

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 ОЖГОВОЙ ТРАВМЕ**

14.03.03 – патологическая физиология

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
доктора медицинских наук

Донецк – 2020

Работа выполнена в Государственной образовательной организации высшего профессионального образования «Донецкий национальный медицинский университет имени М. Горького» Министерства здравоохранения Донецкой Народной Республики, г. Донецк

Научный консультант: доктор медицинских наук, профессор  
**Фисталь Эмиль Яковлевич**,  
ГОО ВПО ДОННМУ ИМ. М. ГОРЬКОГО, заведующий кафедрой комбустиологии и пластической хирургии ФИПО

Официальные оппоненты: доктор медицинских наук, профессор  
**Золотухин Сергей Евгеньевич**,  
Республиканский травматологический центр Министерства Здравоохранения Донецкой Народной Республики, г. Донецк, заведующий отделом координации научных исследований и прогнозирования

доктор медицинских наук  
**Плахотников Иван Александрович**,  
Донецкое клиническое территориальное медицинское объединение Министерства Здравоохранения Донецкой Народной Республики, г. Донецк, заместитель главного врача по медицинской части

доктор медицинских наук, профессор  
**Попандопуло Андрей Геннадьевич**,  
Институт неотложной и восстановительной хирургии им. В. К. Гусака Министерства Здравоохранения Донецкой Народной Республики, г. Донецк, заведующий лабораторией клеточного и тканевого культивирования

Ведущая организация: ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства Здравоохранения Российской Федерации, г. Краснодар

Защита состоится 28 декабря 2020 года в 10:00 на заседании Диссертационного совета Д 01.022.05 при ГОО ВПО ДОННМУ ИМ. М. ГОРЬКОГО по адресу: 283003, г. Донецк, пр-т Ильича, 16. Тел. / факс: (062) 344 41 51, 344 41 51, e-mail: [spec-sovet-01-022-05@dnmu.ru](mailto:spec-sovet-01-022-05@dnmu.ru)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ГОО ВПО ДОННМУ ИМ. М. ГОРЬКОГО по адресу: 283003, г. Донецк, пр. Ильича, 16.

Автореферат разослан \_\_\_\_ ноября 2020 года.

Ученый секретарь  
Диссертационного совета Д 01.022.05  
д. мед. н., профессор

С. В. Грищенко

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**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 в Донбассе в 2014-2019 гг. (Фисталь Э.Я., 2015, 2017, Кострубицкий А.А., 2018). В настоящее время в Донбассе оказание специализированной хирургической помощи во время вооруженного конфликта осуществляется в гражданских лечебных учреждениях. Это обуславливает актуальность изучения патогенеза и репаративных процессов при боевой и ожоговой травме, настоятельную необходимость разработки оптимизированных подходов и методов органосохраняющего и восстановительного лечения. Вместе с тем, на основании накопленного богатого клинического опыта при оказании специализированной помощи раненым и обожженным, было замечено, что репаративные процессы при боевой и ожоговой травме протекают неоднозначно у разных категорий больных (Богданов С.Б., 2016, Фисталь Э.Я., 2004). Несмотря на то, что все пострадавшие получали сходное хирургическое и консервативное лечение, была отмечена существенная разница, как в длительности лечения, так и в количестве послеоперационных осложнений. Эти обстоятельства заставляют углубленно изучить патогенез раневого процесса, найти патофизиологическое обоснование оказания раннего специализированного хирургического лечения.

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

Таким образом, к основным перспективным направлениям современной хирургии открытых боевых повреждений относятся: модифицированные методы первичной хирургической обработки раны, изучение патогенетических механизмов течения раневого процесса, прогнозирование течения раневого процесса, 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.

**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. Провести анализ оказания пострадавшим с ранами и ожогами, которым была оказана специализированная хирургическая помощь, структуру боевой и ожоговой травмы.
2. Провести патоморфологический и бактериологический контроль течения раневого процесса у пострадавших при различных сроках оказания специализированной хирургической помощи.
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. Изучить особенности реакции гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы в начальном периоде травмы, которая определяет дальнейшее течение иммунно-воспалительного и регенераторного процессов за счет изменения экспрессии генов провоспалительных и противовоспалительных цитокинов.
5. Определить распределение генотипов и аллелей rs1800471 гена TGFb1, rs1800629 гена TNF $\alpha$ , полиморфизма генов rs3775291 гена TLR3 и rs4986790 гена TLR4, которые ассоциированы с длительностью течения репаративных процессов в ране.
6. Выявить наиболее значимые предикторы исхода лечения, длительности стационарного лечения, количества выполненных операций, осложнений в ближайшем и отдаленном послеоперационном периоде.

7. Разработать математическую модель прогнозирования длительности лечения повреждений, включающую значимые комбинации генотипов, при оказании специализированной хирургической помощи.
8. Оценить эффективность предложенной тактики при выполнении реконструктивно-восстановительных операций, ближайшие и отдаленные результаты лечения, на основании математического прогноза исхода лечения.

*Объект исследования:* патоморфологические, бактериологические, иммунноферментные (цитокины и кортизол), молекулярно-генетические (полиморфизм rs1800471 гена TGFb1, rs1800629 гена TNF $\alpha$ , rs3775291 гена TLR3 и rs4986790 гена TLR4) и клинические особенности боевых повреждений; раневые осложнения; тактика специализированного лечения.

