготный генотип A/G, который в 2,77 раза повышал риск длительного пребывания в стационаре (ОШ=2,77; 95% ДИ 1,20-6,39). Минорный генотип G/G не определялся. Дикий генотип A/A снижал шансы неосложненного течения раневого процесса в 2,78 раза (ОШ=0,36; 95% ДИ 0,16-0,83), что указывало на его благоприятный регенераторно-репаративный эффект.

В дальнейшем для построения прогностической модели раневого процесса нами использована технология многофакторной логистической регрессии с пошаговым включением независимых переменных из программного пакета GLZ (Statistica 10, StatSoft, Inc. США). В анализ были включены все пациенты групп 1А и 1Б, которые по клиническим характеристикам травмы были относительно однородными. Как было указано ранее в 1А группу вошли 60 больных с коротким сроком госпитального лечения: от 7 до 10 суток. Группу 1Б составили 60 пациентов с длительностью стационарного лечения от 19 до 48 суток.

В качестве независимых переменных при построении регрессионного уравнения были использованы индикаторные значения полиморфных генотипов генов TGFB1, TNF, TLR-3 и TLR-4.

Степень влияния предикторов на зависимую переменную определенная по абсолютным значениям их β - коэффициентов указала на наибольший удельный вес в прогнозе длительной госпитализации индикаторных значений генотипа rs1800629 гена TNF и наименьший – генотипа rs4986790 гена TLR-4, а именно: TNF |1,394| > TGFB1 |1,200| > TLR-3 |1,021| > TLR-4 |0,703|

Полученные результаты были следующими: индикаторные значения генотипа rs1800629 гена TNF оказывали влияние на расчет вероятности прогноза длительной госпитализации пациентов на 39,19 %, генотипа rs1800471 гена TGFB1 – на 29,04 %, генотип rs3775291 гена TLR-3 – на 21,02 % и генотипа rs4986790 гена TLR-4 – на 10,75 %. При этом вероятность длительной госпитализации была выше у пациентов при наличии в генотипах аллелей риска.

Следует отметить, что логистические модели, решающие вопросы бинарной классификации, всегда требуют критической оценки значения точки отсечения (cut-off) на вероятностной кривой, которая разделяет два класса результатов, а именно негативный и позитивный прогнозы изучаемого события.

Точка равновесия чувствительности, специфичности и точности логистической регрессионной модели соответствует значению вероятности $P_x=0,534$. Увеличение значения точки отсечения выше указанного приведет к снижению безошибочного прогноза случаев с длительным стационарным лечением и, в то же время, повысит правильность прогноза для непродолжительного периода госпитализации. Уменьшение значения точки отсечения приведет к противоположному результату. В этой связи на диаграмме было найдено такое граничное значение вероятности, при котором существенно возрастает безошибочность прогноза длительной госпитализации без существенной потери показателя точности системы в целом – $Ропт.=0,417$.

Результаты проведенного исследования подтвердили наличие взаимосвязей между общеклиническими показателями, характеризующими тяжесть и течение патологического процесса и данными генотипирования генов $TGFB1$, $TNF\alpha$, $TLR-3$ и $TLR-4$, механизмы действия которых, как было установлено, распространяются на процессы репарации. Было также определено, что сочетания полиморфных генотипов ассоциированы с длительностью стационарного лечения, что нашло свое практическое использование в разработке математической модели для индивидуального генетического прогноза длительной госпитализации у данного контингента пациентов.

Далее была предпринята попытка разработки моделей прогнозирования двух важных клинических показателей, характеризующих течение болезни и выздоровления пациентов, к которым мы отнесли длительность стационарного лечения – показатель койко-дня и общее количество выполненных операций.

Для построения прогностической модели использована технология множественной линейной регрессии из программного пакета Statistica 10 (StatSoft, Inc. США).

В процесс разработки регрессионных уравнений был включен расчетный показатель $R_{дг}$, характеризующий величину вероятности длительного стационарного лечения пациентов, основанный на данных генотипирования полиморфизмов rs1800471 гена TGF β 1, rs1800629 гена TNF α , rs3775291 гена TLR-3 и rs4986790 гена TLR-4. Как было установлено ранее, все значения $R_{дг} \geq 0,417$ в 85,0 % безошибочно прогнозировали длительное госпитальное лечение пациентов.

В связи с тем, что параметры двух переменных: «Возраст» и «Пол» статистически не отличались от нулевой гипотезы, они были исключены из дальнейшей разработки.

В результате расчетов было установлено, что переменная «Генетически обусловленная длительная госпитализация» оказывала влияние на значение показателя «Койко-день» на 83,71 %, «Тяжесть при поступлении» – на 16,05 % и «Длительность доставки в стационар» – на 0,24 %.

Таким образом, формула для расчета величины «койко-день» (КД) может быть представлена следующим образом:

$$КД = -1,432 + 9,883*ГП + 4,327*ТС + 0,533*ДД,$$

где: КД – величина показателя «Койко-день» (сутки), конвертированная в целое число;

ГП – индикаторные значения для генетического прогноза длительной госпитализации: 1 – генетически обусловленная длительная госпитализация; 0 – менее длительная госпитализация, обусловленная протективным генотипом;

ТС – порядковые значения, характеризующие тяжесть состояния пациента при поступлении: 1 – средней тяжести; 2 – средне-тяжелое; 3 – тяжелое;

ДД – длительность доставки в стационар (часы).

Исследование основных вычислительных характеристик регрессионного уравнения показало высокую степень влияния предикторов на расчетный показатель: коэффициент множественной корреляции $R=0,916$; коэффициент детерминации, который характеризовал соответствие модели фактическим данным $R^2=0,839$, критерий $F=419,17$ ($p<0,001$).

Проведенный анализ фактических и прогнозируемых разработанной моделью величин показателя «Койко-день» не установил статистических различий между исследуемыми вариационными рядами, что подтверждает валидность разработанной модели прогнозирования с показателем соответствия $R^2=0,839$.

Абсолютные величины коэффициентов регрессии позволили расположить предикторы в ряд по убыванию относительно их вклада в прогнозирование искомой переменной регрессионного уравнения: «Генетически обусловленная длительная госпитализация» > «Тяжесть при поступлении» > «Пол» > «Длительность доставки в стационар». Те же данные в цифровом выражении:

$$|0,695| > |0,361| > |-0,320| > |0,041|,$$

при этом знаки коэффициентов регрессии для переменных «Генетически обусловленная длительная госпитализация», «Тяжесть при поступлении» и «Длительность доставки в стационар» указывали на прямую связь с итоговой переменной, а для переменной «Пол» – обратную связь.

Таким образом, формула для расчета величины «Количество выполненных операций» (КО) может быть представлена следующим образом:

$$КО = 31,754 + 0,695*ГП + 0,361*ТС - 0,320*П + 0,041*ДД,$$

где: КО – величина показателя «Количество выполненных операций» (расчетное значение конвертируется в целое число);

ГП – индикаторные значения для генетического прогноза длительной госпитализации: 1 – генетически обусловленная длительная госпитализация; 0 – менее длительная госпитализация, обусловленная протективным генотипом;

ТС – порядковые значения, характеризующие тяжесть состояния пациента при поступлении: 1 – средней тяжести; 2 – средне-тяжелое; 3 – тяжелое;

П – индикаторные значения, характеризующие пол пациентов: 101 – мужской, 102 – женский;

ДД – длительность доставки в стационар (часы).

Основные вычислительные характеристики регрессионного уравнения прогноза величины показателя «Количество выполненных операций» демонстрировали высокую степень влияния предикторов на расчетный показатель: коэффициент множественной корреляции $R=0,804$; коэффициент

детерминации, характеризующий соответствие расчетных данных фактическим: $R^2=0,647$, критерий Фишера, оценивающий значимость уравнения в целом: $F=109,68$ ($p<0,001$).

Проведенный анализ фактических и прогнозируемых значений показателя «Количество выполненных операций» не установил статистических различий между ними, что подтверждает эффективность разработанной модели прогнозирования с показателем соответствия $R^2=0,647$.

Разработаны математические модели для прогнозирования значений показателей длительности госпитального лечения и количества операций у больных с травмой. В качестве предикторов регрессионных уравнений были использованы общеклинические показатели: пол пациента (П), длительность доставки в стационар (ДД) и тяжесть состояния при поступлении (ТС), а также данные генетического прогноза длительности госпитализации (ГП), рассчитанного с использованием результатов генотипирования полиморфизмов rs1800471 гена TGF β 1, rs1800629 гена TNF α , rs3775291 гена TLR-3 и rs4986790 гена TLR-4. По степени влияния на показатель длительности госпитализации (койко-день) предикторы расположились следующим образом: ГП (83,71 %) > ТП (16,05 %) > ДД (0,24 %), при этом все показатели демонстрировали прямую связь с итоговой переменной со следующими характеристиками: коэффициент множественной корреляции $R=0,916$; коэффициент детерминации $R^2=0,839$, критерий $F=419,17$ ($p<0,001$). По степени влияния на количество операций предикторы расположились следующим образом: ГП (67,33 %) > ТП (18,17 %) > П (14,27 %) > ДД (0,23 %), при этом все показатели оказывали прямое влияние, тогда как «Пол пациента» – обратное влияние на итоговую переменную с общими параметрами: коэффициент множественной корреляции $R=0,804$; коэффициент детерминации $R^2=0,647$, критерий Фишера $F=109,68$ ($p<0,001$).

На завершающем этапе исследования нами предложена тактика хирургического лечения, основанная на математическом прогнозе исхода заболевания, включающая в себя индивидуально-дифференцированный подход к

выполнению реконструктивных операций. Эта тактика апробирована в основной группе пациентов.

Большинство пациентов были оперированы как в экстренном порядке, так и в раннем плановом – 701 ($94,3 \pm 0,8\%$) пациент, 42 ($5,7 \pm 0,8\%$) пострадавших были пролечены консервативно, с использованием раневых покрытий, ксенокожи, мазей на гидрофильной основе.

Оптимальным подходом к лечению боевой травмы и ожоговой болезни является одномоментная и окончательная ликвидация всех имеющихся повреждений. Однако, у ряда пострадавших тяжесть состояния, длительность оперативного вмешательства, скорость и этапность доставки в специализированный центр, могут превысить функциональные возможности организма. Кроме того, окончательное, исчерпывающее восстановление поврежденных органов и структур на операционном столе могут привести к развитию тяжелых послеоперационных осложнений как в ближайшем, так и в отдаленном послеоперационном периоде.

В связи с этим, в ожоговом центре ИНВХ им. В.К. Гусака было использовано использование тактики запрограммированного многоэтапного хирургического лечения (ЗХМЛ). Такой подход полностью себя оправдывает в условиях современных локальных войн и вооруженных конфликтов.

При этом, в том числе и в ожоговом центре ИНВХ, выполнялись три этапа данной тактики:

- 1 этап – временная или окончательная остановка кровотечения, временное закрытие ран;
- 2 этап – интенсивная терапия до стабилизации основных жизненно важных функций организма;
- 3 этап – повторное оперативное вмешательство, направленное на коррекцию всех выявленных повреждений.

После выполнения первого этапа, т.е. ликвидации непосредственной угрозы жизни пациента, проводился второй этап ЗХМЛ, включающий в себя проведение интенсивной терапии.

Основное место в интенсивной терапии занимала инфузионная терапия. Главные принципы раннего инфузионного лечения пациентов – это как можно более быстрое восстановление значительных потерь воды, белка и электролитов и ОЦК.

Соблюдалось правило четырех катетеров: катетер в центральной вене (или в 1-2 периферических венах), мочевого катетер, гастральный (энтеральный) зонд, катетер в носоглотке для оксигенотерапии (или кислородная маска).

Важнейшей составляющей комплексной терапии являлась антибиотикотерапия. Предпочтение отдавалось назначению полусинтетических пенициллинов, цефалоспоринов 2-4 поколений, фторхинолов. В случаях, когда рана была обильно загрязнена (ожоговый струп, обрывки одежды в ране, инородные предметы и т.д.), считали целесообразным назначение антибиотиков резерва – ванкомицина, цефепима, меропенема, тиенама.

Инфузионная терапия дополнялась гастроэнтеральным введением жидкостей при отсутствии у пострадавших диспепсических явлений.

Критериями, которые указывали на стабилизацию состояния, считали адекватное сознание, нормализация показателей «красной крови», нормализация показателей центральной гемодинамики, ЦВД, почасового диуреза и поддержание их в пределах нормальных значений при снижении интенсивности введения жидкости, а также нормализация показателей КЩС и газового состава крови.

Все оперированные больные были разделены в свою очередь на группы в соответствии с этапностью хирургического лечения.

Большая часть больных, от $61,4 \pm 5,2\%$ до $61,9 \pm 2,9\%$, были оперированы в один этап, как правило, выполнялась первичная или вторичная хирургическая обработка раны, рана закрывалась при помощи какого-либо вида пластики или расщепленным лоскутом. У $38,6 \pm 5,2\%$ (основная группа), $38,1 \pm 2,7\%$ и $38,7 \pm 2,9\%$ в первой и второй группах больных соответственно, применялась система запрограммированного многоэтапного хирургического лечения.

Предлагаемая нами тактика лечения основана на применении ЗХМЛ в несколько более расширенном варианте, включающем в себя прогнозирование исхода лечения на основании разработанной модели.

На основании предлагаемой тактики лечения были сформулированы следующие положения:

1. Организация помощи раненым и обожженным в системе гражданского здравоохранения должна основываться на принципе одно/малоэтапной транспортировки с преимущественной доставкой в специализированный центр, располагающий достаточным уровнем кадрового и материально-технического обеспечения.

2. При благоприятном прогнозе показана первичная хирургическая обработка огнестрельных, комбинированных, сочетанных ранений и ожоговой травмы с сочетанием первичной пластикой в случае отсутствия продолжающегося кровотечения, напряженных гематом, глубокого (субфасциального) ожога и полноценным обеспечением послеоперационного периода.

3. При обнажении или повреждении сосудисто-нервных пучков, костных структур, суставов, их поверхностей, применение локальных лоскутов с осевым типом кровоснабжения является приоритетным методом пластики многокомпонентных раневых дефектов.

4. При неблагоприятном прогнозе исхода лечения – выполняется хирургическая обработка раны с применением современных способов лечения как метода профилактики послеоперационных осложнений (этап запрограммированного многоэтапного хирургического лечения).

5. Обязательным элементом хирургической обработки (первичной и вторичной) является фасциотомия с целью ликвидации или профилактики развития синдрома длительного сдавления.

6. Раны и ожоги после выполнения как первичной, так и вторичной хирургической обработки должны быть по возможности быстро закрыты одним из методов пластики тканей, что ведет как к сокращению количества операций,

так и к сокращению длительности стационарного лечения, уменьшению количества осложнений.

7. Отсутствие индивидуально-дифференцированного прогноза при выборе тактики оперативного лечения, операция, основанная на субъективных показателях, ведет к неизбежным повторным оперативным вмешательствам, увеличению сроков стационарного лечения, увеличению количества осложнений.

8. Применение современных методов лечения при ранениях и ожоговой травме (УЗ-кавитации и Vac-дренирования) при неблагоприятном прогнозе течения раневого процесса, позволяет выполнить более радикальную хирургическую обработку раны без избыточной хирургической агрессии и позволяет избежать многоэтапного хирургического лечения.

9. Индивидуально-дифференцированный подход (основанный на применении математической модели с учетом наиболее важных предикторов исхода лечения) при выборе способа, времени и объема оперативного пособия необходим при оказании специализированной хирургической помощи в наиболее ранние сроки.

