

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РЕСПУБЛИКИ УЗБЕКИСТАН**

**БУХАРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИНСТИТУТ
ИМЕНИ АБУ АЛИ ИБН СИНО**

«УТВЕРЖДАЮ»

**Председатель Научно-технического
совета Министерства здравоохранения**

_____ **Ш.К.Атаджанов**

« _____ » _____ **2025 г.**

**УМАРОВ БАХТИЕРЖОН ЯТГАРОВИЧ
ХАМДАМОВ БАХТИЁР ЗАРИФОВИЧ**

**КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ
ГЕНЕРАЛИЗАЦИИ ИНФЕКЦИИ У БОЛЬНЫХ С ДЛИТЕЛЬНО
НЕЗАЖИВАЮЩИМИ РАНАМИ**

(монография)

Бухара – 2026

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РЕСПУБЛИКИ УЗБЕКИСТАН**

**БУХАРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИНСТИТУТ
ИМЕНИ АБУ АЛИ ИБН СИНО**

**УМАРОВ БАХТИЕРЖОН ЯТГАРОВИЧ
ХАМДАМОВ БАХТИЁР ЗАРИФОВИЧ**

**КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ
ГЕНЕРАЛИЗАЦИИ ИНФЕКЦИИ У БОЛЬНЫХ С ДЛИТЕЛЬНО
НЕЗАЖИВАЮЩИМИ РАНАМИ**

(монография)

Бухара – 2026

Авторы:

Умаров Бахтиержон Ятгарович – Директор Национального детского медицинского центра, DSc

Хамдамов Бахтиёр Зарифович – заведующий кафедрой факультетской и госпитальной хирургии, урологии Бухарского государственного медицинского института, DSc, профессор

Рецензенты:

Шербек У.А. – заведующий кафедрой Общей хирургии Самаркандского государственного медицинского университета, д.м.н., доцент

О.М.Курбонов – заведующий кафедрой анестезиологии и реанимации, детской анестезиологии и реанимации Бухарского государственного медицинского института, DSc, доцент

Я.Б. Умаров, Б.З. Хамдамов. Клинико-иммунологические аспекты прогнозирования генерализации инфекции у больных с длительно незаживающими ранами / Я.Б. Умаров, Б.З. Хамдамов - М.: Издательство «_____», 2026. - _ с.: ил.

ISBN

В монографии представлены современные подходы к клинико-иммунологическому прогнозированию генерализации инфекции у пациентов с длительно незаживающими ранами. Подробно рассмотрены патогенетические механизмы развития инфекционных осложнений, а также глубокие изменения клеточного и гуморального иммунитета, приводящие к формированию хронического сепсиса и функциональным нарушениям жизненно важных органов. Особое внимание уделено выявлению специфических иммунологических маркеров, таких как динамика популяций лимфоцитов, уровней цитокинов и ростовых факторов, что позволяет на ранних этапах объективно оценивать риск генерализации процесса и обосновывать выбор индивидуальной лечебной тактики.

Монография предназначена для хирургов, иммунологов, клинических патофизиологов, а также для ординаторов, аспирантов и студентов медицинских вузов. Издание может служить научно-практическим руководством для специалистов, занимающихся лечением осложнённых ран, и внедрением прогностических алгоритмов в клиническую практику для снижения частоты осложнений и летальности у данной категории больных.

МОНОГРАФИЯ АННОТАЦИЯСИ

Ушбу монография узоқ муддат битмайдиган яралари бўлган беморларда инфекция генерализациясини клинко-иммунологик жиҳатдан прогнозлаш масалаларига бағишланган. Муаммонинг долзарблиги ДНБЯнинг юқори тиббий, ижтимоий ва иқтисодий аҳамияти билан белгиланади, чунки бундай яралар оғриқ синдроми, инфекция кўшилиши, зарарланган соҳанинг функция йўқотиши, ҳаёт сифати пасайиши ҳамда инфекциянинг умумлашиши ва хирургик сепсис ривожланиши хавфини оширади. Айниқса, касалликнинг кеч аниқланиши ва прогнозлаш мезонларининг етарли даражада ишлаб чиқилмагани ушбу муаммонинг долзарблигини янада кучайтиради.

Монографияда узоқ муддат битмайдиган яралари беморларда иммун тизим ҳолатининг чуқур ўзгаришлари ва уларнинг инфекция генерализацияси билан ўзаро боғлиқлиги илмий асосда ёритилган. Тадқиқот натижалари инфекция генерализацияси ривожланиши сурункали сепсис шаклланишига ва ҳаётини муҳим аъзолар фаолиятининг функционал бузилишларига олиб келишини кўрсатди. Муаллифлар томонидан ҳужайравий ва гуморал иммунитет кўрсаткичларининг ўзгариши инфекциянинг умумлашишини башоратлашда муҳим диагностик ва прогностик аҳамиятга эга экани исботланган.

Асарда прогнозлаш нуқтаи назаридан В-лимфоцитлар (CD20+, CD23+) сонининг ортиши, CD3+, CD4+ ва CD8+ ҳужайраларнинг абсолют кўрсаткичлари ошиши билан бирга уларнинг нисбий кўрсаткичлари пасайиши инфекция генерализациясининг салмоқли иммунологик маркерлари сифатида асослаб берилган. Шунингдек, TGF- β ва PDGF даражаларининг пасайиши, MIP-1 α ва MIP-2 β кўрсаткичларининг турлича ўзгариши ҳамда гуморал иммунитет омилларининг (IgM, IgA, IgG, IL-1 β , TNF- α) ортиши инфекциянинг умумлашиш хавфини олдиндан башорат қилиш имконини бериши кўрсатилган.

Монографияда ишлаб чиқилган клинко-иммунологик прогнозлаш алгоритмлари узоқ муддат битмайдиган яралари беморларда инфекция генерализациясини эрта босқичда аниқлаш, хавф гуруҳларини белгилаш ва индивидуал даволаш тактикасини танлашга хизмат қилади. Башоратлашга асосланган бундай ёндашув инфекция тарқалишининг олдини олиш, асоратлар ва ўлим кўрсаткичларини камайтириш, шунингдек, даволаш самарадорлигини оширишга қаратилган илмий-амалий аҳамиятга эга замонавий моделни тақдим этади.

АННОТАЦИЯ МОНОГРАФИИ

Данная монография посвящена клинико-иммунологическому прогнозированию генерализации инфекции у пациентов с длительно незаживающими ранами. Актуальность проблемы определяется высокой медико-социальной и экономической значимостью длительно незаживающих ран, поскольку такие поражения сопровождаются выраженным болевым синдромом, присоединением инфекции, утратой функции поражённой области, снижением качества жизни, а также повышенным риском генерализации инфекционного процесса и развития хирургического сепсиса. Особую значимость проблеме придаёт поздняя диагностика заболевания и недостаточная разработанность прогностических критериев.

В монографии на научной основе освещены глубокие изменения состояния иммунной системы у пациентов с длительно незаживающими ранами и их взаимосвязь с генерализацией инфекционного процесса. Результаты исследования показали, что развитие генерализации инфекции приводит к формированию хронического сепсиса и функциональным нарушениям жизненно важных органов. Авторами доказано, что изменения показателей клеточного и гуморального иммунитета имеют важное диагностическое и прогностическое значение в прогнозировании генерализации инфекции.

С позиций прогнозирования в работе обосновано, что увеличение количества В-лимфоцитов (CD20+, CD23+), рост абсолютных показателей CD3+, CD4+ и CD8+ клеток на фоне снижения их относительных значений являются значимыми иммунологическими маркерами генерализации инфекции. Кроме того, показано, что снижение уровней TGF- β и PDGF, разнонаправленные изменения показателей MIP-1 α и MIP-2 β , а также повышение факторов гуморального иммунитета (IgM, IgA, IgG, IL-1 β , TNF- α) позволяют заблаговременно прогнозировать риск генерализации инфекционного процесса.

Разработанные в монографии клинико-иммунологические алгоритмы прогнозирования позволяют на ранних этапах выявлять генерализацию инфекции у пациентов с длительно незаживающими ранами, определять группы риска и выбирать индивидуальную лечебную тактику. Прогностически ориентированный подход представляет собой современную научно-практическую модель, направленную на профилактику распространения инфекции, снижение частоты осложнений и летальности, а также повышение эффективности лечения.

ABSTRACT OF THE MONOGRAPHY

This monograph is devoted to the clinical and immunological prediction of infection generalization in patients with chronic non-healing wounds. The relevance of the problem is determined by the high medical, social, and economic significance of chronic wounds, as they are associated with severe pain syndrome, secondary infection, loss of function of the affected area, deterioration of quality of life, and an increased risk of infection generalization and development of surgical sepsis. Late diagnosis of the disease and insufficient development of prognostic criteria further emphasize the urgency of this issue.

The monograph scientifically highlights profound alterations in the immune system status of patients with chronic non-healing wounds and their relationship with infection generalization. The study results demonstrate that the progression of infection generalization leads to the formation of chronic sepsis and functional impairment of vital organs. The authors have proven that changes in cellular and humoral immunity parameters have significant diagnostic and prognostic value in predicting infection generalization.

From a prognostic perspective, the study substantiates that an increased number of B lymphocytes (CD20+, CD23+), elevated absolute counts of CD3+, CD4+, and CD8+ cells combined with a decrease in their relative values serve as significant immunological markers of infection generalization. In addition, decreased levels of TGF- β and PDGF, multidirectional changes in MIP-1 α and MIP-2 β indicators, as well as increased humoral immunity factors (IgM, IgA, IgG, IL-1 β , TNF- α), enable early prediction of the risk of infection generalization.

The clinical and immunological prognostic algorithms developed in the monograph facilitate early detection of infection generalization in patients with chronic non-healing wounds, identification of risk groups, and selection of individualized treatment strategies. This prognostically oriented approach represents a modern scientific and practical model aimed at preventing infection spread, reducing complication and mortality rates, and improving treatment effectiveness.

СОДЕРЖАНИЕ:

ВВЕДЕНИЕ.....	6
ГЛАВА I. СОВРЕМЕННЫЕ ВЗГЛЯДЫ К ДИАГНОСТИКЕ ДЛИТЕЛЬНО НЕЗАЖИВАЮЩИХ РАН, КЛИНИКО- ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ И ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ГЕНЕРАЛИЗАЦИИ ИНФЕКЦИИ (обзор литературы)	22
§ 1.1. Экономическое бремя длительно незаживающих ран	22
§ 1.2. Классификация и патогенез регенерации ран	24
§ 1.3. Иммунологическая реакция при регенерации длительно незаживающих ран.....	28
§ 1.3.1. Роль и место врожденного иммунитета в регенерации длительно незаживающих ран.....	31
§ 1.3.1.1. Нейтрофилы.....	31
§ 1.3.1.2. Макрофаги.....	40
§ 1.3.1.3. Лимфоидные клетки.....	43
§ 1.3.2. Роль и место приобретенного иммунитета в регенерации длительно не заживающих ран и в профилактике генерализации хирургической инфекции.....	45
§ 1.4. Методы профилактики генерализации инфекции при ранах путем модуляции иммунной системы организма.....	47
§ 1.4.1. Поляризация макрофагов.....	47
§ 1.4.2. Небольшие некодирующие молекулы РНК (микроРНК).....	49
§ 1.4.3. Цитокины, факторы роста и ингибиторы.....	50
§ 1.4.4. Стволовые клетки.....	53
§ 1.5. Иммунологические основы эффективности применения методов контролируемого отрицательного давления при профилактике генерализации инфекции ран мягких тканей.....	55
§ 1.6. Патогенез иммунологических изменений в генерализации инфекции.....	57
§ 1.7. Резюме по главе.....	60

ГЛАВА II. ХАРАКТЕРИСТИКА ОБСЛЕДОВАННЫХ ПАЦИЕНТОВ И ИСПОЛЬЗОВАННЫХ МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	62
§ 2.1. Общая характеристика больных.....	62
§ 2.1.1. Общая характеристика раневого процесса.....	64
§ 2.1.2. Характеристика методов лечения.....	69
§ 2.2. Дизайн исследования.....	71
§ 2.3. Общая характеристика методов исследования.....	73
§ 2.3.1. Характеристика методов исследования раны.....	74
§ 2.3.2. Характеристика иммунологических методов исследования... ..	77
§ 2.3.3. Методы оценки эффективности прогнозирования и профилактики генерализации инфекции у больных с длительно незаживающими ранами.....	78
§ 2.3.4. Характеристика статистических методов исследования.....	79
ГЛАВА III. КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БОЛЬНЫХ С ДЛИТЕЛЬНО НЕЗАЖИВАЮЩИМИ РАНАМИ.....	80
§ 3.1. Особенности клинико-лабораторных проявлений длительно незаживающих ран.....	80
§ 3.2. Сравнительная характеристика изменения основных показателей клеточного иммунитета у больных с длительно незаживающими ранами в динамике применения традиционных методов лечения.....	90
§ 3.3. Характер и анализ изменения основных показателей гуморального иммунитета у больных с длительно незаживающими ранами в динамике применения традиционных методов лечения.....	99
§ 3.4. Резюме по главе.....	106
ГЛАВА IV. ХАРАКТЕР И АНАЛИЗ ИЗМЕНЕНИЯ МОРФОЛОГИЧЕСКОЙ И МЕСТНОЙ ИММУНОЛОГИЧЕСКОЙ КАРТИНЫ ДЛИТЕЛЬНО НЕЗАЖИВАЮЩИХ РАНА.....	110

§ 4.1. Характер и анализ изменения цитологической картины длительно незаживающих ран.....	110	169
§ 4.2. Характер и анализ изменения цито-морфометрической картины длительно незаживающих ран.....	116	
§ 4.3. Характер и анализ изменения местной иммунологической реакции при длительно незаживающих ранах.....	123	
ГЛАВА V. РАЗРАБОТКА И СРАВНИТЕЛЬНАЯ		
ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ МЕТОДОВ		
ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ГЕНЕРАЛИЗАЦИИ		
ИНФЕКЦИИ ПРИ ДЛИТЕЛЬНО		
НЕЗАЖИВАЮЩИХ РАНАХ.....		
	130	
§ 5.1. Анализ взаимосвязи изменений показателей клеточного и гуморального иммунитета в крови в патогенезе длительно незаживающих ран.....	130	
§ 5.2. Анализ взаимосвязи изменений иммунологических показателей раны в патогенезе генерализации инфекции у больных с длительно незаживающими ранами.....	139	
§ 5.3. Обоснование значимости клинико-иммунологической и цитоморфологической патогенетической взаимосвязи в разработке методов прогнозирования генерализации инфекции у больных с длительно незаживающими ранами.....	143	
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....		176
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ.....		201
СПИСОК УСЛОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ		227

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность и востребованность темы. Актуальность проблемы лечения длительно незаживающих ран (ДНЗР) обусловлена не только медицинской значимостью, но и социальной и экономической важностью. ДНЗР – это тяжелое бремя, как для пациентов, так и для членов их семьи. В связи с «...наличием болевого синдрома, инфицирования, потери функции зоны поражения, а также постоянных финансовых затрат не только снижается качество жизни и повышает количество инвалидов, но создаются условия для генерализации инфекции, развития хирургического сепсиса и смерти больного...»¹.

Во всем мире особое внимание уделяется исследованиям, направленным на оптимизацию ранней диагностики, прогнозирования и лечения развития генерализованной инфекции у пациентов с хирургическими заболеваниями, в том числе с длительно незаживающими ранами, а также на совершенствование лечебных мероприятий. В связи с этим определение изменений активности иммунной системы у больных с длительно незаживающими ранами, установление ее генеза и факторов риска развития генерализации инфекции, повышение эффективности и качества оказываемой населению медицинской помощи, создание эффективных моделей хирургического лечения остаются приоритетными направлениями научных исследований. Наряду с этим, одной из актуальных задач, стоящих перед специалистами данной области, является ранняя диагностика патологических состояний, возникающих у больных с длительно незаживающими ранами, разработка алгоритма их ведения, определение необходимых лечебно-профилактических мероприятий

В нашей стране среди осуществляемых широкомасштабных мер по усовершенствованию системы здравоохранения, особое внимание обращается на раннюю диагностику заболеваний, снижение частоты их осложнений и профилактику. В связи с этим в 56-пункте 4-раздела в 7 приоритетных направлениях, указанных в Стратегии развития Нового

Узбекистана на 2022-2026 годы определены задачи, в «...реализация комплексных мероприятий, направленных на охрану здоровья населения, повышение потенциала медицинских работников и реализацию программы развития системы здравоохранения на 2022-2023 годы...»² В этом плане обозначены задачи по коренному усовершенствованию комплекса мероприятий системы здравоохранения. Реализация данных задач, в том числе, улучшение результатов лечения больных с длительно незаживающими ранами является одним из актуальных направлений хирургии и медицины в целом, ввиду высокой медико-социальной значимости данной патологии.

Данная монография в определенной степени служит реализацией Указа президента Республики Узбекистан № 6110 «О мерах по внедрению принципиально новых механизмов в деятельность учреждений первичной медико-санитарной помощи и дальнейшему повышению эффективности проводимых в системе здравоохранения реформ» от 12 ноября 2020 года, УП № 60 «О стратегии развития Нового Узбекистана на 2022-2026 годы» от 28 января 2022 года, № 4887 «О дополнительных мерах по обеспечению здорового питания населения» от 12 ноября 2020 года, ПП № 4891 «О дополнительных мерах по обеспечению общественного здоровья путем дальнейшего повышения эффективности работ по медицинской профилактике» от 12 ноября 2020 года а также других нормативно-правовых документов, принятых в данной сфере.

Степень изученности проблемы. На сегодняшний день изучены иммунологические аспекты определенных нозологических форм хронических ран с затяжным периодом заживления, в частности при синдроме диабетической стопы. Наравне с этим имеются сведения относительно ДНЗР у больных с сопутствующими заболеваниями в виде сосудистых заболеваний (как с поражением артерий, так и с поражением вен), ожирения и ВИЧ-

инфицирования (B.C. Wulff, et al., 2022; M. Tomic-Canic, et al., 2020). Были сделаны заключения о прямом влиянии вышеуказанных сопутствующих заболеваний на все этапы регенерации ран. Так, по данным M. Bagheri и его соавт. (2020) ДНЗР у больных сахарным диабетом связаны с высокопровоспалительным профилем, вызванным чрезмерной экспрессией воспалительных цитокинов, таких как TNF- α , и снижением продукции медиаторов, способствующих заживлению, включая IL-10 и TGF- β . Как утверждают P.M. Seraphim и соавт. (2020) это приводит к поляризации макрофагов в сторону фенотипа M1, активации и дегрануляции CD8⁺ Т-клеток, что приводит к некрозу тканей.

Для ДНЗР характерным является пролонгирование последней стадии воспалительного процесса. Соответственно, цитологические исследования отпечатков ран и оценка иммунологической клеточной популяции у больных с ДНЗР позволило выявить длительное присутствие миелоидных клеток, таких как макрофаги, нейтрофилы и моноциты. Между тем, N. Joshi и соавт. (2020) получили результаты, где отметили снижение процентного содержания эпидермальных клеток Лангерганса, дермальных дендритных клеток и эозинофилов на протяжении всего процесса регенерации ДНЗР. Тучные клетки также участвуют в формировании ДНЗР. Тучные клетки кожи дегранулируются в ранах, и снижение их активности ускоряет заживление ран (J. Dong, et al., 2020).

Т-клетки принимают участие в поддержании провоспалительного профиля ДНЗР. Лиганд CXCR3, который находится в клетках Th1, высоко экспрессируется при хроническом воспалении. Кроме того, у пациентов с ДНЗР повышен уровень воспалительных подтипов Т-клеток, таких как Th1, Th17 и Th22 (H. Strang, et al., 2022). Иммунные клетки активно взаимодействуют с некроветворными клетками, такими как кератиноциты, посредством секреции различных сигнальных молекул (J. Dissemond, et al., 2023). Кератиноциты вносят значительный вклад в образование хронических ран, однако точный механизм не до конца понятен.

Еще известными факторами, способствующими замедлению заживления раны, являются различные цитокины и факторы роста такие как TGF- β , VEGF, EGF, интерлейкины и интерфероны (J. Dissemond, et al., 2020; S.R. Goldberg and R.F. Diegelmann, 2024). Однако их дисрегуляция приводит к нарушению эпителизации и тесно связана с ДНЗР (К. Kaur, et al., 2020; T.T. Nguyen, et al., 2018; J. Lang, et al., 2021).

Таким образом, процесс полноценной регенерации ДНЗР не происходит, когда иммунная система не может продолжить нормальный процесс восстановления, что приводит к длительному присутствию нейтрофилов и провоспалительных макрофагов в поврежденной коже, что способствует воспалению, фиброзу тканей и плохой васкуляризации. Исследования в данном направлении продолжаются, однако, на сегодняшний день требуется выяснения причин развития генерализации воспалительного процесса при применении общеизвестных методов лечения ДНЗР и определить роль изменения иммунного статуса. Это позволило бы разработать эффективные методы иммунодиагностики, а также прогнозирования и профилактики генерализации инфекции, что в конечном счете, по нашему мнению, можно добиться улучшения результатов лечения больных с ДНЗР.

ГЛАВА I. СОВРЕМЕННЫЕ ВЗГЛЯДЫ К ДИАГНОСТИКЕ ДЛИТЕЛЬНО НЕЗАЖИВАЮЩИХ РАН, КЛИНИКО- ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ И ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ГЕНЕРАЛИЗАЦИИ ИНФЕКЦИИ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

§ 1.1. Экономическое бремя длительно незаживающих ран

Длительно незаживающие раны (ДНЗР) – это проблема со здоровьем, которая имеет разрушительные последствия для пациентов и приводит к серьезным затратам для систем здравоохранения и общества [18, с. 70-74; 44, с. 305; 61, с. 7-12.].

Нерешенные проблемы в лечении длительно незаживающих ран мягких тканей все еще составляет удельный вес негативного влияния на экономику в любой стране мира независимо от уровня его развития [31, с. 45-55.]. В литературе имеются статистические сведения, согласно которым более миллиарда человек во всем мире страдают от ДНЗР мягких тканей [122, с. 23.].

Это колоссальное число больных, требующих длительного и пристального внимания медицинского персонала, с периодическими сменами амбулаторного и стационарного лечения естественным образом является причиной огромных финансовых затрат. Так, в исследованиях группы специалистов из США под руководством S.R. Nussbaum [73, с. 27-32.], было выявлено что почти 15% обладателей Medicare (8,2 миллиона) имели по крайней мере один тип ДНЗР.

Хирургическая инфекция была самой распространенной категорией (4,0%), за ней следовали диабетические инфекции (3,4%). Общие оценки расходов Medicare для всех типов ран варьировались от \$28,1 до \$96,8 млрд. Включая затраты на лечение инфекции, самые дорогие расходы были для хирургических ран (\$11,7, \$13,1 и \$38,3 млрд), за которыми следовали диабетические язвы стопы (\$6,2, \$6,9 и \$18,7 млрд).

Следует заметить, что самые высокие затраты при лечении ДНЗР были амбулаторные условия (\$9,9-\$35,8 млрд) и только за ними следовали затраты

на пациентов, которые получали лечение в стационарных условиях (\$5,0-\$24,3 млрд).

С целью выявления реальных масштабов влияния на здоровье ДНЗР нами был проведен анализ систематической литературы опубликованных за последние 10-15 лет в наиболее популярных базах данных. Результаты показали, что качество жизни, связанное со здоровьем, было самым низким среди больных с наличием физических патологий, включая наличие ДНЗР. Такая же численность больных была отмечена нами и после ампутации конечностей в результате прогрессирования ДНЗР [1, с. 102-107.].

По данным М. Olsson и соавт бремя расходов в основном было связано с ампутациями у пациентов с сопутствующим сахарным диабетом 2 типа, где стоимость госпитализации варьировалась от 12 851 до 16 267 долларов США для этой группы пациентов.

Пациенты с ДНЗР имеют низкое качество жизни, связанное со здоровьем в целом. Соответственно расходы, связанные с лечением ДНЗР, остаются значительными [3, с. 251-260.]. Это диктует о необходимости разработки и внедрения стратегий лечения ДНЗР, направленных на повышение качества жизни, связанного со здоровьем, и эффективное снижение затрат для этой группы пациентов.

М. Rodrigues и соавт подсчитали, что в развитых странах расходы, связанные с лечением ДНЗР, составляют до 3% от общих расходов на здравоохранение. Например, в США общие расходы, связанные с ДНЗР, оцениваются примерно в 50 миллиардов долларов США в год. Ситуация, скорее всего, усугубится низкими показателями заживления.

С.Е. Fife и соавт в своей научной статье сообщили, что общедоступные показатели заживления ран мягких тканей значительно завышены. В частности, данные рандомизированных контролируемых исследований дают средний показатель выздоровления 40%, в то время как зарегистрированный показатель обычно превышает 90%.

§ 1.2. Классификация и патогенез регенерации ран

Классификация ран мягких тканей на острые и хронические основана на патогенезе их развития, возможных осложнений и процессов связанных с их регенерацией [9, с. 673-679; 64, с. 201-203].

Острые раны мягких тканей претерпевают ряд молекулярных процессов, которые в конечном итоге приводят к восстановлению структурной целостности [25, с. 200-203]. В то же время, ДНЗР не имеют свойства к началу быстрой регенерации и характеризуются патологическими процессами, такими как непрерывное воспаление, постоянные инфекции и некроз [216, с. 45-55.].

Как правило, при заживлении острой раны выделяют четыре перекрывающиеся фазы, а именно: гемостаз, воспаление, пролиферативная фаза и ремоделирование [16, с. 14-21; 137, с. 209-231].

При появлении острой раны самой первой реакцией является гемостаз, который прекращает кровотечение и предотвращает кровопотерю [32, с. 313-319]. Во время воспалительной фазы повреждение кожи активирует сложный иммунный ответ, который уничтожает патогены, попадающие в рану, и подготавливает ткани к восстановлению анатомической целостности. Последняя происходит в пролиферативной фазе и включает в себя образование грануляционной ткани, неоваскуляризацию и реэпителизацию [26, с. 147-153]. Наконец, заживление острой раны завершается фазой ремоделирования, во время которой грануляционная ткань заменяется рубцом, а эпидермис освобождается от иммунных клеток, которые либо погибают в результате апоптоза, либо перемещаются в дерму [114, с. 350-358.].

Иммунные клетки и факторы являются ключевыми регуляторами и участниками процесса заживления ран [115, с. 100-110]. Нейтрофилы и базофилы первыми реагируют на повреждение мягких тканей. Кроме того, в исследованиях L. Cañedo-Dorantes и соавт. [88, с. 373-379], было показано, что в патогенезе повреждения мягких тканей вовлечены другие клетки

врожденного и приобретенного иммунитета, такие как макрофаги, тучные клетки, клетки Лангерганса, Т-клетки и В-клетки.

Группа исследователей под руководством М.М. Azevedo проведя ряд экспериментальных опытов доказала, что именно нарушение регуляции иммунного ответа в процессе заживления ран приводит к возникновению хронических, то есть ДНЗР.

При хронических ранах воспалительная фаза становится весьма продолжительной, что в конечном счете приводит к плохому и замедленному заживлению [241,с.120-130.]. Стойкое воспаление в таких ранах характеризуется несколькими особенностями. В частности, существует избыточное количество провоспалительных макрофагов, в то время как количество макрофагов с противовоспалительными фенотипами невелико [155, с. e192-202.].