*Предмет исследования:* раненные и пострадавшие с термомеханическими повреждениями.

**Связь работы с научными программами, темами.** Диссертационная работа выполнена согласно плану научно-исследовательской работы кафедры комбустиологии и пластической хирургии ФИПО Государственной образовательной организации высшего профессионального образования «Донецкий национальный медицинский университет имени М. Горького» (далее – 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. Тема диссертации и научный консультант утверждены на заседании Учёного совета ГОО ВПО ДОННМУ ИМ. М. ГОРЬКОГО, протокол № 6 от 28 августа 2019 г.

**Научная новизна.** Определена структура боевой и ожоговой травмы у пострадавших с ранами и ожогами при оказании специализированной хирургической помощи, сроки и этапы эвакуации при доставке больных в Институт неотложной и восстановительной хирургии (ИНВХ) им. В.К. Гусака Министерства здравоохранения Донецкой Народной Республики.

Установлены распределения частот генотипов и аллельных вариантов rs1800471 гена TGFb1, rs1800629 гена TNF $\alpha$ , 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 TGFb1, rs1800629 гена TNF $\alpha$ , 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.

Впервые комплексно определены изменения продукции TGFb1, TNF $\alpha$ , IL-6, IL-10, IFN $\gamma$  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 С rs1800471 гена TGFB1; минорной аллели А rs1800629 гена TNF $\alpha$ ; минорной аллели Т rs3775291 гена TLR3; минорной аллели G rs4986790 гена TLR4, а также сочетаний аллелей СТ-AG и ТТ-AG rs3775291 гена TLR3 и rs4986790 гена TLR4 увеличивало шансы хронического неблагоприятного течения раневого процесса длительного незаживающего характера.

Установлено, что определенные аллели и генотипы, а также их сочетания влияли на содержание в крови маркеров цитокинового профиля и определяли характер и тяжесть течения раневого процесса, что позволит рассматривать их в качестве маркеров потенциального риска длительности лечения.

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.

Разработана математическая модель для прогнозирования вероятности длительного срока и исхода госпитального этапа лечения больных.

**Теоретическая и практическая значимость работы.** Разработанная математическая модель прогнозирования длительности лечения повреждений, включающая значимые комбинации генотипов, при общей точности разработанной регрессионной модели 75 % с чувствительностью – 85 % и специфичностью – 65 % будет полезна для практической медицины и педагогического процесса.

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

Разработана и внедрена в практику тактика оказания ранней специализированной хирургической помощи раненым и обожженным с прогнозированием ближайших и отдаленных результатов лечения.

При применении нового подхода к хирургической реабилитации, средняя длительность стационарного лечения снизилась с 33,5 суток до 24,3 суток. Предложенная тактика позволила снизить среднее количество операций на одного человека с 2,8 до 1,9. Предложенная хирургическая тактика в раннем послеоперационном периоде позволила снизить количество осложнений с 6,9 % до 3,3 %. В отдаленном послеоперационном периоде при использовании предложенной тактики ранней специализированной хирургической помощи

количество осложнений снизилось с 16,8 % до 10,1 %. Предлагаемый подход к раннему хирургическому лечению позволил улучшить медико-социальную составляющую лечения – количество инвалидизаций снизилось с 14,2 %, до 4,3 %.

Полученные данные внедрены в работу отдела термических поражений ИНВХ им. В.К. Гусака, хирургического отделения Донецкого клинического территориального медицинского объединения, Торезской центральной городской больницы, центральной больницы г. Докучаевска. Получены акты внедрения.

Помимо того, материалы работы используются в преподавательской деятельности на кафедре комбустиологии и пластической хирургии ФИПО ГОУ ВПО ДОННМУ ИМ. М. ГОРЬКОГО.

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 ИНВХ им. В.К. Гусака Министерства здравоохранения Донецкой Народной Республики, г. 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 $\alpha$ , 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. Боевая травма характеризуется многофакторностью поражения. 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: гиперкортизолемией, гиперпродукцией цитокинов  $IFN\gamma$ ,  $TNF\alpha$ ,  $IL-6$ , угнетением синтеза  $TGF\beta 1$  и  $IL-10$  при термомеханических повреждениях.
3. Процессы регенерации при боевом и ожоговом повреждениях имеют мультифакторную полигенную природу. Исследованные полиморфизмы генов  $TGF\beta 1$ ,  $TNF\alpha$ ,  $TLR3$ ,  $TLR-4$  имеют значимое влияние на течение и характер заживления ран.
4. Анализ ассоциации носительства аллелей и генотипов rs1800471 гена  $TGF\beta 1$  с уровнем  $TGF\beta 1$ , rs1800629 гена  $TNF\alpha$  с уровнем  $TNF\alpha$  крови показал, что выявленный вклад генов  $TGF\beta 1$  и  $TNF\alpha$ , определяется влиянием их полиморфизмов на синтез тканевых и иммунных регуляторов и длительность лечения.
5. Наиболее значимыми предикторами длительности стационарного лечения, количества выполненных операций и осложнений в ближайшем и отдаленном послеоперационном периоде являются: 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).