При анализе полученных результатов лечения, были изучены клинические и организационные параметры госпитализации: скорость доставки раненных и пострадавших в специализированный центр, длительность стационарного лечения, количество выполненных операций.

В первой группе больных средняя скорость доставки пациентов в специализированный ожоговый центр составила $42 \pm 4,5$ часа, во второй группе пациентов – $180 \pm 12,7$ часа, в основной группе больных – $56 \pm 8,5$ часов.

Средняя длительность стационарного лечения в первой группе больных составила $33,5 \pm 3,4$ суток, во второй группе пациентов – $48,5 \pm 5,8$ суток, в основной группе больных – $24,3 \pm 2,5$ суток.

Среднее количество операций на одного человека в первой группе больных составило $2,8 \pm 0,5$, во второй группе больных – $4,5 \pm 1,2$, в основной группе – $1,9 \pm 0,6$ операций.

В первой группе больных ранние послеоперационные осложнения наблюдались у 23 ($6,9 \pm 1,8\%$) больных, во второй группе больных – у 41 ($14,5 \pm 2,1\%$) пациента, в основной группе больных осложнения возникли у 3 ($3,3 \pm 1,9\%$) пострадавших. В остальных случаях послеоперационный период протекал гладко во всех группах больных.

Были также проанализированы и отдаленные результаты лечения (от 6 месяцев до 1 года после выписки из стационара). В Институте неотложной и восстановительной хирургии им. В.К. Гусака отсутствует собственное поликлиническое отделение, в связи с чем, удалось проследить судьбу 527 больных ($70,9 \pm 1,7\%$), находившихся на стационарном лечении и самостоятельно являвшихся на контрольные осмотры. Среди всех осмотренных в отдаленном послеоперационном периоде отдаленные послеоперационные осложнения были выявлены у 153 больных ($20,6 \pm 1,5\%$ – от общего количества больных).

По нашим данным, из 527 больных, у которых были прослежены отдаленные результаты лечения, отдаленные послеоперационные осложнения были зафиксированы у 151 пациента ($28,7 \pm 2,0\%$).

Наибольший процент осложнений ($27,2 \pm 2,5\%$) приходится на пациентов второй группы, существенно меньше ($16,8 \pm 2,0\%$) у больных первой группы и является наименьшим ($10,1 \pm 3,2\%$) у больных основной группы. Это объясняется, на наш взгляд, нерациональной хирургической тактикой при оказании специализированной помощи у больных второй группы, где при эвакуации использовался дополнительный этап лечения.

При дальнейшем изучении результатов лечения, была прослежена медико-социальная составляющая, т.е. количество пациентов, получивших группу инвалидности в срок от 6 месяцев до 1 года после выписки из стационара. Всего было инвалидизировано 120 пациентов ($79,5 \pm 3,3\%$) из 151 пациента с неблагоприятными отдаленными послеоперационными результатами.

Показатели инвалидизации от общего числа больных в исследуемых группах, составили: в первой группе 49 человек ($14,2 \pm 1,9\%$), во второй группе 67 человек ($22,0 \pm 2,4\%$), в основной группе 4 человека ($4,3 \pm 2,1\%$).

ВЫВОДЫ

В диссертационной работе на основании патоморфологических, молекулярно-генетических, иммуноферментных, бактериологических и клинических методов исследования автором решена серьёзная научная проблема: на основании наиболее патогенетически значимых предикторов и созданной математической прогностической модели течения раневого процесса была доказана необходимость ранней специализированной хирургической помощи при боевой и ожоговой травме, что имеет важное значение для теоретической и практической медицины.

1. В структуре боевой и ожоговой травмы большую часть повреждений несут преимущественно высокоэнергетичный характер, у $49,4 \pm 1,8 \%$ пострадавших были сочетанные и комбинированные поражения; получение изолированных огнестрельных ранений, как множественных осколочных, так и пулевых, колебалось в пределах от $13,0 \%$ до $18,8 \%$; изолированные ожоги были зафиксированы от $3,9 \%$ до $12,1 \%$ случаев; от $7,5 \%$ до $47,9 \%$ (вторая группа) пациентов были выявлены раны различной этиологии. В первой группе больных средняя скорость доставки пациентов в специализированный ожоговый центр составила $42 \pm 4,5$ часа, во второй группе пациентов – $180 \pm 12,7$ часа ($p < 0,001$), в основной группе больных – $56 \pm 8,5$ часов. В первой группе больных сосредоточился наиболее тяжелый контингент больных ($44,0 \pm 2,7 \%$), во второй группе больных преобладали пациенты в средне-тяжелом состоянии ($41,0 \pm 2,8 \%$), такая картина наблюдалась и в основной группе пациентов ($47,8 \pm 5,2 \%$).
2. При патоморфологическом исследовании при несвоевременной или неадекватной хирургической обработке ран наблюдались статистически различимо ($p < 0,05$) более обширные поля некроза, более выраженное гнойное воспаление с колониями микроорганизмов в экссудате и полях некроза, выраженная коллагенизация дермы вдали от воспалительной инфильтрации. Своевременная хирургическая обработка позволяет избежать

распространения некроза, возникновения выраженного гнойного воспаления дермы и подкожной клетчатки, сократить время течения регенераторных процессов, уменьшить объем рубцовой ткани в исходе регенерации, подавить патогенную флору у $83,3 \% \pm 6,2 \%$ больных первой группы ($p < 0,001$) к седьмым суткам лечения.

3. Реакция гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы в начальном периоде травмы сопровождалась нормо- и гиперкортизолемией на 61 % ($p < 0,001$), которые определяли дальнейшее течение иммуно-воспалительного и регенераторного процессов за счет изменения экспрессии генов провоспалительных и противовоспалительных цитокинов. Гиперкортизолемия индуцировала снижение экспрессии генов цитокинов TGFb1, IL-6, IL-10, IFN γ и одновременное повышение экспрессии TNF α , значимо влияя на длительность лечения.
4. Распределение генотипов и аллелей rs1800471 гена TGFb1 ассоциировано с длительным лечением в стационаре $\chi^2 = 7,100$; $p = 0,029$ и $\chi^2 = 8,677$; $p = 0,003$, соответственно. Наличие генотипов GC и CC, минорной аллели C увеличивало шансы длительного и осложненного течения раневого процесса в 2,14 раза (ОШ = 2,14; 95 % ДИ 0,89-5,14), в 3,83 раза (ОШ = 3,83; 95 % ДИ 0,76-19,26) и в 2,75 раза (ОШ = 2,75; 95 % ДИ 1,38-5,48), соответственно. Наличие аллели C сопровождалось снижением продукции TGFb1 в 1,4 раза и замедленной репарацией термомеханических повреждений в сравнении с носителями аллели G ($p < 0,001$).
5. Распределение генотипов и аллелей rs1800629 гена TNF α ассоциировано с длительным лечением термомеханических повреждений в стационаре $\chi^2 = 6,705$; $p = 0,035$ и $\chi^2 = 7,902$; $p = 0,005$, соответственно. Наличие минорной аллели А повышало шансы длительности репарации ран в 2,36 раза (ОШ = 2,36; 95 % ДИ 1,29-4,32), присутствие аллели А в генотипах GA и AA увеличивало шансы длительного лечения ран в 1,7 раза (ОШ = 1,74; 95 % ДИ 0,79-3,81) и 3,35 раза (ОШ = 3,35; 95 % ДИ 0,86-13,07) и обуславливало

хроническое течение раневого процесса под влиянием высокого уровня TNF α крови ($p < 0,001$) на протяжении всего периода лечения.

6. Полиморфизмы генов rs3775291 гена TLR3 и rs4986790 гена TLR4 влияют на длительность репаративной регенерации боевых и ожоговых ран: для rs3775291 гена TLR3 увеличение риска в 1,81 раза (ОШ = 1,81; 95 % ДИ 1,05-3,09) ассоциировано с минорной аллелью T ($\chi^2 = 4,67$; $p = 0,031$); для rs4986790 гена TLR4 – с генотипом AG ($\chi^2 = 9,687$; $p = 0,002$) и минорной аллелью G ($\chi^2 = 4,91$; $p = 0,027$) с увеличением риска в 2,77 раза (ОШ = 2,77; 95 % ДИ 1,20-6,39) и в 2,35 раза (ОШ = 2,35; 95 % ДИ 1,09-5,07), соответственно, длительности заживления ран. При анализе rs5743708 гена TLR2 не выявлено значимой связи с длительностью репаративной регенерации.
7. Распределение сочетанных вариантов генотипов и аллелей rs3775291 гена TLR3 и rs4986790 гена TLR4 ассоциировано с течением раневого процесса $\chi^2 = 13,03$; $p = 0,023$ и $\chi^2 = 11,53$; $p = 0,009$, соответственно. Наличие вариантов СТ-AG и ТТ-AG увеличивало шансы длительного заживления ран в 6,51 раза (ОШ = 6,51; 95 % ДИ 1,38-30,79) и 6,56 раза (ОШ = 6,56; 95 % ДИ 1,76-56,22). Комбинация аллелей Т-G увеличивала шансы хронического течения раневого процесса в 6,51 раза (ОШ = 6,51; 95 % ДИ 1,83-22,59). Наличие сочетанных вариантов ТТ-AG и Т-G сопровождалось статистически значимо меньшим уровнем IL-6, IL-10 и IFN γ в крови ($p < 0,001$), в сравнении с генетическими вариантами, содержащими аллели дикого типа С и А, в течение всего периода лечения.
8. Разработана математическая модель прогнозирования длительности лечения боевых и термических повреждений, включающая значимые комбинации генотипов, которые по удельному вкладу распределяются следующим образом: rs1800629 гена TNF α |1,394| > rs1800471 гена TGFb1 |1,200| > rs3775291 гена TLR3 |1,021| > rs4986790 гена TLR4 |0,703| при общей точности разработанной регрессионной модели 75 % с чувствительностью – 85 % и специфичностью – 65 %. Индикаторные значения

генотипа rs1800629 гена TNF оказывали влияние на расчет вероятности прогноза длительной госпитализации пациентов на 39,19 %, генотипа rs1800471 гена TGFB1 – на 29,04 %, генотип rs3775291 гена TLR-3 – на 21,02 % и генотипа rs4986790 гена TLR-4 – на 10,75 %. При этом вероятность длительной госпитализации была выше у пациентов при наличии в генотипах аллелей риска.

9. Абсолютные величины коэффициентов регрессии позволили расположить клинические предикторы в ряд по убыванию их относительного вклада в прогнозирование переменной «Койко-день» регрессионного уравнения: ГП > ТП > ДД: $|9,883| > |4,327| > |0,533|$. В прогнозирование переменной «Количество выполненных операций» регрессионного уравнения: ГП > ТП > П > ДД: $|0,695| > |0,361| > |-0,320| > |0,041|$. Разработаны математические модели для прогнозирования значений показателей длительности госпитального лечения и количества операций у больных с травмой. По степени влияния на показатель длительности госпитализации (койко-день) предикторы расположились следующим образом: ГП (83,71 %) > ТП (16,05 %) > ДД (0,24 %), коэффициент множественной корреляции $R = 0,916$; коэффициент детерминации $R^2 = 0,839$, критерий $F = 419,17$ ($p < 0,001$). По степени влияния на количество операций предикторы расположились следующим образом: ГП (67,33 %) > ТП (18,17 %) > П (14,27 %) > ДД (0,23 %), коэффициент множественной корреляции $R = 0,804$; коэффициент детерминации $R^2 = 0,647$, критерий Фишера $F = 109,68$ ($p < 0,001$).
10. Предложена тактика хирургического лечения, основанная на математическом прогнозе исхода заболевания, включающая в себя индивидуально-дифференцированный подход к выполнению реконструктивных операций. Средняя длительность стационарного лечения в первой группе больных составила $33,5 \pm 3,4$ суток, во второй группе пациентов – $48,5 \pm 5,8$ суток, в основной группе больных наименьшие $24,3 \pm 2,5$ суток, $p < 0,01$. Среднее количество операций на одного человека в первой группе больных составило

$2,8 \pm 0,5$; во второй группе больных – $4,5 \pm 1,2$; в основной группе наименьшие $1,9 \pm 0,6$ операций, $p < 0,05$. В первой группе больных ранние послеоперационные осложнения наблюдались у $6,9 \% \pm 1,8 \%$ больных, во второй группе больных – у $14,5 \% \pm 2,1 \%$ пациентов, в основной группе больных наименьшие осложнения возникли у $3,3 \% \pm 1,9 \%$ пострадавших, $p < 0,01$. Наибольший процент осложнений в отдаленном послеоперационном периоде ($27,2 \% \pm 2,5 \%$) приходится на пациентов второй группы, существенно меньше ($16,8 \% \pm 2,0 \%$) у больных первой группы и является наименьшим ($10,1 \% \pm 3,2 \%$) у больных основной группы, $p < 0,01$. Показатели инвалидизации составили: в первой группе $14,2 \% \pm 1,9 \%$, во второй группе $22,0 \% \pm 2,4 \%$, в основной группе наименьшие $4,3 \% \pm 2,1 \%$, $p < 0,01$.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Организация помощи раненым и обожженным в системе гражданского здравоохранения должна основываться на принципе одно/малоэтапной транспортировки с преимущественной доставкой в специализированный центр, располагающий достаточным уровнем кадрового и материально-технического обеспечения.
2. Основным методом ранней специализированной хирургической помощи при боевой и ожоговой травме является рациональная первичная хирургическая обработка раны с использованием современных средств физико-химического воздействия. Выбор объема хирургической обработки раны должен осуществляться дифференцированно на основе прогнозирования исхода лечения.
3. Своевременная доставка пострадавшего в специализированный центр должна осуществляться не позднее 48 часов от момента получения травмы, учитывая адекватную оценку тяжести состояния.
4. Медикаментозная терапия в остром и раннем периодах должна носить комплексный поливалентный характер.
5. Изучение генетического материала позволяет уверенно прогнозировать исход заболевания, т.к. гены остаются неизменными от момента зачатия до смерти.
6. Прогнозирование исхода заболевания должно основываться на предложенной математической модели с учетом наиболее важных предикторов – скорости доставки, тяжести состояния заболевания, пола, генетического прогноза.
7. Лечение ран с применением высокотехнологичных методов лечения (вакуумной терапии, ультразвуковой кавитации, современных атравматичных перевязочных материалов, современных способов пластического закрытия) должно носить дифференцированный характер в соответствии с разработанным алгоритмом.