Кроме того, макрофаги, обнаруженные в длительно незаживающих ранах, имеют ограниченную способность выводить мертвые нейтрофилы [40, с. 122-131.]. Это приводит к формированию высоковоспалительной среды с переизбытком медиаторов воспаления, таких как TNF- α и IL-1 β . В свою очередь, раневые макрофаги в ДНЗР высвобождают несколько ММП, а именно ММП-2 и ММП-9, которые разрушают внеклеточный матрикс и препятствуют началу пролиферативной стадии заживления [208, с. 419-423.].

Лечение ДНЗР остается проблемой, поскольку постоянное воспаление в этих ранах очень трудно контролировать. Одной из причин этого является образование бактериальных биопленок на поверхности и внутри ДНЗР. Такие биопленки, прикрывая поверхность раны, зачастую входят во взаимодействие с иммунной системой больного. В частности, происходит активация нейтрофилов и провоспалительных макрофагов. В результате стимулирования клеточного иммунитета происходит накопление воспалительных цитокинов, таких как TNF- α и IL-6, а также ММП непосредственно в самой ране [4, с. 57-73.].

С другой стороны, нерегулируемая иммунная среда у больных с ДНЗР является благоприятным условием для поддержания размножения бактерий, что в свою очередь приводит к возникновению порочного круга в виде прогрессирующего роста биопленки со стимуляцией непрерывного воспалительного процесса [48, с. 208-222.].

В клинической практике известны феномены сложности удаления таких биологических пленок, обозначаемых как «фибриновая пленка», «демаркационная поверхность», «сухая рана» и др [2, с. 455-468.].

Известно, что ликвидация образования таких биологических пленок консервативным (медикаментозным) путем считается одной из сложных задач в лечении ДНЗР. По данным А. Омар и соавт сложности в уничтожении таких биопленок ран медикаментозным путем связаны с рядом факторов, образующих основу патогенетического механизма и патоморфологической картины самой раны. Среди них исследователи выделяют такие факторы как: низкая проницаемость антимикробных агентов через биопленку ДНЗР; наличие нескольких видов микроорганизмов, находящихся в симбиозных условиях обитания; чрезмерно быстрое развитие устойчивости микроорганизмов биопленки ДНЗР к применяемым антибактериальным препаратам и ряд других проблем связанных состоянием микроциркуляции, иннервации тканей организма. быстрого развития устойчивости к антибиотикам у биопленочных бактерий и многих других проблем [11, с. 152-155.].

На основании проведенных исследований были предложены несколько основных стратегий по улучшению регенерации ДНЗР.

Обобщая эти сведения литературы, можно разделить их на группы в соответствии со стратегией подхода к решению данной проблемы.

M.N. Kathawala и соавт. предложили классифицировать стратегии по улучшению регенерации ДНЗР на биологические агенты, биоматериалы и клеточные технологии [132, с. 429-444.].

Биоактивные молекулы, стимулирующие неоваскуляризацию и реэпителизацию, показали положительные результаты в доклинических исследованиях. Кроме того, их можно комбинировать с биоматериалами, что может улучшить их период полураспада и способствовать контролируемому высвобождению [8, с. 139-144.]. С другой стороны, биоматериалы могут быть использованы сами по себе для обеспечения физической защиты поврежденной мягкой тканей [21, с. 48–51].

Еще одной терапевтической стратегией заживления ран являются клеточные технологии с использованием мезенхимальных стволовых клеток, полученных из костного мозга, жировых клеток, эпидермальных клеток и других. Многочисленные исследования показали, что клеточная терапия улучшает заживление ран за счет усиления ангиогенеза и повторной эпителизации.

Важно отметить, что вышеупомянутые стратегии могут быть использованы в иммуномодулирующих целях при регенерации ДНЗР [49, с. 75–82].

Как обсуждалось выше, иммунная система является ключевым фактором в лечении ран, а также в формировании ДНЗР. Это дает обоснование для использования иммуномодуляции для улучшения заживления острых и хронических ран. На сегодняшний день предложены множественные иммуномодулирующие стратегии для восстановления ран мягкой тканей. Они включают в себя клеточные стратегии, молекулярную терапию и подходы, основанные на биоматериалах [67, с. 112–118; 69, с. 45–50; 98, с. 89–96; 131, с. 102–110; 190, с. 59–65; 202, с. 70–77; 215, с. 34–39].

Между тем не менее важным аспектом в патогенезе ДНЗР является роль врожденной и приобретенной иммунной системы, о чем будет изложено далее.

§ 1.3. Иммунологическая реакция при регенерации длительно незаживающих ран

Физиологический процесс заживления ран включает в себя четыре этапа: гемостаз, воспаление, пролиферацию и созревание, правильная и слаженная работа которых обеспечивает строгий этапный регенеративный процесс [65, с.53–60]. Однако, когда раны не проходят через этот организованный процесс, заживление их задерживается, и это в конечном итоге приводит к хроническим или ДНЗР.

Общими признаками ДНЗР являются экссудация, повторная инфекция, некроз тканей, дефектная реэпителизация, снижение ангиогенеза и избыточная продукция активных форм кислорода [164, с. 555–570].

В целом, хронические раны можно разделить на три основные категории: диабетические язвы стопы, сосудистые язвы и пролежни [195]. Обычно они наблюдаются у пожилых людей, страдающих такими патологическими состояниями, как сахарный диабет, сосудистые заболевания и ожирение [214, с. 36–43].

Сахарный диабет влияет на все четыре этапа восстановления поврежденной кожи [97, с. 109-112]. В целом, диабетические язвы связаны с высоким провоспалительным профилем, вызванным чрезмерной экспрессией воспалительных цитокинов, таких как TNF- α , и снижением выработки медиаторов, способствующих заживлению, включая IL-10 и TGF- β . Это приводит к поляризации макрофагов в сторону фенотипа M₁, активации и дегрануляции CD8⁺ Т-клеток, что приводит к некрозу тканей [147, с. 20–25].

ДНЗР характеризуются длительным присутствием популяций миелоидных клеток, таких как макрофаги, нейтрофилы и моноциты, на поздней стадии воспаления. Напротив, процент клеток Лангерганса, дермальных дендритных клеток и эозинофилов снижается на протяжении всего процесса [99, с. 1335–1349].

Тучные клетки также участвуют в патогенезе развития ДНЗР. Кожные тучные клетки дегранулируются при диабетических язвах, а подавление их активности ускоряет заживление ран [162, с. 4519–4537].

Т-клетки принимают участие в поддержании провоспалительного профиля ДНЗР. Лиганд для CXCR3, который содержится в клетках Th₁, высоко экспрессируется при хроническом воспалении. Кроме того, у пациентов с диабетическими язвами повышен уровень воспалительных подтипов Т-клеток, таких как Th₁, Th₁₇ и Th₂₂ [206, с. 45–50].

Иммунные клетки активно взаимодействуют с некроветворными клетками, такими как кератиноциты, посредством секреции различных сигнальных молекул [195, с. 87-90]. Кератиноциты вносят значительный вклад в образование ДНЗР, однако точный механизм их действия до конца не изучен. Известно, что нарушение регуляции некоторых микроРНК, таких как miR-34a/c, miR-203, miR-19a/b и miR-20a, в кератиноцитах влияет на иммунные функции и приводит к замедленному заживлению ран мягких тканей [168, с. 112–118; 170, с. 220–225; 171, с. 130–135].

Таким образом, ингибирование экспрессии miR-19a/b и miR-20a замедляло заживление ран и индуцировало более сильную воспалительную реакцию у мышей за счет активации пути NF-κB, что приводило к сверхэкспрессии провоспалительных цитокинов и хемокинов в кератиноцитах.

Процесс образования длительно незаживающей раны также регулируется эпигенетически микроРНК, контролирующими воспалительные реакции посредством модуляции сигнальных путей. Wnt/β-катенин, NF-κB, PI3K/Akt/mTOR, TGF-β/Smad и пути роста фактора роста эндотелия сосудов регулируются микроРНК во время регенерации ДНЗР [117, с. 45–50].

Иммунные и структурные клетки активно экспрессируют и регулируют цитокины, хемокины и факторы роста в процессе заживления ран [219, с. 197–235]. Например, повышенный уровень INF-γ, фактора роста эндотелия сосудов и молекулы адгезии растворимых сосудистых клеток-1,

наблюдаемый у пациентов с диабетическими язвами стопы, способствует заживлению язв [140, с. 88–94].

Тем не менее, в ДНЗР нарушается регуляция определенных факторов, что частично ответственно за патогенез травмы. У мышей с дефицитом антагониста рецептора IL-36 наблюдалось замедленное заживление ран из-за гиперпродукции IL-36 γ , TGF- β и CXCL1, избыточной инфильтрации нейтрофилов и макрофагов и чрезмерного образования грануляционной ткани [136].

Кроме того, хемокиновый рецептор CCR4 негативно влияет на ДНЗР, вызванные сахарным диабетом. У мышей с диабетом, истощенных CCR4, наблюдалась сниженная экспрессия цитокинов, способствующих заживлению ран, таких как IL-6, IL-12, IL-1 β , TNF- α и IL-10 [205, с. 1161–1170].

В исследовании A.P. Sawaya и соавт выявлено нарушение регуляции транскрипционных факторов FOXM1 и сигнального преобразователя и активатора транскрипции-3 у пациентов с диабетическими язвами стопы. FOXM1 и сигнальный преобразователь и активатор транскрипции-3 отвечают за пролиферацию макрофагов и нейтрофилов и их рекрутирование в микроокружение диабетической раны.

Таким образом, ингибирование транскрипционных факторов FOXM1 и сигнального преобразователя и активатора транскрипции-3 у пациентов с диабетической стопой стимулирует механизмы прогрессирования заболевания за счет именно дефектного набора иммунных клеток.

В научных работах группы ученых под руководством J. Dissemond было доказано наличие еще одного фактора, который способствует задержке заживления раны. Данный фактор известен под названием ММП.

Во время нормального заживления раны клетки в поврежденной области, такие как фибробласты, кератиноциты и иммунные клетки, индуцируются местными медиаторами к секреции ММП. Эти медиаторы включают различные цитокины и факторы роста, участвующие в заживлении

ран, такие как TGF- β , фактор роста эндотелия сосудов, эпидермальный фактор роста, интерлейкины и интерфероны [125, с. 681–693].

ММП обычно требуются в небольшом количестве и отвечают за надлежащую эпителизацию и пролиферацию. Однако их дисрегуляция приводит к нарушению эпителизации и тесно связана с трудно заживающими ранами [163, с. 200–210].

В целом, повышенная экспрессия ММП-9 активированными нейтрофилами связана с замедлением регенерации ДНЗР у пациентов с сахарным диабетом [231, с. 8825–8837]. Кроме того, высокий уровень глюкозы может стимулировать сверхэкспрессию ММП-9 посредством активации сигнального пути ERK/AP1 [133, с. 45–55].

Таким образом, развитие ДНЗР происходит, когда иммунная система не может продолжать нормальный процесс восстановления, что приводит к длительному присутствию нейтрофилов и провоспалительных макрофагов в поврежденной коже, что способствует воспалению, фиброзу тканей и плохой их васкуляризации [51, с. 22–30].

§ 1.3.1. Роль и место врожденного иммунитета в регенерации длительно незаживающих ран

§ 1.3.1.1. Нейтрофилы

Нейтрофилы представляют собой наиболее распространенные воспалительные клетки, проникающие в новую рану, и функционируют в основном для удаления мусора и предотвращения инфекции [93, с. 1849–1851] Их приток опосредован рядом химических сигналов, в том числе IL-8 или CXCL8, как упоминалось выше, а нейтрофилы имеют более 30 различных рецепторов, которые смягчают их миграционный и активационный ответ [121, с. 45–50].

Очевидно, что нейтрофилы действительно участвуют в удалении мертвых клеток на ранних стадиях заживления раны, но их стойкость, как будет подробно обсуждаться ниже, связана с замедленной регенерации ДНЗР.

Более того, экспериментальные результаты моделирования заживления ран показали, что у нестареющих моделей без нарушений поступления нейтрофилов не оказывает негативного влияния на заживление ран так же глубоко, как деляция макрофагов [72, с. 711–721; 148, с. 71–100; 212, с. 209–223]. В моделях с нарушениями заживления ран, таких как сахарный диабет, где риск инфицирования выше, нейтрофилы были явно необходимы [237, с. 112–120]

К. Pittman и Р. Kubes считают, что молекулярный фрагмент, ассоциированный с повреждениями, выделяемый из некротических клеток, является первым сигналом для набора нейтрофилов в раневое ложе. Эти опасные сигнальные молекулы могут активировать нейтрофилы непосредственно путем связывания различных поверхностных их рецепторов, в дополнение к сигналу для клеток, находящихся в ткани, для производства хемоаттрактантов нейтрофилов [74, с. 50–58].

Одним из наиболее хорошо описанных хемоаттрактантов, производимых тканевыми макрофагами и фибробластами, является CXCL8 (IL-8) [75, с. 103–108].

CXCL8 связывает и стимулирует поверхностные нейтрофильные рецепторы CXCR1 и CXCR2, что приводит к сверхактивному набору нейтрофилов в место повреждения тканей [160, с. 45–53; 177, с. 98–105].

Интересно, что после того, как нейтрофилы мигрируют в рану, они также могут выделять CXCL8, создавая провоспалительный цикл обратной связи [123].

Под действием CXCL8 также повышается эндотелиальная проницаемость сосудов, что еще больше стимулирует приток воспалительных клеток в рану [227, с. 150–160]. Также было доказано, что другие хемокины семейства CXCL8, такие как CXCL1, CXCL2, CXCL3, CXCL5, CXCL6 и CXCL7, также играют роль в хемотаксисе нейтрофилов [222, с. 593–619].

Связывая гликозаминогликаны на тканевых клеточных стенках и во внеклеточной матрице, эти хемокины, включая CXCL8, создают сигнальный градиент, позволяющий четкую направленную миграцию нейтрофилов к травме [92, с. 120–130]. Дополнительные клеточные побочные продукты, вызванные молекулярным фрагментом, ассоциированным с повреждениями, такими как перекись водорода и лейкотриен-В4, также образуют градиенты для стимулирования целенаправленной миграции нейтрофилов [225, с. 935–953].

Хотя нейтрофилы не считаются важным типом клеток для заживления ран без нарушений, они выполняют различные функции, поддерживающие этот процесс [145, с. 78–85].

Прежде всего, нейтрофилы защищают от раневой инфекции путем фагоцитозирования патогенов, а затем убивают их за счет высвобождения активных форм кислорода, протеаз или антимикробных белков. При дегрануляции антимикробные белки также могут высвобождаться в окружающую среду для уничтожения внеклеточных организмов [85, с. 22–30].

Более поздние данные указывают на то, что нейтрофилы также могут уничтожать организмы, обитающие во внеклеточной среде, путем развертывания внеклеточных ловушек нейтрофилов [192, с. 513–521].

Внеклеточные ловушки нейтрофилов представляют собой паутиноподобные структуры, состоящие из нитей деконденсированного хроматина, связанного с бактерицидными белками, продуцируемыми нейтрофилами. Они работают либо путем непосредственного уничтожения микроорганизмов, либо путем иммобилизации патогенов, способствуя фагоцитозу [86, с. 1532–1535].

В дополнение к очистке от патогенов, нейтрофилы также регулируют воспаление, а также генерируют факторы роста и цитокины, вызывающие заживление ран. В раневой среде нейтрофилы проявляют способность повышать экспрессию генов хемокинов, которые являются ключевыми рекрутерами макрофагов, Т-клеток и дополнительных нейтрофилов, таких

как TNF- α , IL-1 β , IL-6, CXCL8, CXCL2 и моноцитарный хемоаттрактантный белок-1 (MCP-1) [226, с. 7684–7693].

Нейтрофилы также демонстрируют повышенную экспрессию цитокинов, которые способствуют ангиогенезу [например, фактору роста эндотелия сосудов (VEGF), CXCL₃ и MCP-1], пролиферации фибробластов и кератиноцитов (IL-8, IL-1 β и MCP-1), адгезии кератиноцитов к дермальному слою (ламинин 5 β -3) и ремоделированию тканей [активатор плазминогена урокиназного типа (uPA)] [78, с. 932–943].

В то время как нейтрофилы играют важную роль в распространении воспалительной реакции на ранних стадиях заживления ран, они также служат сигналом для инактивации воспалительной фазы [178, с. 173-176].

При физиологическом заживлении ран нейтрофилы подвергаются апоптозу после выполнения своих различных функций в месте повреждения. Локальное поглощение макрофагами апоптотических нейтрофилов затем запускает переход из воспалительной фазы [157, с. 890–898].

Более поздние исследования также показывают, что некоторые нейтрофилы могут фактически подвергаться обратной миграции, удаляясь от места повреждения и возвращаясь в кровоток. Это называется обратной трансэндотелиальной миграцией (pTЭМ) и выполняет две потенциальные функции: механизм разрешения местного воспаления и/или механизм перераспределения активированных нейтрофилов в другие места в организме, что приводит к воспалению в других местах [210, с. 45–50; 235, с. 112–120].

Несмотря на то, что рекрутирование нейтрофилов имеет решающее значение для защиты хозяина, связанная с этим сильная воспалительная реакция также может быть вредной для надлежащего заживления ран [175, с. 832–839].

Многие исследования свидетельствуют о том, что длительное присутствие нейтрофилов и связанных с ними медиаторов воспаления в раневой среде способствует образованию и сохранению хронических ран.

Нейтрофилы также могут генерировать вредные уровни активных форм кислорода в хронических ранах, повреждая клеточные мембраны и вызывая дополнительное разрушение внеклеточных матриксов. Это разрушение стимулирует дополнительную продукцию медиаторов воспаления (например, IL-1 β , TNF- α) и протеолитических ферментов (например, ММП), распространяя цикл усиления воспаления [238, с. 452–461].

Внеклеточные ловушки нейтрофилов также были обнаружены в избытке в ранах диабетической стопы и, как было показано, замедляют заживление, а ингибирование функции NETosis и NET в мышинных моделях замедленного заживления ран улучшает результаты [182, с. 120–130].

В то же время, в условиях нормального или адекватного заживления ран нейтрофилы способны регулировать всю цепочку воспалительной реакции. Активные функциональные свойства нейтрофилов завершаются на определенном этапе течения раневого процесса. В результате выполненной активной части патогенеза раневого процесса нейтрофилы могут считать свою деятельность выполненной и инициировать следующий этап направленный на апоптотическое самоуничтожение. Такой характер поведения нейтрофилов приводит к запуску следующего этапа инициации в виде усиления активности макрофагов. Этот процесс известен под названием эффероцитоз макрофагов.

В условиях ДНЗР процесс связанный с эффероцитозом макрофагов задерживается. Всему виной выступают опять же клетки нейтрофилы, которые более длительное время начинают присутствовать в раневой среде. Факторы, способствующие задержке нейтрофилов в раневой среде множественные и они во многом могут быть и не связаны с самими клетками крови. Соответственно, длительное присутствие нейтрофилов, обусловленное снижением их апоптоза, приводит к более высокой активации нейтрофильных протеаз, которые кумулируются в раневой среде. На сегодняшний день уже описаны конкретные протеолитические ферменты нейтрофилов, которые приводят к развитию ДНЗР. В литературе они описаны

как эластаза и ММП, которые, как известно, разрушают внеклеточный матрикс, а также нейтрофильный хемоаттрактант С-Х-С мотива хемокина лиганд-8. Именно они считаются связующим звеном в формировании ДНЗР.

Такие данные были получены в экспериментальных работах G. Nan и соавт. [77, с. 22–30] в недавних исследованиях. Группа ученых доказало, что истощение нейтрофилов, индуцированное введением антител 1A8 в имихвимод-псориатическую мышиную модель, приводит к снижению инфильтрации макрофагов и CD4⁺ Т-клеток. На этом фоне было выявлено активное снижение продукции провоспалительных цитокинов TNF- α , INF- γ и IL-1 β , что указывает на критическую роль нейтрофилов в формировании ДНЗР.

В более поздних исследованиях, проведенных группой китайских ученых под руководством X. Vi и соавт. было доказано, что важная роль должно отводиться микроРНК, которая за счет регуляции различных иммунных реакций может играть одну из важных ролей в формировании ДНЗР.

Таким образом, дефицит данной биологической микроструктуры (miR-146a) у мышей с экспериментальной моделью сахарного диабета значительно замедляет заживление ран мягких тканей и увеличивает инфильтрацию нейтрофилов в поврежденной области за счет нарушения регуляции IL-1 β , TNF- α , IRAK₁, TRAF₆ и NF- κ B путей.

Японские исследователи университета гигиены труда и окружающей среды, под руководством T. Umehara и соавт. доказали, что экспрессия miR-129 в нейтрофилах, полученных от мышей с экспериментальной моделью сахарного диабета 2 типа и здоровых животных, различна. В частности, было доказано, что когда miR-129-2-3p, контролирующий Casp6 и CCR₂, гены, ответственные за воспалительные реакции и апоптоз, сверхэкспрессируется в нейтрофилах мышей с экспериментальной моделью сахарного диабета 2 типа, это способствует ускоренному заживлению диабетических ран.

Внеклеточные ловушки нейтрофилов связаны с нарушением заживления ран при сахарном диабете. В этом исследовании оценивается связь между нейтрофильными внеклеточными маркерами, специфичными для ловушек, и заживлением ран у пациентов с диабетической язвой стопы, получающих лечение в амбулаторных условиях.

S. Yang, Z. Gu, C. Lu, et al. зарегистрировали клинические данные пациентов с сахарным диабетом с активными язвами стопы, которые обратились за медицинской специализированной помощью в период с 1 января 2016 года по 30 июня 2017 года. Исследователи рассчитали оценку тяжести диабетической язвы и оценку раны, ишемии и инфекции стопы. Были протестированы нейтрофильные внеклеточные маркеры-ловушки-специфичные в плазме и тканях раны. Оценивалась способность плазмы и тромбоцитов заставлять нейтрофилы высвобождать внеклеточные ловушки нейтрофилов и прогностическую ценность нейтрофильных маркеров, специфичных для внеклеточной ловушки, для заживления ран. По итогам проведенных исследований они получили результаты, которые свидетельствуют о том, что нейтрофильные внеклеточные маркеры, специфичные для ловушек, были значительно выше у пациентов с диабетической язвой стопы, чем у пациентов с диабетом без диабетической язвы стопы или здоровой группы, и было обнаружено, что они положительно коррелируют с оценкой тяжести диабетической язвы или оценкой раны, ишемии и инфекцией стопы. Уровень эластазы в язвенной ткани значительно повышался в ранах с инфекциями и замедлял заживление. Более высокие уровни высвобождения нейтрофильных внеклеточных ловушек наблюдались после стимуляции плазмы или тромбоцитов из сосудов, связанных с язвой, чем из сосудов, не связанных с язвой, у пациентов с диабетической язвой стопы [38, с. 110–117].

Цитруллинированный гистон 3 был идентифицирован как фактор риска нарушения заживления ран и ампутации. Пациенты с самым высоким квартилем уровней цитруллинированного гистона 3 показали значительно

более низкие темпы заживления и более высокие показатели ампутации, чем пациенты с более низкими тремя квартилями. Данное исследование расширило современные знания о нейтрофильных внеклеточных ловушках для заживления ран у пациентов с диабетической язвой стопы. В целом, нейтрофильные внеклеточные маркеры-ловушки отрицательно коррелируют с заживлением ран у пациентов с диабетической язвой стопы, и цитруллинированный гистон 3 является потенциальным маркером. Уровень нейтрофильных внеклеточных ловушек - специфических маркеров, таких как цитруллинированный гистон H₃, выше при диабетических язвах стопы по сравнению с диабетическими язвами стопы - дефицитными и здоровыми пациентами. Так же сообщалось, что внеклеточные ловушки нейтрофилов, высвобождаемые нейтрофилами, способствуют замедлению заживления ран.

Более того, исследование показало, что нейтрофилы экспрессируют рецептор гонадотропин-рилизинг-гормона, гормона, который связан с ухудшением заживления ран. Лечение мышей с сахарным диабетом 2 типа агонистами гонадотропин-рилизинг-гормона способствовало задержке заживления ран из-за ускоренного кетоза, вызванного усиленной экспрессией пептидиларгининдеиминазы-4 и цитруллинированного гистона H₃ [124, с. 856–864]. Кроме того, эпидермальный фактор роста VIII глобулы молочного жира играет защитную роль в заживлении ран на фоне сахарного диабета 2 типа.

Эпидермальный фактор роста VIII глобулы молочного жира снижает активацию инфламмасом NLRP3 и выработку IL-18/IL-1 β . Модель эпидермального фактора роста VIII диабетической мыши с глобулой молочной жирной палочкой демонстрирует более высокий синтез внеклеточной ловушки нейтрофилов, инфильтрацию лейкоцитов, неудачное закрытие раны и нарушение васкуляризации по сравнению со здоровой контрольной группой. Такие результаты были получены группой ученых под руководством W. Huang и соавт. [166, с. 84-89].

В условиях экспериментального моделирования сахарного диабета 2 типа было выявлено что нейтрофилы производят больше супероксидов и цитокинов, чем нормогликемические условия.

Чтобы проверить, были ли нейтрофилы от пациентов с синдромом диабетической стопы готовы к нейтрофилезу, W. Huang и соавт. выделили нейтрофилы из свежей цельной крови, полученной от пациентов с диабетом и синдромом диабетической стопы с образованием язвы, чей гликированный гемоглобин был выше 6,5%, что указывает на легкую длительную гипергликемию, и от здоровых людей в качестве контрольных.

Иммунофлуоресцентный анализ показал, что нейтрофилы от пациентов с диабетом или язвенно-некротическим осложнением синдрома диабетической стопы были более восприимчивы к главному нейтрофилезу спонтанно, чем здоровые контрольные, и нейтрофилы от пациентов с язвенно-некротическим осложнением синдрома диабетической стопы выделяли более высокие нейтрофилы, чем у пациентов с сахарным диабетом 2 типа.

Как и ожидалось, уровни нейтрофильных компонентов, таких как нейтрофильная эластаза (NE) и протеиназа-3 (PR3), были повышены у пациентов с язвенно-некротическими осложнениями синдрома диабетической стопы, чем у пациентов с сахарным диабетом, но без синдрома диабетической стопы, и оба из них были выше, чем здоровые люди. Кроме того, уровни IL-1 β и IL-18 в сыворотке крови были значительно выше как у пациентов с сахарным диабетом 2 типа без синдрома диабетической стопы, так и у пациентов с синдромом диабетической стопы, чем у здоровых людей.

Интересным остается факт, что пациенты с ДНЗР на фоне сахарного диабета 2 типа показали уровни выше, чем у пациентов сахарным диабетом без гнойно-некротических осложнений синдрома диабетической стопы.

В целом, нейтрофилы от пациентов с ДНЗР на фоне сахарного диабета 2 типа спонтанно запускают NETosis, а увеличение NET и активация инфламмосомы NLRP3 связаны с нарушением заживления ран.

Эпидермальный фактор роста VIII глобулы молочного жира (MFG-E-8) служит связующим звеном между апоптотическими клетками и фагоцитами, обеспечивая эффероцитоз [129, с. 182–187], который индуцировал разрешение воспаления раны, улучшение ангиогенеза и ускорение закрытия [101, с. 5089–5100].