**Личный вклад соискателя.** Диссертантом разработана концепция диссертационной работы, проведена разработка основных теоритических 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 кафедры патологической анатомии ГОО ВПО ДОННМУ ИМ. М. ГОРЬКОГО (доцент Кондратюк Р.Б.).

Молекулярно-генетические и иммуноферментные исследования выполнялись в Центральной научно-исследовательской лаборатории ГОО ВПО ДОННМУ ИМ. М. ГОРЬКОГО (с.н.с. Чернобrivцев П.А., с.н.с. Кишеня М.С.).

Математическая обработка полученных результатов проведена на базе ГОО ВПО ДОННМУ ИМ. М. ГОРЬКОГО (доцент Коктышев И.В., с.н.с. Чернобrivцев П.А., с.н.с. Кишеня М.С.).

**Публикации.** По материалам диссертации опубликовано 18 научных работ, в том числе: 12 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 (245 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.

## **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

**Материал и методы исследования.** Нами были изучены результаты лечения 743 раненных и пострадавших, которые находились на стационарном лечении в ожоговом отделении ИНВХ им. В.К. Гусака МЗ ДНР с 2014 по 2019 гг. Протокол заседания комиссии по биоэтике ГОО ВПО ДОННМУ ИМ. М.ГОРЬКОГО № 3 от 29.05.2019 г.

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

Для бактериологических исследований был применен один из наиболее важных и достоверных критериев оценки качества лечения – метод количественного определения патогенных 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 трёх 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 (колониеобразующих единиц / 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 пересева из каждого сектора. Чашки инкубировали при 37<sup>0</sup>С 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 желточно-солевой агар.

Измерение содержания цитокинов и кортизола в плазме крови осуществляли с помощью набора реактивов иммуноферментного анализа (АлькорБио, РФ). В тест-системе использован принцип конкурентного ИФА. Интенсивность окраски продуктов иммуноферментативной реакции, измеряли на планшетном ридере «Multiscan EX» Thermo Electron Corp. (Финляндия) при длине волны 450 нм. Концентрацию цитокинов и кортизола рассчитывали по калибровочному графику зависимости оптической плотности от содержания веществ в стандартных пробах.

Анализ генетических полиморфизмов rs1800629 гена TNF $\alpha$  (SNP G308A; генная локализация 6p21.3), rs1800471 гена TGFb1 (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. Визуализация окрашенных фрагментов ДНК осуществляли в проходящем ультрафиолетовом свете при длине волны 312 нм в трансиллюминаторе «TFX-20 M» («VilberLourmat», Франция).

С помощью клинического метода изучена структура полученных ранений и ожогов; изучены сроки доставки в специализированный центр; длительность стационарного лечения; количество выполненных операций; ближайшие и отдаленные послеоперационные осложнения; процент инвалидизаций.

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/calculator.php>) и адекватных математических методов и критериев.

**Дизайн исследования.** 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 % ± 5,2 %) поступили в ожоговый центр с места происшествия, 50 человек (54,3 % ± 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 от 1,5 % до 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 (онкологические заболевания, 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; 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.

**Результаты исследования и их обсуждение.** Патоморфологическое и бактериологическое исследование проведено у 162 пациентов ( $21,8 \% \pm 1,5 \%$ ) от общего числа больных. Материал для исследований брали из стенок раны на 1-2, 7 и 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 служили питательной средой для микроорганизмов.

При исследовании иссеченных краев раны в ближайшее после получения травмы время имелись признаки травматического повреждения в виде кровоизлияний, фрагментации коллагеновых волокон; при этом отсутствовали выраженный некроз и гнойное воспаление. Через 48 часов в краях раны появлялись полиморфноядерные нейтрофилы, но присутствовала зона паранекроза.

Во второй группе, больные которой поступали в клинику через промежуточный этап эвакуации, наблюдались обширные поля некроза, гнойное воспаление дермы, флегмона подкожной клетчатки, колонии микроорганизмов среди некротизированной ткани и / или гнойного экссудата.

Также отмечалась выраженное увеличение содержания коллагена, огрубение дермы спустя 10-12 суток рядом с участками некроза и гнойного воспаления. Разрастание грануляционной ткани было избыточно, в её составе отмечалось большое количество полиморфноядерных нейтрофилов, что свидетельствовало 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 была 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 пациента (69,3 % ± 5,3 %), среди которых чаще всего определялся золотистый стафилококк – 39 человек (75,0 % ± 6,0 %). Кроме золотистого стафилококка, также были отмечены зеленящий стрептококк – у 8 пациентов (15,4 % ± 5,0 %) и эпидермальный стафилококк – у 5 человек (9,6 % ± 4,1 %). Грамотрицательная монокультура была выделена у 23 больных (30,7 % ± 5,3 %). В ряду грамотрицательных бактерий преобладали кишечная палочка – 11 случаев (47,8 % ± 10,4 %) и протей – 12 человек (52,2 % ± 10,4 %). Микробный пейзаж смешанной флоры в основном был представлен ассоциациями микроорганизмов: золотистый стафилококк и кишечная палочка – 21 случай (24,1 % ± 4,6 %), золотистый стафилококк и синегнойная палочка – 32 случая (36,8 % ± 5,2 %), протей и синегнойная палочка – 12 человек (13,8 % ± 3,7 %), золотистый стафилококк, протей и синегнойная палочка – 22 человека (25,3 % ± 4,7 %).