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абаев, Ю. К. Справочник хирурга. Раны и раневая инфекция [Текст] / Ю. К. Абаев. – Ростов –на-Дону : Феникс, 2006. – 427 с.
2. Абаев, Ю. К. Биология заживления острой и хронической раны [Текст] / Ю. К. Абаев // Медицинские новости. – 2003. – № 6. – С. 3–10.
3. Абаев, Ю. К. Заживление острых и хронических ран. Сообщение 2 [Текст] / Ю. К. Абаев // Военная медицина. – 2010. – № 2. – С. 106–110.
4. Абугалиев, К. Р. Хирургическое лечение глубоких ожогов с применением разработанного ксеногенного раневого покрытия [Текст] / К. Р. Абугалиев, М.К. Акканов // Актуальные вопросы лечения термической травмы : материалы научно-практической конференции. – Якутск, 2015. – С. 13–15.
5. Агапов, И. Л. Совершенствование местного лечения пострадавших с поверхностными ожогами в условиях окружного ожогового центра (клинико-экспериментальное исследование) [Текст] : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.00.27 : защищена 18 июня 2004 г. / Агапов Игорь Леонидович ; Санкт-Петербургская медицинская академия последипломного образования. – Санкт-Петербург, 2004. – 24 с.
6. Акопян, С. Р. Ранние некрэктомии с одномоментной кожной пластикой при лечении глубоких ожогов [Текст] / С. Р. Акопян // Скорая помощь. – 2006. – Т. 7, № 3. – С. 139–140.
7. Активность трансформирующего фактора роста- β у лиц молодого возраста с марфаноидной внешностью [Текст] / Е. В. Тимофеев [и др.] // Педиатр. – 2019. – Т. 10, № 1. – С. 49–56.
8. Алгоритм диагностики и коррекции стресс-ответа на хирургической вмешательство у больных с тяжёлой термической травмой [Текст] / О. Н. Почепень [и др.] // I Съезд комбустиологов России : сборник научных трудов. – Москва, 2005. – С. 80–81.
9. Алексанин, С. С. Концепция и технологии организации оказания экстренной медицинской помощи при ожоговой травме в чрезвычайных ситуациях

- [Текст] / С. С. Алексанин, А. А. Алексеев, С. Г. Шаповалов. – Санкт-Петербург : ВЦЭРМ им. А. М. Никифорова МЧС России, 2016. – 305 с.
10. Анализ причин и пути снижения летальности при многофакторном термическом поражении (термотоксической травме) [Текст] / В. П. Лапотко [и др.]. – Кемерово : Метод. центр, 2001. – 35 с.
 11. Анализ противоопухолевых свойств внеклеточных везикул мезенхимных стволовых клеток со сверхэкспрессией родственного фактору некроза опухоли апоптоз-индуцирующего лиганда (TRAIL) [Текст] / Д. С. Чулпанова [и др.] // Гены и Клетки. – 2019. – Т. 14, № 5. – С. 256.
 12. Анализ уровня трансформирующего фактора роста $\beta 1$ при хронической сердечной недостаточности [Текст] / Л. П. Воронина [и др.] // Астраханский медицинский журнал. – 2018. – Т. 13, № 3. – С. 9–15.
 13. Антомонов, М.Ю. Математическая обработка и анализ медико-биологических данных [Текст] / М.Ю. Антомонов // К.: Изд-во „Малийdruck“. — 2006. — 558 с.
 14. Анисимова, Н. Ю. Мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки для создания биоимплантов [Текст] / Н. Ю. Анисимова // Российский биотерапевтический журнал. – 2013. – № 2. – С. 2–10.
 15. Анкин, Л. Н. Политравма (Организационные, тактические и методологические проблемы) [Текст] / Л. Н. Анкин. – Москва : МЕДпресс - информ, 2004. – 173 с.
 16. Артемова, Е.В. Особенности синтеза, активации и дезактивации глюкокортикоидов. Биологическая роль кортизола в метаболических нарушениях [Текст]/ Е.В. Артемова // Ожирение и метаболизм. — 2017. — Т.14. — №. 2 — С.48-52. doi: 10.14341/ОМЕТ2017248-52.
 17. Баринов, Э. Ф. Архитектоника интерцитокиновых взаимосвязей в лечении глубоких ожогов кожи [Текст] / Э. Ф. Баринов, А. Э. Баринов // Буковинский мед. вестник. – 2003. – Т. 7, № 1. – С. 118–123.
 18. Белоусов, А. Е. Рубцы и их коррекция [Текст] / А. Е. Белоусов. – Санкт-Петербург : Командор-SPB, 2005. – 128 с.

19. Беялов, Ф. И. Прогнозирование и шкалы в кардиологии [Текст] / Ф. И. Беялов. – 2-е изд. – Москва : МЕДпресс-информ, 2018. – 300 с.
20. Беяев, А. Н. Пути улучшения инфузионной терапии комбинированной (ожог и кровопотеря) травмы [Текст] : автореф. дис. ... доктора мед. наук : 14.00.37 ; защищена 1996 г. / Беяев Александр Назарович; Мордовский университет. – Нижний.Новгород, 1996. – 30 с.
21. Бигуняк, В. В. Использование комбинированного генетически неоднородного субстрата в хирургической дермопластике [Текст] / В. В. Бигуняк, В. В. Демьяненко, Н. О. Вартамян // Госпитальная хирургия. – 2007. – № 2. – С. 52–55.
22. Бигуняк, В. В. Термические поражения [Текст] / В. В. Бигуняк, Н. Е. Повстяной. – Тернополь : Укрмедкнига, 2004. – 196 с.
23. Богданов, С. Б. Лечение пограничных ожогов конечностей на современном этапе [Текст] / С. Б. Богданов, О. Н. Афаунова // Инновационная медицина Кубани. – 2016. – № 2. – С. 22–26.
24. Богомолов, С. Д. Применение искусственных нейронных сетей для прогнозирования в хирургии [Текст] / С. Д. Богомолов, С. В. Киселев, А. П. Медведев // Нижегородский медицинский журнал. – 2003. – № 1. – С. 13–16.
25. Бондаренко, А. В. Госпитальная летальность при сочетанной травме и возможности ее снижения [Текст] / А. В. Бондаренко, В. А. Пелеганчук, О. А. Герасимова // Вестник травматологии и ортопедии. – 2004. – № 3. – С. 49–52.
26. Боровиков, В. П. Statistica. Статистический анализ и обработка данных в среде Windows [Текст] / В. П. Боровиков, И. П. Боровиков. – Москва : Филин, 1998. – 595 с.
27. Влияние высоко- и низкомолекулярной гиалуроновой кислоты на высвобождение омега-3 и омега-6 кислот при активации толл-подобных рецепторов в астроцитах [Текст] / Н. В. Азбукина [и др.] // Биологические мембраны. – 2020. – Т. 37, № 2. – С. 94–102.

28. Влияние гиалуроновой кислоты на активацию астроцитов при стимуляции толл-подобных рецепторов [Текст] / Н. В. Азбукина [и др.] // Рецепторы и внутриклеточная сигнализация : сборник научных трудов / под редакцией В. П. Зинченко, А. В. Бережнова. – Серпухов, 2019. – С. 133–137.
29. Военно-полевая медицина [Текст] / Э. Я. Фисталь [и др.]. – Донецк, 2015. – 624 с.
30. Военно-полевая хирургия [Текст] : национальное руковод. / под ред. И. Ю. Быкова, Н. А. Ефименко, Е. К. Гуманенко. – Москва : ГЭОТАР - Медиа, 2009. – 816 с.
31. Военно-полевая хирургия [Текст] : учебник / под ред. Е. К. Гуманенко. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2012. – 768с.
32. Военно-полевая хирургия [Текст] / под ред. Н. А. Ефименко. – Москва : Медицина, 2002. – 528 с.
33. Военно-полевая хирургия локальных войн и вооруженных конфликтов [Текст]: руководство для врачей / под ред. Е. К. Гуманенко, И. М. Самохвалова. – Москва : Гэотар-Медиа, 2011. – 672 с.
34. Воронцова, З.А. Восстановительные процессы и гормоны (обзор литературы) [Текст] / З.А. Воронцова, А.Е. Образцова // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. – 2018. – №6. – Публикация 3-20. URL: <http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2018-6/3-20.pdf>.
35. Гараев, Д. А. Синдром взаимного отягощения повреждений у пострадавших с сочетанной травмой и его влияние на выбор тактики лечения повреждений опорно-двигательного аппарата [Текст] : автореф. дис. ...канд. мед. наук: 14.00.22 : защищена 31 мая 2007 г. / Гараев Денис Александрович; Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н. В. Склифосовского. – Москва, 2007. – 30 с.
36. Гельфанд, Б. Р. Хирургические инфекции кожи и мягких тканей [Текст] / Б. Р. Гельфанд // Инфекции ожоговых ран. – Москва, 2015. – С. 86–92.
37. Гординская, Н. А. Иммунодиагностика и иммунотерапия синегнойного сепсиса острого периода ожоговой болезни [Текст] : автореф. дис. ... канд.

- мед. наук : 14.00.36 : защищена 24 декабря 2008 г. / Гординская Наталья Александровна; Институт иммунологии. – Москва, 2008. – 24 с.
38. Давыдовский, И. В. Общая патология человека [Текст] / И. В. Давыдовский. – 2-е изд. – Москва : Медицина, 1969. – 611 с.
 39. Даценко, Б. М. Теория и практика местного лечения гнойных ран [Текст] / Б. М. Даценко. – Киев : Здоров'я, 1995. – 379 с.
 40. Демьянов, А. В. Диагностическая ценность исследования уровней цитокинов в клинической практике [Текст] / А. В. Демьянов, А. Ю. Котов, А. С. Симбирцев // Цитокины и воспаление. – 2003. – Т. 2, № 3. – С. 20–35.
 41. Динамика трансформирующего фактора роста бета 1 у реципиентов сердца [Текст] / О. Е. Гичкун [и др.] // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2019. – Т. 21, № 5. – С. 56.
 42. Длительно не заживающие раны и язвы (патогенез, клиника, лечение) [Текст] / П. И. Толстых [и др.]. – Москва : Дипак, 2009. – 168 с.
 43. Долгушин, И. И. Нейтрофилы и гомеостаз [Текст] / И. И. Долгушин, О. В. Бухарин. – Екатеринбург, 2001. – 278 с.
 44. Достижения клеточной терапии в комбустиологии [Текст] / И. В. Гилевич [и др.] // Инновационная медицина Кубани. – 2017. – Т. 6, № 2. – С. 6–14.
 45. Жизнеспособность фетальных фибробластов человека, маркированных магнитными наночастицами оксида железа при малом времени экспозиции [Текст] / М. В. Солопов [и др.] // Гены и клетки. – 2017. – Т. 12, № 3. – С. 230–231.
 46. Иголкина, Е. В. Выживаемость терапии ингибиторами фактора некроза опухоли А: основные причины и тактика замены препаратов [Текст] / Е. В. Иголкина, Н. В. Чичасова // Современная ревматология. – 2018. – Т. 12, № 4. – С. 23–31.
 47. Инкапсуляция фетальных фибробластов человека в альгинат-коллагеновые сферы [Текст] / М. В. Солопов [и др.] // Вестник неотложной и восстановительной хирургии. – 2018. – Т. 3, № 3. – С. 276–280

48. Интегральные системы оценки тяжести состояния больных при политравме [Текст] / Б. Р. Гельфанд [и др.] // Неотложная медицина в мегаполисе : международный научный форум : тезисы докладов. – Москва, 2004. – С. 53.
49. Интенсивная медицинская помощь: проблемы и решения [Текст] : материалы II Всероссийской научно- практической конференции, 7-8 окт. 2004, г. Ленинск-Кузнецкий / под ред. В. В. Агаджаняна [и др.]. – Новосибирск. : Издатель, 2004. – 349 с.
50. Ионичева, Л. В. Адаптационные возможности гемопозитической системы в раннем восстановительном периоде при глубоком ожоге на фоне острой кровопотере [Текст] : автореф. дис. ... доктора мед. наук : 14.00.37 : защищена 1999 г. / Ионичева Любовь Владимировна ; Мордовский государственный университет им. Н. П. Огарева. – Саранск, 1999. – 15 с.
51. Использование факторов роста фибробластов для лечения ран и ожогов [Текст] / В. И. Никитенко [и др.] // Хирургия. – 2012. – № 12. – С. 72–76.
52. Кавалерский, Г. М. Комбинированная термомеханическая травма [Текст] / Г. М. Кавалерский, Н. В.Петров, Л. Л.Силин. – Москва : Медицина, 2005. – 112 с.
53. Кавалерский, Г. М. Травматология и ортопедия [Текст] / Г. М. Кавалерский, Л. Л. Силин, А. В. Гаркави. – Москва : Академия, 2005. – 624 с.
54. Каххарова, З. И. Функциональная роль белковых вариантов однонуклеотидных полиморфизмов гена NEIL2 человека в репарации ДНК [Текст] / З. И. Каххарова, Д. В. Петрова // МНСК-2018: Биология : материалы 56-й международной научной студенческой конференции. – Новосибирск, 2018. – С. 54.
55. Каххарова, З. И. Функции и роль однонуклеотидных полиморфизмов гена NEIL2 человека и его белковых вариантов в репарации ДНК [Текст] /З. И. Каххарова // МНСК-2019: Биология : материалы 57-й Международной научной студенческой конференции. – Новосибирск, 2019. – С. 78.
56. Кетлинский, С. А. Цитокины [Текст] / С. А. Кетлинский, А. С. Симбирцев. – Санкт-Петербург : Фолиант, 2008. – 552 с.

57. Ким, В. Л. Количественные клинические системы оценки тяжести состояния больных (обзор литературы) [Текст] / В. Л. Ким, М. Ш. Хакимов // Вестник врача общей практики. – 2005. – № 2. – С. 1–9.
58. Клеточная трансплантация подавляет воспалительную реакцию и стимулирует репаративные процессы в ожоговой ране [Текст] / М. Ф. Расулов [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2006. – Т. 142, № 1. – С. 112–115.
59. Клиническая значимость взаимосвязей показателей системного и местного адаптивного и врождённого иммунитета на примере полипозного риносинусита [Текст] / М. З. Саидов [и др.] // Иммунология. – 2010. – № 2. – С. 101–107.
60. Клиническая эффективности трансплантации эмбриональных клеток при лечении субдермальных ожогов и донорских ран у тяжелообожженных [Текст] / Т. Г. Григориева [и др.] // Научный вестник Ужгородского университета серия “Медицина”. – 2006. – № 27. – С. 93–99.
61. Клинические аспекты применения прогностической модели исхода ожоговой травмы [Текст] / А. В. Матвеев [и др.] // Вестник хирургии. – 2007. – Т. 166, № 4. – С. 30–34.
62. Ковалев, А. И. Школа неотложной хирургической практики [Текст] / А. И. Ковалев, Ю. Т. Цуканов. – Москва : БИНОМ. Лаборатория знаний, 2010. – 743 с.
63. Ковальчук, А. О. Характер регенерации экспериментальных ожоговых ран при проведении ранней некрэктомии с использованием лиофилизированных ксенодермотрансплантатов повторного среза [Текст] / А. О. Ковальчук // Вестник научных исследований. – 2011. – № 1. – С. 70–72.
64. Козлов, С. А. Патогенетические основы комплексной терапии комбинированной травмы (ожог на фоне кровопотери) [Текст] : автореф. дис. ... доктора мед. наук : 14.00.20 : защищена 2003 г. / Козлов С. А. ; Мордовский государственный университет им. Огарева. – Саранск, 2003. – 37 с.