Для изучения влияния MFG-E-8 на заживление ран у пациентов с ДНЗР на фоне сахарного диабета 2 типа был проведен анализ сывороточных уровней MFG-E-8 у здоровых лиц, пациентов с сахарным диабетом 2 типа и с наличием осложнения в виде синдрома диабетической стопы.

Данные показали, что сывороточные уровни MFG-E-8 были повышены у пациентов с ДНЗР на фоне сахарного диабета 2 типа по сравнению со здоровыми пациентами и пациентами с сахарным диабетом 2 типа но без синдрома диабетической стопы. Соответственно, сывороточные уровни MFG-E-8 были значительно повышены у мышей с экспериментальной моделью сахарного диабета, который был воспроизведен при помощи стрептозоцина, чем у обычных мышей после ранения на 3, 7 или 14 день. Значительное увеличение белка MFG-E8 по краям раны было отмечено на 3-й день после ранения у мышей с сахарным диабетом по сравнению с нормальными мышами, а также более высокое накопление апоптотических клеток.

Таким образом, стойкое присутствие нейтрофилов в области раны замедляет процесс заживления за счет экспрессии провоспалительных факторов, протеаз и внеклеточных ловушек нейтрофилов.

§ 1.3.1.2. Макрофаги

Макрофаги имеют решающее значение во время заживления ран, однако их длительное присутствие в поврежденной среде или нарушение регуляции во время восстановления приводит к нарушению заживления ран и фиброзу тканей [165, с. 247–260].

Неспособность макрофагов поляризоваться от провоспалительного M_1 к прозаживающему репаративному фенотипу M_2 тесно связана с патогенезом ДНЗР. Этот сбой обусловлен гиперэкспрессией провоспалительных цитокинов в микроокружении раны и нарушением клиренса апоптотических нейтрофилов макрофагами [139, с. 2-6].

Обработка клеток натуральных киллеров-4 макрофагов ТНР-1 индуцировала морфологические особенности, характерные для классически активированных макрофагов M_1 , воспалительный цитокиновый профиль и повышенную экспрессию молекул CD38⁺ и CD86⁺, ассоциированных с макрофагами M_1 . Интересно, что натуральные киллеры-4 увеличивали продукцию TNF- α макрофагами ТНР-1 в сочетании с липополисахаридами, Pam3CSK4 или поли (I:C).

Кроме того, обработка НК-4 усиливала фагоцитоз макрофагов ТНР-1 в гранулах латекса. Эти результаты указывают на то, что НК-4 стимулирует поляризацию макрофагов в сторону воспалительного M_1 -подобного фенотипа с повышенной фагоцитарной активностью. Эффероцитоз является важным событием для разрешения воспалительной фазы в заживлении раны. Обработанные НК-4 макрофаги ТНР-1, культивируемые совместно с апоптотическими клетками Jurkat E6.1 (Аро-J), переключились с M_1 -подобного фенотипа на M_2 -подобный фенотип, что видно по обратному соотношению TNF- α к IL-10, полученному в ответ на липополисахариды.

Авторами были выделены два отдельных механизма, которые участвуют в этом фенотипическом переключении. Во-первых, распознавание молекул фосфатидилсерина на клетках Аро-J макрофагами ТНР-1 подавляет продукцию TNF- α . Во-вторых, фагоцитоз клеток Аро-J макрофагами ТНР-1 и активация сигнального пути PI3K/Akt усиливают выработку IL-10.

Исследование, в котором сравнивались макрофаги, полученные из ран здоровых людей, с пациентами, страдающими сахарным диабетом, выявило отличительную экспрессию метилтрансферазы Setdb2, продукция которой в макрофагах раны находится под контролем INF- β . У пациентов с сахарным

диабетом нарушение взаимодействия $\text{INF-}\beta\text{-Setdb2}$ приводит к невозможности переключения с фенотипа M_1 на M_2 , что приводит к накоплению провоспалительных макрофагов в ДНЗР [223, с. 258–271.].

Кроме того, было обнаружено, что макрофаги M_1 в микроокружении диабетической раны сверхэкспрессировали микроРНК-21, что приводило к усилению секреции медиаторов воспаления, таких как $\text{IL-1}\alpha$, $\text{TNF-}\alpha$, iNOS , IL-6 и IL-8 , и дальнейшей поляризации макрофагов в сторону фенотипа M_1 [207, с. 33-28].

Тем не менее, сильный сдвиг от про- к противовоспалительному фенотипу также подрывает баланс M_1 - M_2 . Чрезмерная активность M_2 -макрофагов в процессе заживления ран связана с формированием гипертрофических рубцов. Так, DiPietro L.A. и соавт. в своей научной публикации под названием «Макрофаги в заживлении ран: парадоксы и парадигмы» [106, с. 950-956] задаются вопросом: если функция макрофагов в ранах может быть вытеснена другими типами клеток, то как можно объяснить множество сложных исследований, которые показывают, что полное истощение макрофагов приводит к аберрантному и длительному заживлению ран?

По данным авторов, одна из возможностей заключается в том, что полное удаление макрофагов вызывает чрезмерную воспалительную реакцию, которая остается в процессе дольше, чем обычно. Это воспаление приводит к разрушению тканей по сравнению с обычной раной, что увеличит время, необходимое для восстановления участка.

Частичная поддержка этой концепции исходит из исследований заживления ран у мышей с истощением макрофагов, где медиатор воспаления $\text{TNF-}\alpha$ увеличивается на более поздних стадиях репарации [172, с. 2454–2462].

Макрофаги действительно могут ослаблять воспаление, и было обнаружено, что подмножество тканевых резидентных макрофагов, расположенных в периваскулярных областях кожи, экспрессируют

противовоспалительный транскрипционный профиль, а также помогают в ремоделировании тканей [197, с. 15-24]

В нормально заживающих ранах противовоспалительное или ремоделирующее подмножество макрофагов может быть наиболее важным для восстановления, наряду с небольшим количеством репаративных макрофагов [17, с. 11–20].

Таким образом, по правде говоря, количество макрофагов, которые требуются в коже взрослого человека для надлежащего заживления ран, может быть намного меньше, чем то, которое появляется в нормально заживающих ранах. Какой бы интригующей ни была такая концепция, экспериментальные подходы ограничены. Точное титрование макрофагов и, что, возможно, более важно, строгий контроль фенотипов *in vivo* являются экспериментально довольно сложными для лечения ран.

Макрофаги M_2 способствуют образованию рубцов за счет увеличения синтеза белков внеклеточного матрикса, а также секреции ММП-10 и TGF- β 1 [107, с. 1101].

Кроме того, макрофаги M_2 способствуют фиброзу рубцеванию за счет регуляции пути Wnt/ β -катенина (семейство белков, которые играют критически важную роль в эмбриональном развитии и гомеостазе тканей взрослого организма). Макрофаги поздней раны фагоцитируют SFRP4, ингибитор Wnt, и, таким образом, способствуют непрерывной активности Wnt в поврежденной коже, что приводит к фиброгенезу, а не к регенерации [142, с. 617-623; 194, с. 3704-3708].

В целом, регулирование поляризации M_1 - M_2 имеет решающее значение для правильного заживления ран. Любые изменения этого баланса приводят к таким последствиям, как развитие ДНЗР или повышенный фиброз тканей.

§ 1.3.1.3. Лимфоидные клетки

Врожденные лимфоидные клетки – это клетки лимфоидного происхождения и морфологии, которые не обладают антиген-

специфическими рецепторами и маркерами Т- и В-клеток, но могут быть активированы сигналами врожденного иммунитета [95, с. 45–55].

Три линии врожденных лимфоидных клеток выполняют различные эффекторные функции в зависимости от их транскрипционного фактора и профиля экспрессии цитокинов [200, с. 487–496].

Естественные клетки-киллеры, которые относятся к группе 1 врожденных лимфоидных клеток, могут продуцировать INF- γ , гранзимы и перфорины для уничтожения инфицированных вирусом клеток и раковых клеток, отличая естественные клетки-киллеры от вспомогательных врожденных лимфоидных клеток [14, с. 45–55]. Являясь основным фактором производства INF- γ , естественные клетки-киллеры участвуют в воспалительной фазе процесса заживления ран, оказывая в основном негативное влияние на восстановление тканей [34, с. 148–154].

INF- γ , полученные из естественных киллерных клеток, поляризуют макрофаги в провоспалительный фенотип M₁ и усиливают инфильтрацию иммунных клеток в область раны IL-1 β , IL-6, IL-12, IL-23 и экспрессию TNF- α макрофагами.

INF- γ , в основном секретируется CD4⁺ Т-клетками, естественный киллер Т-клеток, как сообщалось, предотвращают длительную инфильтрацию нейтрофилов в воспалительной фазе и усиливают фиброз в пролиферативной фазе процесса заживления ран [144, с. 56-57].

Уровень врожденных лимфоидных клеток-2 также повышен при ДНЗР. Цитокины алармина, такие как IL-33, тимический стромальный лимфопоэтин и IL-25, а также ассоциированные с патогенами молекулярные паттерны могут привлекать врожденные лимфоидные клетки-2 к поврежденному участку. В свою очередь, сообщалось, что врожденные лимфоидные клетки-2 экспрессируют IL-5, M₂-макрофаг, поляризующие IL-13 и IL-4, а также амфирегулин — митоген кератиноцитов, который также усиливает Treg хоуминг к месту повреждения. Кроме того, врожденные лимфоидные клетки-2 участвуют в стимуляции расширения Treg и поляризации Th₂-клеток.

Врожденные лимфоидные клетки-3 также демонстрируют положительное влияние на заживление кожных ран. По сигналу эпидермального Notch-1 TNF- α и хемокины рекрутирования врожденных лимфоидных клеток-3 лиганд-20 мотива С-С и CXCL13 экспрессируются для рекрутирования врожденных лимфоидных клеток-3 в раненую дерму. Врожденные лимфоидные клетки-3 могут притягивать макрофаги к раневому ложу в качестве ключевого источника IL-17F и лиганда С-С-мотива-3 и усиливать эпидермальную пролиферацию за счет экспрессии важного фактора роста кератиноцитов IL-22 [233, с. 2333–2342]

Следовательно, сообщалось, что врожденный дефицит лимфоидных клеток-3 приводит к уменьшению инфильтрации макрофагов и эпидермальной пролиферации, а также к задержке заживления кожных ран у мышей [151, с. 11-23].

Согласно предыдущим выводам, роль врожденных лимфоидных клеток в заживлении ран является плеiotропной в зависимости от их подмножеств. Врожденные лимфоидные клетки-3 и естественные киллеры участвуют в нарастающих воспалительных реакциях, в то время как врожденные лимфоидные клетки-2 могут оказывать противовоспалительное действие за счет усиления M₂-поляризации макрофагов и расширения и хоуминга Tregs.

§ 1.3.2. Роль и место приобретенного иммунитета в регенерации длительно не заживающих ран и в профилактике генерализации хирургической инфекции

Роль и место приобретенного иммунитета в регенерации ДНЗР широко не исследовалась. Т-клетки в ДНЗР присутствуют в дефектном и нереагирующем состоянии, что проявляется в их неспособности секретировать факторы, которые они продуцируют в нормальном состоянии [52, с. 10–15; 137, с. 209–231].

Т-клетки принимают участие в поддержании провоспалительного профиля незаживающих повреждений мягких тканей. Лиганд для CXCR3, который содержится в клетках Th₁, высоко экспрессируется при хроническом

воспалении. Кроме того, у пациентов с диабетическими язвами повышен уровень воспалительных подтипов Т-клеток, таких как Th₁, Th₁₇ и Th₂₂ [219, с. 197–235].

Несмотря на то, что центральные регуляторы иммунного ответа играют уравнивающую роль в воспалении, подавляя иммунный ответ, некоторые исследования показали, что повышенное количество центральных регуляторов иммунного ответа в местах хронического воспаления мягких тканей не только не способно устранить травму, но даже способствует патогенезу самого заболевания [71, с. 45–55; 143, с. 865–875].

Кроме того, комменсалы мягких тканей помогают улучшить регенерацию ДНЗР, индуцируя активацию Т-клеток с иммунорегуляторными функциями и функциями восстановления тканей посредством неклассического иммунного ответа, ограниченного МНС класса (белкового класса) I [152, с. 784–796].

Кожнорезидентные В-клетки участвуют в местной продукции антител, образовании эктопической лимфоидной ткани и других эффекторных функциях, связанных с кожным антиген-специфическим иммунным ответом [102, с. 1659–1666].

Тем не менее, точная роль субпопуляций В-клеток в заживлении хронических ран все еще остается невыясненной.

Ранние предположения о терапевтическом воздействии В-клеток на ДНЗР были сделаны R.F. Sîrbulescu и его коллегами [213, с. 774–791], которые сообщили об ускорении заживления как острых, так и хронических ран, значительном смягчении апоптоза и улучшении пролиферации фибробластов после местного применения очищенных зрелых наивных В-клеток к кожному раневому ложу на мышинных моделях. В результате, 43% диабетических ран были полностью закрыты, по сравнению с 5% в контрольной группе, при этом не наблюдалось терапевтического эффекта от эквивалентного количества разрушенных В-клеток, гемопоэтических стволовых клеток и Т-клеток.

§ 1.4. Методы профилактики генерализации инфекции при ранах путем модуляции иммунной системы организма

Отличительной чертой генерализации инфекции у больных с ДНЗР является наличие очага хронического воспаления, вызванное инфильтрацией провоспалительных иммунных клеток [15, с. 672; 22, с. 42–47].

Разработка стратегий, основанных на регуляции функций иммунных клеток, является перспективным подходом в регенеративной медицине для лечения ДНЗР, включая диабетические, сосудистые и пролежни, с одной стороны, и профилактика генерализации инфекции – с другой [23, с. 34–40; 169, с. 98–105].

Мы обобщили различные подходы к иммуномодуляции для улучшения заживления ран и профилактики генерализации инфекции. Основные разновидности профилактики генерализации инфекции при ДНЗР согласно стратегии иммуномодуляции возможно путем поляризации M₂ макрофагов [46, с. 10–15].

Поляризация макрофагов проводится путем применения фосфатидилсерин-содержащих липосом, которые были применены при экспериментальных моделях ДНЗР у мышей молодого и среднего возраста. Результаты показали возможность предотвращения генерализации инфекции и образования новых пролежней. Данный метод лечения способствует заживлению ран и ангиогенез [198, с. 2333–2342].

Возможный вариант поляризации макрофагов видится применения экзосомы, полученные из макрофагов M₂. Н. Kim и соавт. применили это на экспериментальных моделях острых ран, что привело к ускорению первичного, а также полного закрытия раны. Профилактика генерализации инфекции было достигнуто путем усиления реэпителизации и ангиогенеза.

§ 1.4.1. Поляризация макрофагов

Модификация фенотипа макрофагов может стать перспективным терапевтическим подходом к лечению ДНЗР. Показано, что

фосфатидилсеринсодержащие липосомы индуцируют поляризацию макрофагов в сторону фенотипа M₂ у мышей с пролежнями. Таким образом, лечение фосфатидилсеринсодержащими липосомами ускорило заживление ран, индуцировало васкуляризацию и ингибировало образование пролежни у мышей с ишемией-реперфузионной моделью пролежни [198, с. 705–714].

Сверхэкспрессия гена рецептора-мусорщика CD163, маркера произлечивающего типа M₂, в макрофагах M₁ способствовала более эффективному заживлению ран, в том числе за счет снижения экспрессии моноцитарного хемоаттрактантного белка-1 и продукции TGF- α [90, с. 135–145].

Экзосомы, полученные из макрофагов M₂, индуцируют полное перепрограммирование клеток классически активированных макрофагов M₁ в фенотип, способствующий заживлению, что способствует заживлению кожных ран. Кроме того, экзосомы, полученные из M₂, секретируют паракринные факторы, такие как интерлейкин-4, CXCL12 и основной фактор роста фибробластов, которые восстанавливают раны, способствуя отложению коллагена и реэпителизации [116, с. 190-210].

Кроме того, экспрессия длинной некодирующей РНК GAS5 усиливается в клетках диабетических ран и способствует дифференцировке макрофагов в сторону фенотипа M₁ за счет повышения регуляции сигнального преобразователя и активатора транскрипции-1 [156, с. 1629–1638].

Таким образом, нокаут GAS5 способствует восстановлению хронической раны путем модуляции фенотипов макрофагов в ДНЗР.

Ингибирование экспрессии минералокортикоидных рецепторов способствует ускорению процесса заживления ран у мышей с диабетом, не влияя на раны здоровых мышей [13, с. 315–320]. Этот эффект обусловлен снижением выработки LCN₂, лиганда для минералокортикоидных рецепторов, который может способствовать поляризации макрофагов, неоваскуляризации и предотвращению воспаления.

НК-4 является еще одним перспективным средством для антихронической терапии ран. НК-4 представляет собой цианиновый краситель, который, как было показано, активирует дифференцировку опухолевых макрофагов в провоспалительный фенотип M_1 и стимулирует их фагоцитарную активность. Интересно, что обработанные НК-4 макрофаги M_1 при инкубации вместе с апоптотическими клетками Jurkat E6.1 (Apo-J) переключались в фенотип M_2 за счет подавления секреции TNF- α и стимуляции продукции IL-10 [100, с. 223–234].

Наконец, лечение мышей с сахарным диабетом докозагексаеновой кислотой значительно улучшило заживление ДНЗР за счет стимуляции поляризации макрофагов в сторону фенотипа M_2 [108, с. 942e–950e].

В целом, поляризация макрофагов в сторону противовоспалительного типа значительно улучшает замедленное заживление ран.

Таким образом, различные подходы к модификации фенотипа макрофагов могут быть использованы в качестве терапии для лечения ДНЗР.

§ 1.4.2. Небольшие некодирующие молекулы РНК (микроРНК)

МикроРНК являются важными регуляторами иммунной системы. В частности, они контролируют реакцию макрофагов, моноцитов, дендритных клеток, гранулоцитов, тучных клеток, Т-клеток и других иммунных клеток, регулируя экспрессию множественных генов [141, с. 23-37].

С другой стороны, некоторые микроРНК, такие как микроРНК-21, микроРНК-424, микроРНК-31, микроРНК-221 и микроРНК-222, нарушают регуляцию в ДНЗР, что приводит к неадекватному иммунному ответу по сравнению с обычными ранами [176, с. 46–55].

Таким образом, посттранскрипционная модуляция экспрессии генов иммунных клеток путем восстановления нормальной экспрессии микроРНК путем повышения и/или понижения регуляции микроРНК может рассматриваться как рациональная комплементарная иммуномодулирующая терапия для улучшения ДНЗР. Это может включать доставку микроРНК,

встроенных в вирусные векторы, липосомы или биоматериалы, непосредственно в рану. MiR-146a является потенциальной мишенью, способствующей более быстрому заживлению ДНЗР [186, с. 64-67].

Подавление miR-146a значительно замедляет регенерацию ДНЗР у мышей с экспериментальной моделью сахарного диабета 2 типа по сравнению с подобными моделями патологического процесса, но без удаления гена miR-146a за счет усиления воспалительной реакции [76, с. 45-52]

Таким образом, лечение (2E,6E)-2,6-бис (2-(трифторметил) бензилиден) циклогексанон (С66) усиливало секрецию miR-146a и подавляло активность NF-κB при раневом процессе у животных с экспериментальной моделью сахарного диабета 2 типа, что приводило к противовоспалительной реакции [134, с. 56-62]

Более того, недавно miR-146a был конъюгирован с наночастицами оксида церия и нанесен непосредственно на диабетическую рану. Наночастицы оксида церия - miR146a ускорили заживление ДНЗР за счет уменьшения воспаления и увеличения ангиогенеза [244, с. 107–115].

Известно, что микроРНК-21 участвует в процессе регенерации ДНЗР [149, с. 88–95]. Уровень микроРНК-21-3p снижен у пациентов с сахарным диабетом 2 типа по сравнению со здоровыми, а лечение агонистом miR-21-3p стимулировало активацию фибробластов за счет снижения SPRY1 [240, с. 128–136].

Таким образом, перепроизводство микроРНК-21-3p является еще одной мишенью для лечения ДНЗР. В целом, модификация экспрессии микроРНК является новой мишенью для лечения ДНЗР.

§ 1.4.3. Цитокины, факторы роста и ингибиторы

В дополнение к регулированию воспалительной фазы заживления раны и ее устранению, новые подходы, основанные на трансплантации стволовых клеток и аллогенных кожных трансплантатов и заменителей, подчеркивают

важность иммуномодуляции для заживления хронических ран и профилактики генерализации инфекции [53, с. 1016–1018].

Для восстановления и регенерации тканей было применено несколько иммуномодулирующих подходов, нацеленных как на воспалительные факторы, такие как TNF- α , IL-1 и NF- κ B путь, так и на противовоспалительные факторы, такие как IL-4, IL-10 и TGF- β [209, с. 345]

TNF- α , который участвует в рекрутировании нейтрофилов и макрофагов, играет раннюю регуляторную роль в воспалительной фазе заживления раны. M. Ritsu и его коллеги [221, с. 211–219] сообщили о ранней экспрессии TNF- α в полноразмерных кожных ранах у мышей. Кроме того, авторы продемонстрировали замедленное закрытие раны, снижение количества воспалительных клеток и фибробластов в раневом ложе при лечении анти-TNF- α mAb, а также ускоренное заживление ран за счет доставки TNF- α .

Кроме того, гипергликемия может индуцировать продукцию TNF- α макрофагами M₁, а уровни данного цитокина повышается в кожных ранах у крыс с экспериментальной моделью сахарного диабета 2 типа. Применение нейтрализующих антител TNF- α и его антагониста увеличивало миграционную способность кератиноцитов и ускоряло заживление кожных ран у крыс сахарным диабетом 2 типа соответственно [68, с. 72–78].

Семейство IL-1 является еще одной важной терапевтической мишенью для регенерации ДНЗР. По данным D.P. Perrault и его коллег, IL-1 β является восходящим регулятором активности инфламмасом в раневых макрофагах, что предотвращает их поляризацию в сторону противовоспалительного фенотипа. Использование антагониста рецептора IL-1, в частности IL-1Ra, может оказывать иммуномодулирующее действие, останавливая передачу сигналов IL-1.

Исследованиями D.P. Perrault было показано, что анакинра, рекомбинантный антагонист IL-1R, ускоряет заживление диабетических ран за счет снижения инфильтрации макрофагов и нейтрофилов [33, с. 13–16].

Кроме того, J.L. Tap и коллеги сообщили о задержке закрытия диабетической раны по оси IL-1 – IL-1R1, которую можно преодолеть с помощью сконструированного внеклеточный матрикс-связывающего IL-1Ra.

Ингибирование молекул, которые чрезмерно производятся в ДНЗР и, таким образом, еще больше усложняют процесс заживления, является еще одним подходом в иммунологическом лечении. В частности, было доказано, что селективное ингибирование ММП-9, которые чрезмерно секретируются в диабетических язвах рекрутированными нейтрофилами, с ингибитором (R)-ND-336, ускоряет замедленное заживление ран, что делает ММП-9 потенциальной мишенью для лечебных мероприятий [231, с. 8825–8837].

Доставка экзогенных факторов роста может быть применена для лечения ДНЗР благодаря их функциям в усилении образования грануляционной ткани, стимуляции ангиогенеза и иммуномодуляции. Факторы роста, уровни которых были снижены в незаживающих ранах, такие как тромбоцитарный фактор роста (PDGF), фактор роста фибробластов и эпидермальный фактор роста, были основными кандидатами на доставку. Например, PDGF является решающим фактором заживления ран, который участвует в хемотаксисе нейтрофилов, моноцитов и фибробластов к месту повреждения на ранних стадиях заживления раны и участвует в сокращении коллагеновых матриц на стадии пролиферации [245, с. 207–217].

Соответственно, Regranex® — рекомбинантный фактор роста, полученный из тромбоцитов человека-BB, встроенный в гель — был одобрен FDA и EMA для местного применения при диабетических язвах стопы. Несмотря на то, что препарат Регранекс® продемонстрировал эффективность в лечении язв в плацебо-контролируемых исследованиях, повышенный риск нежелательных явлений, выявленных в период постмаркетингового наблюдения, привел к отзыву препарата Регранекс® с европейского рынка [245, с. 207–217].

Кроме того, семейство факторов роста фибробластов состоит из нескольких классов, участвующих в заживлении ран, таких как фактор роста

фибробластов-2, фактор роста кератиноцитов-2, фактор роста фибробластов-7 и другие. Например, фактор роста фибробластов-2 (также называемый основным фактором роста фибробластов), входящий в состав гидрогеля, криогеля, коацервата и биопленки, может ускорить заживление ран за счет увеличения пролиферации фибробластов, организации отложения коллагена, содействия ангиогенезу и миграции кератиноцитов и снижения провоспалительных факторов, таких как TNF- α и IL-6 [28,с.109–116]. Поэтому для лечения ожоговых, давящихся и диабетических язв стопы использовались рекомбинантные формы основного фактора роста фибробластов крупного рогатого скота и человека, такие как Fiblast Spray®. В другом исследовании микросферы полисахаридного гемостаза использовались для опосредования пролонгированного высвобождения фактора роста фибробластов-2 в модели полнослойного разрезания кожи у крыс [230, с. 1141–1150]

Лечение уменьшило воспаление и ускорило заживление ран, что было связано с большей биодоступностью и контролируемым его высвобождением [45]. В целом, регуляция иммунных клеток путем модуляции экспрессии различных цитокинов и доставки факторов роста является многообещающей стратегией в терапии ДНЗР [10, с. 135–143].

§ 1.4.4. Стволовые клетки

Методы лечения, основанные на технологиях стволовых клеток, в настоящее время активно исследуются в области регенеративной медицины [50, с. 122–130].

Экспериментальные доклинические и клинические исследования показали положительное влияние применение взрослых стволовых клеток при лечении ДНЗР и профилактики генерализации инфекции [6, с. 25–28; 203, с. 47].

Этот положительный эффект обусловлен уникальными свойствами стволовых клеток подавлять иммунный ответ, восстанавливать поврежденные

ткани и поддерживать местные клетки за счет секреции трофических и паракринных факторов [24, с. 45–50; 201, с. 47–53].

Различные исследования *in vivo* продемонстрировали хорошо организованное взаимодействие между секреторами стволовых клеток и медиаторами, обнаруженными в области раны, что привело к уменьшению размера рубца и уменьшению воспаления, а также к улучшению реэпителизации поврежденной ткани и отсутствию генерализации инфекции [119, с. 32–36].

Экзосомы, секретруемые стволовыми клетками, обладают той же биологической активностью, что и стволовые клетки, и, таким образом, также являются потенциальной мишенью для лечения ДНЗР.

Иммуномодулирующие свойства экзосом могут активироваться воспалительной средой. Экзосомы, полученные из жировых стволовых клеток, при лечении провоспалительными цитокинами, такими как $INF-\gamma$ и $TNF-\alpha$, усиливают свои иммуносупрессивные свойства и переключают поляризацию макрофагов в сторону фенотипа M_2 [109, с. 45–50].

Обработка ран микровезикулами, полученными из жировых стволовых клеток, значительно увеличивала продукцию фактора роста эндотелия сосудов, тромбоцитарного фактора роста-А, эпидермального фактора роста и фактора роста фибробластов-2 и, таким образом, усиливала эпителизацию, ангиогенез и отложение коллагена, что в конечном итоге приводило к ускорению заживления ран. Экзосомы, секретруемые стволовыми клетками жировой ткани, уменьшали размер язвы у мышей с диабетом, способствуя ангиогенезу, образованию зернистых тканей, иммуносупрессии и снижению белков, связанных с окислительным стрессом [150, с. 1–14].