Во всех случаях при бактериологическом контроле исходное количество бактерий в тканях раны после хирургической обработки раны составило  $10^4$ - $10^8$  на 1 г ткани. На 7 сутки после операции количество микробов в тканях ран больных, которых оперировали более одного раза, статистически различимо снизилось до  $10^6$  ( $p < 0,001$ ). Микробная обсемененность тканей гнойной раны на 7 сутки оказалась ниже «критического числа» у 83,3 % ± 6,2 % больных первой группы. 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).

Проведенный патоморфологический и бактериологический контроль позволил установить: 1) Проявлениями непосредственного воздействия повреждающего фактора являются: умеренно выраженный некроз, кровоизлияния, фрагментация волокон дермы. 2) При несвоевременной или неадекватной хирургической обработке ран наблюдаются: обширные поля некроза (по сути, проявление вторичной альтерации), выраженное гнойное воспаление с колониями микроорганизмов в экссудате и полях некроза, выраженная коллагенизация дермы вдали от воспалительной инфильтрации. 3) 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. 4) У больных первой группы рост патогенной флоры на средах был подавлен к 7 суткам лечения, у больных второй группы ингибирован рост патогенной флоры к 12 суткам лечения.

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.

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, рисунок 1.

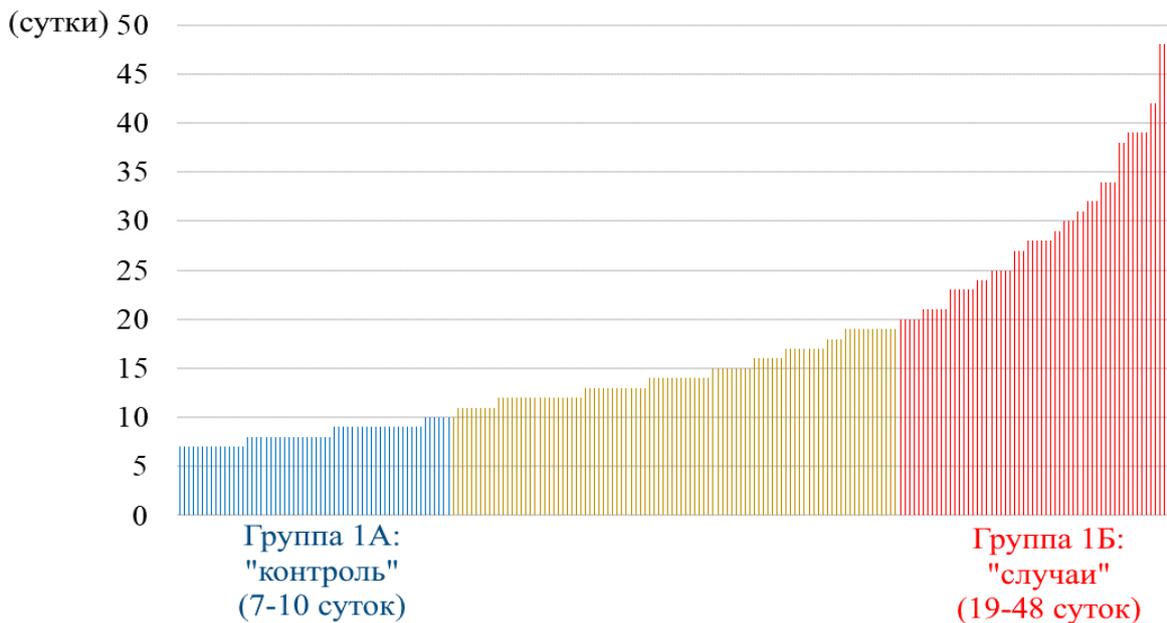


Рисунок 1 – Диаграмма распределения больных в исследуемых группах

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 статистически значимое ( $p < 0,001$ ) увеличение количества  $IFN\gamma$  в 1,4 раза в I A группе и 1,3 раза в I B группе указывало на его инициирующее влияние на компонент альтерации с ее преобладанием в I A группе. Статистически значимое ( $p < 0,001$ ) увеличение  $TNF\alpha$  в 2,28 и 2,67 раза и IL-6 в 9,76 и 4,11 раза в I A и I B группах свидетельствовало о выраженной активности сосудисто-клеточной реакции тканевых базофилов, нейтрофилов, эндотелиоцитов и моноцитов-макрофагов. Гиперреактивность IL-6 в I A группе обеспечивала быстрый и эффективный ответ клеток раневого дефекта при повреждении, и, наоборот, в I B 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  $TGF\beta 1$  со статистически значимым ( $p < 0,001$ ) увеличением его количества в обеих группах, но в большей степени в I A группе. В период выписки из стационара уровень  $TGF\beta 1$  статистически значимо увеличился в 1,36 раза в I A, и в 1,19 раза в I B группе, свидетельствуя о большем влиянии на заживление ран в группе I A. Уровень кортизола статистически значимо увеличивался в 1,3 и 1,6 раза в I A и I B 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  $IFN\gamma$ , выразившаяся в статистически значимом снижении его количества в I A ( $p = 0,012$ ), и увеличении в полтора раза по сравнению с контролем в I B 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 B 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 A группе статистически значимое 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 со статистически значимым 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, протеогликианы необходимые для процесса рубцевания соединительной ткани. IL-10 характеризовался разнонаправленными реакциями в исследуемых группах больных: в I A группе – ростом в 2,67 раза, а в I B

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 (рисунок 2).