65. Колесников, В. В. Клинические особенности сочетанных повреждений [Текст] / В. В. Колесников // Политравма: диагностика, лечение и профилактика осложнений: всероссийская научно-практическая конференция. – Ленинск-Кузнецкий, 2005. – С. 103–104.
66. Колтович, А. П. Особенности хирургического лечения раненых с комбинированными термомеханическими повреждениями на этапах медицинской эвакуации [Текст] : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.00.27 : защищена 2004 г. / Колтович Алексей Петрович; Государственный институт усовершенствования врачей. – Москва, 2004. – 25 с.
67. Комбустиология [Текст] : учебник / под ред. Э. Я. Фисталя. – Донецк, Видавництво Мс, 2006. – 236 с.
68. Кондратенко, П. Г. Хирургическая инфекция [Текст] : практическое руководство / П. Г. Кондратенко, В. В. Соболев. – Донецк : Новый мир, 2007. – 512 с.
69. Кравченко, О. И. Политравма мирного времени: характер, тактические и диагностические ошибки при оказании помощи потерпевшим [Текст] / О. И. Кравченко, С. Р. Петров // Одесский медицинский журнал. – 2004. – № 4. – С. 42–43.
70. Краткий обзор работы Института неотложной и восстановительной хирургии им. В.К. Гусака при лечении боевой травмы [Текст] / Э. Я. Фисталь [и др.] // Материалы научно-практической конференции с международным участием, посвященной 70-летию первого ожогового центра России, 23-24 июня 2016 г. – Санкт-Петербург, 2016. – С. 130.
71. Кузин, М. И. Раны и раневая инфекция [Текст] : руководство для врачей / М. И. Кузин, Б. М. Костюченко. – Москва : Медицина, 1990. – 592 с.
72. Кулабухов, В. В. Особенности применения шкалы оценки риска развития инвазивного кандидоза у тяжелообожженных пациентов [Текст] / В. В. Кулабухов // Инфекции в хирургии. – 2014. – № 4. – С. 16–23.

73. Лавров, В. А. Молекулярные механизмы воспаления у обожженных [Электронный ресурс] / В.А. Лавров // Комбустииология. –2004. – № 15. – Режим доступа: <http://www.burn.ru>
74. Лапин, С. В. Иммунологическая лабораторная диагностика аутоиммунных заболеваний [Текст] / С. В. Лапин, А. А. Тотолян. – СПб. Издательство «Человек», 2010. – 272 с.
75. Леви-Монтальчини, Р. Факторы роста нервов и тканей [Электронный ресурс] / Р. Леви-Монтальчини // Международный неврологический журнал. – 2012. - № 3(49). – Режим доступа: <http://www.mif-ua.com/archive/article/29728>, свободный.
76. Ледовской, С. Н. Анализ клинической эффективности применения фетальных и зрелых аллогенных диплоидных фибробластов в лечении пограничных ожогов [Текст] / С. Н. Ледовской, Ю. Е. Бурда, В. А. Лазаренко // Успехи современного естествознания. – 2008. – № 9. – С. 92–94.
77. Ледовской, С. Н. Сравнительный анализ эффективности применения аллогенных диплоидных фибробластов различной степени зрелости в лечении пограничных ожогов [Текст] : дис. ...канд. мед. наук: 14.01.17 : защищена 24 февраля 2011 г. / Ледовской Сергей Николаевич ; Курский государственный медицинский университет. – Курск, 2011. – 87 с. 159.
78. Лукаш, Л. Л. Стволовые клетки млекопитающих *in vitro*, как основа новых биотехнологий [Текст] / Л. Л. Лукаш, С. В. Васильевская // Биополимеры и медицина. – 2001. – Т. 17, № 3. – С. 203–211.
79. Магнитофоретические свойства фетальных фибробластов человека, маркированных суперпарамагнитными наночастицами оксида железа, стабилизированными цитратом [Текст] / В. В. Турчин [и др.] // Гены и клетки. – 2017. – Т. 12, № 1. – С. 47–53. 166.
80. Маркеры сепсиса в диагностике адаптивного воспаления при ожоговой травме [Текст] / А. А. Алексеев [и др.] // Лечение и профилактика. – 2015. – № 2(14). – С. 84–91.

81. Марковский, А. В. Роль некоторых толл-подобных рецепторов в патогенезе злокачественных новообразований [Текст] / А. В. Марковский // Забайкальский медицинский вестник. – 2018. – № 3. – С. 120–126.
82. Масычева, В.И. Некоторые аспекты клинических испытаний препаратов фактора некроза опухоли [Текст] / В.И. Масычева, А.О. Белкина, Е.Д. Даниленко и др. // Российский биотерапевтический журнал. – 2010. – Т. 9, №4. – С. 39-44.
83. Матвеевко, А. В. Модель прогноза исхода ожоговой травмы на основе пробит-анализа [Текст] / А. В. Матвеевко, С. А. Плотников, С. В. Шиндяпин // Вестник хирургии. – 2006. – Т. 165, № 4. – С. 50–53.
84. Матвеевко, А. В. Определение тяжести состояния обожженных с помощью координатных сеток вероятности летального исхода [Текст] / А. В. Матвеевко, И. В. Чмырёв, С. А. Петрачков // Скорая помощь. – 2013. – Т. 14, № 1. – С. 34–43.
85. Мезенхимальные стволовые клетки костного мозга, фибробласты и аутокератиноциты в лечении послеожоговых ран и крыс [Текст] / Е. В. Маркелова [и др.] // Экспериментальная и клиническая медицина. – 2012. – № 1 (54). – С. 30–35.
86. Методика подготовки и культивирования стволовых клеток для использования в лечении патологии крупных суставов [Текст] / Э. Я. Фисталь [и др.] // Актуальные вопросы тканевой и клеточной трансплантологии : VII Всероссийский симпозиум с международным участием : сборник тезисов, 27-28 апреля 2017 г. – Астрахань, 2017. – С. 250–252.
87. Методология изучения системного воспаления [Текст] / Е. Ю. Гусев [и др.] // Цитокины и воспаление. – 2008. – Т. 7, № 1. – С. 15–23.
88. Могулевцева, Ю. А. Воздействие на физиологические эффекты фактора некроза опухоли посредством рнк-интерференции матриксной металлопротеиназы 1 [Текст] / Ю. А. Могулевцева, А. В. Мезенцев, С. А. Брускин // Генетика. – 2018. – Т. 54, № 8. – С. 948–955.

89. Морфофункциональная оценка влияния трансплантации аллогенных фибробластов на заживление ожоговых ран у белых беспородных мышей и мышей мутантной линии HR^{HR}/HR^{HR} [Текст] / Е. Г. Колокольчикова [и др.] Клеточные технологии в биологии и медицине. – 2011. – № 4. – С. 222–229.
90. Муталибов, М. М. Оперативное лечение глубоких ожогов в многопрофильном военном госпитале в зоне вооруженного конфликта [Текст] : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.00.27 : защищена 2006 г. / Муталибов Мусаудин Муфрудинович ; Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова. – Санкт-Петербург, 2006. – 34 с.
91. Насонов, Е.Л. Фактор некроза опухоли- α – новая мишень для противовоспалительной терапии ревматоидного артрита [Текст] / Е.Л. Насонов // Ревматология (онлайн-издание). – 2000. – № 17. – С. 718.
92. Наумова, Л. А. Особенности экспрессии трансформирующего фактора роста бета и экстрацеллюлярного матрикса при раке желудка, ассоциированном с дисплазией соединительной ткани [Текст] / Л. А. Наумова, О. Н. Осипова // Вестник СурГУ. Медицина. – 2018. – № 1 (35). – С. 90–96.
93. Новые технологии хирургического лечения пострадавших от ожогов [Текст] / А. Э. Бобровников [и др.] // Сборник научных трудов II съезда комбустиологов России. – Москва, 2008. – С. 215–216.
94. Нуриахметова, Т. Ю. Неэффективность терапии ингибиторами фактора некроза опухоли-А и возможные пути ее преодоления [Текст] / Т. Ю. Нуриахметова, Д. И. Абдуганиева // Практическая медицина. – 2018. – № 7-2. – С. 72–80.
95. Ожоги и отморожения. Атлас [Текст] : руководство для практических врачей / Г. А. Олейник [и др.]. – Харьков : ИПП «Контраст», 2013. – 144 с.
96. Оказание медицинской помощи пострадавшим с тяжелой термической и комбинированной травмой на догоспитальном этапе [Текст] / К. М. Крылов [и др.] // Скорая медицинская помощь. – 2009. – № 2. – С. 35–37.

97. Оказание неотложной медицинской помощи пострадавшим при пожарах [Текст] / А. Н. Гребенюк [и др.] // Медицина катастроф. – 2008. – № 2. – С. 14–17.
98. Определение тромбоцитарных факторов роста в небогатой тромбоцитами плазме [Текст] / К. Н. Контрощикова [и др.] // Медицинский альманах. – 2018. – № 2 (53). – С. 41–44.
99. Оптимальная маршрутизация при эвакуации пострадавших с ранами и ожогами [Текст] / Д. В. Соболев [и др.] // Вестник неотложной и восстановительной хирургии. – 2020. – Т. 5, № 2. – С. 146–151.
100. Основы компьютерной биостатистики: анализ информации в биологии, медицине и фармации статистическим пакетом Medstat [Текст] / Ю. Е. Лях [и др.]. – Донецк : Папакица Е.К., 2006. – 214 с.
101. Основы первой помощи для подготовки пожарных-спасателей [Текст] / под ред.: Э. Я. Фисталя, А. А. Кострубицкого. – Донецк, 2018. – 132 с. 205.
102. Особенности диагностики и лечения пациентов с гнойно-некротическим фасцитом различной локализации [Текст] / Э. Я. Фисталь [и др.] // Инновационные технологии в медицине неотложных состояний : научно-практическая конференция», 12-13 октября 2017 г. – Донецк, 2017. – С. 174-178.
103. Особенности иммунологических нарушений при черепно-мозговой травме, травме конечностей и сочетанной травме [Текст] / С. Е. Золотухин [и др.] // Вестник неотложной и восстановительной хирургии. – 2019. – Т. 4, № 4. – С. 112–117.
104. Особенности оказания медицинской помощи пострадавшим от огнестрельных и минно-взрывных ранений на этапах военно-медицинской эвакуации [Текст] / И. И. Сперанский [и др.] // Система медицинского обеспечения в локальных войнах : материалы всероссийской научно-практической конференции с международным участием, 14-15 апреля 2016 г. – Ростов-на-Дону, 2016. – Т. 1. – С. 88–89.

105. Особенности превентивных и реконструктивно-восстановительных операций при компартмент-синдроме нижних конечностей [Текст] / Э. Я. Фисталь [и др.] // Комплексный подход к лечению язвенно-некротических поражений конечностей сосудистого генеза : междисциплинарная межрегиональная научно-практическая конференция с международным участием : сборник тезисов, 7-8 сентября 2017 г. – Челябинск, 2017. – С. 75–77.
106. Оценка тяжести эндогенной интоксикации и выбор метода детоксикационной терапии у обожжённых по данным лейкоцитограммы и биохимического мониторинга [Текст] / В. К. Гусак [и др.] // Клиническая лабораторная диагностика. – 2000. – № 10. – С. 36.
107. Пат. 2652312 Российская Федерация, МПК⁷ C12N 15/00. Линейка биологически активных генно-терапевтических субстанций на основе гена TGFB1 для коррекции патологических состояний клеток органов и тканей и органов и тканей человека, способ получения и использования [Текст] / Савелиева Н., Гамолски А. ; патентообладатель Селл энд Джин ТерапиЛтд (GB), Общество с ограниченной ответственностью "Прорывные Инновационные Технологии"(RU). – № 2016101661 ; заявл. 20.01.2016 ; опубл. 25.04.2018, Бюл. N 12.
108. Пат. 60586 А Украина МПК А 61 В 10/00. Способ прогнозирования развития осложнений язвенной болезни [Текст] / Борзенко Б. Г. – № 2003010158; заявл. 01.01.03; опубл. 15.10.03, Бюл. № 10.
109. Патогенетические аспекты хирургического лечения трофических язв различной этиологии [Текст] / Э. Я. Фисталь [и др.] // Комплексный подход к лечению язвенно-некротических поражений конечностей сосудистого генеза : междисциплинарная межрегиональная научно-практическая конференция с международным участием : сборник тезисов, 7-8 сентября 2017 г. – Челябинск, 2017. – С. 77–79.
110. Петри, А. Наглядная статистика в медицине [Текст] / А. Петри, К. Сэбин; пер. с англ. В. П. Леонова. – Москва : ГЭОТАР-МЕД., 2003. – 144 с.

- Пивоварова, Л. П. Особенности клеточного иммунитета у пациентов с тяжелой ожоговой травмой до и после свободной аутодермопластики [Текст] / Л. П. Пивоварова // Инфекции в хирургии. – 2013. – № 1. – С. 30–33.
111. Показатели крови и лейкоцитарного индекса интоксикации в оценке тяжести и определении прогноза при воспалительных, гнойных и гнойно-деструктивных заболеваниях [Текст] / В. К. Островский [и др.] // Клиническая лабораторная диагностика. – 2006. – № 6. – С. 50–53. 229.
- Полиморфные варианты G/C+915 трансформирующего фактора роста бета 1 и фибрилляция предсердий у пациентов с метаболическим синдромом [Текст] /И. Ма [и др.] // Артериальная гипертензия. – 2018. – Т. 24, № 1. – С. 93–100.
112. Пособие для медицинских работников МЧС [Текст] / под ред.: Э. Я. Фисталя, В. В. Черкесова. – Донецк, 2016. – 350 с.
113. Преснякова, М. В. Информационная значимость гемостазиоло-гических нарушений при развитии «раннего» сепсиса у тяжелообожженных [Текст] / М. В. Преснякова // Экология человека . – 2013. – № 3. – С. 46–53.
114. Применение культивированных фетальных фибробластов при лечении обширных ожоговых ран [Текст] / А. Г. Попандопуло и др.] // Материалы XXI съезда хирургов Украины. – Запорожье, 2005. – Т. 2. – С. 51–53.
115. Применение стромальных стволовых клеток костного мозга при комплексном лечении экспериментальных ожогов у крыс [Текст] / Т. Г. Григорьева [и др.] // Экспериментальная и клиническая медицина. – 2008. – № 1. – С. 15–20.
116. Прогнозирование осложнений травматической болезни [Текст] / С. Ф. Багненко [и др.] // Скорая медицинская помощь. – 2008. – № 1. – С. 50–55.
117. Прогностическое значение гемокоагуляционных тестов у пациентов с тяжелыми ожогами [Текст] / И. Л. Иваненко [и др.] // Современные проблемы науки и образования. – 2016. – № 2. – С. 12–20.

118. Разработка и экспериментальное использование клеточно-тканевых комплексов для лечения дефектов кожи [Текст] / Д. Я. Алейник [и др.] // Актуальные вопросы лечения термической травмы : материалы научно-практической конференции. – Якутск, 2015. – С. 25–27.
119. Расулов, М. Ф. Трансплантация мезенхимальных стромальных клеток костного мозга для лечения термических ожогов кожи [Текст] : автореф. дис. ... доктора мед. наук : 14.00.41 : защищена 2007 г. / Расулов Масрур Фазлетдинович; Научно-исследовательский институт трансплантологии и искусственных органов МЗ РФ – Москва, 2007. – 44 с.
120. Рахаев, А. М. Лечение пограничных ожогов и донорских ран с применением культивированных аллофибробластов [Текст] : автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.00.27.: защищена 2000 г. / Рахаев Аслан Махмудович; Институт хирургии им. А. В. Вишневского – Москва, 2000. – 19 с.
121. Реброва, О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA [Текст] / О. Ю. Реброва. – Москва : Медиа Сфера, 2002. – 305 с.
122. Результаты и особенности лечения пациентов с гнойно-некротическим фасцитом по данным Донецкого ожогового центра [Текст] / В. В. Арефьев [и др.] // Хирургические инфекции кожи и мягких тканей у детей и взрослых : материалы международной научно-практической конференции, посвященной 140-летию со дня рождения профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого, 15-16 мая 2017 г. – Симферополь, 2017. – С. 7–8.
123. Результаты и особенности лечения пострадавших с критическими и сверхкритическими ожогами в Донецком ожоговом центре [Текст] / Э. Я. Фисталь [и др.] // Мультиmodalная терапия и междисциплинарный подход к лечению ран различной этиологии : VIII ежегодная межрегиональная научно-практическая конференция с международным участием, 10-11 ноября 2016 г. – Краснодар, 2016. – С. 85–86.