Кроме того, было показано, что экзосомы из стволовых клеток, полученных из мочи человека, сверхэкспрессируют проангиогенный фактор $DMBT_1$ и, таким образом, способствуют ангиогенезу у мышей с экспериментальной моделью сахарного диабета [94, с. 1607–1623].

Стволовые клетки, полученные из липомы, являются еще одной мишенью в регенеративной медицине. Исследование *in vitro* показало, что секретомы стволовых клеток, полученные из липомы, активируют другие клетки, такие как макрофаги, и стимулируют сверхэкспрессию IL-10, подавляя при этом продукцию TNF- α [150, с. 1–14].

Взятые вместе, благодаря своим иммуносупрессивным функциям, стволовые клетки и их секретомы могут служить потенциальными инструментами регенеративной медицины для лечения ДНЗР [58, с. 417–422].

§ 1.5. Иммунологические основы эффективности применения методов контролируемого отрицательного давления при профилактике генерализации инфекции ран мягких тканей

В дополнение к доставке биологических препаратов, для ускорения регенерации ДНЗР были предприняты такие подходы к физиолечению, как гипербарическая оксигенотерапия, низкоуровневая лазерная терапия и электростимуляция, хотя и с непоследовательным успехом [63, с. 45–52, 189, с. 67–72].

Терапия ран отрицательным давлением [5, с. 117–122], также известная как вакуумное закрытие, является еще одним подходом к физическому лечению, который основан на дифференциальном отсасывании или создании вакуума в ранах для улучшения удаления жидкости, уменьшения отека и изменения микроокружения раны [12, с. 45–49].

Терапия ран отрицательным давлением продемонстрировала многообещающие результаты в ускорении регенерации длительно незаживающих ран, включая трофические язвы нижних конечностей сосудистого происхождения, нейротрофические язвы при синдроме диабетической стопы [35, с. 120–125].

Метаанализ рандомизированных контролируемых исследований, проведенный S. Lui с коллегами, оценил безопасность, экономическую эффективность и терапевтическую эффективность терапии ран

отрицательным давлением при лечении диабетических язв стопы [153, с. 45-49].

Анализ 11 исследований привел к выводу, что терапия ран отрицательным давлением имеет более высокую скорость полного заживления язвы, более быстрое заживление ран и значительное уменьшение площади раневой поверхности по сравнению со стандартными повязками, без существенного влияния на нежелательные явления.

В другом систематизированном обзоре M. Wynn и S. Freeman [242, с. 107–115] также было сообщено о лучших клинических результатах терапии ран отрицательным давлением по сравнению со стандартным лечением диабетических язв стопы.

Несмотря на то, что оба обзора включали ограничения, такие как методологические недостатки в исследованиях и противоречивые протоколы терапии ран отрицательным давлением, имеющиеся данные подтверждают эффективность вакуумного подхода к закрытию в качестве неинвазивного дополнительного лечения ДНЗР и предотвращения генерализации инфекции [242, с. 152–160].

Точные молекулярные механизмы, способствующие заживлению ран с помощью терапии отрицательным давлением, до конца не изучены [42, с. 152–160]. Тем не менее, изменения в экспрессии цитокинов и притяжении иммунных клеток относятся к иммуномодулирующим эффектам, оказываемым терапией ран отрицательным давлением. Например, было показано, что терапия ран отрицательным давлением останавливает усиление воспалительных стимулов раны за счет предотвращения чрезмерной выработки оксид азота, опосредованной индуцибельной синтазой данного соединения. Кроме того, терапия ран отрицательным давлением предотвращает активацию NF-κB путем ингибирования IκB-α и повышения регуляции ATF-3, что впоследствии снижает экспрессию провоспалительных цитокинов, таких как TNF-α и IL-6, и в свою очередь снижает риск развития генерализации инфекции [179, с. 1–10].

T. Wang и соавт. сообщают [180], что терапия ран отрицательным давлением снижает iNOS, IL-6 и TNF- α путем регуляции пути MAPK-JNK.

Местное лечение ран при помощи управляемого отрицательного давления способствует заживлению полнослойных дефектов кожи у мышей с сахарным диабетом за счет снижения количества макрофагов CD68+, снижения уровня провоспалительных цитокинов TNF- α , IL-6, IL-1 β и подавления аутофагии [181, с. 2341–2349].

Эти наблюдения подчеркивают роль иммуномодулирующих эффектов в терапевтическом механизме ускорения регенерации ДНЗР при терапии их отрицательным давлением [55, с. 165–173].

§ 1.6. Патогенез иммунологических изменений в генерализации инфекции

Медицина интенсивной терапии сепсиса продолжает развиваться. Каждый год обществом хирургической инфекции и критической медицины выпускаются обновленные руководящие принципы по диагностике и лечению сепсиса, что свидетельствует о прогрессе в исследовании фундаментальных механизмов развития данного грозного осложнения и расширения знаний в этой области медицины.

Определение сепсиса на сегодняшний день озвучено как опасное заболевание, характеризующееся дисфункцией органов, которая возникает в результате дисрегулируемой реакции хозяина на инфекцию [223, с. 258–271]. Еще больше подчеркивая его значение, Всемирная организация здравоохранения признала сепсис глобальным приоритетом в области здравоохранения [89, с. 258–271].

Центральным метом в патогенезе сепсиса является сложное взаимодействие между иммунной системой и соответствующими патогенами, начиная от бактерий и заканчивая вирусами и грибами. В результате такого взаимодействия, иммунный ответ, который изначально является защитным, может стать несбалансированным из-за постоянной стимуляции рецепторов распознавания образов (PRR), таких как Toll-подобные рецепторы (TLR),

нуклеотиды-связывающиеся доменные рецепторы олигомеризации (NLR) и рецепторы лектина типа С (CLR). Эти рецепторы обнаруживают молекулярные модели, связанные с патогенами (PAMP) и молекулярные модели, связанные с повреждением (DAMP), что в идеале приводит к устранению патогенов и восстановлению гомеостаза. Однако при сепсисе эта сбалансированная реакция часто нарушается, что приводит к чрезмерному воспалению и повреждению тканей, состояние, называемое «гипервоспалением» [70, с. 258–271].

Микробиом кишечника, жизненно важный для поддержания иммунного гомеостаза и защиты от патогенного вторжения, подвергается значительному нарушению при сепсисе. Дисбактериоз у пациентов с сепсисом характеризуется снижением микробного разнообразия и чрезмерным ростом оппортунистических патогенов, таких как *Enterobacter*, *Enterococcus* и *Staphylococcus*. Этот дисбиоз способствует повышению проницаемости кишечника и системной инфекции, влияя на функции отдаленных органов и системный иммунитет [128, с. 135–143].

В клинических условиях у пациентов с сепсисом часто наблюдается одновременное гипервоспаление и иммуносупрессия, что приводит к различным различным клиническим результатам, включая стойкое воспаление, иммуносупрессию и синдром катаболизма (PICS) у критически больных пациентов. Этот дихотомический ответ подчеркивает сложность и изменчивость патогенеза сепсиса, что требует персонализированных терапевтических подходов [193, с. 1491–1501].

Провоспалительная фаза при сепсисе, т.е. гипервоспалительная реакция, часто называемая «цитокиновой бурей», характеризуется интенсивным системным высвобождением цитокинов и других воспалительных медиаторов, что приводит к повреждению тканей и дисфункции органов. Эта фаза соответствует концепции синдрома системного воспалительного ответа (SIRS), но также признает потенциальный вред неконтролируемых воспалительных реакций.

Нейтрофилы играют жизненно важную роль на этом этапе, способствуя гипервоспалению через высвобождение протеаз и реактивных форм кислорода и формирование внеклеточных ловушек нейтрофилов (NET). В то время как NET необходимы для антибактериальной защиты, чрезмерный NETosis может привести к повреждению тканей, тромбозу и органной недостаточности [184, с. 1532–1535].

Инфламмосомы, высокомолекулярные белковые комплексы, центральные для иммунной системы, играют решающую роль в сепсисе. Эти механизмы активируют воспалительные каспазы и цитокины семейства IL-1. Их активация включает в себя различные компоненты, такие как рецепторы плазматической мембраны (например, P2 × 7R, panx-1), цитоплазматические медиаторы (ROS, TXNIP) и внутренние элементы, такие как NLRP и AIM2. Обнаружение PAMP и DAMP вызывает эти инфламмосомы, инициируя критический иммунный ответ против сепсиса [234, с. 872–905].

Регуляция активности инфламмосомы жизненно важна для модуляции иммунного ответа при сепсисе. Новые терапевтические стратегии сосредоточены на смягчении чрезмерной активации инфламмосом. Это включает в себя блокировку специфических рецепторов и ингибирование медиаторов, участвующих в их активации, а также нацеливание на обрабатываемые ими цитокины, такие как IL-1β и IL-18 [105, с. 633–652].

Противовоспалительная фаза, т.е. гиповоспалительная реакция, также называемый «иммунопараличом», характеризуется снижением иммунной реакции, что делает пациентов восприимчивыми к вторичным инфекциям и усложняет процесс восстановления. Эта фаза включает в себя подавление различных иммунных клеток, включая Т-клетки и В-клетки, их истощение и их перепрограммирование через эпигенетические изменения, что способствует восприимчивости к вторичным инфекциям и вирусной реактивации [211, с. 1829–1836].

Моноциты и макрофаги при сепсисе часто демонстрируют «терпимое» состояние, со снижением производства провоспалительных цитокинов и

измененной экспрессией генов из-за эпигенетических модификаций [230, с. 1141–1150]. Это состояние способствует иммунодепрессивной среде, наблюдаемой у пациентов с сепсисом.

Таким образом, сложность сепсиса в сочетании с индивидуальной изменчивостью иммунных реакций, на которую влияет состояние здоровья, генетическая предрасположенность и заражающие организмы, подчеркивает необходимость персонализированных терапевтических подходов в лечении сепсиса.

§ 1.7. Резюме по главе

Представленные в данной главе диссертационной работы основные сведения относительно роли и места иммунной системы в регенерации ран подтверждают о высокой значимости как врожденного, так и приобретенного компонента данной системы организма в исходе исследуемой патологии. Ряд исследований показал критическую роль иммунных клеток на всех четырех этапах восстановления тканей, включая реэпителизацию и ремоделирование тканей. Также показано, что нарушение регуляции их функций способствует образованию хронических ран и фиброзных рубцов.

Однако с клинической точки зрения, все вышеупомянутые сведения будут широко используемыми при условии возможности экстраполяции полученных результатов в практическую систему медицины. Так, попытка модулировать иммунную систему с целью улучшения заживления ран была успешно опробована многими исследовательскими группами.

Анализ литературных сведений, представленный в данной главе диссертационной работы, позволяет выделить ряд архиважных стратегических позиций относительно возможностей иммуномодулирующих стратегий, а именно: поляризация макрофагов, регуляция экспрессии микроРНК, ингибирование провоспалительных цитокинов и лечение противовоспалительными цитокинами. Эти стратегии часто используются в сочетании с другими методами для повышения их эффективности. В

частности, биологически активные вещества могут быть включены в биоматериалы, такие как наночастицы и криогели, что способствует их защите и контролируемому высвобождению.

Несмотря на положительные результаты, полученные в доклинических исследованиях, существует множество вопросов, которые необходимо учесть, прежде чем переводить вышеупомянутые методы лечения в клинические испытания. Прежде всего, животные модели, на которых были опробованы методы лечения, не могут в полной мере воспроизвести всю сложность ДНЗР человека. Снижена возможность проведения исследования в условиях ДНЗР и возможного развития генерализации инфекции.

Таким образом, иммунитет ран, а также процесс заживления у человека отличаются от раневого патогенеза у мышей, который чаще всего используется для исследования повреждений мягких тканей. Во-вторых, стратегии, которые модулируют иммунную систему, должны быть очень тщательно оценены с точки зрения безопасности, потому что они могут вызвать неправильный иммунный ответ. Например, эти методы лечения могут влиять на иммунный ответ в других местах, помимо ран, и влиять на иммунные состояния, присутствующие у пациентов, такие как инфекции, аллергии и аутоиммунные заболевания. Наконец, следует учитывать технические соображения потенциальных методов лечения, такие как методы доставки и техники применения, а также сроки терапии.

В целом, несмотря на то, что иммуномодулирующая терапия показала многообещающие результаты в доклинических исследованиях, ее переход к клиническим испытаниям может быть затруднен из-за сложности ДНЗР у человека, в связи с чем необходимо проведение дополнительных исследований. Более того, не до конца изученным остается большой аспект возможности прогнозирования и профилактики генерализации инфекции у больных с ДНЗР. Именно раскрытию этих не решенных вопросов посвящена наша работа.

ГЛАВА II. ХАРАКТЕРИСТИКА ОБСЛЕДОВАННЫХ ПАЦИЕНТОВ И ИСПОЛЬЗОВАННЫХ МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

§ 2.1. Общая характеристика больных

Материалом для исследования послужил анализ результатов обследования и лечения 169 больных с ДНЗР на базе клиники Бухарского государственного медицинского института за период 2010-2024 годы.

При этом все больные в зависимости от цели и поставленных задач были разделены нами на контрольную (84 больных) и основную (85 больных) группу.

Основным отличием групп больных было применение различных подходов в прогнозировании и профилактики генерализации инфекции при лечении ДНЗР.

Больные контрольной группы находились на обследовании и лечении в нашей клинике в период с 2010 по 2015 годы, а больные основной группы – в период с 2016 по 2024 годы.

Критериями включения больных в исследование были: возраст старше 18 лет, отсутствие беременности, наличие письменного согласия пациента на проводимые исследования и наличие ДНЗР.

Критериями исключения больных из исследования были: возраст моложе 18 лет, наличие беременности, отсутствие письменного согласия пациента на проводимые исследования.

Клинико-патогенетическая разновидность ДНЗР была представлена 65 (38,5%) больными с пролежнями различной локализации, нейротрофическими язвами у 55 (32,5%) больных с синдромом диабетической стопы и 49 (29%) больными с трофическими язвами нижних конечностей (преимущественно голени и тыльной поверхности стопы) у больных с посттромбофлебитическим синдромом. При этом, как и в общем значении, так и среди больных контрольной и основной преобладали пациенты с пролежнями различной локализации (таблица 2.1).

Таблица 2.1

Характер распределения больных в зависимости от клинико-патогенетической формы длительно незаживающей раны

ФОРМЫ ДНЗР	ГРУППЫ БОЛЬНЫХ				ВСЕГО	
	КОНТРОЛЬНАЯ		ОСНОВНАЯ		п	%
	п	%	п	%		
Пролежни различной локализации	29	34,5	36	42,4	65	38,5
Нейротрофические язвы у больных синдромом диабетической стопы	28	33,3	27	31,8	55	32,5
Трофические язвы после тромбоза	27	32,1	22	25,9	49	29
ИТОГО	84	49,7	85	50,3	169	100

Превалировали больные мужского пола (70,4%). Средний возраст больных составил $62,8 \pm 9,8$ лет (таблица 2.2).

Таблица 2.2

Характер распределения больных по полу и возрасту

ВОЗРАСТ И ПОЛ	ГРУППЫ БОЛЬНЫХ				ВСЕГО	
	КОНТРОЛЬНАЯ		ОСНОВНАЯ		п	%
	п	%	п	%		
18-20 лет	2	2,4	1	1,2	3	1,8
21-30 лет	3	3,6	1	1,2	4	2,4
31-40 лет	7	8,3	4	4,7	11	6,5
41-50 лет	14	16,7	11	12,9	25	14,8
51-60 лет	23	27,4	28	32,9	51	30,2
61-70 лет	32	38,1	36	42,4	68	40,2
71 лет и старше	3	3,6	4	4,7	7	4,1
ИТОГО	84	49,7	85	50,3	169	100
Мужчин	57	67,9	62	72,9	119	70,4
Женщин	27	32,1	23	27,1	50	29,6

При этом, как представлено на таблице 2.2, ДНЗР преимущественно были отмечены нами среди больных зрелого и наиболее трудоспособного возраста, что еще раз подтверждает социально-экономическую актуальность данной проблемы.

В общей сложности среди 169 больных с ДНЗР в ходе обследования было выявлено 389 сопутствующих заболеваний, с преобладанием среди больных основной группы (57,3%). Среди сопутствующих заболеваний наиболее частыми были патологии со стороны сердечно-сосудистой системы (32,4%) и эндокринной системы (25,2%), представленные преимущественно сахарным диабетом (таблица 2.3).

Таблица 2.3

Характер распределения частоты регистрации сопутствующих заболеваний у больных с длительно незаживающими ранами

СИСТЕМЫ ОРГАНИЗМА	ГРУППЫ БОЛЬНЫХ				ВСЕГО	
	КОНТРОЛЬНАЯ		ОСНОВНАЯ			
	п	%	п	%	п	%
Сердечно-сосудистая	58	34,9	68	30,5	126	32,4
Эндокринная	42	25,3	56	25,1	98	25,2
Центральная нервная	23	13,9	32	14,3	55	14,1
Дыхательная	14	8,4	19	8,5	33	8,5
Опорно-двигательная	12	7,2	18	8,1	30	7,7
Мочеполовая	11	6,6	17	7,6	28	7,2
Пищеварения	6	3,6	13	5,8	19	4,9
ИТОГО	166	42,7	223	57,3	389	100

В общей сложности на 1 больного приходилось по 2,3 ед. сопутствующих заболевания. При этом данный показатель среди больных основной группы составил 2,6 ед., а среди больных контрольной группы – 2,0 ед.

§ 2.1.1. Общая характеристика раневого процесса

Некробиотический процесс в ране преимущественно характеризовался наличием у больных некротического процесса. Так, сухой некроз было отмечен в 26% случаев, влажный некроз – в 10,1% случаев, а смешанный некроз – в 24,3% случаев. У 20 больных при поступлении в клинику отсутствовали какие-либо явные признаки некробиотического процесса в ране.

Среди больных с пролежнями преобладали (24,6%) процессы, связанные с образованием сухого некроза тканей раны (рисунок 2.1). При этом у большинства больных с нейроишемической язвой синдрома диабетической стопы воспалительный процесс преимущественно протекал на фоне некроза тканей (сухого – 36,4%, влажного – 9,1% и смешанного – 12,7%).



Рис. 2.1. Сухой некроз тканей длительно не заживающей раны

Что касается больных с трофическими язвами посттромбофлебитического синдрома нижних конечностей, то определенную закономерность в разновидности некробиотического процесса нам выявить не удалось. Тем не менее в суммарном значении нами так же выявлено преобладание (67,3%) некроза тканей различной патоморфологической формы. Между тем, воспалительный процесс без некроза тканей ДНЗР у больных с трофическими язвами было выявлено в 14 (28,6%) случаях, что также может считаться немаловажным в плане особенности течения данного вида патологического процесса.

Тип ткани в ложе ДНЗР так же отличался между больными в зависимости от типа некробиотического процесса. Для большинства больных с ДНЗР характерным было наличие как хрупкой и бледной (27,8%), так и плотной и красной (20,7%) грануляционной ткани. Относительно меньше

(19,5%) было отмечено наличие фиброзной пленки на поверхности раны. В одинаковой пропорции оказались случаи с наличием фиброзной ткани и струпа на поверхности раны (по 16%).

Среди больных с пролежнями преимущественно были (52,3%) больные с различным типом грануляционной ткани (рисунок 2.2) в сочетании со струпом (23,1%).



Рис. 2.2. Вид ДНЗР с грануляционной тканью

Меньше всего было отмечено наличие фиброзной пленки (13,8%) и фиброзной ткани (10,8%) на поверхности ДНЗР.



Рис. 2.3. Вид ДНЗР с образованием фиброза и струпа у больного с трофической язвой голени

У больных с нейроишемическими язвами на фоне синдрома диабетической стопы так же были отмечены приоритете больных с наличием хрупкой и бледной грануляционной тканью ДНЗР (34,5%). Однако наравне с этим, у почти половины (45,5%) больных с данным видом патологического процесса нами было выявлено наличие фиброзной плетки (20%) или ткани (16,4%), а также формирования струпа (9,1%) в раневом ложе (рисунок 2.3 и рисунок 2.4).



Рис. 2.4. Смешанный тип некроза длительно незаживающей раны стопы

Преимущественное (63,3%) поражение тканей наличием фиброза или струпа следует отнести больным с трофическими язвами нижних конечностей. Образование фиброзной пленки (26,5%) и фиброзной ткани (22,4%) в тканях ДНЗР было характерным для больных с трофическими язвами нижних конечностей после посттромбофлебитического синдрома.

Характер раневого экссудата был разнообразным, учитывая длительность процесса заживления и потребность в регулярном уходе за раной экссудация была снижена и в 26% случаев характеризовалась наличие серозно-геморрагического и в 21,9% случаев – просто серозного отделяемого. В остальных случаях отделяемое носила выраженный инфицированный, в том числе, гнойный характер. Такой вариант был отмечен нами в случаях обострения воспалительного процесса (рисунок 2.5).



Рис. 2.5. Характер экссудата длительно незаживающей раны

Средняя площадь ДНЗР составила $90,4 \pm 51,9$ мм². Столько большой диапазон колебания площади ран был обусловлен наличием как мелких язв стопы ($34,35 \pm 12,4$ мм²), так и обширных ДНЗР пролежней ($188,25 \pm 49,2$ мм²). Среднее значение площади ДНЗР превалировало среди больных основной группы при пролежнях и трофических язвах уступая больным контрольной группы лишь по размерам нейроишемических язв при синдроме диабетической стопы (таблица 2.4).

Таблица 2.4

Среднее значение площади и глубины длительно незаживающих ран

ФОРМЫ ДНЗР	ГРУППЫ БОЛЬНЫХ			
	КОНТРОЛЬНАЯ		ОСНОВНАЯ	
	Площадь (мм ²)	Глубина (ед.)	Площадь (мм ²)	Глубина (ед.)
Пролежни различной локализации	$182,3 \pm 42,9$	$3,9 \pm 0,4$	$194,2 \pm 38,9$	$4,1 \pm 1,1$
Нейротрофические язвы у больных синдромом диабетической стопы	$36,4 \pm 12,6$	$4,9 \pm 0,7$	$32,3 \pm 11,4$	$4,7 \pm 1,3$
Трофические язвы после тромбоза	$45,9 \pm 21,3$	$1,8 \pm 0,1$	$51,4 \pm 23,1$	$2,4 \pm 0,2$
СРЕДНЕЕ	$88,2 \pm 29,7$	$3,5 \pm 0,34$	$92,6 \pm 32,7$	$3,7 \pm 0,4$

Среднее значение глубины поражения тканей по Найтону составило $3,6 \pm 0,2$ ед. Наиболее глубокими оказались нейроишемические язвы на фоне синдрома диабетической стопы ($4,8 \pm 0,9$ ед.) и пролежни ($4,0 \pm 3,5$ ед.).

Трофические язвы по своей глубине приравнивались в среднем $2,1 \pm 0,1$ ед. что является характерным для данного типа поражения ДНЗР.

§ 2.1.2. Характеристика методов лечения

Лечение больных с ДНЗР было дифференцированным в зависимости от когорты. Так, у больных контрольной группы лечебные мероприятия соответствовали традиционным способам. Они включали в себя выполнение хирургической обработки гнойного очага и некрэктомии при наличии соответствующих показаний. Иссекали некротизированные ткани, а при наличии струпа – прибегали к выполнению к радикальной форме удаления некротизированных тканей. Также иссекали фибриновые ткани и пленки при покрытии их грануляционной ткани. Раневая поверхность тщательно санировалась антисептиками (3% раствор перекиси водорода, раствор Фурацилина в концентрации 1:5000, 0,1% раствор перманганата калия, 1% раствор Диоксидина) и накладывали повязки с мазями на водорастворимой основе (Левомеколь, Левосин). В дальнейшем, в зависимости от изменения фазы течения раневого процесса применяли повязки с растворами Бетадина или Фаргалса.

Общим методом лечения больных с ДНЗР было применение антибиотикотерапии, которую в первые сутки назначали эмпирически в комбинации цефалоспоринов 3-4 поколения, аминогликозидов и метронидазола. По мере поступления результатов микробиологического исследования на чувствительность микрофлоры раны вносили коррекции в схему назначений.

Патогенетическая терапия включала в себя применение медикаментозных средств (тромбоцитарных дезагрегантов, флеботонизирующих препаратов, периферических вазодилататоров, препаратов метаболического действия и иммуностропных средств).

Больные, имевшие сопутствующую соматическую патологию, при необходимости параллельно получали соответствующее терапевтическое

лечение, направленное на коррекцию соответствующей дисфункции основных жизненно важных органов и систем. Больные с генерализацией инфекции и развитии тяжелых форм сепсиса проходили лечения в условиях отделения реанимации и интенсивной терапии.

Комплекс лечебно-профилактических мероприятий у больных основной группы основывался на патогенетическом подходе в воздействии на течение воспалительного процесса в ране и предупреждение генерализации инфекции.

Хирургическую обработку раны (или дебридмент) проводили при наличии большого количества некротических тканей и фибрина. В дальнейшем по показаниям применяли повязки с воздействием контролируемого отрицательного давления (вакуумная терапия).

Для проведения сеансов воздействия на рану контролируемого отрицательного давления мы использовали пенополиуретановые повязки с микропорами в 400-600 микрон. Это позволяло обеспечить равномерное распределение контролируемого отрицательного давления по всей поверхности ДНЗР. Каждый сеанс применения контролируемого отрицательного давления проводился в режиме разрежения 0,1-0,15 атм. (76-115 мм рт.ст.) в течение 9-10 минут.

Еще одним методом воздействия на течение раневого процесса было применение лазерной фотодинамической терапии. Для этого, после завершения очередного сеанса вакуумной терапии на накладывали фотосенсибилизатор – 0,05% раствор метиленового синего относящийся к группе фенотиазинов с максимумом абсорбции λ_{max} (нм) – 668 нм с экспозицией 5 минут. Затем после смывания с раневой поверхности фотосенсибилизатора выполняли засвечивание раневой поверхности лазерным излучением с помощью аппарата «АЛТ-Восток» модель 03, соответствующий техническим условиям TSh 64-15302652-002:2010.

Общее профилактическое воздействие на возможную вероятность генерализации инфекции у больных с ДНЗР проводили путем применения препаратов Нейпоген® и Инфликсимаб по разработанной нами схеме.

§ 2.2. Дизайн исследования

Основной отличительной стороной между контрольной и основной групп больных были различные подходы в прогнозировании и профилактики генерализации инфекции у больных с ДНЗР. Именно такой подход в построении дизайна исследований отвечал основной сути цели диссертационной работы (рисунок 2.6).

В контрольной группе больных нами были проведены исследования, направленные в первую очередь на оценку результатов применения традиционных методов лечения.

В частности, на фоне общепринятых антибактериальных, дезинтоксикационных и симптоматических методов лечения применение активных хирургических тактик (некрэктомия) с последующими ежедневными перевязками различными водорастворимыми мазями (Левомеколь) и асептическими средствами (Фаргалс, Протаргол) в зависимости от фазы течения раневого процесса. Наравне с оценкой результатов применения традиционных методов лечения нами проводили целенаправленные исследования особенностей изменения клеточного и гуморального иммунитета как в общей системе крови, так локально в ране. Так же проводились другие традиционные методы исследования, позволяющие оценить особенности течения патологического процесса в ране, цитологических и морфологических изменений в процессе регенерации.