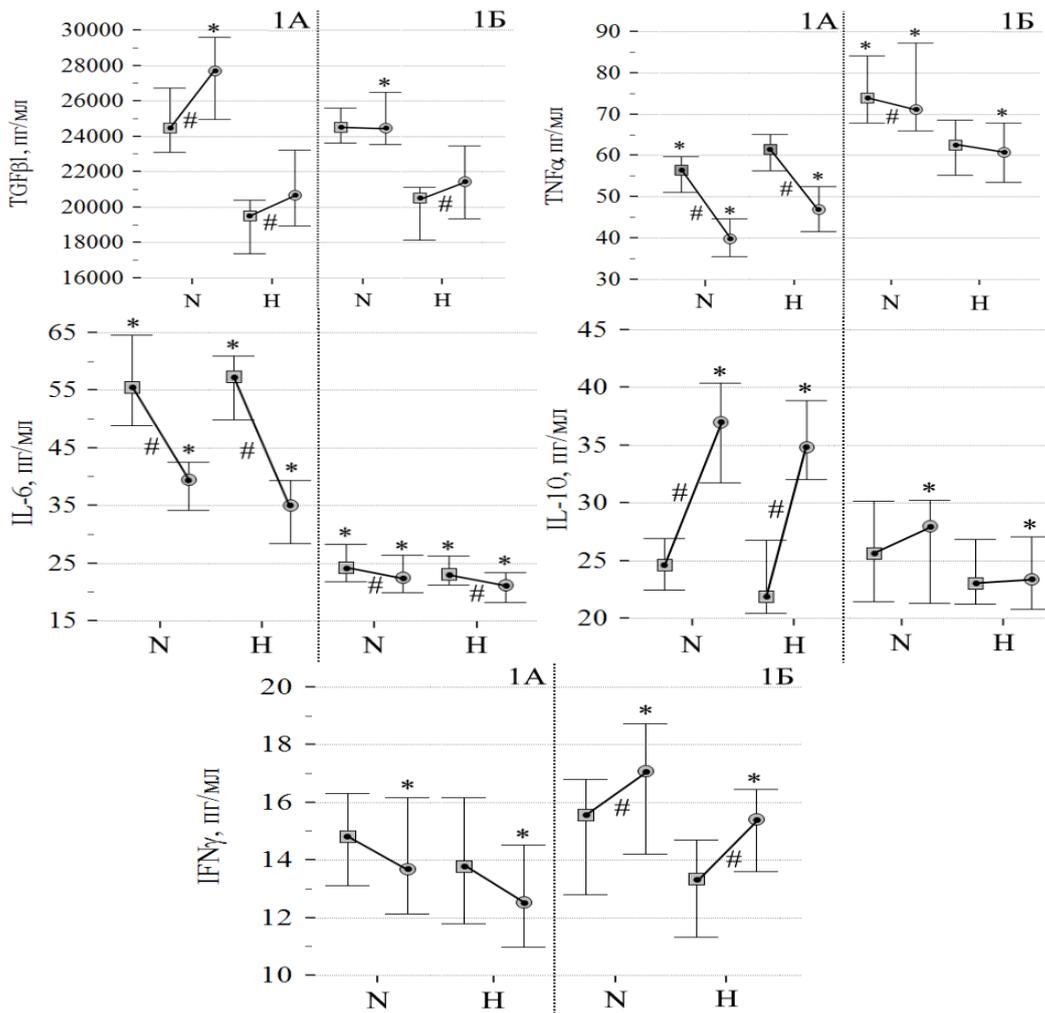


Рисунок 2 – Содержание в крови TGFβ1, TNFα, IL-6, IL-10 и IFNγ в группах пациентов с ожоговой травмой (I А и I Б) в зависимости от уровней содержания в крови кортизола

Был проведен анализ результатов определения ассоциации полиморфизма rs1800471 гена TGFb1 с характером течения раневого процесса, клинико-лабораторными показателями, которые характеризуют тяжесть его течения, развитие осложнений.

В Программе для определения частот генотипов rs1800471 гена TGFb1 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). Частоты генотипов rs1800471 в европейской популяции были сопоставимы с данными I А 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 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 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 $\alpha$  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 $\alpha$  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 статистически значимым снижением уровня цитокина TNF $\alpha$  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 $\alpha$ , протективном влиянии данных генотипов на благоприятное течение воспалительного процесса в ране в динамике лечения. У пациентов с AA генотипом I A группы статистически значимых различий между количеством TNF $\alpha$  в исследуемые периоды лечения не обнаружено ( $p=0,109$ ).