124. Роль полипептидных факторов роста в регуляции пролиферации кератиноцитов эпидермиса [Текст] / В. К. Гусак [и др.] // Цитология и генетика. – 2001. – Т. 35, № 6. – С. 64–73.
125. Роль факторов роста при спаечном процессе в брюшной полости [Текст] / Н. Н. Дремина [и др.] // Acta Biomedica Scientifica. – 2019. – Т. 4, № 5. – С. 98–103.
126. Руководство по неотложной хирургии [Текст] / под ред. В. В. Савельева. – Москва : Медицина, 2002. – 487 с.
127. Саидов, М. З. Современные представления об иммунопатогенезе полипозного риносинусита [Текст] / М. З. Саидов, Б. Х. Давудова, К. М. Магомедова // Иммунология. – 2010. – № 5. – С. 261–269.
128. Сидельников, В. О. Современный взгляд на патогенез комбинированных ожоговых поражений [Текст] / В. О. Сидельников, А. М. Харисов, М. М. Муталибов // Скорая медицинская помощь. – 2006. – Т. 7, № 3. – С. 83–84. Симбирцев, А. С.
129. Цитокины – новая система регуляции защитных реакций организма [Текст] / А. С. Симбирцев // Цитокины и воспаление. – 2002. – № 1. – С. 9–16.
130. Смелая, Т. В. Полиорганная недостаточность у пострадавших с минно-взрывной травмой [Текст] / Т. В. Смелая // Реаниматология. Ее роль в современной медицине : научно-практическая конференция : сборник статей. – Москва, 2004. – С. 220–223.
131. Соболев, Д. В. Новый подход к лечению гнойных ран [Текст] / Д. В. Соболев, Н. Н. Фисталь // Мультимодальная терапия и междисциплинарный подход к лечению ран различной этиологии : VIII ежегодная межрегиональная научно-практическая конференция с международным участием, 10-11 ноября 2016 г. – Краснодар, 2016. – С. 74.
132. Соболев, Д. В. Послеоперационные осложнения при оказании специализированной хирургической помощи пострадавшим с ранами и ожогами [Текст] / Д. В. Соболев, Э. Я. Фисталь, Н. Н. Фисталь // Вестник

- неотложной и восстановительной хирургии. – 2020. – Т. 5, № 2. – С. 152–159.
133. Современный взгляд на патофизиологию и лечение гнойных ран [Текст] / О. Э. Луцевич [и др.] // Хирургия. Журнал им. Н. И. Пирогова. – 2011. – № 5. – С. 72–77.
134. Современные биотехнологии в лечении ожоговых ран [Текст] / Н. В. Островский [и др.] // Вопросы реконструктивной и пластической хирургии. – Томск, 2007. – № 3-4. – С. 88–90.
135. Соловьева, А. Г. Системный анализ метаболического профиля крови пациентов с термической травмой. Актуальные вопросы травматологии [Текст] / А. Г. Соловьева // Вестник РАМН. – 2014. – № 1-2. – С. 22–25.
136. Сорокина, Ю. А. Однонуклеотидный полиморфизм гена репарации днк - 8-оксогуанидин-днк-гликозилазы: от онкологии к сахарному диабету 2 типа (обзор литературы) [Текст] / Ю. А. Сорокина // Медицина и образование в Сибири. – 2015. – № 1. – С. 8.
137. Сотникова, Е. П. Традиционные основы тканевой терапии и перспективы развития [Текст] / Е. П. Сотникова, В. И. Салдан, Г. С. Фесюнова // Экспериментальная и клиническая медицина. – 2007. – № 1. – С. 15–19.
138. Специализированная медицинская помощь при боевой хирургической травме в условиях гражданского здравоохранения [Текст] / Э. Я. Фисталь [и др.] // Вестник неотложной и восстановительной хирургии. – 2016. – Т. 1, № 3. – С. 441–445.
139. Специализированная хирургическая помощь пострадавшим с ранами и ожогами [Текст] / Э. Я. Фисталь [и др.] // Университетская клиника. – 2019. – № 4 (33). – С. 64–68.
140. Специализированная хирургическая помощь при боевой травме: опыт работы ожогового отделения ИНВХ им.В.К.Гусака в 2014-2018 гг. [Текст] / Э. Я. Фисталь [и др.] // Вестник неотложной и восстановительной хирургии. – 2019. – Т. 4, № 3. – С. 115–119.

141. Специализированная хирургическая помощь при боевой травме [Текст] / под ред.: Э. Я. Фисталя, О. Н. Долгошапка. – Донецк, 2019. – 232 с.
142. Тарасов, А. Е. Иммунологические аспекты ожоговой болезни в клинике и эксперименте [Текст]: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.00.36 : защищена 10 декабря 2009 г. / Тарасов Алексей Евгеньевич ; Владивостокский государственный медицинский университет. – Владивосток, 2009. – 18 с. 278.
143. Термические субфасциальные поражения [Текст] / В. К. Гусак [и др.]. – Донецк : Фитофарм, 2012. – 276 с.
144. Толстов, А. В. Возможности прогнозирования, диагностики, классификации и лечения генерализованной инфекции у тяжелообожжённых [Текст] / А. В. Толстов, А. А. Филимонов, А. В. Колсанов // I Съезд комбустиологов России : сборник научных трудов. – Москва, 2005. – С. 104–106.
145. Тодосенко, Н.М. Геномные и негеномные эффекты глюкокортикоидов. [Текст] / Н.М. Тодосенко, Ю.А. Королева, Хазиахматова О.Г. и др. // Гены & клетки. – 2017. – Т. XII (№ 1). – С. 27-33.
146. Трёхдоменные антитела против фактора некроза опухоли: исследование биологической активности *in vitro* [Текст] / Е. А. [и др.] // Биоорганическая химия. – 2020. – Т. 46, № 3. – С. 261–268.
147. Туманов, В. П. Методическое руководство по лечению ран [Текст] / В. П. Туманов, Г. Герман. – Москва, 2006. – 123 с.
148. Файнзильберг, Л. С. Условия полезности диагностических тестов с позиции теории статистических решений [Текст] / Л. С. Файнзильберг // Проблемы управления и информатики. – 2003. – № 2. – С. 100–111.
149. Фармакокинетика рекомбинантного человеческого фактора некроза опухоли альфа в составе средства доставки [Текст] / А. В. Батенева [и др.] // Биопрепараты. Профилактика, диагностика, лечение. – 2019. – Т. 19, № 3. – С. 169-177.

150. Фисталь, Э. Я. Клинико-мофологические признаки тяжести комбинированной травмы по данным экспериментального исследования [Текст] / Э. Я. Фисталь, В. В. Солошенко, И. Г. Постолук // Вестник неотложной и восстановительной медицины. – 2007. – Т. 8, № 3. – С. 445–448.
151. Фисталь, Э. Я. Математическая модель прогнозирования исхода у пострадавших при взрывах метано-угольной смеси [Текст] / Э. Я. Фисталь, В. Г. Гурьянов, В. В. Солошенко // Неотложная медицинская помощь. – 2016. – № 3. – С. 43–47. 297.
152. Фисталь, Э. Я. Наш опыт лечения огнестрельных повреждений магистральных сосудов [Текст] / Э. Я. Фисталь, Ю. А. Розин, А. А. Иваненко // Ангиология: инновационные технологии в диагностике и лечении заболеваний сосудов и сердца. Интервенционная кардиология : материалы V Международного медицинского научно-практического форума, 17-19 марта 2016 г. – Челябинск, 2016. – С. 224.
153. Фисталь, Э. Я. Объективный метод изучения жизнеспособности тканей при трансплантации кровоснабжаемых лоскутов [Текст] / Э. Я. Фисталь, В. В. Солошенко, Н. Н. Фисталь // II съезд комбустиологов России: тезисы докладов. – Москва, 2008. – С. 203–204.
154. Фисталь, Э. Я. Оказание неотложной медицинской помощи населению в условиях многопрофильного учреждения в мирное и военное время [Текст] / Э. Я. Фисталь // Инновационные технологии в медицине неотложных состояний : научно-практическая конференция», 12-13 октября 2017 г. – Донецк, 2017. – С. 165–168.
155. Фисталь, Э. Я. Особенности выполнения первичной и вторичной хирургической обработки при минно-взрывной травме [Текст] / Э. Я. Фисталь, Д. С. Меркулов, М. Д. Анисимова // Мультиmodalная терапия и междисциплинарный подход к лечению ран различной этиологии : VIII ежегодная межрегиональная научно-практическая конференция с

международным участием, 10-11 ноября 2016 г. – Краснодар, 2016. – С. 84–85.

156. Фисталь, Э. Я. Первый опыт использования культуральных аутофибробластов у пострадавших с глубокими ожогами [Текст] / Э. Я. Фисталь [и др.]. // Трансплантология. – 2003. – Т. 4, № 1. – С. 193–194.
157. Фисталь, Э. Я. Раневой процесс и результаты раннего хирургического лечения обширных ран – взгляд на проблему [Текст] / Э. Я. Фисталь // Вестник неотложной и восстановительной хирургии. – 2016. – Т. 1, № 2. – С. 157–163.
158. Фисталь, Э. Я. Тактика специализированной хирургической помощи при огнестрельных ранениях сосудов, сопровождающихся обширными дефектами мягких тканей [Текст] / Э. Я. Фисталь, Ю. А. Розин, Д. С. Меркулов // Оказание скорой и неотложной медицинской помощи раненым и пострадавшим при массовом поступлении : материалы Всероссийской конференции, 3-й съезд врачей неотложной медицины, 6-7 октября 2016 г. – Москва, 2016. – С. 108.
159. Фисталь, Э. Я. Цитологическая картина мазков-отпечатков огнестрельных ран под воздействием ультразвуковой кавитации [Текст] / Э. Я. Фисталь, Д. С. Меркулов // Инновационные технологии в медицине неотложных состояний : научно-практическая конференция», 12-13 октября 2017 г. – Донецк, 2017. – С. 172-174.
160. Фисталь, Э. Я. Цитологическая картина мазков-отпечатков ран различной этиологии под воздействием ультразвуковой кавитации [Текст] / Э. Я. Фисталь, Д. С. Меркулов, М. Д. Анисимова // Система медицинского обеспечения в локальных войнах : материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, 14-15 апреля 2016 г. – Ростов-на-Дону, 2016. – Т. 1. – С. 279–280.
161. Хаитов, Р. М. Роль паттерн-распознающих рецепторов во врождённом и адаптивном иммунитете [Текст] / Р. М. Хаитов, Б. В. Пинегин, М. В. Пащенко // Иммунология. – 2009. – № 1. – С. 66–77.

162. Хемотаксис лейкоцитов: клиническое значение [Текст] / И. И. Долгушин [и др.]. – Челябинск: Изд-во ЧелГМА, 2006. – 183 с.
163. Хирургические болезни [Электронный ресурс]: учебник / под ред. М. И. Кузина. – 4-е изд., перераб. и доп. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2014. – Режим доступа: <http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970433713.html>, по подписке.
164. Хирургические болезни [Текст] / под ред. В. С. Савельева. – Москва : ГЭОТАР-Медиа Медика, 2005. – 523 с.
165. Хирургические инфекции [Текст] : руководство / под ред. И. А. Ерюхина, Б. Р. Гельфанда, С. А. Шляпникова. – Санкт-Петербург : Питер, 2003. – 864 с.
166. Хирургическое лечение пострадавших от ожогов: клинические рекомендации [Текст] / А. А. Алексеев [и др.]. – Москва: Объединение комбустиологов «Мир без ожогов», 2015. – 12 с.
167. Холубкевич, Ю. П. Повышение эффективности комплексного лечения у больных с глубокими ожогами на основе математического моделирования [Текст] : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 05.13.01 : защищена 2009 г. / Холубкевич Юрий Павлович ; ГОУВПО "Воронежский государственный технический университет. – Воронеж, 2009. – 30 с.
168. Чекалина, Е. Н. Роль тромбоцитарного концентрата в восстановлении и регенерации тканей [Текст] / Е. Н. Чекалина // Дентал Юг. – 2005. – № 3(32). – С. 23.
169. Шаповал, Е. В. Раннее хирургическое лечение больных с ожоговой болезнью и особенности профилактики раневых осложнений [Текст] : автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.01.03 : защищена 22 декабря 2005 г. / Шаповал Елена Владимировна; Харьковский государственный медицинский университет. – Харьков, 2005. – 20 с.
170. Шарипова, Э. Р. Обоснование использования рекомбинантного IL-1 β (беталейкина) у больных гнойным риносинуситом с генетически обусловленным дисбалансом цитокинов IL-1 β и IL-1RA [Текст] / Э. Р.

- Шарипова, Н. А. Арефьева, Л. Ф. Азнабаева // Рос. Ринология. – 2008. – № 4. – Р. 10–12.
171. Шаронова, Е. А. Клинико-иммунологическая оценка эффективности лечения глубоких ожогов с использованием культивированных клеток кожи [Текст] : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.00.46, 14.00.27 : защищена 2005 г. / Шаронова Елена Анатольевна ; Саратовский государственный медицинский университет. – Саратов, 2005. – 23 с.
172. Шевченко, Ю. Л. Стимуляция ангиогенеза эндогенными факторами роста [Текст] / Ю. Л. Шевченко, Г. Г. Борщев // Вестник Национального медико-хирургического центра им. Н.И. Пирогова. – 2018. – Т. 13, № 3. – С. 96–102.
173. Шейман, Б. С. Дифференциально-диагностические признаки определения схемы детоксикационной терапии у больных с различной патологией [Текст] / Б. С. Шейман, О. И. Осадчая, К. Г. Козинец // Лабораторная диагностика. – 1999. – № 4. – С. 11–13. 337.
174. Шепель, Р. Н. Новые векторы в диагностике метаболического синдрома: оценка уровня сосудистого эндотелиального фактора роста, пентраксина-3 и трансформирующего фактора роста бета [Текст] / Р. Н. Шепель, О. М. Драпкина // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2019. – Т. 18, № 6. – С. 57–61.
175. Шустов, М. В. Влияние экспериментального стресса на экспрессию толл-подобного рецептора TLR4 в тканях гипоталамуса [Текст] / М. В. Шустов, А. В. Бережной // Молодые ученые в решении актуальных проблем науки : материалы VIII Международной научно-практической конференции. – Владикавказ, 2018. – С. 181–183.
176. Экспериментальное обоснование применения клеточных культур кожи при раннем хирургическом лечении ожоговых ран [Текст] / А. Е. Грязин [и др.] // Проблемы экологической и медицинской генетики и клинической иммунологии. – 2004. – Т. 9, № 62. – С. 339–347.
177. Якимов, Д. К. Патогенетическое обоснование путей профилактики и коррекции метаболических нарушений у пострадавших от обширных

- глубоких ожогов [Текст] : дис. ...канд. мед. наук: 14.01.17 : защищена 2010 г. / Якимов Дмитрий Константинович ; ГОУВПО "Новгородский государственный университет – Великий Новгород, 2010. – 188 с.
178. Ямскова, В. П. К вопросу о механизмах, лежащих в основе процессов восстановления и репарации в тканях [Текст] / В. П. Ямскова, М. С. Краснов, И. А. Ямсков // Клеточные технологии в биологии и медицине. – 2010. – № 1. – С. 32–35.
179. Ярец, Ю. И. Лабораторный прогноз риска отторжения аутодермотрансплантата [Текст] / Ю. И. Ярец, И. А. Новикова // Вестник хирургии им. И. И. Грекова. – 2010. – Т. 169, № 2. – С. 34–38.
180. Ярилин, А. А. Иммунология [Текст] / А. А. Ярилин. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2010. – 752 с.
181. A Clinical Risk Prediction Tool for 6-Month Mortality After Dialysis Initiation Among Older Adults [Text] / J. P. Wick [et al.] // Am. J. Kidn. Dis. – 2017. – Vol. 69, N 5. – P. 568–575.
182. A Comparative Study of the ReCell Device and Autologous Split-Thickness Meshed Skin Graft in the Treatment of Acute Burn Injuries [Text] / J. H. Holmes [et al.] // J. Burn Care Res. – 2018. – Vol. 39, N5. – P. 694–702.
183. Ability of chronic wound fluids to degrade peptide growth factors is associated with increased levels of elastase activity and diminished levels of proteinase inhibitors [Text] / D. R. Yager [et al.] // Wound Repair Regen. – 1997. – Vol. 5. – P. 23–32.
184. Absence of apoptosis accounts for aberrant cellular growth in keloids [Text] / N. Sayah [et al.] // Proceedings of the Plastic Surgery Research Council, 43- rd annual meeting ; April 4-7, 1998. – Loma Linda, CA, 1998 : Abstract. – P. 42.
185. Accelerated wound healing in tumor necrosis factor receptor p55-deficient mice with reduced leukocyte infiltration [Text] / R. Mori [et al.] // FASEB J. – 2002. – Vol. 16. – P. 963–974.