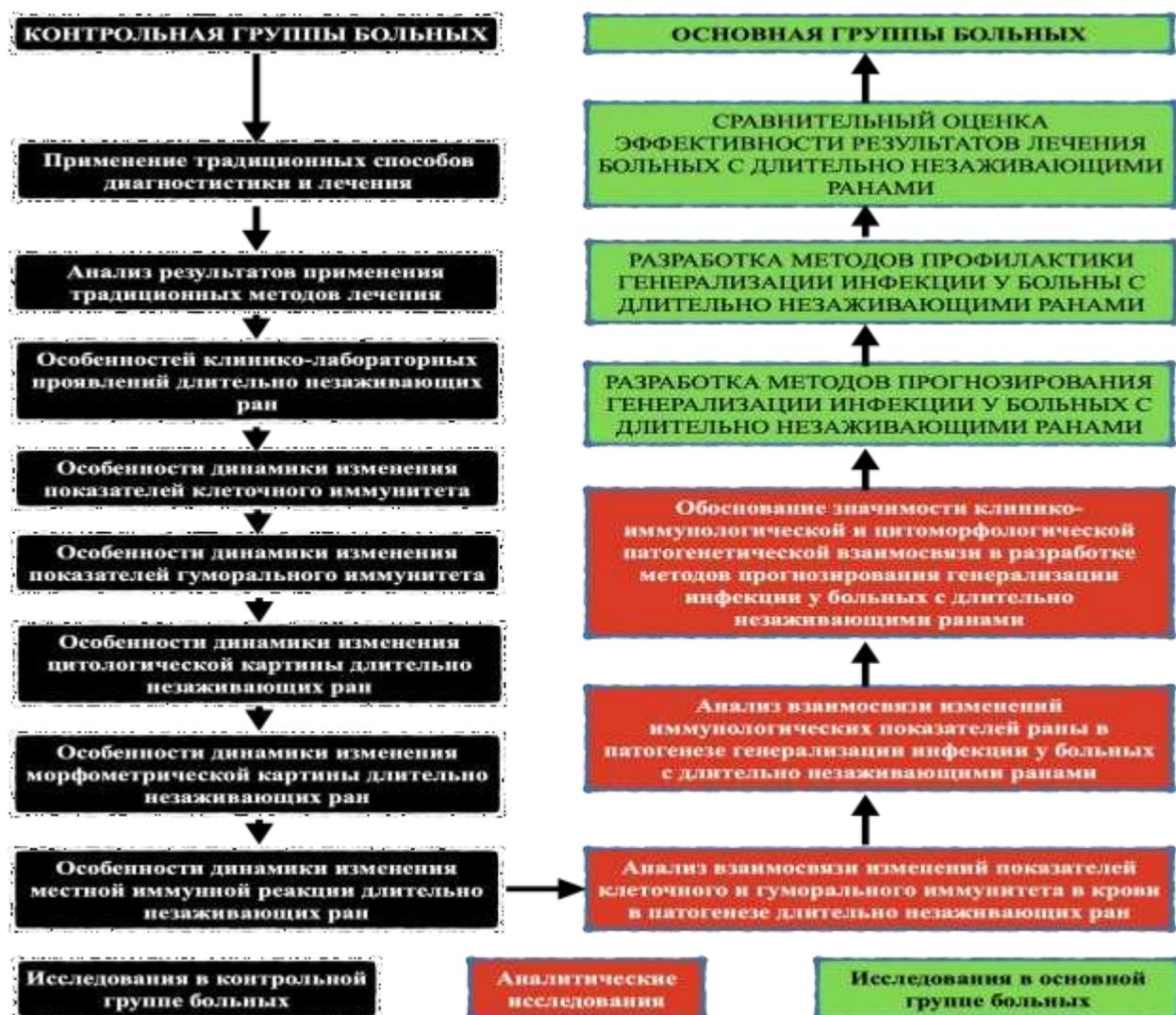


Рис.2.6. Общий дизайн исследований

На основании полученных данных, а также с учетом проведенного сбора материала по осложненному течению ДНЗР в виде генерализации инфекции, нами проведен аналитический этап исследования, направленный на выявление патогенетических механизмов перестройки местной и общей иммунной реакции организма при нормальном течении раневого процесса, а также в условиях развития генерализации инфекции.

Сделанные заключения позволили путем выявления корреляционной зависимости ключевых показателей построить матрицу для создания программного продукта позволяющего прогнозировать развитие генерализации инфекции.

В зависимости от степени прогностической вероятности нами разработан лечебно-диагностический и профилактический алгоритм, состоящий из дифференцированного подхода в применении местных и общих методов лечения, в том числе с учетом коррекции иммунных нарушений.

Заключительным этапом исследования был проведен сравнительный анализ эффективности разработанного прогностического и профилактического комплекса, позволяющий улучшить результаты лечения больных с ДНЗР.

§ 2.3. Общая характеристика методов исследования

Методы исследования были комплексными и состояли из двух крупных блоков: стандартные методы исследования, утвержденные протоколом оказания лечебно-диагностической помощи больным с ДНЗР и специальные методы исследования, исходящие из цели и задач данной диссертационной работы.

Клинические методы исследования включали в себя сбор жалоб, выявление анамнеза заболевания с особенностью течения раневого процесса на протяжении всего периода его развития. Обязательным этапом обследования больных было выявление как этиологической причины возникновения ДНЗР, так и наличие и тяжесть проявления сопутствующих заболеваний.

Общеклинические методы исследования включали в себя обязательное исследование уровня гемоглобина (г/л), эритроцитов ($\times 10^{12}/л$), гематокрита (%), лейкоцитов ($\times 10^9/л$), тромбоцитов ($\times 10^9/л$) и подсчет СОЭ (мм/ч) в крови при помощи анализатора Sysmex XN-1000 производства фирмы Sysmex (Япония).

Объем обязательных биохимических методов исследования сыворотки крови состоял из определения уровня мочевины (ммоль/л), креатинина (мкмоль/л), глюкозы (ммоль/л), билирубина общего и его фракций

(мкмоль/л), активности ферментов АЛТ (Ед/л) и АСТ (Ед/л) на биохимическом анализаторе Abbott Architect с8000 производства фирмы Abbott Laboratories (США).

Для определения частоты развития сепсиса и органной недостаточности, связанной с его наличием, мы использовали классификацию сепсиса по R.C. Bone [80-84], принятую за основу на согласительной конференции врачей пульмонологов и интенсивной терапии в США (Чикаго) в 1991 году [41]. Верифицированный диагноз сепсиса как осложнения ДНЗР ставился нами на основании клинико-патогенетических признаков, предложенных согласительной конференцией.

Бактериологические исследования проводились в научно-исследовательской лаборатории при клинике Бухарского государственного медицинского института. Материалом для исследования служили раневые отделяемые и кровь больного. Для выявления бактериемии кровь высевали в двух флаконах со средами для исследования аэробных и анаэробных микроорганизмов. Посев осуществляли в нескольких средах. Микроанаэроустат и чашки с 5%-ным кровяным агаром помещали в термостат, инкубировали при температуре +37⁰С в течение 48-72 час. Мазки окрашивали по Граму. Выросшие в аэробных и анаэробных условиях колонии сравнивали по их морфологии и по результатам микроскопии. Количественную оценку микрофлоры выполняли по методике В. И. Кочеровец и соавт. [30] и Gould [126]. Содержание микроорганизмов в 1 мл патологического материала (экссудата) выражали в десятичных логарифмах абсолютных чисел.

§ 2.3.1. Характеристика методов исследования раны

Местные клинические методы исследования ран были основаны на оценке характера некробиотического процесса в ДНЗР. Визуально оценивали наличие/отсутствием местного воспалительного процесса и типа некроза тканей (сухой, влажный или смешанный).

Определяли тип ткани в ложе ДНЗР, которая могла быть в виде плотной и красной грануляции, хрупкой и бледной грануляции, фиброзной пленки или ткани, а также в виде образования струпа.

Давали оценку характеру раневого экссудата (серозный, геморрагический, гнойный), его цвету (без цвета, от розового до красного, белый, сливочный и зеленый), консистенции (прозрачная, водянистая, кровянистая, водянистая и густая) и запах экссудата (имеется/не имеется).

Глубина раны оценивалась нами согласно классификации Найтона (2000). При данной классификации различали шесть степеней глубины поражения раной. Первая степень характеризовалась наличием поверхностной раны в пределах между эпидермальным и дермальным слоем кожи. Вторая степень характеризовалась поражением на уровне подкожной жировой клетчатки. При поражении фасциального пространства глубина раны приобретала третий уровень. При четвертой степени раневой процесс достигал до мышечного слоя тканей, а при поражении костно-сухожильных образований глубина раны приобретала пятую степень поражения. Шестая степень развития раневого процесса характеризовалась поражением полостных образований тела и внутренних органов.

Площадь ДНЗР определяли методом отпечатки раневой поверхности на подготовленную копировальную бумагу. Для этого использовалась специальная одноразовая стерильная бумага с миллиметровым делением на квадратики, которая используется для подсчета ожоговых поверхностей производства фирмы «N-Dess» (США). Миллиметровую бумагу накладывали на раневую поверхность и при помощи медицинского маркера обводили ее контуры. Полученное изображение переносили на масштабную миллиметровую бумагу с переносом скопированного изображения. Проводили подсчет миллиметровых квадратиков, которые приходились на внутреннюю часть ран. Затем проводили отдельный подсчет квадратиков, которые оказались на линии пересечения краев раны. Такой подсчет квадратиков позволял складывать их в сумму с разделением неполных

квадратиков на число 2. В целом формула подсчета площади раны выглядела следующим образом: $ПР=ПК+НПК/2$, где ПР – площадь раны ($мм^2$), ПК – количество полных квадратиков, НПК – количество не полных квадратиков.

Для оценки течения раневого процесса важное значение имеет качественная и количественная характеристика микробной обсемененности раны. В связи с этим нами проводилось определение видового спектра микрофлоры, выделяемой из раны. Определяли чувствительность выделенных микроорганизмов к антибактериальным препаратам при помощи посева на специальные диски с питательной средой. Количественную бактериологическую характеристику давали из расчета числе колоний образующих единиц на 1 см^2 раневой поверхности ($КОЕ/см^2$).

Для объективной оценки выраженности репаративных процессов ране нами проведено цитологическое исследование клеточного состава раневой поверхности. При чем был использован как качественный (морфологический), так и количественный (морфометрический) методы исследования.

Отпечатки ран, окрашенные по Романовскому-Гимзе исследовались световым микроскопом с объективом увеличения 10×40 . Подсчитывали гранулоциты (%), макрофаги (%), фибробласты (%) и лимфоциты (%). Наравне с подсчетом лейкоцитов, оценивали степень их дегенерации, число одноядерных и тучных клеток, клеточных и внеклеточных элементов ткани.

Оценка выраженности дегенеративных и регенеративных процессов в ране проводилась при помощи подсчета регенеративно-дегенеративного индекса, который рассчитывали по формуле $РДИ=(ПЯН+СЯН)/ДФН$, где ПЯН – количество палочкоядерных нейтрофилов, СЯН – количество сегментоядерных нейтрофилов, ДФН – количество дегенеративных форм нейтрофилов в поле зрения.

Патогистологические исследования проводились нами на 1, 7, 14, 28 сутки и на конечный срок лечения перед выполнением закрытия раны кожной пластикой.

§ 2.3.2. Характеристика иммунологических методов исследования

Специальные методы исследования в большей степени относились к иммунологическим и состояли из определения выборочных показателей клеточного и гуморального иммунитета в сыворотке крови и ране.

Для проведения иммунологических исследований забор крови осуществляли из локтевой вены в центрифужную пробирку, обработанную гепарином в количестве 5,0 мл. Нами 10 мкл были отобраны для подсчета лейкоцитов и лимфоцитов на камере Горяева с помощью краски Задорожного С.И. и Дозморова И.М. (1987). Мононуклеарные клетки из периферической крови получали путем выделения на градиенте плотности фиколл-верографина с плотностью 1,077г/л по Воум (1968). Число клеток подсчитывали в камере Горяева общепринятым методом под микроскопом и довели концентрацию лимфоцитов до 2×10^6 в 1 мл, жизнеспособность лимфоцитов определяли в тесте с 0,1%-ной трипановой синью.

Оценку состояния иммунной системы организма больных проводили по экспрессии антигенов CD-дифференцировочных и активационных. Определяли следующие маркеры иммунокомпетентных клеток: CD3⁺-, CD4⁺, CD8⁺-, CD16⁺-, CD20⁺-, CD23⁺-, CD38⁺-, а также CD25⁺-, CD95⁺-лимфоцитов. Экспрессию рецепторов CD проводили в реакции розеткообразования с помощью моноклональных антител серии LT производство ООО «Сорбент» (РФ) по методу Гариба Ф.Ю. и соавт. (1995).

Определение концентрации в сыворотке крови обследованных иммуноглобулинов основных трех классов М, А и G г/л проводили методом радиальной иммунодиффузии по Манчани (1963).

Интерлейкины (цитокины) определяли в сыворотке крови обследованных методом твердофазного иммуноферментного анализа. Для реализации этого варианта использованы по два моноклональных антитела с различной этиотропной специфичностью к интерлейкинам IL-1 β , TNF- α и TGF- β . Также в сыворотке крови определяли концентрации MIP-1 α , MIP-2 β и PDGF при помощи специальных наборов для иммуноферментного анализа по

стандартной методике на аппарате BioTek ELx800 производства фирмы BioTek Instruments (США).

Иммунологические исследования сыворотки крови проводились нами на 1, 7, 14, 28 сутки лечения больных.

Исследования местной иммунологической реакции ДНЗР включало в себя определение иммуноглобулинов G, A и M в смывах раны методом радикальной иммунодиффузии в геле с помощью моноспецифических сывороток по методу В. Manchini (1968). Концентрацию лизоцима в смывах раны определяли нефелометрическим методом по способу Г.Д. Дорофейчука (1968).

Местные иммунологические исследования проводились нами на 1, 7, 14, 28 сутки и на конечный срок лечения перед выполнением закрытия раны кожной пластикой.

§ 2.3.3. Методы оценки эффективности прогнозирования и профилактики генерализации инфекции у больных с ДНЗР

Прогностическую ценность разработанной диагностической программы определяли по методу, описанному Р. Флетчером [20] на основании расчета частоты встречаемости ложноотрицательных, ложноположительных, истинноположительных и истинноотрицательных результатов; специфичности и чувствительности теста, а также положительности достоверности или ожидаемая прогностическая ценность.

Критериями эффективности разработанных методов прогнозирования и профилактики генерализации инфекции у больных с ДНЗР были определение степени заживления раны. Данная методика была усовершенствована нами по аналогии разработки предложенной А.О. Охуновым [37], которые были усовершенствованы нами.

Самостоятельное заживление раны подразумевало полное закрытие раневой поверхности регенеративными тканями без каких-либо специальных пластических хирургических вмешательств (дермапластика).

Уменьшение размеров раны подразумевало очищение раны от некротических тканей с тенденцией к заживлению, но требующее применение дермапластики.

Рана не уменьшилась в размере подразумевало очищение раны от некротических тканей, но без какой-либо тенденции к уменьшению в размерах площади и в глубины патологического очага.

Усовершенствование варианты оценки включало в себя оценку количества применения кожной пластики для закрытия раны, частота генерализации инфекции, количество стационарных койко-дней и продолжительность амбулаторного лечения больных.

§ 2.3.4. Характеристика статистических методов исследования

Полученные результаты по мере их поступления систематизировали в сводной унифицированной таблице в программе Microsoft Excel, обрабатывали с применением программы Statistica for Windows (версия 5.12). В соответствии с целями и задачами исследования выполняли расчет элементарных статистических показателей (средние значения, ошибки средних, среднеквадратичные отклонения, размах разброса данных), построение и визуальный анализ диаграмм разброса данных. Показатели сравнивали с помощью знаков непараметрических критериев.

Интерпретация полученных результатов была основана на результатах выявления корреляционной связи между показателями по Пирсону и по Спирмену.

Достоверность различий между выборками, приближенных по характеру распределения к норме, устанавливали по параметрическому критерию Стьюдента с 95% достоверным интервалом вероятности. Критерием статистической достоверности получаемых выводов считали общепринятую в медицине величину $p < 0,05$.

ГЛАВА III. КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БОЛЬНЫХ С ДЛИТЕЛЬНО НЕЗАЖИВАЮЩИМИ РАНАМИ

§ 3.1. Особенности клинико-лабораторных проявлений длительно незаживающих ран

В контрольной группе больных ДНЗР были представлены пролежнями - 29 (34,5%) больных, язвенными образованиями у больных с синдромом диабетической стопы – 28 (33,3%) пациентов и трофическими язвами вследствие осложнения хронической венозной недостаточности нижних конечностей – 27 (32,1%) больных.

Характер некробиотического процесса в ране был разнообразным. В общей сложности среди больных контрольной группы лишь в 3,6% случаев (3 больных) воспалительный процесс в ДНЗР визуально отсутствовал. Они были представлены 2 (66,7%) больными с трофическими язвами нижних конечностей и 1 (33,3%) больным с пролежнями.

У 20 (23,8%) больных воспалительный процесс в ДНЗР присутствовал, однако он протекал без наличия некроза тканей. При этом такой вариант течения воспалительного процесса в ДНЗР был представлен в 65% случаев (13 больных) с трофическими язвами нижних конечностей, в 25% случаев (5 больных) – пролежнями и в 10% случаев (2 больных) – нейротрофическими язвами синдрома диабетической стопы.

В противовес этому в 72,6% случаев рана характеризовалась не только наличием воспалительного процесса, но и некрозом тканей. Так, в 36,9% случаев (31 больной) ткани ДНЗР были подвергнуты сухому некрозу, в 11,9% случаев (10 больных) – влажному некрозу и в 23,8% случаев (20 больных) – смешанному некрозу.

Больные с наличием сухого некроза в ДНЗР в основном были представлены случаями наличия язвенно-некротических язв при синдроме диабетической стопы (15 пациентов – 48,4%) и пролежнями (10 пациентов – 32,3%). Лишь у 6 (19,4%) больных сухой некроз был отмечен в трофических язвах с хронической венозной недостаточностью нижних конечностей.

Поражение ДНЗР влажным некрозом было отмечено нами среди 10 (11,9%) больных. В половине случаев (5 больных) они были представлены пролежнями, в 40% случаев (4 больных) – язвами при синдроме диабетической стопы и в 10% случаев (1 больной) – трофическими язвами венозной этиологии.

Развитие в ДНЗР влажного некроза на фоне не отторгнутого сухого некроза (смешанный некроз) было выявлено нами среди 20 (23,8%) больных, которые были представлены 8 (40%) больными с пролежнями, 7 (35%) больными с нейро-трофическими язвами синдрома диабетической стопы и 5 (25%) больными с трофическими язвами с хронической венозной недостаточностью нижних конечностей.

Для графической оценки клинического состояния ДНЗР мы распределили градации характера некробиотического процесса по баллам, которые отражали не только степень поражения тканей, но и протяженность этапов развития самого патологического процесса. Так, 0 баллов мы установили на все случаи отсутствия воспалительного процесса и некроза в ДНЗР; 1 балл – при наличии лишь воспалительного процесса без некроза тканей; 2 балла – при наличии воспалительного процесса и сухого некроза тканей в ДНЗР; 3 балла – при наличии воспалительного процесса и влажного некроза тканей в ДНЗР; 4 балла – при наличии сухого и влажного некроза на фоне воспалительного процесса в ДНЗР.

Как представлено на рисунке 3.1, среди больных с пролежнями преобладали случаи (34,5%) ДНЗР с наличием сухого некроза, а в меньшей степени (3,4%) были случаи с отсутствием воспалительного процесса в ране. Подобного характера изменений нами было выявлено и среди больных с нейротрофическими язвами синдрома диабетической стопы, где больше половины случаев (53,6%) у больных ДНЗР протекала на фоне воспалительного процесса с наличием сухого некроза тканей. При этом случаев с отсутствием какого-либо воспалительного явления среди больных с данным видом ДНЗР нами не отмечено.

■ Пролежни ■ Диабетические язвы стопы ■ Трофические язвы нижних конечностей



Рис. 3.1. Характер распределения больных в зависимости от некробиотических процессов в длительно незаживающих ранах

Среди больных с трофическими язвами нижних конечностей вследствие осложнения хронической венозной недостаточности преобладали (48,1%) случаи течения воспалительного процесса без некроза тканей, а меньше всего (3,7%) – воспалительный процесс протекал на фоне влажного некроза тканей ДНЗР.

Плотная и красная грануляционная ткань была выявлена нами среди 16 (18,6%) больных с ДНЗР. При этом в 68,8% случаев экссудат носил серозный характер, в 18,8% случаев – серозно-геморрагический, а в 12,5% случаев – геморрагический характер (рисунок 3.2). В то же время, у 21 (24,4%) больных мы диагностировали наличие хрупкой и бледной грануляционной ткани, которая в 19% случаев имела серозный экссудат, в 47,6% случаев – серозно-геморрагический, по 14,3% случаев – геморрагический и серозно-гнойный, а у 1 (4,8%) больного хрупкая и бледная грануляционная ткань имела гнойный экссудат.

Фиброзная ткань покрывала ДНЗР у 20 (23,3%) больных. Во всех случаях отмечалось выделение экссудата. У 8 (40%) больных экссудат носил геморрагический характер, а у 4 (20%) больных – серозно-геморрагический. По 3 случая (по 15%) приходилось на наличие серозно-гнойного и гнойного экссудата и только у 2 (10%) больных раневое отделяемое носило серозный характер.



Рис. 3.2. Частота регистрации вида экссудата и типа образующей ткани поверхности длительно незаживающих ран

Фиброзная пленка покрывала ДНЗР у 14 (16,3%) больных, а у 15 (17,4%) больных поверхность раны была покрыта струпом. И в том, и в другом случае, отделяемое из раны было либо серозно-гнойного (42,9%), либо гнойного (46,7%) характера.

Тип ткани в ложе ДНЗР клинически проявлялись наличием грануляционной ткани покрытая фибриновым струпом или пленкой и тесно была связана с характером раневого экссудата. Как показали наши исследования, при наличии плотной и красной грануляционной ткани, отделяемое из раны имела скудный серозный характер без запаха, водянистой консистенции, прозрачного цвета с желтым оттенком.

При наличии хрупкой и бледной грануляционной ткани, как показали наши исследования, характер раневого экссудата в основном был водянистым, серозно-геморрагическим, без запаха, скудным, от розового до светло-красного цвета.

В тех случаях, когда поверхность ДНЗР была покрыта фиброзной тканью, характер раневого экссудата носил геморрагический характер (консистенции крови) с умеренным образованием и без запаха. В отличие от нее фиброзная пленка в основном характеризовалась наличием серозно-гнойного, водянистого, в умеренном количестве отделяемым. Покрытие раны струпом приводило к образованию и продукции гнойного экссудата, который

зачастую имело густую консистенцию, от белого до зеленого цвета и имела неприятный запах.

Проведенные общие клинические лабораторные анализы крови не выявили достоверных различий между больными с ДНЗР в зависимости от этиологической причины его развития (таблица 3.1).

Таблица 3.1

Характер общих клинических лабораторных данных у больных с ДНЗР в зависимости от этиологии происхождения патологического процесса

ПОКАЗАТЕЛЬ	Ед.	ЭТИЛОГИЧЕСКАЯ ПРИЧИНА ДНЗР			СРЕДНЕЕ
		ПРОЛЕЖНИ	СДС	ПТФС	
Гемоглобин	г/л	98,7±24,9	108,5±18,9	119,5±25,3	108,9±23
Эритроциты	х10 ¹² /л	3,3±0,8	3,4±0,6	3,5±0,7	3,4±0,7
Гематокрит	%	47,5±1,6	43,3±2,9	44,0±3,0	44,9±2,5
Лейкоциты	х10 ⁹ /л	12,5±2,3	10,5±1,8	7,4±0,9	10,1±1,7
Тромбоциты	х10 ⁹ /л	316,8±21,8	382,7±33,4	418,5±41,7	372,7±32,3
СОЭ	мм/ч	12,7±2,5	9,4±2,1	11,5±2,8	11,2±2,5

Исключение составили биохимические показатели пациентов с язвенно-некротическим поражением синдрома диабетической стопы, что было связано с особенностями основного заболевания (таблица 3.2).

Таблица 3.2

Характер биохимических лабораторных показателей у больных с ДНЗР в зависимости от этиологии происхождения патологического процесса

ПОКАЗАТЕЛЬ	Ед.	ЭТИЛОГИЧЕСКАЯ ПРИЧИНА ДНЗР		
		ПРОЛЕЖНИ	СДС	ПТФС
Мочевина	ммоль/л	6,1±0,4	12,7±0,7	9,6±0,5
Креатинин	мкмоль/л	212,6±25,0	218,7±13,8	106,1±3,5
Глюкоза	ммоль/л	7,9±2,4	11,4±3,1	7,7±2,1
Билирубин	мкмоль/л	29,6±2,1	28,0±2,7	21,8±1,1
АЛТ	ед/л	65,9±8,4	70,5±6,4	59,7±5,7
АСТ	ед/л	60,8±5,2	68,4±7,2	58,3±4,2

Исследование микробной обсемененности раны у больных с ДНЗР выявила отсутствие каких-либо значимых характеристик с этиологической формой поражения (пролежни, синдром диабетической стопы или

трофические язвы голени). При этом суммарное содержание аэробных микроорганизмов в ДНЗР приравнивалось 10^6 - 10^7 КОЕ/мл (в среднем $6,5 \pm 0,08$ lg КОЕ/мл). Основными представителями идентифицированных микроорганизмов были факультативные кокки, энтеробактерии, синегнойная палочка и другие ассоциации. Наиболее часто высеивались стафилококки (25,6%), представители протеев (16,5%), синегнойная палочка (15,5%) и энтеробактерии (12,2%). Кишечная палочка высеивалась в небольшом количестве и составляла лишь 6-7%.

Среди анаэробных возбудителей в большей степени высеивались *B.melaninogenicus* ($22,0 \pm 0,8$ lg КОЕ/мл), *B. Fragilis* ($17,0 \pm 0,4$ lg КОЕ/мл), *F. nucleatum* ($10,0 \pm 0,2$ lg КОЕ/мл), *Peptostreptococcus* ($9,0 \pm 0,31$ lg КОЕ/мл), *Peptococcus* ($8,0 \pm 0,2$ lg КОЕ/мл) и *Eubacterium* ($3,0 \pm 0,1$ lg КОЕ/мл).

При оценке степени генерализации инфекции было выявлено, что признаки SIRS были отмечены не у всех больных (таблица 3.3).

Так, в 33,3% случаев (28 больных) вообще не имели какие либо общие признаки свидетельствующие о генерализации инфекции. Среди них основную часть составили больные с трофическими язвами венозной этиологии (46,4%). В остальных случаях дисперсия частоты регистрации количества больных без признаков синдрома системной воспалительной реакции оказалось почти идентичным между больными с пролежнями (28,6%) и больными с синдромом диабетической стопы (25%).