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

В I B группе динамика концентрации TNF $\alpha$  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 $\alpha$  являлось статистически значимым ( $p<0,001$ ). Для носителей аллелей G и A I B группы незначительное уменьшение количества TNF $\alpha$  в крови являлось статистически значимым ( $p=0,012$ ) 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 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 для европейской популяции выявило следующее. Аллель дикого типа C в европейской популяции определялась с частотой 0,676 (в наших исследованиях – 0,717), минорная аллель T – 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.

У больных I B группы в сравнении с I A (контрольной) группой 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 значимости.

Анализ результатов влияния генотипов показал, что полиморфизм rs3775291 не имел связи с наличием различий между группами I A и I B, 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 T 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 C уменьшала шансы развития осложнений раневого процесса в 1,8 раза (ОШ=0,55; 95% ДИ 0,32-0,95).

Так как минорная аллель T 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 C 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 A (контрольной) группе больных в проведенном нами исследовании и результатами Программы 1000 Genomes Project Phase 3 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 A (контрольной) группы с данными Программы 1000 Genomes Project Phase 3 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.

У пациентов I A (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 A 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 A 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.

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 I A и I Б, которые по клиническим характеристикам травмы были относительно однородными. Как было указано ранее в I A группу вошли 60 больных с коротким сроком госпитального лечения: от 7 до 10 суток. Группу I Б 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  $\beta$ -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 –  $P_{\text{опт.}} = 0,417$ .

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 TGFB1, rs1800629 гена TNF $\alpha$ , rs3775291 гена TLR-3 и rs4986790 гена TLR-4. Как было установлено ранее, все значения  $R_{дг} \geq 0,417$  в 85 % 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.

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»:  $|9,883| > |4,327| > |0,533|$ ,

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 переменной «Количество выполненных операций» 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 TGFB1, rs1800629 гена TNF $\alpha$ , 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  $F=109,68$  ( $p<0,001$ ).

В графическом виде интерфейс модели представлен на рисунке 3.

Калькулятор прогноза длительности стационарного лечения и количества операций			
Пол пациента			
Мужской:	1	→	2
Женский:	2		
Тяжесть состояния			
Средней тяжести:		1	3
Средне-тяжелое:		2	
Тяжелое:		3	
Длительность доставки в отделение		→	5
введите количество часов:			
rs1800471 гена TGFB1			
генотип:	GG	GC	CC → 1
введите:	1	2	3
rs1800629 гена TNF			
генотип:	GG	GA	AA → 1
введите:	1	2	3
rs3775291 гена TLR-3			
генотип:	CC	CT	TT → 2
введите:	1	2	3
rs4986790 гена TLR-4			
генотип:	AA	AG	GG → 1
введите:	1	2	3
Генетический прогноз: <b>длительность госпитализации обычная на 65%</b>			
Прогноз длительности стационарного лечения: <b>14 сут.</b>			
Прогноз количества операций: <b>0</b>			

Рисунок 3 – Интерфейс модели

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 была использована тактика запрограммированного многоэтапного хирургического лечения (ЗХМЛ). Такой подход полностью себя оправдывает в условиях современных локальных войн и вооруженных конфликтов.

При ЗХМЛ, 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: 1) повреждение крупных

магистральных сосудов; 2) наличие обширного глубокого ожога; 3) тяжелые сопутствующие повреждения органов и систем при сочетанной и комбинированной травме (переломы костей черепа, таза, мультиорганные повреждения внутренних органов; 4) нестабильная гемодинамика, требующая инфузионной поддержки; 5) электрическая нестабильность миокарда; планируемое длительное оперативное вмешательство (более 90 минут).

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.

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 объема циркулирующей крови.

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, центрального венозного давления, почасового диуреза и поддержание их в пределах нормальных значений при снижении интенсивности введения жидкости, а также нормализация показателей кислотно-основного состояния 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 пластики 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 (ультразвуковой кавитации и вакуумного 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 математического 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 ( $p < 0,001$ ), 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,  $p < 0,01$

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 –  $1,9 \pm 0,6$  операций,  $p < 0,05$ .

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,  $p < 0,01$ . 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 ИНВХ 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,  $p < 0,01$ . 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 %),  $p < 0,01$ .

## **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 носят 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 термической 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 $\gamma$  и одновременное повышение экспрессии TNF $\alpha$ , значимо влияя на длительность лечения.

4. 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 термомеханических повреждений в сравнении с носителями аллели G ( $p < 0,001$ ).
5. Распределение генотипов и аллелей rs1800629 гена TNF $\alpha$  ассоциировано с длительным лечением термомеханических повреждений 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 $\alpha$  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-С 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-С сопровождалось статистически значимо меньшим уровнем IL-6, IL-10 и IFN $\gamma$  в крови ( $p < 0,001$ ), в сравнении с генетическими вариантами, содержащими аллели дикого типа С и А, в течение всего периода лечения ран.

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 $\alpha$  |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/малозападной 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 и обеспечивать компенсацию метаболического дефицита, нормализацию периферического кровотока, предупреждение тромботических осложнений, коррекцию воспалительного ответа и иммунной недостаточности.
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.

### **ПЕРЕЧЕНЬ РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО МАТЕРИАЛАМ ДИССЕРТАЦИИ**

*Статьи в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК*

1. Бассов О.И. Основные принципы лечения послеоперационных ран в практике врача общей практики-семейной медицины: современный взгляд на проблему (на укр. языке) / О.И. Бассов, Д.В. Соболев // Достижения клинической и экспериментальной медицины. – 2013. – №1 (18). – С. 11-14.