186. Activation of human neutrophils with *Helicobacter pylori* and the role of Toll-like receptors 2 and 4 in the response [Text] / L. Alvarez-Arellano [et al.] // FEMS Immunol. Med. Microbiol. – 2007. – Vol. 51. – P. 473–479.
187. Al-Sadi, R. M. IL-1 cause an increase in intestinal epithelial tight junction permeability [Text] / R. M. Al-Sadi, T. Y. Ma // J. Immunol. – 2007. – Vol. 178. – P. 4641–4649.
188. Allogeneic vs. Autologous Skin Grafts in the Therapy of Patients with Burn Injuries: Restrospective [Text] / D. Kitala [et al.] // Adv. Clin. Exp. Med. – 2016. – Vol. 25, N 5. – P. 923–929.
189. Alpha globulin collagenase inhibitors in keloid and hypertrophic scars [Text] / I. K. Cohen [et al.] // Surg. Forum. – 1975. – Vol. 26. – P. 61–62.
190. Alteration in cell morphology triggers transforming growth factor-beta-1, collagenase and tissue inhibitor of metalloproteinases-I expression in normal and hypertrophic scar fibroblasts [Text] / M. Varedi [et al.] // J. Invest. Dermatol. – 1995. – Vol. 104. – P. 118–123.
191. Analysis of correlation factors affecting the incidence of burn shock [Text] / J. H. Zhan [et al.] // Zhonghua Shao Shang Za Zhi. – 2006. – Vol. 22, N 5. – P. 340–342.
192. Apoptotic death in deep partial thickness burns vs. normal skin of burned patients [Text] / G. Gravante [et al.] // J. Surg. Res. – 2007. – Vol. 141, N 2. – P. 141–145.
193. Atiyeh, B. State of the art in burn treatment [Text] / B. Atiyeh, S. Gunn, S. Hayek // World J. Surg. – 2005, N 29. – P. 131–148.
194. Atiyeh, B. New technologies for burn wound closure and healing—review of the literature [Text] / B. Atiyeh, S. N. Hayek, S. W. Gunn // Burns. – 2005. – Vol. 31, N 8. – P. 944–956.
195. Aubock, J. Rejection, after a slightly prolonged survival time, of Langergans cell-free allogeneic cultured epidermis used for wound coverage in human [Text] / J. Aubock, E. Irschick // Transpl. – 1998. – Vol. 45, N 4. – P. 730–737.

196. Autoantibody formation in burn patients after inhibition of suppressor T cell activity with polymyxin B [Text] / K. T. Moran [et.al] // *J. Burn Care Rehabil.* – 1989. – Vol. 10, N 3. – P. 213–215.
197. Bang, P. Exercise-induced changes in insulin-like growth factors and their low molecular weight binding protein in healthy subjects and patients with growth hormone deficiency [Text] / P. Bang, J. Brandt, M. Degerblad // *European Journal of Clinical Investigation.* – 1990. – Vol. 20. – P. 285–292.
198. Barlow Y.T lymphocytes and immunosuppression in the burned patient: a review [Text] / Y. Barlow // *Burns.* – 1994. – Vol. 20, N 6. – P. 487–490.
199. Bennet, J. E. Evaluation of burn depth by the us radioactive isotopes: an experimental study [Text] / J. E. Bennet, R. O. Dingman // *Plast. Reconstr. Surg.* – 1957. – N 20. – P. 261–272.
200. Bennett, N. T. Growth factors and wound healing: biochemical properties of growth factors and their receptors [Text] / N. T. Bennett, G. S. Schultz // *Am. J. Surg.* – 1993. – Vol. 165. – P.729–737.
201. Bennett, N. T. Growth factors and wound healing: part II. Role in normal and chronic wound healing [Text] / N. T. Bennett, G. S. Schultz // *Am. J. Surg.* – 1993. – Vol. 166. – P. 74–81.
202. Berman, B. Short-term keloid treatment in vivo with human interferon alpha 2b results in selective and persistent normalization of keloidal fibroblast collagen, glycosaminoglycan and collagenase production in vitro [Text] / B. Berman, M. R. Dumcan // *J. Am. Acad. Dermatol.* – 1989. – Vol. 21. – P. 694–702.
203. Bioengineered skin substitutes for the management of burns: a systematic review [Text] / C. Pham [et al.] // *Burns.* – 2007. – Vol. 33. – P. 946–957.
204. Bone marrow stromal cells, preadipocytes and dermal fibroblasts promote epidermal regeneration in their distinctive fashions [Text] / S. Aoki [et al.] // *Mol. Biol. Cell.* – 2004. – Vol. 15. – P. 4647–4657.
205. Bochud, P. Y. Pathogenesis of sepsis: new concepts and implications for future treatment [Text] / P. Y. Bochud, T. Calandra // *B.M.J.* – 2003. – Vol. 326 (7383), N 1. – P. 262–266.

206. Böttcher-Haberzeth, S. Tissue engineering of skin [Text] / S. Böttcher-Haberzeth, T. Biedermann, E. Reichmann // Burns. – 2010. – Vol. 36, N 4. – P. 450–460.
207. Boyce, S. T. Design principles for composition and performance of cultured skin substitutes [Text] / S. T. Boyce // Burns. – 2001. – N 27. – P. 523–533.
208. Bromberg, J. Activation of STAT proteins and growth control [Text] / J. Bromberg // Bioessays. – 2001. – Vol. 23. – P. 161–169.
209. Burd, A. Allogenic skin: transplant or dressing? [Text] / A. Burd, P. K. Lam, Lau Henry // Burns. – 2002. – Vol. 28, N 3. – P. 358–366.
210. Changes in cellular motility and cytoskeletal actin in fibroblasts from patients with chronic venous insufficiency and in neonatal fibroblasts in the presence of chronic wound fluid [Text] / J. D. Raffetto [et al.] // J. Vasc. Surg. – 2001. – Vol. 33. – P. 1233–1241.
211. Clinical experience using cultured epithelial autografts leads to an alternative methodology for transferring skin cells from the laboratory to the patient [Text] / C. A. Hernon [et al.] // J. Regen. Med. – 2006. – Vol. 1, N 6. – P. 809–821.
212. Collagenase production is lower in post-burn hypertrophic scar fibroblasts than in normal fibroblasts and is reduced by insulin-like growth factor-1 [Text] / A. Ghahary [et al.] // J. Invest. Dermatol. – 1996. – Vol. 106. – P. 476–481.
213. Combination of meshed dermis graft and cultured epithelial autograft for massive burns: Three case reports [Electronic resource] / M. Hayashi [et al.] // Medicine (Baltimore). – 2018. – Vol. 97, N 48. – URL: https://journals.lww.com/mdjournal/fulltext/2018/11300/Combination_of_meshed_dermis_graft_and_cultured.42.aspx
214. Comparative Performance of ATRIA, CHADS2, and CHA2DS2-VASc Risk Scores Predicting Stroke in Patients With Atrial Fibrillation [Text] / H. A. van den Ham [et al.] // J. Am. Coll. Cardiol. – 2015. – Vol. 66, N 17. – P. 1851–1859.
215. Comparison of inflammatory and systemic sources of growth factors in acute and chronic human wounds [Text] / S. Wagner [et al.] // Wound Repair Regen. – 2003. – Vol. 11. – P. 253–260.

216. Comparison of the ATRIA, CHADS₂, and CHA₂DS₂-VASc stroke risk scores in predicting ischaemic stroke in a large Swedish cohort of patients with atrial fibrillation [Text] / S. Aspberg [et al.] // *Eur. Heart J.* – 2016. – Vol. 37, N 42. – P. 3203.
217. Comparison of the Prognostic Usefulness of the ESC and AHA/ACCF Risk Stratification Systems for Patients With Hypertrophic Cardiomyopathy [Text] / K.M.W. Leong [et al.] // *Am. J. Card.* – 2018. – Vol. 121, N 3. – P. 349–355. 414. Control of hypertrophic scar from inception by using xenogenic (porcine) acellular dermal matrix (ADM) to cover deep second degree burn [Text] / X. Feng [et al.] // *Burns.* – 2006 – Vol. 32, N 3. – P. 293–298.
218. Controlled release of bioactive doxorubicin from microspheres embedded within gelatin scaffolds [Text] / A. J. Defail [et al.] // *J. Biomed. Mater. Res.* – 2006. – N 79. – P. 954–962.
219. Cortactin involvement in the keratinocyte growth factor and fibroblast growth factor 10 promotion of migration and cortical actin assembly in human keratinocytes [Text] / S. Ceccarelli [et al.] // *Exp. Cell. Res.* – 2007. – N 313. – P. 1758–1777.
220. Cultured autologous fibroblast and keratinocyte grafts: applications in plastic surgery [Text] / A. Scalise [et al.] // *J. Ann. Burns Fire Dis.* – 2001. – Vol. 14, N 2. – P. 96–99.
221. Cultured keratinocytes in fibrin with decellularised dermis close porcine full-thickness wounds in a single step [Text] / H. Bannasch [et al.] // *Burns.* – 2008. – Vol. 34. – P. 1015–1021.
222. Cytokine expression in pediatric *Helicobacter pylori* infection [Text] / A. I. Lopes [et al.] // *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology.* – 2005. – Vol. 12. – P. 994–1002.
223. Cytokine gene polymorphisms influence mucosal cytokine expression, gastric inflammation, and host specific colonisation during *Helicobacter pylori* infection [Text] / R. Rad [et al.] // *Gut.* – 2004. – Vol. 53. – P. 1082–1089.

224. Cytocompatibility of regenerated silk fibroin film: a medical biomaterial applicable to wound healing [Text] / T. L. Liu [et al.] // *J. Zhejiang Univ. Sci. B.* – 2010. – Vol. 116, N 1. – P. 10–16.
225. Dantez, E. Surgical treatment of severe burn with the VAC system and integra [Text] / E. Dantez, E. Meaudre, P. Goutorbe // *Abstracts of 12 th Congress of the European Burns Association: – Budapest, 2007.* – P.16.
226. Delayed wound healing in the absence of intercellular adhesion molecule-1 or L-selectin expression [Text] / T. Nagaoka [et al.] // *Am. J. Pathol.* – 2000. – Vol. 157. – P. 237–247.
227. Delayed wound healing in CXCR2 knockout mice [Text] / R. M. Devalaraja [et al.] // *J. Invest. Dermatol.* – 2000. – Vol. 115. – P. 234–244.
228. Determination of endogenous cytokines in chronic wounds [Text] / D. M. Cooper [et al.] // *Ann. Surg.* – 1994. – Vol. 219. – P.688–692.
229. Differential effect of burn injury on fibroblasts from wounds and normal skin [Text] / B. Nedelec [et al.] // *Plast Reconstr Surg.* – 2007. – Vol. 119, N 7. – P. 2101–2109.
230. Differential expression of chemokines in a mouse model of wound healing [Text] / S. N. Jackman // *Ann. Clin. Lab. Sci.* – 2000. – Vol. 30. – P. 201–207.
231. Dinarello, C. A. Proinflammatory cytokines [Text] / C. A. Dinarello // *Chest.* – 2000. – Vol. 118. – P. 503–508.
232. Down regulation of CXCR1 and CXCR2 expression on human neutrophils by
233. Effect of *Helicobacter pylori* infection on IL-8, IL-1 beta and COX-2 production in patients with chronic gastritis and gastric cancer [Text] / W. Bartchewsky Jr. [et al.] // *Scand. J. Gastroenterol.* – 2009. – Vol. 44. – P. 154 –161.
234. Effect of venous ulcer exudates on angiogenesis in vitro [Text] / S. L. Drinkwater [et al.] // *Br. J. Surg.* – 2002. – Vol. 89. – P. 709–713.
235. Effects of escharectomy during burnshock stage on the mRNA expression of IFN-gamma and IL-4 in spleen T lymphocytes in rats after thermal injury [Text] / W. Pang [et al.] // *Zhonghua Wai Ke Za Zhi.* – 2004. – Vol. 42, N 18. – P. 1142–1145.

236. Effects of escharectomy during shock stage on tissue high mobility group box-1 expression and balance of pro-/anti-inflammatory response in rats after severe thermal injury [Text] / Z. T. Wang [et al.] // *Zhonghua Wai Ke Za Zhi*. – 2004. – Vol. 42, N 14. – P. 839–844.
237. Effects of exogenous interferon gamma on patients with treatment-resistant chronic rhinosinusitis and dysregulated interferon gamma production: a pilot study [Text] / H. Jyonouchi [et al.] // *Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg*. – 2003. – Vol. 129, N 5. – P. 563– 569.
238. Effects of human growth hormone on donor-site healing in severely burned children [Text] / D. N. Herndon [et al.] // *Ann. Surg*. –1990. – Vol. 212. – P. 424–429.
239. Effects of interleukin-8 on granulation tissue maturation [Text] / K. E. Moyer [et al.] // *J. Cell. Physiol*. – 2002. – Vol. 193. – P. 173–179.
240. Effects of intranasal TNF α on granulocyte recruitment and activity in healthy subjects and patients with allergic rhinitis [Text] / H. Widegren [et al.] // *Respir. Res*. – 2008. – Vol. 9, N 1. – P. 15.
241. El-Omar E. The importance of interleukin-1 in Helicobacter pylori associated disease [Text] / E. El-Omar // *Gut*. – 2001. – Vol. 48. – P. 743 – 747.
242. Enhanced gastric IL-18 mRNA expression in Helicobacter pyloriinfected children is associated with macrophage infiltration, IL-8, and IL-1 beta mRNA expression [Text] / K. Dzierzanowska-Fangrat [et al.] // *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol*. – 2008. – Vol. 20. – P. 314–319.
243. Enhancement of wound healing by topical treatment with epidermal growth factor [Text] / G. L. Brown [et al.] // *N. Engl. J. Med*. – 1989. –Vol. 321. – P.76–79.
244. Enzymatic debridement for the treatment of severely burned upper extremities - early single center experiences [Text] / T. Cordts [et al.] // *BMC Dermatol*. – 2016. – Vol. 16, N 1. – P. 8–16.
245. Essential involvement of IL- 6 in the skin wound-healing process as evidenced by delayed wound healing in IL--6-deficient mice [Text] / Z.-Q. Lin [et al.] // *J. Leukoc. Biol*. – 2003. – Vol. 73. – P. 713–721.