Таблица 3.3

Характер распределения больных с ДНЗР в зависимости от количества клиничко-лабораторных признаков SIRS

КОЛИЧЕСТВО ПРИЗНАКОВ SIRS	ЭТИЛОГИЧЕСКАЯ ПРИЧИНА ДНЗР						ВСЕГО	
	ПРОЛЕЖНИ		СДС		ПТФС			
	А.ч.	%	А.ч.	%	А.ч.	%	А.ч.	%
SIRS ₀	8	28,6	7	25,0	13	46,4	28	33,3
SIRS ₁	9	32,1	11	39,3	8	28,6	28	33,3
SIRS ₂	1	9,1	5	45,5	5	45,5	11	13,1
SIRS ₃	9	64,3	4	28,6	1	7,1	14	16,7
SIRS ₄	2	66,7	1	33,3	-	-	3	3,6
ИТОГО	29	34,5	28	33,3	27	32,1	84	100

По одному клиническому или лабораторному признаку SIRS имели 28 (33,3%) больных. Среди них преобладали больные с синдромом диабетической стопы (39,3%) и с пролежнями (32,1%). Больные с трофическими язвами венозной этиологии оказались всего 28,6% (рисунок 3.3).

Наиболее чаще нами были отмечены такие признаки как тахикардия (35,7% случаев) и общая гипертермия/гипотермия (28,6% случаев). У 7 (25%) больных был отмечен лейкоцитоз, а 3 (10,7%) пациентов еще и одышка в покое. Лейкоцитоз в больше половине случаев (57,1%) был отмечен нами среди больных с нейротрофическими язвами синдрома диабетической стопы. Подобная тенденция была отмечена и в дисперсии такого клинического признака как тахикардия (50%). Что касается частоты проявления одышки и гипертермии/гипотермии – то в данной категории дисперсии преобладали больными с пролежнями (66,7% и 50% соответственно).

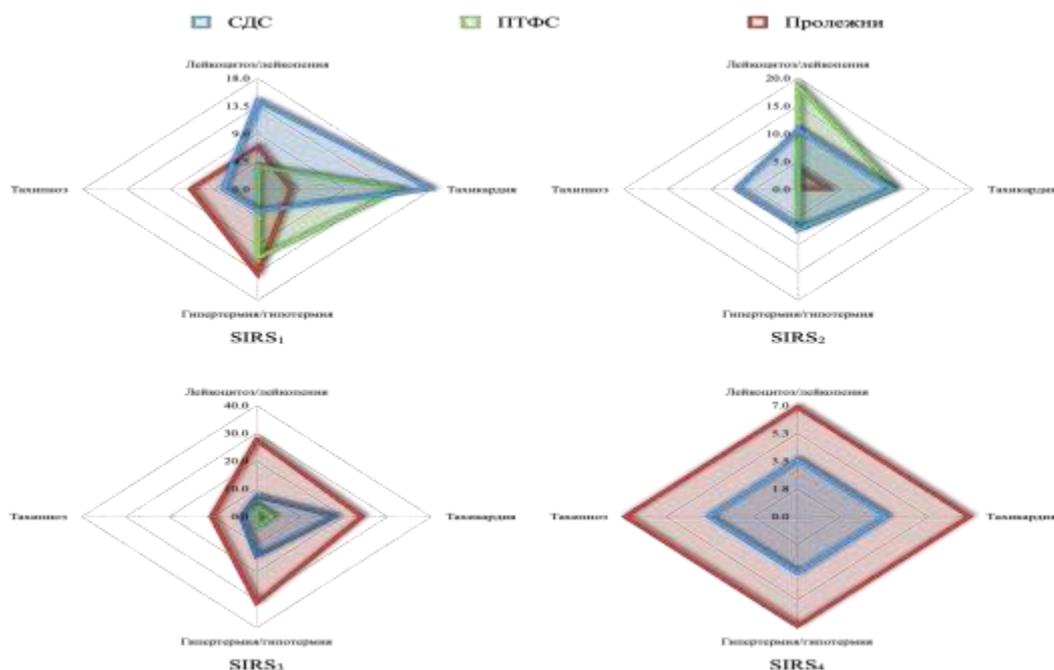


Рис. 3.3. Номограммы частоты проявления клинико-лабораторных признаков SIRS у больных с ДНЗР

SIRS в виде двух клинико-лабораторных признака диагностирован среди 11 (13,1%) больных. Они распределились равномерно (по 5 больных)

между больными с нейропатическими язвами вследствие наличия синдрома диабетической стопы и трофическими язвами посттромбофлебитического синдрома (по 45,5% соответственно). Среди больных с пролежнями таковых оказалось всего 1 клинический случай (9,1%).

Наиболее часто регистрировались такие клиничко-лабораторные признаки как лейкоцитоз/лейкопения (40,9%) и тахикардия (31,8%). Гипертермия/гипотермия была диагностирована в 18,2% случаев, а одышка – в 9,1% случаев.

Среди больных с лейкоцитозом преобладали пациенты с трофическими язвами вследствие венозной недостаточности нижних конечностей (55,6%) и с нейтрофическими язвами синдрома диабетической стопы (33,3%). При этом тахикардия была распределена между больными этих этиологических категорий в равной степени (по 42,9% соответственно). Такое же разброс оказался по отношению к гипертермии/гипотермии (по 50% соответственно).

Что касается больных с пролежнями, то следует отметить что у 1 больного были отмечены 2 клиничко-лабораторных признака SIRS в виде лейкоцитоза и тахикардии.

По 3 клиничко-лабораторных признака SIRS нами было выявлено среди 14 (16,7%) больных с ДНЗР. Больше половины (64,3%) из них были представлены больными с пролежнями. В 28,6% случаев (4 больных) – это были больными с нейтрофическими язвами стопы на фоне сахарного диабета и в 7,1% случаев (1 больной) – трофическими язвами вследствие наличия хронической венозной недостаточности нижних конечностей.

Дисперсионный анализ клиничко-лабораторных признаков в основном проявлялся комбинацией гипертермии/гипотермии (33,3%) и тахикардии (31%) с наличием лейкоцитоза/лейкопении (26,2%) или одышкой (9,5%). Они в основном были диагностированы среди больных с пролежнями. Так, например, лейкоцитоз/лейкопения среди больных с ДНЗР в 72,7% случаев был отмечен среди больных пролежнями. Такой расклад был отмечен нами и

по отношению к наличию одышки (75%), гипертермии/гипотермии (64,3%) и тахикардии (53,8%), что по видимому было обусловлено изначально комбинированным поражением мягких тканей.

Лишь у 3 (3,6%) больных с ДНЗР нами были выявлены по четыре клинико-лабораторных признака SIRS, которые были среди больных с пролежнями (2 больных) и синдромом диабетической стопы (1 больной).

Таким образом, анализ распределения больных в зависимости от количества клинико-лабораторных признаков SIRS, исходя из критериев постановки диагноза, позволил нам выявить наличие генерализации инфекции у 28 (33,3%) больных. При этом среди больных с пролежнями и с нейротрофическими язвами синдрома диабетической стопы их оказалось больше всего (41,4% и 36,7% соответственно). Это позволяет нам, с целью решения поставленной задачи, разделить больных контрольной группы на две подгруппы, в зависимости от характера течения воспалительного процесса: первую подгруппу составили 56 (66,7%) пациентов у которых были отмечены до 1 клинико-лабораторных признака SIRS или они отсутствовали так каково; вторую подгруппу составили 28 (33,3%) больных, у которых были отмечены от 2 и более признаков SIRS на фоне ДНЗР. Зачастую генерализация инфекции проявлялась в виде хронического сепсиса с органной дисфункцией, которая могла протекать под маской патологии пораженного органа. Примером может служить следующий клинический случай:

Пример 1. Больной С.С., 1963 года рождения, иб № 1854, обратился в нефрологическое отделение нашей клиники после длительного срока обследования и лечения в других стационарах с диагнозом хронический пиелонефрит в стадии обострения. Основные жалобы были на боли в поясничной области, частое мочеиспускание, периодическую гипертермию, сердцебиение, выраженную общую слабость. Больной на протяжении 2 лет страдает длительно заживающими язвами правой голени, которые появились после перенесенного тромбоза глубоких вен нижних конечностей (рисунок 3.4). Лечение получал в амбулаторных и стационарных условиях. За

последний месяц у больного появились отеки нижних конечностей и свободная жидкость в брюшной и в плевральной полостях, потеря веса. На ультразвуковом исследовании отмечены диффузные изменения в почках, умеренная спленомегалия, гидракальциноз. На рентгенографии органов грудной полости отмечался левосторонний экссудативный плеврит. В течение последних двух недель у больного увеличились шейные и подчелюстные лимфатические узлы. В анализах крови была выявлена гипопропротеинемия (39 г/л), диспротеинемия, повышение щелочной фосфатазы до 143 Ед/л, мочевины до 18,3 ммоль/л, креатинина до 82 мкмоль/л, лейкоцитоз до 16×10^9 /л, тромбоцитоз – 488×10^9 /л, эритроциты $4,7 \times 10^{12}$ /л, гемоглобин – 78 г/л. Бактериологический посев раны позволил идентифицировать золотистый стафилококк в титре 10^9 , при посеве мочи – идентифицирован золотистый стафилококк в титре 10^7 . Результаты гемакультуры отрицательные. Установлен диагноз: посттромбофлебитический синдром осложненный трофическими язвами правой голени. Хронисепсис с поражением почек. Пиелонефрит.



Рис. 3.4. Трофические язвы нижних конечностей у больного представленного в описании данного клинического примера

Как показал данный клинический пример, длительно текущее заболевание, которое сопровождалось неспецифической клинической картиной, требовало обязательного исключения бактериологического

фактора в развитии данного вида осложнения. В данном случае, вялотекущий воспалительный процесс ДНЗР привел к поражению почек в виде вялотекущих урологических заболеваний. По сути дела мы имели дело с хроническим сепсисом, который проявлялся не только признаками SIRS, но и органной дисфункцией.

§ 3.2. Сравнительная характеристика изменения основных показателей клеточного иммунитета у больных с ДНЗР в динамике применения традиционных методов лечения

При сравнительной оценке характера изменения основных параметров клеточного и гуморального иммунитета, все больные контрольной группы были разделены нами на две когорты (подгруппы): первая подгруппа - 56 (66,7%) больных, у которых ДНЗР протекали без генерализации инфекции, и вторая подгруппа – 28 (33,3%) больных, у которых ДНЗР осложнились генерализацией инфекции.

В среднем количество лейкоцитов в крови больных с ДНЗР колебалось в пределах верхних границ референсных значений и умеренного лейкоцитоза на протяжении всего раннего периода (1-7 сутки) проведенного лечения что было связано с наличием воспалительного процесса. На этом фоне было выявлено нами также повышение абсолютного (до $2355,5 \pm 122,35$ мкл) и снижение относительного количества лимфоцитов (до $25,82 \pm 1,3$ %) у больных с ДНЗР на момент обращения в клинику, что может свидетельствовать о снижении резистентности организма.

Исходное среднее значение лейкоцитов составляло $9,25 \pm 1,34 \times 10^9/\text{л}$ ($p < 0,05$ по сравнению с референсными значениями) с доверительным интервалом в пределах от $7,92 \times 10^9/\text{л}$ до $10,59 \times 10^9/\text{л}$, а на 7-сутки проведенного лечения нами отмечен рост количества лейкоцитов в крови до $9,66 \pm 0,84 \times 10^9/\text{л}$ ($p < 0,05$ по сравнению с референсными значениями). Начиная с 14-суток проведенного традиционного лечения ДНЗР отмечалось уменьшение лейкоцитов в крови до $9,03 \pm 0,65 \times 10^9/\text{л}$ ($p < 0,05$ по сравнению с

референсными значениями), а на 28-сутки данное значение уже колебалось в пределах референсных значений ($6,9 \pm 0,62 \times 10^9/\text{л}$).

По отношению к лимфоцитам крови следует отметить, что абсолютное их число в динамике проведенного традиционного лечения больным с ДНЗР изменялось волнообразно, снижаясь на 7-сутки до $2310,85 \pm 114,45$ мкл, с последующим резким повышением на 14-сутки лечения до $2713,35 \pm 60,15$ мкл. Что касается относительного числа лимфоцитов в крови, нами выявлен рост данного показателя на всем протяжении проведенного исследования, который достигал своего максимального значения на 28-сутки ($31,595 \pm 0,67$ %).

Дисперсия динамики изменения количества лейкоцитов в крови между больными первой и второй подгрупп выявило наличие лейкоцитоза у больных с генерализацией хирургической инфекции с нормализацией уровня лишь на 28-сутки проведенного лечения. Достоверные повышения абсолютного значения и низкие показатели относительного значения лимфоцитов в крови были характерны для больных с осложненной формой ДНЗР (таблица 3.4).

Таблица 3.4

Сравнительная динамика изменения показателей клеточного иммунитета у больных с ДНЗР в зависимости от наличия или отсутствия генерализации инфекции

ПОКАЗАТЕЛИ	ПОДГРУППЫ	ДИНАМИКА ИССЛЕДОВАНИЯ (сутки)			
		1	7	14	28
Лейкоциты ($\times 10^9/\text{л}$)	I	$6,24 \pm 1,75$	$7,13 \pm 0,98$	$6,19 \pm 0,63$	$5,97 \pm 0,55$
	II	$12,27 \pm 0,92^*$	$12,19 \pm 0,69^*$	$11,86 \pm 0,66^*$	$7,82 \pm 0,69^*$
Лимфоциты (мкл)	I	$1953 \pm 82,7$	$1952,7 \pm 60,9$	$1864,7 \pm 51,3$	$1761,6 \pm 51,9$
	II	$2758 \pm 162^*$	$2669 \pm 168^*$	$3562 \pm 69^*$	$2367 \pm 41^*$
Лимфоциты (%)	I	$30,49 \pm 0,98$	$31,51 \pm 0,97$	$32,7 \pm 0,88$	$32,9 \pm 0,82$
	II	$21,15 \pm 1,28^*$	$21,9 \pm 1,4^*$	$30,03 \pm 0,58^*$	$30,29 \pm 0,52^*$

* $p < 0,05$ – достоверно по отношению к показателям I подгруппы больных

Изучение относительного и абсолютного количества лимфоцитов, несущих на своей поверхности дифференцирующих маркеров CD3+ (Т-лимфоциты) показали, что они изменились разнонаправленно по отношению к референсным значениям. Если относительное количество CD3+-клеток в 1,2 раза достоверно снижаются до $50,51 \pm 1,25\%$ по отношению к референсным значениям ($p < 0,05$), то абсолютное количество этих клеток были достоверно повышенными до $1271,5 \pm 36,5$ мкл по отношению к референсным значениям в 1,1 раза ($p < 0,05$).

Рост относительного значения CD3+-клеток среди больных первой подгруппы в динамике проведенного лечения отличался прогрессирующим снижением абсолютного количества клеток. Что касается относительных значений CD3+-клеток среди больных второй подгруппы в динамике проведенного лечения среди больных второй подгруппы, нами было отмечено прогрессивный их рост. Однако относительно абсолютных значений динамика изменений количества CD3+-клеток среди больных второй подгруппы в динамике проведенного лечения имела волнообразный характер, с пиком максимального значения на 14-сутки исследования (таблица 3.5).

Таблица 3.5

Сравнительная динамика изменения относительных и абсолютных значений CD3+-клетки у больных с ДНЗР в зависимости от наличия или отсутствия генерализации инфекции

ЗНАЧЕНИЕ	ПОД-ГРУППЫ	ДИНАМИКА ИССЛЕДОВАНИЯ (сутки)			
		1	7	14	28
%	I	$57,64 \pm 1,31$	$58,63 \pm 1,2$	$59,21 \pm 2,8$	$55,4 \pm 1,3$
	II	$43,38 \pm 1,19^*$	$47,1 \pm 1,3^*$	$50,95 \pm 1,67^*$	$51,51 \pm 0,71^*$
мкл	I	1145 ± 37	1130 ± 23	1128 ± 25	1017 ± 24
	II	$1398 \pm 36^*$	$1257 \pm 35^*$	$1815 \pm 59^*$	$1219 \pm 17^*$

* $p < 0,05$ – достоверно по отношению к показателям I подгруппы больных

Необходимо отметить, что абсолютное количество иммунокомпетентных клеток лабильно, так как зависит от уровня лейкоцитов и лимфоцитов. Как видно из данных таблицы, абсолютные значения Т-лимфоцитов повышены относительно референсных значений, так как у больных наблюдается лейкоцитоз. Результатами наших исследований установлен Т-иммунодефицит у больных генерализованной формой ДНЗР.

Далее нами были изучены количественные содержания основные субпопуляции Т-лимфоцитов - Т-хелперы/индукторы (CD4+-клетки) и Т-супрессоры/цитотоксические лимфоциты (CD8+-клетки).

Как известно, именно эти клетки подвергаются дифференциации и пролиферации сразу после попадания антигена (патогенов) в организм человека. В таких ситуациях иммунокомпетентные клетки - CD4+-клетки и CD8+-клетки начинают выполнять свои функции по защите организма (таблица 3.6 и 3.7).

Таблица 3.6

Сравнительная динамика изменения относительных и абсолютных значений CD4+-клеток у больных с ДНЗР в зависимости от наличия или отсутствия генерализации инфекции

ЗНАЧЕНИЕ	ПОД-ГРУППЫ	ДИНАМИКА ИССЛЕДОВАНИЯ (сутки)			
		1	7	14	28
%	I	31,66±0,79	31,16±0,8	32,7±0,7	32,9±0,6
	II	26,15±2,91*	26,3±2,11*	27,96±0,89*	28,45±1,57*
мкл	I	618,6±17,2	619,6±16,1	721,6±18,4	743,9±19,8
	II	710±55,2	701±53	1067±32*	744±37

*p<0,05 – достоверно по отношению к показателям I подгруппы больных

Тенденция и направленность изменений относительного и абсолютного количества этих субпопуляций были такими же, как и у CD3+-лимфоцитов, но с разной интенсивностью. Дефицит относительного количества CD4+-клеток у больных было 1,2-кратным по отношению к референсным значениям (p<0,05), но дефицит CD8+-клеток было малозаметным –

снижение составило в 1,1 раза ($p < 0,05$). В обоих случаях абсолютные значения, как и у CD3+-лимфоцитов, были достоверно выше референсных значений ($p < 0,05$). На этом фоне иммунорегуляторный индекс (CD4+/CD8+) также был достоверно снижен у больных по отношению к норме ($p < 0,05$).

Таким образом, сравнительное изучение относительного и абсолютного количества Т- лимфоцитов (CD3+-клетки) и их регуляторных субпопуляций - Т-хелперов/индукторов (CD4+-клеток) и Т-супрессоров/цитотоксических лимфоцитов (CD8+клетки) показали, что у больных с ДНЗР параметры изменились с одинаковой тенденцией и разнонаправленностью. У всех клеток абсолютные количества у больных были достоверно повышенными по отношению к референсным значениям, однако относительные показатели имели обратную тенденцию.

Таблица 3.7

Сравнительная динамика изменения относительных и абсолютных значений CD8+-клеток у больных с ДНЗР в зависимости от наличия или отсутствия генерализации инфекции

ЗНАЧЕНИЕ	ПОД-ГРУППЫ	ДИНАМИКА ИССЛЕДОВАНИЯ (сутки)			
		1	7	14	28
%	I	23,14±0,74	23,22±0,68	24,11±0,55	23,9±0,52
	II	20,0±1,23*	18,1±1,14*	19,31±0,7*	20,6±1,85*
МКЛ	I	451,9±14,2	452,7±13	463,9±15,4	477,8±12,9
	II	543±33,7*	483±29*	688±25*	487±44

* $p < 0,05$ – достоверно по отношению к показателям I подгруппы больных

Учитывая участие CD38+-клеток в процессе старения, сахарного диабета и воспаления, мы сочли целесообразным определение лимфоцитов, несущих на своей поверхности маркер CD38+-клеток.

Полученные результаты показали, что относительное количество CD38+-лимфоцитов, в отличие от Т-лимфоцитов и их субпопуляций, повышаются по отношению к референсным значениям ($p < 0,05$). Идентичные показатели были получены и при анализе абсолютных показателей этих лимфоцитов ($p < 0,001$). Данный факт указывает, что в отличие от Т-

лимфоцитов и их субпопуляций функциональная активность CD38+-лимфоцитов усиливается, о чем свидетельствует увеличение их количества (таблица 3.8).

Таблица 3.8

Сравнительная динамика изменения относительных и абсолютных значений CD38+-клеток у больных с ДНЗР в зависимости от наличия или отсутствия генерализации инфекции

ЗНАЧЕНИЕ	ПОД-ГРУППЫ	ДИНАМИКА ИССЛЕДОВАНИЯ (сутки)			
		1	7	14	28
%	I	15,84±0,55	15,92±0,45	16,11±0,61	16,38±0,65
	II	20,44±1,07*	20,2±1,1*	21,72±1,54*	22,61±1,46*
мкл	I	309,6±11,3	312,5±13,9	344,7±12,1	319,9±14,7
	II	539±29*	555±26*	774±55*	535±35*

* $p < 0,05$ – достоверно по отношению к показателям I подгруппы больных

Если учесть, что CD38+-лимфоциты участвуют в процесс старения, сахарного диабета и воспаления, связанные с изученными нами больными с ДНЗР, то для изучения иммунного статуса рекомендуется включить данный параметр (CD38+-клеток) как дополнительный, высокоинформативный критерий иммунодиагностики генерализации инфекции (лица пожилого и старческого возраста).

Пиковый рост CD38+-клеток в крови был отмечен нами на 14-сутки проводимого лечения ДНЗР (до 559,35±33,55 мкл), а в дальнейшем идет спад до 427,45±24,85 мкл, который достигал исходных значений (424,3±20,15 мкл). Такой характер изменений был отмечен нами как среди больных первой подгруппы, так и второй. Между тем, у больных в случаи развития генерализации инфекции количество CD38+-клеток в крови было выше на всем протяжении проведенного исследования ($p < 0,05$).

Что касается динамики изменения относительной величины CD38+-клеток в крови то относительно стабильный уровень их на 1-7-сутки проводимого лечения (18,14±0,81% и 18,06±0,77% соответственно), в последующие сроки отмечался рост данной значения до 18,91±1,07% на 14-

сутки и до $19,49 \pm 1,05\%$ на 28-сутки лечения соответственно ($p < 0,05$). Такая картина изменения относительного количества CD38+-клеток в крови было отмечено по отношению к больным с ДНЗР, осложненные генерализацией инфекцией. Так же в данной дисперсии больных относительное количество CD38+-клеток в крови было больше, чем среди больных без генерализации воспалительного процесса.

Исходное относительное число В-лимфоцитов в виде маркеров CD20+-клеток и CD23+-клеток характеризовалось более низким числом среди больных первой подгруппы (таблица 3.9).

Таблица 3.9

Сравнительная динамика изменения относительных и абсолютных значений В-лимфоцитов у больных с ДНЗР в зависимости от наличия или отсутствия генерализации инфекции

ЗНАЧЕНИЕ	ПОД-ГРУППЫ	ДИНАМИКА ИССЛЕДОВАНИЯ (сутки)			
		1	7	14	28
CD20+ (%)	I	$19,42 \pm 1,39$	$19,23 \pm 1,12$	$18,99 \pm 1,14$	$18,75 \pm 1,18$
	II	$22,8 \pm 0,96^*$	$22,65 \pm 1,06^*$	$21,86 \pm 1,25^*$	$22,43 \pm 0,95$
CD20+ (мкл)	I	$379,8 \pm 27,9$	$362,5 \pm 26,1$	$355,1 \pm 26,9$	$348,9 \pm 25,5$
	II	$619,7 \pm 26,5^*$	$624,5 \pm 23,6^*$	$779,3 \pm 45,8^*$	$531,9 \pm 22,6^*$
CD23+ (%)	I	$19,42 \pm 1,39$	$19,23 \pm 1,12$	$18,99 \pm 1,14$	$18,75 \pm 1,18$
	II	$22,8 \pm 0,96^*$	$22,65 \pm 1,06^*$	$21,86 \pm 1,25^*$	$22,43 \pm 0,95$
CD23+ (мкл)	I	$379,8 \pm 27,9$	$362,5 \pm 26,1$	$355,1 \pm 26,9$	$348,9 \pm 25,5$
	II	$619,7 \pm 26,5^*$	$624,5 \pm 23,6^*$	$779,3 \pm 45,8^*$	$531,9 \pm 22,6^*$

* $p < 0,05$ – достоверно по отношению к показателям I подгруппы больных

Суммарное максимальное значение CD20+-клеток было отмечено при первичном обследовании больных с ДНЗР (до $21,11 \pm 1,175\%$), тогда CD23+-клетки увеличивались в численности на 28-сутки проводимой традиционной терапии (до $17,625 \pm 1,12\%$). Что касается абсолютного количества В-лимфоцитов по маркерам CD20+-клеток пик их количества, достигавших $567,2 \pm 36,35$ мкл проявлялось на 14-сутки проводимого традиционного лечения за счет больных с генерализированной формой инфекции. Такие же

перемены были отмечены нами и по отношению абсолютного числа CD23+-клеток ($529,25 \pm 28,715$ мкл) в данный срок. Их абсолютное число превалировали среди больных с генерализованной формой хирургической инфекции.

Таким образом, изучение и оценка параметров В-системы у больных с ДНЗР, осложненные хроническим сепсисом показали, что относительное и абсолютное содержание CD20+- и CD23+-клеток были достоверно повышенными у больных по сравнению к неосложненной формой течения заболевания.

Сравнительная характеристика параметров иммунной системы Т- и В-системы лимфоцитов показали, что у обследованных больных с ДНЗР, осложненные генерализацией инфекцией эти показатели изменились разнонаправленно, отмечали снижение содержания Т-системы лимфоцитов и увеличение концентрации В-системы лимфоцитов.

Таблица 3.10

Сравнительная динамика изменения относительных и абсолютных значений лимфоцитов с маркером активации, апоптоза и натуральных киллеров у больных с ДНЗР в зависимости от наличия или отсутствия генерализации инфекции

ЗНАЧЕНИЕ	ПОД-ГРУППЫ	ДИНАМИКА ИССЛЕДОВАНИЯ (сутки)			
		1	7	14	28
CD25+ (%)	I	$18,53 \pm 0,76$	$18,99 \pm 0,53$	$19,6 \pm 0,67$	$19,2 \pm 0,54$
	II	$15,33 \pm 1,19^*$	$15,69 \pm 1,22^*$	$16,3 \pm 1,08^*$	$15,8 \pm 0,92^*$
CD25+ (мкл)	I	$362 \pm 15,3$	$367,8 \pm 16,4$	$359,5 \pm 17,1$	$344,1 \pm 18,5$
	II	$417,9 \pm 32,6^*$	$452,5 \pm 29,5^*$	$581,9 \pm 37,9^*$	$374,6 \pm 23,1^*$
CD95+ (%)	I	$26,63 \pm 0,92$	$27,18 \pm 0,74$	$27,33 \pm 0,53$	$28,7 \pm 0,16$
	II	$19,58 \pm 1,28^*$	$19,38 \pm 1,27^*$	$20,96 \pm 1,76^*$	$20,19 \pm 1,53^*$
CD95+ (мкл)	I	$560,6 \pm 18,1$	$512,7 \pm 17,9$	$513,8 \pm 19,5$	$519,9 \pm 18,4$
	II	$527,6 \pm 35,3$	$612,9 \pm 29,1^*$	$747,9 \pm 38,4^*$	$478,7 \pm 36,5^*$
CD16+ (%)	I	$12,7 \pm 0,5$	$12,6 \pm 0,4$	$12,8 \pm 0,3$	$12,81 \pm 0,3$
	II	$17,82 \pm 1,01$	$17,91 \pm 1,01^*$	$21,69 \pm 0,47^*$	$22,08 \pm 0,42^*$
CD16+ (мкл)	I	$248,5 \pm 9,8$	$239,6 \pm 8,7$	$226,4 \pm 9,2$	$212,9 \pm 8,5$
	II	$484 \pm 26,9^*$	$522 \pm 21,8^*$	$773 \pm 18,5^*$	$523 \pm 11,6^*$

* $p < 0,05$ – достоверно по отношению к показателям I подгруппы больных

Это указывает на наличие дисбаланса показателей Т- и В-системы лимфоцитов, что может свидетельствовать о наличии определенной напряженности в иммунной системе больных. При этом снижение одного компонента иммунной системы организма может влиять на содержание другого компонента иммунитета, которые тесно взаимодействуют между собой.