2. Фисталь Э.Я. Специализированная хирургическая помощь при боевой травме: опыт работы ожогового отделения ИНВХ им .В.К.ГУСАКА В 2014-2018 гг /Э.Я. Фисталь, Д.В. Соболев, Н.Н. Фисталь, И.В. Коктышев, Н.А. Нестеров, В.В. Арефьев // Вестник неотложной и восстановительной хирургии. – Т. 4, №3. – 2019. – С. 115-119.
3. Фисталь Э.Я. Специализированная хирургическая помощь пострадавшим с ранами и ожогами / Э.Я. Фисталь, Н.Н. Фисталь, Д.В. Соболев, И.В. Коктышев, Н.А. Нестеров, А.Э. Нестеренко, Е.К. Кульбида // Университетская клиника. – №4 (33). – 2019. – С. 64-68.
4. Соболев Д.В. Послеоперационные осложнения при оказании специализированной хирургической помощи пострадавшим с ранами различной этиологии / Д.В. Соболев, Э.Я. Фисталь, Н.Н. Фисталь // Вестник неотложной и восстановительной хирургии. – Т. 5, №2. – 2020. – С. 152-159.
5. Соболев Д.В. Оптимальная маршрутизация при эвакуации пострадавших с ранами и ожогами / Д.В. Соболев, Н.А. Нестеров, Э.Я. Фисталь, Н.Н. Фисталь // Вестник неотложной и восстановительной хирургии. – Т. 5, №2. – 2020. – С. 146-149.
6. Фисталь Э.Я. Влияние полиморфизма гена фактора некроза опухоли на течение раневого процесса при боевой травме / Э.Я. Фисталь Э.Я., Н.Н. Фисталь, Д.В. Соболев, П.А. Чернобrivцев, М.С. Кишеня, С.Г. Белецкий, А.А. Щадько // Вестник неотложной и восстановительной хирургии. – Т. 5, №6. – 2020. – С. 132-137.
7. Фисталь Э.Я. Влияние полиморфизма гена трансформирующего фактора роста на течение раневого процесса при боевой травме / Э.Я. Фисталь Э.Я., Н.Н. Фисталь, Д.В. Соболев, П.А. Чернобrivцев, М.С. Кишеня, С.Г. Белецкий, А.А. Щадько // Вестник Российской военно-медицинской академии. – Т. 6, №5. – 2020. – С. 145-151.
8. Фисталь Э.Я. Связь полиморфизма rs3775291 гена TLR3 и rs4986790 гена TLR4 с длительностью и характером течения раневого процесса при ожоговой травме / Э.Я. Фисталь Э.Я., Н.Н. Фисталь, Д.В. Соболев, П.А. Чернобrivцев, М.С. Кишеня, С.Г. Белецкий, А.А. Щадько // Вестник Российской военно-медицинской академии. – Т. 6, №5. – 2020. – С. 152-156.
9. Соболев Д.В. Сравнительная характеристика содержания в крови маркеров цитокинового профиля при боевой травме / Д.В. Соболев, П.А. Чернобrivцев, М.С. Кишеня, С.Г. Белецкий, А.А. Щадько // Университетская клиника. – №3 (36). – 2020. – С. 124-128.
10. Соболев Д.В. Патоморфологический и бактериологический контроль течения раневого процесса при боевой травме // Университетская клиника. – №3 (36). – 2020. – С. 129-134.
11. Кишеня М.С. Влияние уровня кортизола на динамику раневого процесса при боевой и ожоговой травме / М.С. Кишеня, П.А. Чернобrivцев, Д.В. Соболев, С.Г. Белецкий // Архив клинической и экспериментальной медицины. – Т. 29, №4. – 2020. – С. 420-424.
12. Чернобrivцев П.А. Математическое прогнозирование длительности госпитализации при боевой и ожоговой травме на основании

генотипирования / П.А. Чернобривцев, М.С. Кишеня, Д.В. Соболев // Архив клинической и экспериментальной медицины. – Т. 29, №4. – 2020. – С. 456-467.

Материалы съездов и конференций:

13. Фисталь Э.Я. Анализ ошибок при оказании медицинской помощи пострадавшим от минно-взрывных ранений на этапах военно-медицинской эвакуации / Э. Я. Фисталь, И. И. Сперанский, В. В. Арефьев, Д.В. Соболев, О. В. Ульянова // Клиническая хирургия. – №11.2. – 2015. – С. 107.

Учебные пособия:

14. Военно-полевая медицина / Э.Я. Фисталь, Н.Н. Фисталь, О.Н. Долгошапка, О.И. Бассов, Д.В. Соболев. – Донецк, 2015. – 624 с.
15. Пособие для сотрудников МЧС / Под ред. Фисталя Э.Я., Черкесова В.В. – Донецк, 2016. – 350 с.
16. Кострубицкий А.А. Основы первой помощи для подготовки пожарных-спасателей. /А.А. Кострубицкий, Э.Я. Фисталь, А.О. Есаков, С.В. Чаку, Н.Н. Фисталь, Д.В. Соболев – Донецк, 2018. – 132 с.
17. Специализированная хирургическая помощь при боевой травме / под ред.: Э. Я. Фисталя, О. Н. Долгошапка. – Донецк, 2019. – 232 с.
18. Современные аспекты оказания медицинской помощи в чрезвычайных ситуациях / под ред. Фисталя Э.Я., Порханова В.А. – Краснодар, 2020. – 315 с.