246. Expression of epidermal growth factor receptor and its ligands in chronic sinusitis [Text] / H. M. Lee [et al.] // *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.* – 2003. – Vol. 112. – P. 132–138.
247. Evidence of dysregulated cytokine production by sinus lavage and peripheral blood mononuclear cells in patients with treatment-resistant chronic rhinosinusitis [Text] / H. Jyonouchi [et al.] // *Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.* – 2001. – Vol. 127, N 12. – P. 1488–1494.
248. Falanga, V. Advanced treatments for non-healing chronic wound [Text] / V. Falanga // *The Journal of the European Wound Management Association.* – 2004. – Vol. 4, N 2. – P. 4–6.
249. Falanga, V. Classifications for wound bed preparation and stimulation of chronic wounds [Text] / V. Falanga // *Wound Repair Regen.* – 2000. – Vol. 8, N 5. – P. 347–352.
250. Fibringel as a scaffold for skin substitute – production and clinical experience [Text] / A. Kljenak [et al.] // *Acta Clin Croat.* – 2016. – Vol. 55, N 2. – P. 279–289.
251. First experiences with the collagen-elastin matrix Matriderm as a dermal substitute in severe burn injuries of the hand [Text] / W. Haslik [et al.] // *Burns.* – 2007. – N 33. – P. 364–368.
252. Fu, X. Mesenchymal stem cells and skin wound repair and regeneration: possibilities and questions [Text] / X. Fu, H. Li // *Cell Tissue Res.* – 2009. – Vol. 335, N 2. – P. 317–321.
253. Functional implication of the IL-6 signaling pathway in keloid pathogenesis [Text] / M. Ghazizadeh [et al.] // *J. Invest. Dermatol.* – 2007. – Vol. 127. – P. 98–105.
254. Fuss, J. Prognostic value of using neutrophil-lymphocyte ratio in patients with burn injury for the diagnosis of sepsis and bacteraemia [Text] // J. Fuss, A. Voloboyeva, V. Poliovyj // *Pol. Przegl. Chir.* – 2018. – Vol. 15, N 5. – P. 13–16.
255. Galkowska, H. Chemokines, cytokines, and growth factors in keratinocytes and dermal endothelial cells in the margin of chronic diabetic foot ulcers [Text] / H.

- Galkowska, U. Wojewodska, W. L. Olszewski // *Wound Repair Regen.* – 2006. – Vol. 14. – P. 558–565.
256. Galkowska, H. Low recruitment of immune cells increased expression of endothelial adhesion molecules in margins of the chronic diabetic foot ulcers [Text] / H. Galkowska, U. Wojewodska, W. L. Olszewski // *Wound Repair Regen.* – 2005. – Vol. 13. – P. 248–254.
257. Genetic and environmental factors in the immunopathogenesis of atopy: interaction of *Helicobacter pylori* infection and IL-4 genetics [Text] / T. Pessi [et al.] // *Int. Arch. Allergy Immunol.* – 2005. – Vol. 137. – P. 282–288.
258. Greenhalgh, D. G. The role of growth factors in wound healing [Text] / D. G. Greenhalgh // *J. Trauma.* – 1996. – Vol. 41. – P. 159–167.
259. Greenwood, J. E. The evolution of acute burn care – retiring the split skin graft [Text] / J. E. Greenwood // *Ann. R. Coll. Surg. Engl.* – 2017. – Vol. 99, N 6. – P. 432–438.
260. Grellner, W. Time-dependent immunohistochemical detection of proinflammatory cytokines (IL-1beta, IL-6, TNF-alpha) in human skin wounds [Text] / W. Grellner // *Forensic Sci. Int.* – 2002. – Vol. 130. – P. 90–96.
261. Grinnell, F. Degradation of fibronectin and vitronectin in chronic wound fluid: analysis by cell blotting, immunoblotting and cell adhesion assays [Text] / F. Grinnell, C.-H. Ho, A. J. Wisocky // *Invest. Dermatol.* – 1992. – Vol. 98. – P. 410–416.
262. Growth factors in the treatment of diabetic foot ulcers [Text] / S. P. Bennett [et al.] // *British Journal of Surgery.* – 2003. – Vol. 90. – P. 133–146.
263. Harding, K. G. Science, medicine and the future: healing chronic wounds [Text] / K. G. Harding, H. L. Morris, G. K. Patel // *BMJ.* – 2002. – Vol. 324. – P. 160–163.
264. Hoebe, K. The interface between innate and adaptive immunity [Text] / K. Hoebe, E. Janssen, B. Beutler // *Nat. Immunol.* – 2004. – Vol. 5, N 10. – P. 971–974.

265. Hofman P. Molecular regulation og neutrophIL- apoptosis and potential targets for therapeutic strategy against the inflammatory process // *Curr. Drug. Targets Inflan Allergy*. – 2004. – Vol. 3. – P. 1–9.
266. Human allogeneic keratinocytes cultured on acellular xenodermis: the use in healing of burns and other skin defects [Text] / E. Matouskova [et al.] // *Bio-Medical Materials and Engineering*. – 2006. – N 16, suppl. 4. – P. 63–71.
267. Human Cytomegalovirus Attenuates Interleukin-1and Tumor Necrosis Factor Alpha Proinflammatory Signaling by Inhibition ofNF-κB Activation [Text] / M. A. Jarvis [et al.] // *Journal Of Virology*. – 2006. – Vol. 80, N 11. – P. 5588–5598.
268. Hyeon, Yu. Management of Pleural Effusion, Empyema, and Lung Abscess [Text] / Yu. Hyeon // *Semin. Intervent. Radiol*. – 2011. – Vol. 28, N 1. – P. 75–86.
269. Hypertrophic burn scars: analysis of variables [Text] / E. A. Deitch [et al.] // *J. Trauma*. – 1983. – Vol. 23. – P. 895–899.
270. IL-11RN polymorphism and cagA-positive *Helicobacter pylori* strains increase the risk of duodenal ulcer in children [Text] / D. Queiroz [et al.] // *Pediatr. Res*. – 2005. – Vol. 58. – P. 892–896.
271. IL-23-mediated regulation of IL-17 production in *Helicobacter pylori*-infected gastric mucosa [Text] / R. Caruso [et al.] // *Eur. J. Immunol*. – 2008. – Vol. 38. – P. 470–478.
272. Immediate Burn Excision Fails to Reduce Injury Progression [Text] / S. Macri [et al.] / *Journal of Burn Care & Research*. – 2013. – Vol. 34, N 3 – P. 153 –160.
273. Immunohistochemical localization of cytokines and cell adhesion molecules in maxillary sinus mucosa in chronic sinusitis [Text] / T. Nonoyama [et al.] // *Auris Nasus Larynx*. – 2000. – Vol. 27, N 1. – P. 51–58.
274. Improved skin wound epithelialization by topical delivery of soluble factors from fibroblast aggregates [Text] / M. Paeura [et al.] // *Burns*. – 2012. – Vol. 38, N 4. – P. 541–550.

275. Increased interleukin-10 in *Helicobacter pylori* infection could be involved in the mechanism protecting from allergy [Text] / G. Oderda [et al.] // *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* – 2007. – Vol. 45. – P. 301–305.
276. Indocyanine green dye angiography accurately predicts survival in the zone of ischemia in a burn comb model [Text] / M. S. Fourman [et al.] // *Burns.* – 2014. – Vol. 40, N 5. – P. 940–946.
277. Innate immunity of the sinonasal cavity: expression of messenger RNA for complement cascade components and toll-like Receptors [Text] / J. Vandermeer [et al.] // *Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.* – 2004. – Vol.130, N 12. – P. 1374–1380.
278. Initial experiences using non-cultured autologous keratinocyte suspension for burn wound closure [Text] / C. J. Zweifel [et al.] // *J. Plast. Reconstr. Aesthet. Surg.* – 2008. – Vol. 61, N 9. – P. 61–64.
279. Interleukin-2 gene polymorphisms associated with increased risk of gastric atrophy from *Helicobacter pylori* infection [Text] / S. Togawa [et al.] // *Helicobacter.* – 2005. – Vol. 10. – P. 172–178.
280. ISBI Practice Guidelines for Burn Care [Electronic resource] // *Burns.* – 2016. – Vol. 42, N 5. – P. 953–1021. – URL: <https://www.pubfacts.com/detail/27542292/ISBI-Practice-Guidelines-for-Burn-Care>.
281. Jaimes, F. Comparison between logistic regression and neural networks to predict death in patients with suspected sepsis in the emergency room [Text] / F. Jaimes, J. Farbiarz, D. Alvarez // *Crit. Care.* – 2005. – Vol. 9, N 2. – P. 150–156.
282. Jameson, J. A role for skin T cells in wound repair [Text] / J. Jameson, K. Ugarte, N. Chen // *Science.* – 2002. – Vol. 296. – P. 747–749.
283. Jeschke, M. G. The effect of ketoconazole on post—burn inflammation, hypermetabolism and clinical outcomes [Text] / M. G. Jeschke // *PLoS One.* – 2012. – Vol. 7, N 5. – P. 354–365.
284. Johnson, R. M. Partial-thickness burns: identification and management [Text] / R. M. Johnson, R. Richard // *Adv. Skin Wound Care.* – 2003. – N 16. – P. 178–187.

285. Keane, M. P. The role of chemokines and cytokines in lung fibrosis [Text] / M. P. Keane // *Eur. Respir. Rev.* – 2008. – Vol.17. – P. 151–156.
286. Keloid fibroblasts express a reduced amount of TGF beta-3 as compared with TGF beta-1 and TGF beta-2 isoforms [Text] / D. Chau [et al.] // *Proceedings of the Plastic Surgery Research Council, 43-rd annual meeting; April 4–7, 1998.* – Loma Linda, CA, 1998. – P. 31.
287. Keratinocyte derived growth factors play a role in the formation of hypertrophic scars [Text] / F. B. Niessen [et al.] // *J. Pathol.* – 2001. – Vol. 194. – P. 207–216.
288. Khan, M. N. Advances in the management of leg ulcers – The potential role of growth factors [Text] / M. N. Khan, C. G. Davies // *Int. Wound J.* – 2006. – N 3. – P. 113–120.
289. Kishimoto, T. Interleukin-6: discovery of pleiotropic cytokine [Text] / T. Kishimoto // *Arthritis Res. Ther.* – 2006. – Vol. 8, suppl. 2. – P. 2–14.
290. Komarcevic, A. The modern approach to wound treatment [Text] / A. Komarcevic // *Med. Pregl.* – 2000. – Vol. 53. – P. 363–368.
291. Koster, M. I. The role of p63 in development and differentiation of the epidermis [Text] / M. I. Koster, D. R. Roop // *Journal of Dermatological Science.* – 2004. – Vol. 34, N 1. – P. 3–9.
292. Large and sustained induction of chemokines during impaired wound healing in the genetically diabetic mouse: prolonged persistent of neutrophils and macrophages during the late phase of repair [Text] / C. Wetzler [et al.] // *J. Invest. Dermatol.* – 2000. – Vol. 115. – P. 245–253.
293. Lee, R. C. Control of matrix production during tissue repair [Text] / R. C. Lee, H. Doong // *Advances in Wound Healing and Tissue Repair* / eds.: R. C. Lee, T. A. Mustoe, J. W. Siebert J.W. – Chicago : World Medical Press, 1993. – Vol. 2. – P. 112–142.
294. Lesmeister, M. J. Toll-like receptor expression in the human nasopharyngeal tonsil (adenoid) and palantine tonsils: A preliminary report // *International Journal of Pediatric [Text]* / M. J. Lesmeister, M. R. Bothwell, M. L. Misfeldt // *Otorhinolaryngology.* – 2006. – Vol. 70. – P. 987– 992.

295. Li, Y. L. Long-term in vitro culture of the fibroblasts from the deep partial thickness bum wound in bum patients [Text] / Y. L. Li, B. Chen, C. W. Tang // *Zhonghua Shao Shang Za Zhi.* – 2003. – Vol. 9, N 1. – P. 35–37.
296. Li, Z. The effects of escharectomy en masse during shock stage on the secretion of cytokines from macrophage in scalded rats [Text] / Z. Li, Y. Huang, Z. Yang // *Zhonghua Shao Shang Za Zhi.* – 2000. – Vol. 16, N 5. – P. 283–285.
297. Liu, Z. J. Hyperoxia, endothelial progenitor cell mobilization, and diabetic wound healing [Text] / Z. J. Liu, O. C. Velazquez // *Antioxidants and Redox Signaling.* – 2008. – Vol. 10, N 11. – P. 1869–1882.
298. Living tissue formed “in vitro” and accepted as skin-equivalent tissue of full thickness [Text] / E. Bell [et al.] // *Science.* – 1981. – N 211. – P. 1052–1054.
299. Lozano, D. D. The effect of a fibroblast derived skin substitute on keratinocyte proliferation [Text] / D. D. Lozano // *Burns.* – 2007. – Vol. 33, N 1. – P. 62–63.
300. Mast cell involvement in normal skin wound healing: expression of monocyte chemoattractant protein-1 is correlated with recruitment of mast cells which synthesize interleukin-4 in vivo [Text] / A. Trautmann [et al.] // *J. Pathol.* – 2000. – Vol. 190. – P. 100–106.
301. Matouskova, E. A recombined skin composed of human keratinocytes cultured on cell-free pig dermi [Text] / E. Matouskova, D. Vogtova, R. Königova // *Burns.* – 1993. – Vol. 19, N 2. – P. 118–123.
302. McGrath, M. H. Peptide growth factors and wound healing [Text] / M. H. McGrath // *Clin. Plast. Surg.* – 1990. – Vol. 17. – P. 421–432.
303. Micro RNA profiling in denatured dermis of deep burn patients [Text] / P. Liang [et al.]. // *Burns.* – 2012. – Vol. 38, N 4. – P. 534–540.
304. Min, Y.-G. The role of cytokines in rhinosinusitis [Text] / Y.-G. Min, K. S. Lee // *J. Korean. Med. Sci.* – 2000. – Vol. 15. – P. 255–259.