На следующем этапе исследований был проведен анализ экспрессии некоторых активационных маркеров на поверхности лимфоцитов периферической крови, изученных у больных с ДНЗР.

Было проведено исследование особенности экспрессии маркера ранней активации лимфоцитов - CD25+-клеток, оценивали готовность клеток к апоптозу на основании определения содержания экспрессии CD95+-клеток.

Полученные результаты показали, что относительное количество лимфоцитов с маркером ранней активации (CD25+-клетки) было достоверно снижено у больных с ДНЗР, осложненные сепсисом. При этом абсолютное число данных лимфоцитов имела обратную тенденцию направленности (таблица 3.10).

Относительное значение CD95+-клеток в общей динамике проведенного лечения больных с ДНЗР лишь нарастало с $23,105 \pm 1,1\%$ на 1-сутки и до $24,445 \pm 0,845\%$ на 28-сутки лечения. У больных с неосложненной формой течения ДНЗР относительное значение CD95+-клеток на всем протяжении проведенного лечения была выше, чем в случае развития генерализации инфекции. Обратная картина была выявлена по отношению к абсолютному значению CD95+-клеток. Данная картина при оценке CD95+-клеток, отражала степень готовности клеток к апоптозу ($p < 0,05$).

Естественные киллерные клетки (NK-клетки) содержат на своей поверхности маркер CD16+ и отвечают за обнаружение и уничтожение опухолевых клеток. В наших исследованиях было выявлено повышение относительного и абсолютного числа CD16+-клеток, что свидетельствовало о наличии напряженности в иммунной системе.

Установлено, что, как и лимфоциты с маркерами активации (CD25+ и CD95+-клетки), CD16+клетки отмечались усилением функциональной активности, то есть их содержание было достоверно повышенным при развитии генерализации инфекции ($p < 0,05$).

Таким образом, изучение лимфоцитов с маркерами ранней активации (CD25+-клетки) и готовности клеток к апоптозу (CD95+-клетки), а также натуральных киллеров (CD16+-клеток) у больных с ДНЗР, осложненные сепсисом, показали разнонаправленное изменение в содержании этих клеток. Этот факт указывает, что все лимфоциты активизированы и иммунная система напряжена из-за патологического процесса.

§ 3.3. Характер и анализ изменения основных показателей гуморального иммунитета у больных с ДНЗР в динамике применения традиционных методов лечения

Динамика изменения суммарного значения иммуноглобулинов в крови больных с ДНЗР имела схожую тенденцию и направленность изменений показателей клеточного иммунитета.

Высокие титры иммуноглобулинов были отмечены нами уже на 1-сутки проведения традиционного лечения больных с ДНЗР ($14,72 \pm 0,85$ г/л). Такой же уровень иммуноглобулинов был отмечен нами и через 1 неделю проведенной терапии, которое так же превышало референсные значения ($14,74 \pm 0,51$ г/л). Лишь только на 14 и 28-сутки проводимого лечения нами было отмечено незначительное снижение суммарного значения иммуноглобулинов до $13,94 \pm 0,26$ г/л и до $13,97 \pm 0,29$ г/л соответственно.

Интересную тенденцию и направленность изменений мы наблюдали при сравнительном анализе содержания IgM, IgA и IgG в сыворотке крови у обследованных больных. Наибольшему увеличению были подвержены IgM (7,59% среди больных первой подгруппы и 15,95% среди больных второй подгруппы), где отличие от референсных значений составили 2,9 раза ($p < 0,001$), а наименьшему повышению подвержены IgG, где разница больных от данных референсных значений было в 1,1 раза ($p < 0,05$).

Уже на 7-сутки проведенного традиционного лечения процентное соотношение изменялось в пользу увеличения доли IgM до 12,7% (с $1,83 \pm 0,06$ г/л до $1,99 \pm 0,03$ г/л) и IgG до 66,62% (с $9,54 \pm 0,66$ г/л до $9,62 \pm 0,4$ г/л), тогда как удельный вес IgA снижался до 20,69% (с $3,35 \pm 0,13$ г/л до $3,13 \pm 0,08$ г/л). Однако уже на 14-сутки проводимого лечения картина дисперсии иммуноглобулинов по сравнению с предыдущим сроком изменялось коренным образом. Так, содержание IgM и IgA повышалось до 14,35% и до 21,17% приравнявась $2,16 \pm 0,04$ г/л и $2,94 \pm 0,06$ г/л соответственно, тогда как концентрация IgG в крови больных с длительно незаживающими ранами снижалась до 64,49% ($8,84 \pm 0,17$ г/л). Такая тенденция в изменении концентрации иммуноглобулинов было отмечено нами и на 28-сутки лечения больных только по отношению к IgA, который продолжал превышать свой удельный вес до 23,71% ($3,34 \pm 0,1$ г/л), на фоне снижения удельного веса IgM до 14,28% ($2,12 \pm 0,05$ г/л) и IgG до 62,02% ($8,52 \pm 0,14$ г/л).

Таблица 3.11

Сравнительная динамика изменения содержания иммуноглобулинов в крови у больных с ДНЗР в зависимости от наличия или отсутствия генерализации инфекции

ЗНАЧЕНИЕ	ПОД-ГРУППЫ	ДИНАМИКА ИССЛЕДОВАНИЯ (сутки)			
		1	7	14	28
IgM (г/л)	I	$0,94 \pm 0,03$	$0,98 \pm 0,02$	$1,02 \pm 0,01$	$1,11 \pm 0,05$
	II	$2,72 \pm 0,08^*$	$2,99 \pm 0,04^*$	$3,24 \pm 0,33^*$	$3,12 \pm 0,05^*$
IgA (г/л)	I	$2,11 \pm 0,06$	$2,13 \pm 0,04$	$2,22 \pm 0,03$	$2,24 \pm 0,02$
	II	$4,59 \pm 0,2^*$	$4,13 \pm 0,12^*$	$3,66 \pm 0,08^*$	$4,43 \pm 0,17^*$
IgG (г/л)	I	$9,33 \pm 0,22$	$9,22 \pm 0,19$	$7,12 \pm 0,17$	$6,32 \pm 0,13$
	II	$9,74 \pm 1,1^*$	$10,02 \pm 0,61^*$	$10,55 \pm 0,17^*$	$10,72 \pm 0,15^*$

* $p < 0,05$ – достоверно по отношению к показателям I подгруппы больных

Динамика изменения IgM в крови больных с ДНЗР, как представлено в таблице 3.11 стабильным повышением относительной величины среди больных первой подгруппы на всем протяжении проведенного исследования

(с 7,59% на 1-сутки лечения и до 11,48% на 28-сутки лечения). Однако среди больных второй подгруппы относительная величина IgM повышалась до 18,85% на 14-сутки лечения, но на 28-сутки величина была ниже чем на 7-сутки проведения лечения, что по-видимому было связано с регрессом генерализации инфекции.

Абсолютное число IgA у больных первой подгруппы повышалось незначительно на всем протяжении исследования, тогда как у больных второй подгруппы отмечалась обратная картина динамики с достижением минимального значения на 14-сутки проведенного традиционного лечения. Максимальное превышение IgA по отношению к референсным значениям до 1,2 раза было отмечено нами среди больных первой подгруппы и до 2,34 раза среди больных второй подгруппы на 28-сутки лечения (таблица 3.11).

Следует отметить, что динамика изменения относительной величины IgA была схожей с динамикой абсолютной величины данного иммуноглобулина как среди больных первой подгруппы, так и среди второй, хотя и отличалась уровнем ее продукции.

Относительно сравнительной динамики изменения абсолютного значения IgG между больными первой и второй подгрупп, то можно выделить их противоположную направленность в виде прогрессирующего снижения данного иммуноглобулина в крови среди больных первой подгруппы и повышения среди больных второй подгруппы. При этом среди больных второй подгруппы количество IgG значительно превышало уровень референсных значений, тогда как среди больных первой подгруппы таких изменений нами не отмечено. Это в свою очередь свидетельствует о более высокой чувствительности IgG у больных с генерализованной инфекцией течения ДНЗР. В относительном значении подобная динамика изменений была отмечена нами только среди больных первой подгруппы, когда процентная величина IgG снижалась с 75,36% на 1-сутки и до 65,36% на 28-сутки лечения. При этом среди больных второй подгруппы, при наличии генерализации инфекции, относительная величина IgG повышалась до 14-

суток лечения с 57,13% до 60,25%, а на 28-сутки проведенного лечения она снижалась до 58,68%, что свидетельствовало о начале стабилизации дисперсионных нарушений.

Общие значения IL-1 в крови на 1-сутки проведения традиционных методов лечения превышали референсные значения в 41,5 раз ($p < 0,01$), что было отмечено как по отношению к больным первой, так и второй подгрупп (таблица 3.12).

В последующие сроки проведения традиционного лечения концентрация постепенно снижалась в крови с $165,2 \pm 3,3$ пг/мл на 1-сутки лечения до $158 \pm 3,4$ пг/мл на 7-сутки лечения ($p < 0,05$). Даже на 14 и 28-сутки проведения традиционных методов лечения уровень IL-1 все еще оставалось высоким по сравнению с референсными значения в 38,2 раза ($p < 0,01$) и в 19,1 раза ($p < 0,05$). И хотя уже на 28-сутки применения традиционных методов лечения уровень IL-1 составлял $76,2 \pm 3,9$ пг/мл ($p < 0,05$), что было ниже по сравнению с 1-сутками в 2,2 раза, тем не менее, достижение нормальных значений не было.

Следует отметить, что к окончанию срока применения традиционного лечения нами была выявлена неоднозначная динамика в разнице концентрации IL-1. Так, если 1-сутки лечения у больных первой подгруппы уровень IL-1 был выше референсных значений в 29,7 раза ($p < 0,01$), то у больных второй подгруппы – в 53,5 раза ($p < 0,001$). При этом к 28-суткам проведенного традиционного лечения концентрация IL-1 в крови у больных первой подгруппы была больше референсных значений всего лишь в 3,6 раза ($p < 0,05$), то у больных второй подгруппы разница была все еще внушительная и составляла 35,8 раз ($p < 0,01$). В целом, применение традиционных способов лечения ДНЗР оказалось относительно эффективной у больных с неосложненной формой заболевания, тогда как при наличии генерализации инфекции, даже в отдаленные сроки исследования, нормализация концентрации IL-1 нами не отмечено ни в одном случае больных.

Интересными были результаты исследования TNF- α у больных с различными формами ДНЗР. Так, на 1-7 сутки проведенного традиционного лечения концентрация TNF- α оставалось на достаточно стабильном высоком уровне ($41,9 \pm 1,2$ пг/мл и $42,9 \pm 1,3$ пг/мл соответственно) что превышало референсные значения в среднем в 2,4 раза ($p < 0,05$). В последующие сроки концентрация TNF- α снижалось до $38,4 \pm 1,3$ пг/мл и до $38,3 \pm 1,2$ пг/мл соответственно, однако был выше референсных значений в среднем уже в 2,2 раза ($p < 0,05$) (таблица 3.12).

Таблица 3.12

Сравнительная динамика изменения содержания исследованных цитокинов (пг/мл) в крови у больных с ДНЗР в зависимости от наличия или отсутствия генерализации инфекции

ЗНАЧЕНИЕ	ПОД-ГРУППЫ	ДИНАМИКА ИССЛЕДОВАНИЯ (сутки)			
		1	7	14	28
IL-1	I	$117,5 \pm 1,9$	$84,4 \pm 2,1$	$51,6 \pm 1,8$	$12,4 \pm 1,9$
	II	$212,9 \pm 4,7^*$	$231,7 \pm 4,6^*$	$252,8 \pm 5,2^*$	$140,0 \pm 5,9^*$
TNF- α	I	$18,9 \pm 1,4$	$18,1 \pm 1,3$	$17,5 \pm 1,4$	$17,2 \pm 1,2$
	II	$64,8 \pm 1,1^*$	$67,6 \pm 1,3^*$	$61,8 \pm 1,1^*$	$59,4 \pm 1,2^*$
TGF- β	I	$11,1 \pm 0,9$	$12,2 \pm 0,3$	$14,7 \pm 0,4$	$16,4 \pm 0,3$
	II	$10,3 \pm 0,1^*$	$11,1 \pm 0,3^*$	$11,2 \pm 0,1^*$	$12,7 \pm 0,2^*$

* $p < 0,05$ – достоверно по отношению к показателям I подгруппы больных

При дисперсионном анализе результатов исследования TNF- α было выявлено, что у больных первой подгруппы концентрация данного цитокина уже на 14-сутки проводимого лечения достигало референсных значений. Однако у больных второй подгруппы даже на 28-сутки лечения, концентрация TNF- α в крови была выше референсных значений в 3,4 раза ($p < 0,05$).

Относительно изменения уровня TGF- β в крови больных с ДНЗР следует выделить низкие их значения на всем на протяжении проведенного исследования. В среднем, концентрация TGF- β в крови больных с ДНЗР на 1-сутки проведенного лечения была ниже референсных значений на 45,7%

($p < 0,05$), причем это значение было более выражено среди больных второй подгруппы. В дальнейшем нами отмечен рост концентрации TGF- β в крови и снижение его разницы с референсными значения, который происходил в основном за счет больных первой подгруппы. Так, уже на 7-сутки проведенного лечения концентрация данного показателя в крови больных с ДНЗР была ниже референсных значений уже на 40,9% ($p < 0,05$), а на 14-28-сутки лечения на 34,3% ($p < 0,05$) и 26,1% ($p < 0,05$) соответственно. Подобная динамика была отмечена нами так же и в разрезе подгрупп больных, однако они происходили в основном среди пациентов, у которых воспалительный процесс протекал без генерализации.

Еще один член семейства хемокинов CC с воспалительными и хемокинетическими свойствами в динамике применения традиционных методов лечения у больных с ДНЗР изменялся не однозначно. В целом нами было выявлено относительное снижение данного показателя в крови на протяжении 1-14 суток лечения (от 0,3% до 5,3%). При этом изучение фракций данного показателя выявило наличие противоположной тенденции изменений как среди MIP-1 α и MIP-2 β , так и между подгрупп больных (таблица 3.13).

Таблица 3.13

Сравнительная динамика изменения содержания других клеточно-гуморальных факторов (пг/мл) в крови у больных с ДНЗР в зависимости от наличия или отсутствия генерализации инфекции

ЗНАЧЕНИЕ	ПОД-ГРУППЫ	ДИНАМИКА ИССЛЕДОВАНИЯ (сутки)			
		1	7	14	28
MIP-1 α	I	12,8 \pm 0,3	13,7 \pm 0,4	14,1 \pm 0,3	15,5 \pm 0,2
	II	9,8 \pm 0,2*	9,3 \pm 0,1*	8,9 \pm 0,3*	11,1 \pm 0,4*
MIP-2 β	I	17,4 \pm 0,5	15,5 \pm 0,2	13,5 \pm 0,2	12,1 \pm 0,1
	II	19,7 \pm 0,3*	20,1 \pm 0,6*	20,3 \pm 0,5*	21,9 \pm 0,5*
PDGF	I	22,9 \pm 0,7	28,8 \pm 0,5	33,6 \pm 0,8	42,1 \pm 0,9
	II	9,2 \pm 0,3*	10,7 \pm 0,4*	12,8 \pm 0,2*	13,8 \pm 0,3*

* $p < 0,05$ – достоверно по отношению к показателям I подгруппы больных

Так, например, низкие значения, по отношению к референсным показателям МІР-1 α у больных первой подгруппы в ранние сроки проведенного лечения, в отдаленные сроки приводило к увеличению экспрессии, тогда как среди больных второй подгруппы – к снижению. Подобная обратная динамика была выявлена нами при исследовании МІР-2 β , которая проявлялась нарушением экспрессии в противоположном направлении.

Динамика изменения концентрации PDGF в крови в среднем характеризовалась повышением значения с $16,1 \pm 0,5$ пг/мл на 1-сутки лечения до $28,0 \pm 0,6$ пг/мл ($p < 0,05$) на 28-сутки лечения. Это приводило к сокращению разницы по отношению к референсным значениям с 46,5% на 1-сутки проводимого традиционного лечения ($p < 0,05$) до 6,8% на 28-сутки лечения ($p < 0,05$).

Характер нарушения экспрессии PDGF в крови у больных первой подгруппы, как представлено в таблице 3.13, на 1-сутки проводимого традиционного лечения проявлялся низкими значения относительно референсным на 23,7% ($p < 0,05$). Однако уже на 7-сутки лечения данное соотношение уже уменьшалось до 4% ($p < 0,05$), что свидетельствует о положительной динамике лечебных мероприятий. В то же время, среди больных второй подгруппы разница значения PDGF по сравнению с референсными данными отличалась низким уровне в порядке 69,3% ($p < 0,05$), которое постепенно уменьшалось до 54% ($p < 0,05$) не достигая нормы.

Таким образом, показатели гуморального иммунитета свидетельствовали о выраженном проявлении изменений при наличии генерализации инфекции у больных с ДНЗР. Такие изменения характеризуют определенную специфичность их изменений при констатации и прогнозирования генерализации инфекции.

§ 3.4. Резюме

Проведенные исследования иммунологических показателей крови свидетельствуют о наличие изменений, основу которой можно охарактеризовать как ответную реакцию на воспалительный процесс. Однако, как показали наши исследования клиничко-лабораторная картина течения ДНЗР, не всегда может проявляться наличием острой воспалительной реакции. Однако в случае возникновения воспалительной реакции по типу генерализации инфекции, то такой процесс протекает по типу хронического сепсиса, что так же не является типичным для описанных вариантов сепсиса.

Как показали наши исследования, значительные изменения были отмечены среди показателей клеточного иммунитета. У больных с ДНЗР нами выявлен дисбаланс Т- и В-лимфоцитов. Это в свою очередь может указывать на наличие напряженности в иммунной системе больных, особенно при развитии генерализации инфекции. При этом снижение одного компонента иммунной системы организма обуславливает повышение другого компонента иммунитета, тем самым дополняя функции друг друга.

При развитии генерализованной формы воспаления при ДНЗР относительные и абсолютные значения CD3⁺-клеток и их регуляторные субпопуляции CD4⁺- и CD8⁺-клетки изменялись с одинаковой тенденцией и разнонаправленностью. У больных с генерализованной формой воспалительного процесса ДНЗР абсолютное количество клеток было достоверно повышенным как по отношению к референсным значениям, так и к больным с неосложненным течением ДНЗР. В то же время обратные изменения были отмечены при анализе данных показателей по относительным значениям, что может свидетельствовать о специфической диспропорции иммунных клеток лимфоцитарного ряда даже в условиях отсутствия лейкоцитоза. Все это было подтверждено изменениями иммунорегуляторного индекса CD4⁺/CD8⁺, который изменялся достоверно

как по отношению к референсным значениям, так и по отношению самих подгрупп больных с ДНЗР.

На том фоне нами было выявлено усиление функциональной активности CD38⁺-лимфоцитов крови у больных с ДНЗР осложненные генерализацией инфекцией, что подтверждается ростом их численности с 1,3 раза до 1,8 раза по отношению к больным с неосложненной формой заболевания. Мы намеренно констатируем данный вариант изменения так как известно, что CD38⁺-лимфоциты участвуют в процессе старения организма, а также в развитии сахарного диабета и воспалительного процесса, в частности в виде хирургических диабетических осложнений. В этой связи мы считаем, что включение в диагностический стандарт определение CD38⁺-лимфоцитов в крови, при оценке степени развития воспалительного процесса, можно считать доказательным, в особенности у больных пожилого и старческого возраста.

У больных с генерализованной формой течения воспалительного процесса, как осложнение ДНЗР, нами было выявлено достоверное повышение относительного и абсолютного значения CD20⁺- и CD23⁺-клеток, что так же можно признать характерным признаком развития хирургического сепсиса.

Изучение динамики изменения лимфоцитов с маркерами ранней активации (CD25⁺-клетки) и готовности клеток к апоптозу (CD95⁺-клетки) показали сниженное их содержания на фоне достоверного повышения числа натуральных киллеров (CD16⁺-клеток), особенно у больных с ДНЗР, осложненные сепсисом. Традиционные лечебные мероприятия не оказывали желаемого положительного влияния на вышеуказанные иммунокомпетентные клетки. Наблюдение в течение 14-суток лечения также указали, что достоверного отличия клеток до и после лечения также не обнаружено, что указывает на отсутствие иммунокорректирующего эффекта примененного традиционного лечения.

Применение традиционных методов лечения у больных с ДНЗР привело к изменению почти всех значений по сравнению к первичному исследованию. Однако такие изменения в большей степени были отмечены по отношению к больным с ДНЗР, у которых воспалительный процесс протекал без генерализации инфекции. Это в свою очередь свидетельствует о недостаточной иммунокорректирующей терапии на протяжении всего срока лечения.

ДНЗР, осложненные генерализацией инфекции, отличались иммунодефицитным состоянием В-лимфоцитов и лимфоцитов в целом. Даже в условиях проведения традиционных методов лечения больных с ДНЗР полноценной эффективности в системе иммунокоррекции нами не достигнуто. Это в свою очередь, несмотря на ликвидацию генерализации инфекции, все еще оставляет за собой переход в затяжную форму заболевания и высокого удельного веса возможности рецидива острого процесса.

Характерные изменения были выявлены нами и по отношению к содержанию в сыворотке крови исследованных иммуноглобулинов IgM, IgA и IgG. При этом наибольшее увеличение среди них нами было отмечено по отношению к IgM, уровень которого повышался в 2,9 раза среди больных с ДНЗР, осложненные сепсисом по отношению к референсным значениям. На этом фоне наименьшие изменения были отмечены по отношению к IgG, который изменялся наименьшим образом (в порядке в 1,1-1,2 раза). Проведенное традиционное лечение данной категории больных не оказывал положительного иммунокорректирующего эффекта. Даже через 2 недели эти параметры не доходили до результатов референсных значений у больных с ДНЗР, осложненные генерализацией инфекции, что указывает на отсутствие у больных длительного восстанавливающего влияния традиционного лечения тяжелых форм заболевания на иммунный статус, как и на В-лимфоцитарную клеточную систему иммунитета.

Исследованный цитокиновый профиль по некоторым показателям выявили их дисбаланс в виде увеличения и уменьшения экспрессии у больных с ДНЗР, в особенности при условии возникновения генерализации инфекции. Такие изменения были высоко достоверными по отношению ко всем срокам исследования.

Таким образом, проведенные исследования изменения клинических и лабораторных проявлений ДНЗР, осложненные генерализацией инфекцией, а также динамика изменения показателей клеточного и гуморального иммунитета позволило выявить не состоятельность эффективности методов традиционного лечения, выражающаяся недостаточной иммунокорректирующей терапией. Стихание генерализованной формы заболевания все еще может таить в себе возможность рецидива воспалительного процесса, который в силу своей цикличности приобретает форму хронического сепсиса. Как показали полученные результаты, а также конкретные клинические примеры, такой вид заболеваний трудно диагностируется и исход становится не предсказуемым. В этой связи, мы считаем, что разработка методов прогнозирования генерализации инфекции у больных с ДНЗР, наравне с изучением параметров изменения клеточного и гуморального иммунитета, должна быть построена с учетом цитологических и морфометрических исследований в самой ране, чему посвящена следующая глава диссертационной работы.

ГЛАВА IV. ХАРАКТЕР И АНАЛИЗ ИЗМЕНЕНИЯ МОРФОЛОГИЧЕСКОЙ И МЕСТНОЙ ИММУНОЛОГИЧЕСКОЙ КАРТИНЫ ДНЗР

§ 4.1. Характер и анализ изменения цитологической картины ДНЗР

Общей морфологической картиной для всех ран в исследованных группах было наличие хронического воспалительного процесса, который включал в себя все три фазы раневого процесса. ДНЗР характеризовались тем, что их дно как обычно было покрыта как фибрином, так и грануляционной тканью. Местами отмечалось наличие некротических изменений тканей по типу «некротические островки» и гнойное отделяемое под ними. Грануляционная ткань у больных с ДНЗР обычно была вялого роста, бледного цвета. Краевые поверхности длительно незаживающих ран были уплотнены по типу кратеров с эпителизацией, а порой даже с гиперкеротизацией.

Цитологическая характеристика раневой поверхности больных с ДНЗР во все сроки проводимого лечения определялась воспалительным фоном, состоящего из детритов преимущественно жировой и белковой природы. Все они образовывали основу имеющих дистрофических и некротических изменений тканевых структур длительно незаживающих ран. На фоне таких преобразований цитологической картины нами выявлялись преимущественно клетки воспалительного ряда, в особенности среди больных с обострением течения хронического раневого процесса.

Цитологическая картина ДНЗР на 1 сутки проводимого лечения имела особенность, характеризующаяся тем, что тканевые элементы поверхности ДНЗР, покрытые белковыми фоновыми структурами, находились под воздействием микроорганизмов и тем самым поддерживали воспалительную реакцию в тканях. Такие изменения определялись в виде некробиотических проявлений и деструкции клеток. При этом, присутствующие в ране микроорганизмы образовывали колонии, что явно свидетельствовало о растущей бактериальной нагрузке на ткани.

Характерным являлось наличие вакуолизации и разрыхления ядерных и цитоплазматических структур. Местами они имели характер разрыхления и гомогенизации. Как представлено на рисунке 4.1, на фоне определяющихся нейтрофильных лейкоцитов, идентифицируются разрушенные белые клетки крови, состоящие из лимфоцитов, а также наличием местами различных бактериальных частиц. В фоновом пространстве выявляются белковые элементы.

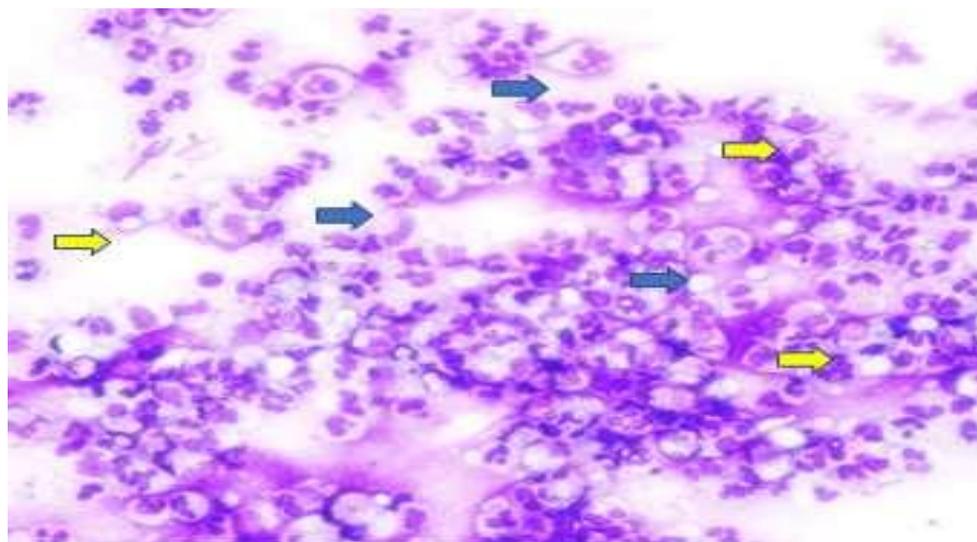


Рис. 4.1. Мазок отпечатки ДНЗР больного А.А. 1967 года рождения, история болезни № 1543, забор материала на 1 сутки проводимого лечения. Окраска по методу Рамоновского-Гимза. Увеличение: ок.10, об. 40.