## АННОТАЦИЯ

**Соболев Дмитрий Васильевич. Патогенетическое обоснование ранней специализированной хирургической помощи при боевой и ожоговой травме. – На правах рукописи.**

Диссертация на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 14.03.03 – патологическая физиология. – Государственная образовательная организация высшего профессионального образования «Донецкий национальный медицинский университет имени М. Горького» Министерства здравоохранения Донецкой Народной Республики, Донецк, 2020.

В диссертационной работе на основании патоморфологических, молекулярно-генетических, иммуноферментных, бактериологических и клинических методов исследования автором решена серьезная 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. Боевая травма характеризуется многофакторностью поражения. 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. Длительность

репаративной регенерации обусловлена влиянием комплекса причинно-следственных связей с участием нейроэндокринных, иммунных и тканевых факторов: гиперкортизолемией, гиперпродукцией цитокинов  $IFN\gamma$ ,  $TNF\alpha$ , IL-6, угнетением синтеза  $TGF\beta 1$  и IL-10. Процессы регенерации при боевом и ожоговом повреждениях имеют мультифакторную полигенную природу. Исследованные полиморфизмы генов  $TGF\beta 1$ ,  $TNF\alpha$ , TLR3, TLR-4 имеют значимое влияние на течение и характер заживления ран. Анализ ассоциации носительства аллелей и генотипов rs1800471 гена  $TGF\beta 1$  с уровнем  $TGF\beta 1$ , rs1800629 гена  $TNF\alpha$  с уровнем  $TNF\alpha$  крови показал, что выявленный вклад генов  $TGF\beta 1$  и  $TNF\alpha$ , определяется влиянием их полиморфизмов на синтез тканевых и иммунных регуляторов и длительность лечения. 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.

**Ключевые слова:** боевая травма, ожог, патогенез, хирургическая помощь, прогноз.

### ABSTRACT

**Sobolev Dmitry Vasil'evich. Pathogenetic rationale for the early specialized surgical care for combat and burn injuries. – The manuscript.**

Thesis for the Medical Sciences Doctor degree. The specialty: 14.03.03 – pathological physiology. – State educational institution of higher professional education "M. Gorky Donetsk National Medical University", the Ministry of Health care of Donetsk People's Republic, Donetsk, 2020.

In the thesis on the basis of pathomorphological, molecular-genetic, enzyme immunoassay, bacteriological and clinical research methods, the author solved a serious scientific problem: a pathogenetic mathematical model of prognosis for victims with combat injuries and burns was developed, tactics of early specialized surgical care were developed and the results of their treatment were improved, which is essential for theoretical and practical medicine. A combat injury is characterized by a multifactorial lesion. The provision of specialized surgical care in full is possible only in a specialized center after timely sorting of the wounded and injured, timely evacuation and on the basis of an individually differentiated approach to treatment. The duration of reparative regeneration is due to the influence of a complex of causal relationships with the participation of neuroendocrine, immune and tissue factors: hypercortisolemia, overproduction of cytokines  $IFN\gamma$ ,  $TNF\alpha$ , IL-6, inhibition of the synthesis of  $TGF\beta 1$  and IL-10. Regeneration processes in combat and burn injuries have a multifactorial polygenic nature. The studied polymorphisms of the genes  $TGF\beta 1$ ,  $TNF\alpha$ , TLR3, TLR-4 have a significant effect on the course and nature of wound healing. Analysis of the association of the carriage of alleles and genotypes rs1800471 of the  $TGF\beta 1$  gene with the level of  $TGF\beta 1$ , rs1800629 of the  $TNF\alpha$  gene with the blood  $TNF\alpha$  level showed that the revealed contribution of the  $TGF\beta 1$  and  $TNF\alpha$  genes is determined by the influence of their polymorphisms on the synthesis

of tissue and immune regulators and the duration of treatment. The most significant predictors of the duration of inpatient treatment, the number of operations performed and complications in the immediate and long-term postoperative period were identified: genetic prognosis, severity of the condition upon admission, gender, speed of delivery to a specialized center.

**Key words:** combat injury, burns, pathogenesis, surgical care, prognosis.

## **СПИСОК УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ И СОКРАЩЕНИЙ**

**ГП** – генетический прогноз  
длительности госпитализации  
**ДД** – длительность доставки в  
стационар  
**ДИ** – доверительный интервал  
**ЗХМЛ** – запрограммированное  
многоэтапное хирургическое лечение  
**ИФА** – иммуноферментный анализ  
**ОШ** – отношение шансов  
**П** – пол пациента

**ПЦР** – полимеразная цепная  
реакция  
**ТС** – тяжесть состояния при  
поступлении  
**IFN** – интерферон  
**IL** – интерлейкин  
**TGF** – трансформирующий фактор  
роста  
**TLR** – толл-подобный рецептор  
**TNF** – фактор некроза опухолей