305. Mitogen-activated protein kinases and nuclear factor-B regulate Helicobacter pylori-mediated interleukin-8 release from macrophages [Text] / A. Bhattacharyya [et al.] // Biochem. J. – 2002. – Vol.8. – P. 121–129.
306. Modalities for the Assessment of Burn Wound Depth [Text] / L. Devgan [et al.] // Journal of burns and wounds. – 2006. – N 5. – P. 1–9.
307. Nagy, G. Role of saliva, salivary glands and epidermal growth factor (EGF) on oral wound healing [Text] / G. Nagy // Fogorv. Sz. – 2003. – Vol. 96, N 1. – P. 17–20.
308. Ornitz, D. M. Fibroblast growth factors [Text] / D. M. Ornitz, N. Itoh // Genome Biolog. – 2001. – Vol. 2, N 3. – P. 3005.1–3005.12.
309. P63 is essential for the proliferative potential of stem cells in stratified epithelia [Text] / M. Senoo [et al.] // Cell. – 2007. – Vol. 129, N 3. – P. 523–536.
310. Park, S. N. Evaluation of antibiotic loaded collagen-hyaluronic acid matrix as a skin substitute [Text] / S. N. Park, J. K. Kim, H. Suh // Biomaterials. – 2004. – N. 25. – P. 3689–3698.
311. Pawankar, R. Inflammatory Mechanisms and Remodeling in Chronic Rhinosinusitis and Nasal Polyps [Text] / R. Pawankar, M. Nonaka // Current Allergy and Asthma Reports. – 2007. – Vol. 7. – P. 202–208.
312. Photographic assessment of burn size and depth: reliability and validity [Text] / M. J. Hop [et al.] // J. Wound Care. – 2014. – Vol. 23, N 3. – P.144–152.
313. Platelet-derived growth factor BB for the treatment of chronic pressure ulcers [Text] / M. C. Robson [et al.] // Lancet. – 1992. – Vol. 339. – P. 23–25.
314. Porcine xenografts vs. (cryopreserved) allografts in the management of partial thickness burns: Is there a clinical difference? [Text] / M. H. Hermans [et al.] // Burns. – 2014. – Vol. 40, N 3. – P. 408–415.
315. Raghavan, S. CD4+ CD25+ suppressor T cell regulate pathogen induced inflammation and disease [Text] / S. Raghavan, J. Holmgren // FEMS Immunol.Medical Microbiol. – 2005. – Vol. 44. – P. 121–127.

316. Recombinant human platelet-derived growth factor BB for the treatment of chronic pressure ulcers [Text] / M. C. Robson [et al.] // *Ann. Plast. Surg.* – 1992. – Vol. 29. – P. 193–201.
317. Regulation of collagen synthesis and messenger RNA levels in normal and hypertrophic scar fibroblasts in vitro by interferon alpha 2a [Text] / E. E. Tredget [et al.] // *Wound Repair Regen.* – 1993. – Vol. 1. – P. 156.
318. Relationship between IL-1beta gene polymorphism and gastric mucosal IL-1beta levels in patients with *Helicobacter pylori* infection [Text] / J. Xuan [et al.] *J. Gastroenterol.* – 2005. – Vol. 40. – P. 796–801.
319. Rello, J. Management of Sepsis: the PIRO Approach [Text] / J. Rello, E. Diaz, A. Rodriguez. – N.Y. : Springer. – 2009. – 174 p.
320. Reversal of silver sulfadiazine-impaired wound healing by epidermal growth factor [Text] / A. R. C. Lee [et al.] // *Biomaterials.* – 2005. – Vol. 26. – P. 4670–4676.
321. Rheinwald, J. G. Serial cultivation of strains of human epidermal keratinocytes: the formation of keratinizing colonies from single cells [Text] / J. G. Rheinwald, H. Green // *Cell.* – 1975. – Vol. 6, N 3. – P. 331–334.
322. Robbins, D. Comparison of matrix metalloproteinase-2 levels in keloid and non-keloid tissue [Text] / D. Robbins, R. Hollins, T. Baxter // *Proceedings of the Plastic Surgery Research Council, 43-rd annual meeting; April 4-7, 1998.* – Loma Linda, CA, 1998. – P. 35.
323. Robson, M. C. The role of growth factors in the healing of chronic wounds [Text] / M. C. Robson // *Wound Repair Regen.* – 1997. – Vol. 5. – P. 12–17.
324. Robson, M. C. Wound healing alterations caused by bacteria [Text] / M. C. Robson, B. D. Stenberg, J. D. Heggers // *Clin. Plast. Surg.* – 1990. – Vol. 3. – P. 485–492.
325. Robson, M. C. Wound repair: principles and applications [Text] / M. C. Robson, B. F. Burns, L. G. Phillips // *Plast. Surg.: A Core Curriculum* / eds.: R. L. Ruberg, D. J. Smith. – St. Louis : Mosby-Year Book Inc., 1994. – P. 3–30.

326. Rothe, M. J. Growth factors and wound healing [Text] / M. J. Rothe, V. Falanga // Clin. Dermatol. – 1992. – Vol. 9. – P. 553–559.
327. Safety and effect of topical recombinant human interleukin-1 in the management of pressure sores [Text] / M. C. Robson [et al.] // Wound Repair Regen. – 1994. – Vol. 2. – P. 177–181.
328. Serum levels of tumor necrosis factor, interleukin-6 and interleukin-8 are not increased in dyspeptic patients with Helicobacter pylori-associated gastritis [Text] / T. Bayraktaroglu [et al.] // Mediators of Inflammation. – 2004. – Vol. 13. – P. 25–28.
329. Sequential cytokine therapy for pressure ulcers: clinical and mechanistic response [Text] / M. C. Robson [et al.] // Ann. Surg. – 2000. – Vol. 231, N 4. – P. 600–611.
330. Shah, M. Control of scarring in adult wounds by neutralizing antibody to transforming growth factor beta [Text] / M. Shah, D. M. Foreman, M. W. J. Ferguson // Lancet. – 1992. – Vol. 339. – P. 213–214.
331. Skin engineering for burns [Text] / J. Lataillade [et al.] // Bull. Acad. Nat. Med. – 2010. – Vol. 194, N 7. – P. 1339–1351.
332. Smads regulate collagen gel contraction by human dermal fibroblasts [Text] / K. Sumiyoshi [et al.] // Br. J. Dermatol. – 2003. – Vol. 149. – P. 464–470.
333. Smad3: a key player in pathogenetic mechanisms dependent on TGF-beta [Text] / A. B. Roberts [et al.] // Ann. N. Y. Acad. Sci. – 2003. – Vol. 995. – P. 1–10.
334. Smith, E. Multiple fragments related to angiostatin and endostatin in fluid from venous leg ulcers [Text] / E. Smith, R. Hoffman // Wound Repair Regen. – 2005. – Vol. 13. – P. 148–157.
335. Standard operating procedures for the clinical management of patients enrolled in a prospective study of Inflammation and the Host Response to Thermal Injury [Text] / G. M. Silver [et al.] // J. Burn Care Res. – 2007. – Vol. 28, N 2. – P. 222–230.
336. Steenfos, H. H. Growth factors and wound healing [Text] / H. H. Steenfos // Scand. J. Plast. Hand. Surg. – 1994. – Vol. 28. – P. 95–105.

337. Stem Cells Therapy of Lower Extremity Ulcers [Text] / T. Tuganbekov [et al.] // Journal of Clinical Medicine of Kazakhstan. – 2013. – N 4(30). – P. 14–20.
338. Stetler-Stevenson, W. G. Extracellular matrix 6: role of matrix metalloproteinases in tumor invasion and metastasis [Text] / W. G. Stetler-Stevenson, L. A. Liotta, D. E. Kleiner // FASEB J. – 1993. – Vol. 7. – P. 1434–1441.
339. Stimulation of healing of chronic wounds by epidermal growth factor [Text] / G. L. Brown [et al.] // Plast. Reconstr. Surg. – 1991. – Vol. 88. – P.189–194.
340. Stimulation of skin repair is dependent on fibroblast source and presence of extracellular matrix [Text] / H. Wang [et al.] // Tissue Eng. – 2004. – Vol. 10, N 7-8. – P. 1054–1064.
341. Stimulation of repair in chronic nonhealing cutaneous ulcer using platelet-derived wound healing formula [Text] / D. R. Knighton [et al.] // Surg. Gynecol. Obstet. – 1990. – Vol. 170. – P. 56–60.
342. Sustained release of human growth hormone (hGH) from collagen film and evaluation of effect on wound healing in mice [Text] / M. Maeda [et al.] // J. Control Release. – 2001. –Vol. 77. – P. 261–272.
343. Takeda, K. Toll-like receptors [Text] / K. Takeda, T. Kaisho, S. Akira // Annu. Rev. Immunol. – 2003. – Vol. 21. – P. 335–376.
344. The effect of several silver-containing wound dressings on fibroblast function in vitro using the collagen lattice contraction model [Text] / C. A. Cochrane [et al.] // Wounds. – 2006. – Vol. 18, N 2. – P. 29–34.
345. The progression of burn depth in experimental burns: a histological and methodological study [Text] / A. Papp [et al.] // Burns. – 2004. – Vol. 30, N 7. – P. 684–690.
346. The retention of extracellular matrix proteins and angiogenic and mitogenic cytokines in a decellularized porcine dermis [Text] / D. M. Hoganson [et al.] // Biomaterials. – 2010. – Vol. 31, N 26. – P. 6730–6737.
347. The role of allogenic fibroblasts in an acute wound healing model [Text] / R. D. Price [et al.] // Plast. Reconstr. Surg. – 2004. – Vol. 113. – P. 1719– 1729.

348. The role of proinflammatory cytokines in lung ischemia-reperfusion injury [Text] / B. Krishnadasan [et al.] // *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* – 2003. – Vol. 125. – P. 261–272.
349. The use of cultured autologous fibroblasts in burn wounds healing process [Text] / I. Karchilakia [et al.] // *Burns.* – 2007. – Vol. 33, N 6. – P. 791–792.
350. The use of granulocyte-monocyte colony stimulating factor in the therapy of chronic wounds [Text] / M. Papi [et al.] // *J. Eur. Acad. Dermatol.* – 2002. – Vol. 16, suppl. 1. – P. 336.
351. Tischler, M. Platelet Rich Plasma: The use of autologous growth factors to enhance bone and soft tissue grafts [Text] / M. Tischler // *N. Y. State Dent. J.* – 2002. – Vol. 68. – P. 22.
352. Transforming growth factor-beta 1, 2, 3 and receptor type I and II in diabetic foot ulcers [Text] / E. B. Jude [et al.] // *Diabet. Med.* – 2002. – Vol. 19. – P. 440–447.
353. Transcriptional profiling of the human monocyte-to-macrophage differentiation and polarization: new molecules and patterns of gene expression [Text] / F. O. Martinez [et al.] // *J. Immunol.* – 2006. – Vol. 177. – P. 7303–7311.
354. Transplantation of microskin autografts with overlaid selectively decellularized split-thickness porcine skin in the repair of deep burn wounds [Text] / T. Sun [et al.] // *J. Burn Care Res.* – 2011. – Vol. 32, № 3. – P. 67–73.
355. Tredget, E. E. The molecular biology of fibroproliferative disorders of the skin: potential cytokine therapeutics [Text] / E. E. Tredget // *Ann. Plast. Surg.* – 1994. – Vol. 33. – P. 152–154.
356. Trengove, N. J. Mitogenic activity and cytokine levels in non-healing and healing chronic ulcers [Text] / N. J. Trengove, H. Bielefeldt-Ohmann, M. C. Stacey // *Wound Rep. Reg.* – 2000. – Vol. 8. – P. 13–25.
357. Urokinase and tissue-type plasminogen activator in keratinocytes during wound re-epithelialization in vivo [Text] / J. Grodahl-Hansen, L. R. Lund, F. Ralfkiaer [et al.] // *Invest. Dermatol.* – 1998. – Vol. 90. – P. 790–795.

358. Van Setten, G. B. Defection of Connective Tissue Growth Factor i Human [Text] / G. B. Van Setten, T. D. Blaloc, G. Grotendonst // Ophthalmic Research. – 2002. – Vol. 34, N 5. – P. 306–308.
359. Venous ulcer fibroblasts respond to basic fibroblast growth factor at cell cycleprotein level [Text] / C. Seidman [et al.] // Ann. Vasc. Surg. – 2006. – Vol. 20. – P. 376–380.
360. Viability and function of autologous and allogeneic fibroblasts seeded in dermal substitutes after implantation [Text] / N. Morimoto [et al] // J. Surg. Res. – 2005. – Vol. 125, N 1. – P. 56–67.
361. Wang, T. W. Organotypic keratinocyte-fibroblast cocultures on a bi layer gelatin scaffold as a model of skin equivalent [Text] / T. W. Wang, Y.C. Huang, I. S. Sun // Biomed Sci Instnim. – 2013. – Vol. 39. – P. 523– 528.
362. Werner, S. Keratinocyte-fibroblast interactions in wound healing [Text] / S. Werner, T. Krieg, H. Smola // J. Invest Dermatol. – 2007. – Vol. 127, N 5. – P. 998–1008.
363. Werner, S. Regulation of wound healing by growth factors and cytokines [Text] / S. Werner, R. Grose // Physiol. Rev. – 2003. – Vol. 83. – P. 835 – 870.
364. Wieman, T. J. Efficacy and safety of a topical gel formulation of recombinant human platelet-derived growth factor-BB (becaplemin) in patients with nonhealing diabetic ulcers: a phase III randomized, placebo-controlled, double-blind study [Text] / T. J. Wieman, J. M. Smiell, Y. Su // Diabetes Care. – 1998. – Vol. 21. – P. 822–827.
365. Woessner, J. F. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in connective tissue remodeling [Text] / J. F. Woessner // FASEB J. – 1991. – Vol. 5. – P. 2145–2154.
366. Wood, F. M. The use of cultured epithelial autograft in the treatment of major burn wounds: eleven years of clinical experience [Text] / F. M. Wood, M. X. Kolybaba, P. Allen // J. Burns. – 2006. – Vol. 32. – P. 538–544.
367. Wood, F. M. Tissue engineering of skin [Text] / F. M. Wood // Clinics in Plastic Surgery. – 2012. – Vol. 39. – P. 21–39.

368. Wound fluid from human pressure ulcers contain elevated matrix metalloproteinase levels and activity compared to surgical wound fluids [Text] / D. R. Yager [et al.] // *J. Invest. Dermatol.* – 1996. – Vol. 107. – P. 743–748.
369. Wound healing dressings and drug delivery systems: A review [Text] / J. S. Boateng [et al.] // *Journal of Pharmaceutical Sciences.* – 2008. – Vol. 97, Issue 8. – P. 2892–2923.
370. Wound repair and regeneration [Text] / G. C. Gurtner [et al.] // *J. Nature.* – 2008. – Vol. 453. – P. 314–321.
371. Xi, P. Establishment and assessment of new formulas for energy consumption estimation in adult burn patients [Text] / P. Xi, W. Kaifa // *PLoS One.* – 2014. – Vol. 9, N 10. – P. 110409.
372. Xia, Y. P. Effects of keratinocyte growth factor-2 (KGF-2) on wound healing in an ischaemia-impaired rabbit ear model and on scar formation [Text] / Y. P. Xia, Y. Zhao, J. Marcus // *J. Pathol.* – 1999. – Vol. 188, N 4. – P. 431–438.
373. Yao, Y. A comparative study on wound healing treated by different doses of bovine basic fibroblast growth factor (bFGF) [Text] / Y. Yao, C. Fei, Z. Li // *Zhonghua Shao Shang Za Zhi.* – 2001. – Vol. 17, N 1. – P. 10–12.
374. Zhang, M. Retrospection and future of microskin grafting [Text] / M. Zhang // *Zhonghua Shao Shang Za Zhi.* – 2008. – Vol. 24, N 5. – P. 343–345.
375. Zhou, Y. Experiences in rescue and treatment of mass burn casualties in fifty years [Text] / Y. Zhou // *Zhonghua Shao Shang Za Zhi.* – 2008. – Vol. 24, N 5. – P. 325–327.
376. Zuo, Y. Dermis, acellular dermal matrix, and fibroblasts from different layers of pig skin exhibit different profibrotic characteristics: evidence from in vivo study [Text] / Y. Zuo, S. Lu // *Oncotarget.* – 2017. – Vol. 14, N 8. – P. 23613–23627.