Для цитологической отпечатки раны в данный срок проведенного исследования характерным было наличие в периферических участках на границе с кожей поврежденных коллагеновых нитей, которые явно не достигали своей прочности.

Определенного рода повышенная активность была выявлена по отношению к гистиоцитарным клеткам, которые характеризовались некоторой активацией в форме увеличения в размерах цитоплазмы и приобретением их ядер гиперхроматических свойств.

На рисунке 4.2 представлена цитологическая картина ДНЗР больного на 7 сутки проводимого лечения, где на фоне белковых веществ и разрушенных лейкоцитарных клеток идентифицируются нейтрофилы и гистиоциты. При этом цитоплазма клеток расширена за счет гиперхромазии их ядер.

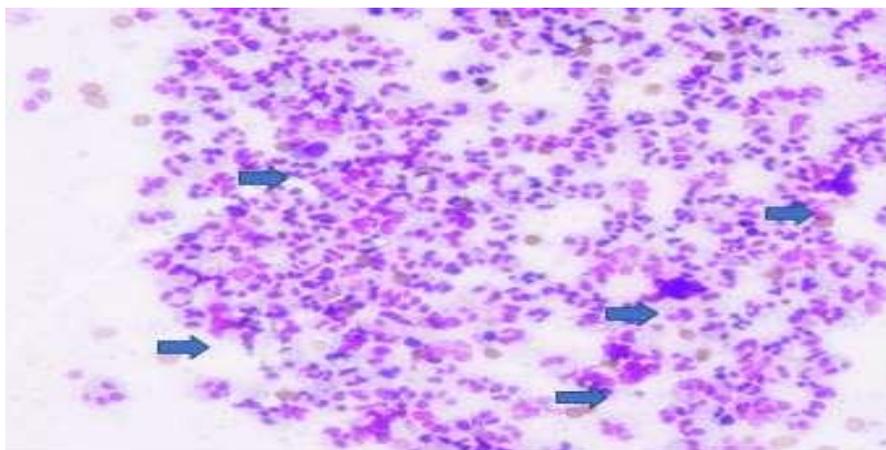


Рис. 4.2. Мазок отпечатки ДНЗР больного А.А 1967 года рождения, история болезни № 1543, забор материала на 7 сутки проводимого лечения. Окраска по методу Ромоновского-Гимза. Увеличение: ок.10, об. 40.

На 7 сутки течения гнойно-воспалительного процесса в цитологическом материале ДНЗР преобладали полинуклеарные лейкоциты. В ране все еще сохраняются нейтрофилы, преимущественно сегментоядерные типы клеток. Все они находятся в гиперхроматическом состоянии. Вокруг них определяются разрушенные лейкоциты и лимфоциты, которые расположены беспорядочно местами скученно, местами диффузно.

Рост капилляров был значительно снижен, что видимо было обусловлено продолжающимся процессом ремоделирования.

В более поздние сроки проводимого лечения цитологических отпечатки раны можно было отметить наличие лейкоцитарной инфильтрации гистиоцитарных и лимфоидных клеток. Так, на 14 сутки проводимого лечения в цитологической картине отпечатков ДНЗР нами выявлялся определенный фон, который был образован за счет белковых веществ

находящиеся в уплотненном состоянии. Выявляемые клетки в ране характеризуются наличием преимущества нейтрофилов, лимфоцитов и гистиоцитов (рисунок 4.3).

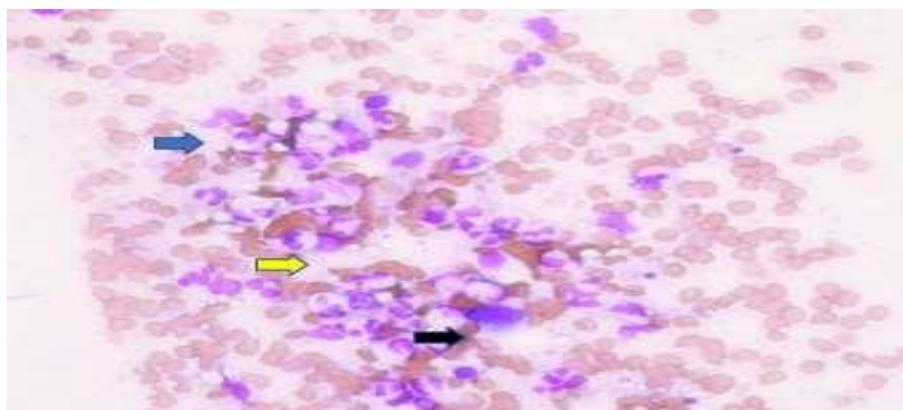


Рис. 4.3. Мазок отпечатки ДНЗР больного А.А. 1967 года рождения, история болезни № 1543, забор материала на 14 сутки проводимого лечения. Окраска по методу: Ромоновского-Гимза. Увеличение: ок.10, об. 40.

В случае, когда среди клеточных элементов обнаруживали слабоокрашенные белковые суспензиальные вещества, то этот факт свидетельствовал о наличии некроза.

Также в препаратах были видны внеклеточные гранулы и глыбки бесструктурных масс детрита различной величины. Детрит имел сероватый оттенок при его белковом происхождении. Желтоватый оттенок свидетельствовал о наличие некротического вещества жирополипидной природы. Характер детрита и белковой массы в составе цитологического препарата определял вид бактерий. При наличии бесструктурных масс жирополипидной природы, инфекция была вызвана грамположительными кокками, которые, естественно, снаружи покрывается липосахаридной оболочкой.

На рисунке 4.4 видно, что на фоне обнаруживаемых клеток крови, таких как лейкоциты и лимфоциты, которые находятся в разрушенном состоянии, прослеживаются элементы разрушенной структуры микроорганизмов.

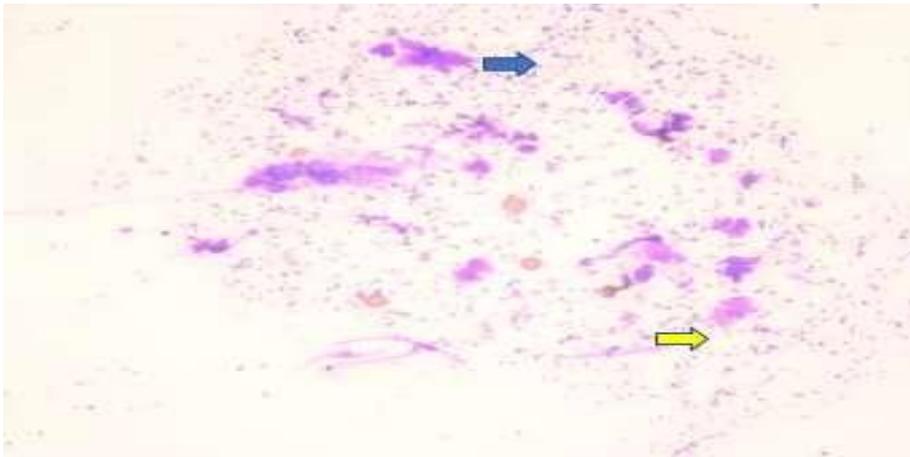


Рис. 4.4. Мазок отпечатки ДНЗР А.А. 1967 года рождения, история болезни № 1543, забор материала на 14 сутки проводимого лечения. Окраска по методу: Ромоновского-Гимза. Увеличение: ок.10, об. 40.

Нейтрофилы находятся с измененной структурой в виде кариолизиса и кариопикноза их ядер. Преобладающей массой в исследуемых цитологических отпечатках выступала масса, состоящая преимущественно из белка. Такой вариант проявления морфологической картины раны зачастую обусловлен активностью грамотрицательных микроорганизмов. Как известно, такие микроорганизмы имеют смешанную гликопротеиновую оболочку, покрывающую их снаружи.

Проведенные цитологические исследования еще раз подтвердили вариант течения ДНЗР в виде инфильтрации клеточного воспалительного характера.

На 28 сутки проводимого лечения рана была покрыта струпом, который имел желтую окраску и состоял из фиброзной ткани (рисунок 4.5). В структуре такого струпа обнаруживали фибрин, гной и белковоподобный материал.

Фон отпечатка образуют разрушенные лейкоциты, лимфоциты и микроорганизмы. На этом фоне выявляются нейтрофилы с признаками неполного фагоцитоза. При этом в цитоплазме нейтрофильных лейкоцитов были обнаружены фагоцитированные тельца. Фибробласты имели особенность приобретения низкой пролиферативной способности.

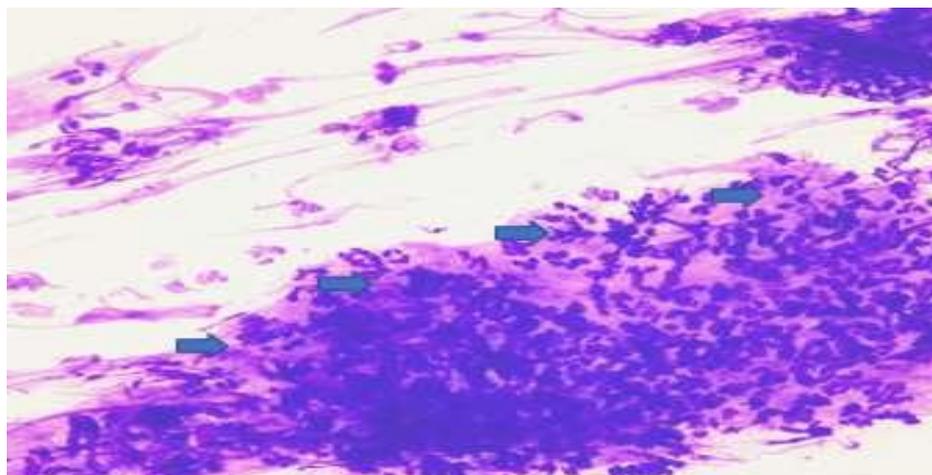


Рис. 4.5. Мазок отпечатки ДНЗР больного А.А. 1967 года рождения, история болезни № 1543, забор материала на 28 сутки проводимого лечения. Окраска по методу: Ромоновского-Гимза. Увеличение: ок.10, об. 40.

В большом количестве определяются клетки моноцитарно-макрофагального ряда и плазматические клетки.

В целом, для морфологических изменений в ранние сроки проводимого лечения ДНЗР характерным было наличие гранулоцитов, которые представлялись полинуклеарным вариантом. Такое определение обусловлено тем, что в процессе окраски клеток их ядерные структуры зачастую имели повышенную цветовосприимчивость (гиперхромия). Мостики, соединяющие хроматиновые сегменты таких ядер были набухшими и утолщенными. Но не все гранулоциты имели такой морфологической структуры. Наравне с ними нами были выявлены и гранулоциты с кариолитическими, а местами даже и кариоректическими изменениями в своих ядрах и их струтурах. В таких случаях хроматиновое вещество ядер было распыленным и в распадающемся состоянии. Такая же картина была отмечена нами и по отношению полинуклеарных лейкоцитов. Их цитоплазма была увеличены в объемах засчет набухания. При этом гранулярным состав приобретал активную форму, что проявлялось разрыва и растворения, а местами еще и излития содержимого в околочлеточную среду.

В отдельных случаях, когда в цитологических препаратах было обнаружено наличие смешанной флоры, а среди гранулярных лейкоцитов наличие единичных эозинофильных лейкоцитов, то в данном случае констатировали присоединение к воспалительным заболеваниям аутоиммунных процессов.

Таким образом, на основании проведенного морфологического исследования отпечатков ДНЗР можно сделать заключение о ведущей роли присутствия белкового фона, основу которого составляют клетки воспалительного ряда и микроорганизмы. Все это определяло клеточно-микробный фактор как один из главных компонентов возглавляющих ход всего процесса формирования ДНЗР. Основанием для такого суждения могут быть наличие выявленных нами микроорганизмов различной формы, однако с преимущественным грамотрицательным структурным характером на фоне многоядерной инфильтрации лейкоцитов. И хотя в более поздние сроки лейкоцитарная инфильтрация уменьшалась, тем не менее в ДНЗР все еще преобладали лимфоциты и клетки гистиоцитарного ряда. Такой характер поражения ДНЗР определял роль клеток лейкоцитарного ряда как главного фактора в организации течения раневого процесса.

§ 4.2. Характер и анализ изменения цито-морфометрической картины ДНЗР

Подсчет клеток в отпечатке раны у больных с ДНЗР показал преобладание во всех случаях доли гранулоцитов (таблица 4.1).

Таблица 4.1

Динамика изменения морфометрической картины отпечатков поверхности ДНЗР

ДИНАМИКА	КОЛИЧЕСТВО КЛЕТОК В ОТПЕЧАТКАХ РАНЫ (%)			
	Гранулоциты	Макрофаги	Фибробласты	Лимфоциты
1-сутки	70,0±12,85	12,2±1,6	7,1±1,1	10,7±1,6
7-сутки	65,55±10,5	15±2,2	11,5±2,35	7,5±2,35
14-сутки	60,65±9,8	17,15±2,55*	14,75±2,8*	14,75±2,8*
28-сутки	60±9,5*	19,8±2,9*	15,3±3,2*	15,3±3,2*
> 28 суток	57,8±7*	22,7±3,85*	16,2±3,8*	16,2±3,8*

* $p < 0,05$ – достоверно по отношению к 1 суткам проводимого лечения

При этом минимальный средний уровень за весь период проведенного лечения был отмечен по отношению к количеству лимфоцитов ($6,86 \pm 1,06\%$). Среднее количество макрофагов в ране у больных с длительно незаживающим процессом превалировали над количеством фибробластов ($17,37 \pm 2,62\%$ и $12,97 \pm 2,65\%$ соответственно).

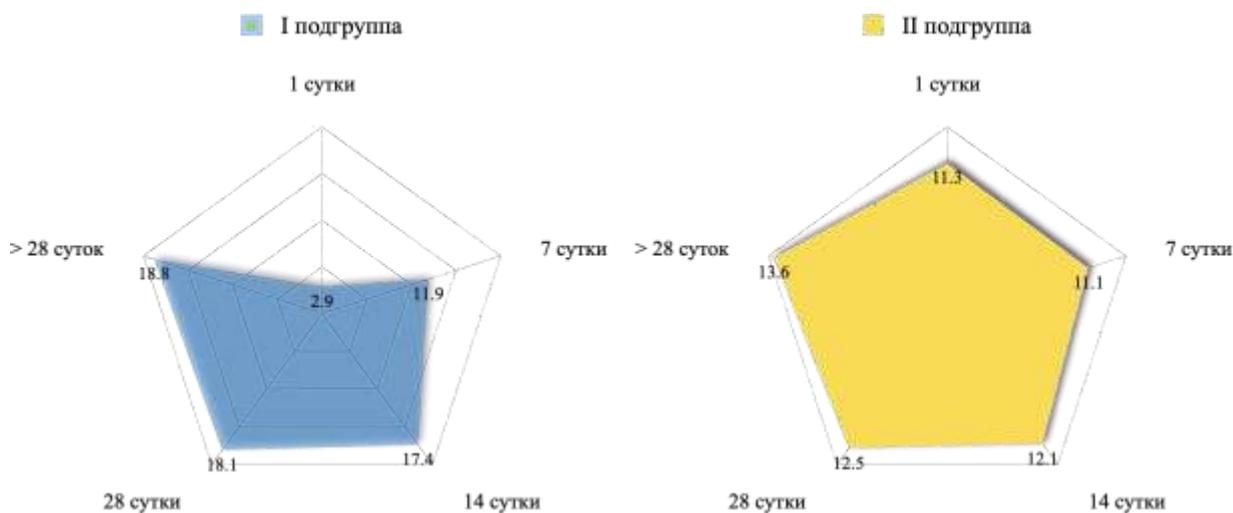


Рис. 4.6. Сравнительный характер динамики изменения количества фибробластов в отпечатках поверхности ДНЗР

Минимальное количество гранулоцитов в отпечатках ДНЗР [СІ: 50,8; 64,8] приходилось в отдаленные периоды проводимого лечения ($p < 0,05$). В противовес этому, минимальное количество фибробластов [СІ: 6; 8,2] и макрофагов [СІ: 10,6; 13,8] было выявлено на 1 сутки проводимого лечения раны.

Раздельный анализ динамики изменения количество клеток в отпечатке ДНЗР позволил выявить неоднозначную цито-морфометрическую картину (рисунок 4.6).

У больных первой подгруппы среднее количество фибробластов в отпечатке ДНЗР за весь период проведенного лечения составило $13,82 \pm 2,6\%$. Динамика изменения численности данных клеток проявлялась относительным ростом их в ДНЗР с $2,9 \pm 0,1\%$ на 1-сутки проводимого лечения до $11,9 \pm 2,1\%$ ($p < 0,05$) уже на 7-сутки и до $17,4 \pm 2,8\%$ ($p < 0,05$) уже на 14-сутки исследования. Начиная с 28-суток и до конца проводимого

традиционного лечения в наших исследованиях была отмечена стабилизация количества фибробластов в отпечатке ДНЗР на уровне от $18,1 \pm 3,2\%$ и до $18,8 \pm 4,8\%$ ($p < 0,05$ достоверное изменение по отношению к 1-суткам проводимого лечения).

В случае, когда у больных были выявлены признаки генерализации инфекции (вторая подгруппа), количество фибробластов в отпечатках ДНЗР исходно, уже на 1-сутки проводимого лечения, превышало в 3,9 раза ($p < 0,05$) значения первой подгруппы больных и составило в среднем $11,3 \pm 2,1\%$. При этом на 7-сутки проводимого лечения количество фибробластов в отпечатках ДНЗР у больных второй подгруппы оставалось на данном уровне ($11,1 \pm 2,6\%$), отличаясь незначительным уменьшением численности по сравнению с данными больных первой подгруппы.

Количество фибробластов в отпечатках ДНЗР больных второй подгруппы на 14-28 сутки проводимого лечения, по сравнению с предыдущими сроками, повышалось до $12,1 \pm 2,8\%$ и до $12,5 \pm 3,2\%$, что было ниже значений по сравнению с больными первой подгруппы в данный исследуемый срок. Даже в отдаленные сроки проводимого лечения у больных второй подгруппы количество фибробластов в отпечатках ДНЗР не превышало подобные значения среди больных первой подгруппы и составило $13,6 \pm 2,8\%$.

Таким образом, сравнительная характеристика содержания фибробластов в ДНЗР больных позволило выявить местный рост их экспрессии, причем в случае наличия генерализации инфекции такая тенденция была менее выраженной и характеризовалась относительно низкими значениями данного показателя.

Среднее количество гранулоцитов в отпечатках ДНЗР за весь период проведенного лечения среди больных второй подгруппы превышало ($65,76 \pm 10,66\%$) подобные значения чем у больных первой подгруппы ($59,84 \pm 9,2\%$).

Лишь на 1-сутки проводимого лечения количество гранулоцитов было больше среди больных первой подгруппы ($72,0 \pm 12,9\%$), чем среди больных второй ($68,0 \pm 12,8\%$).

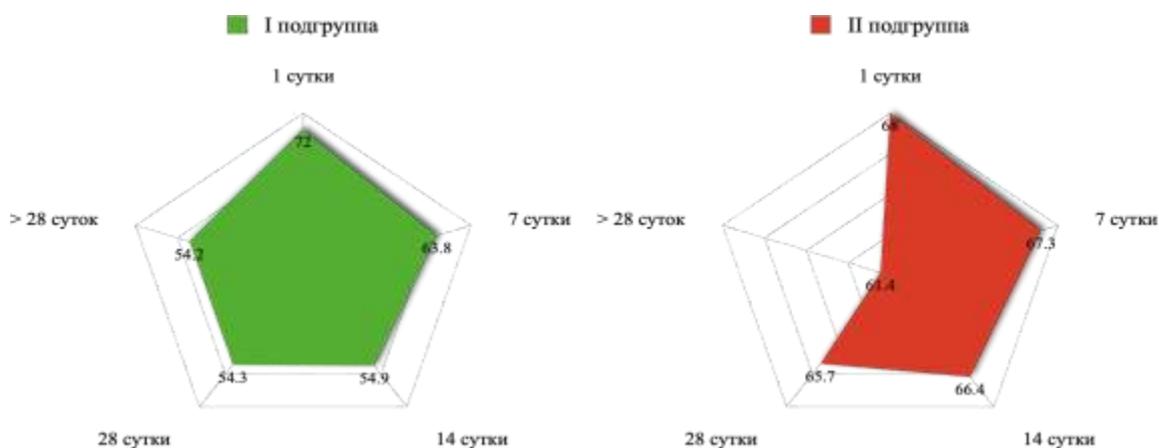


Рис. 4.7. Сравнительный характер динамики изменения количества гранулоцитов в отпечатках поверхности ДНЗР

В динамике проводимого традиционного лечения количество гранулоцитов в отпечатках ДНЗР у больных разных подгрупп изменялось не идентично (рисунок 4.7). Среди больных первой подгруппы нами было выявлено прогрессирующее снижение численности гранулоцитов в отпечатках ДНЗР в виде достоверного их спада на 7-сутки проводимого лечения (до $63,8 \pm 9,7\%$; $p < 0,05$) и относительно стабильный уровень ($67,3 \pm 11,3\%$) среди больных второй подгруппы.

Проведенные исследования показали, что 14-сутки проводимого лечения характеризовались продолжением выраженного снижения количества гранулоцитов в отпечатках ДНЗР у больных первой подгруппы, которая достигала значения до $54,9 \pm 8,9\%$. В то же время, у больных второй подгруппы данный показатель, по сравнению с предыдущими сроками исследования, изменялся незначительно и приравнялся $66,4 \pm 9,7\%$.

Следует отметить, что в последующие сроки проводимого традиционного лечения, то есть на 28-сутки и до рубцевания ДНЗР, среди больных первой подгруппы нами выявлена относительная стабилизация количества гранулоцитов в отпечатках ран ($54,3 \pm 9,4\%$ и $54,2 \pm 5,1\%$

соответственно), тогда как среди больных второй подгруппы нами выявлен продолжающийся местный спад количества гранулоцитов (с $65,7 \pm 9,6\%$ и до $61,4 \pm 8,9\%$ соответственно).

Таким образом, динамика изменения количества гранулоцитов в отпечатках ДНЗР характеризуется уменьшением данных видов клеток на протяжении всего периода проводимого лечения. При этом, в случае отсутствия генерализации инфекции гранулоциты в ране прогрессивно снижаются в ранние сроки проводимого лечения, что является характерным относительно благоприятного течения хронического воспалительного процесса.

Среднее число лимфоцитов в отпечатках ДНЗР среди больных первой подгруппы за весь период проведенного лечения было выше ($8,48 \pm 1,12\%$) чем среди больных второй подгруппы ($5,24 \pm 1,0\%$; $p < 0,05$) и в целом характер динамики изменений был идентичный с динамикой гранулоцитов.

У больных первой подгруппы количество лимфоцитов в ДНЗР на всем протяжении динамики проводимого традиционного лечения прогрессивно снижалась с $14,6 \pm 2,1\%$ на 1-сутки и до $10,2 \pm 1,7\%$ на 7-сутки, до $9,3 \pm 1,2\%$ на 14 сутки, до $4,9 \pm 0,4\%$ на 28 сутки и до $3,4 \pm 0,2\%$ в последующие сроки до рубцевания раны. Как видно из указанного резкие точки снижения лимфоцитов в ДНЗР было отмечено нами на 7 и 28 сутки проводимого традиционного лечения. Хотя последний срок исследования имел разный период пролонгации, тем не менее динамика было относительно выраженной (рисунок 4.8).

В противовес вышеотмеченному, среди больных второй подгруппы таких относительно резких скачков снижения количества лимфоцитов в отпечатках ДНЗР нами не отмечено. Максимальное количество лимфоцитов в отпечатках ДНЗР было отмечено нами на 1-сутки проводимого лечения ($6,8 \pm 1,1\%$). В последующем, на 7-сутки проводимого лечения снижение количества лимфоцитов в ране до $5,7 \pm 1,2\%$, сохраняла свою стабильность и на 14-сутки исследования ($5,6 \pm 1,1\%$). Начиная с 28-суток проводимого

лечения нами вновь выявлялся резкий спад количества лимфоцитов в отпечатках ДНЗР, который достигал $4,9 \pm 0,9\%$, что было меньше первоначального показателя в 1,4 раза. В отдаленный суммарный период исследования снижение количества лимфоцитов в отпечатке ДНЗР достигала отметки $3,2 \pm 0,7\%$, что было меньше исходных значений уже в 2,1 раза ($p < 0,05$).

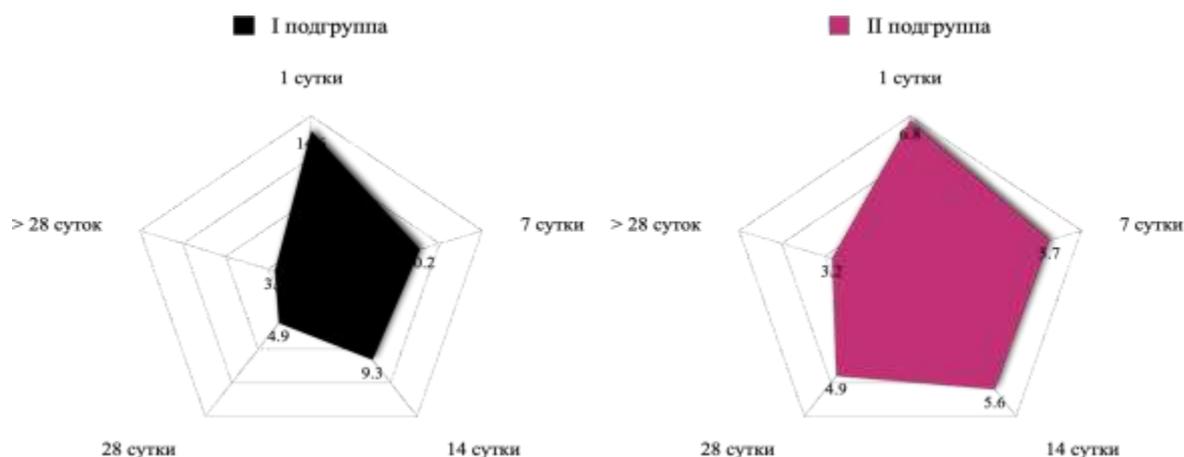


Рис. 4.8. Сравнительный характер динамики изменения количества лимфоцитов в отпечатках поверхности ДНЗР

Таким образом, ДНЗР характеризуются наличием клеток лимфоцитов в ране, которые по мере достижения регенеративного процесса прогрессивно снижаются, что видимо было обусловлено активными процессами иммунологического характера. В то же время, у больных с генерализацией инфекции исходное значение лимфоцитов становится не выраженным, хотя в динамике проводимого лечения также имеют тенденцию к уменьшению экспрессии этих клеток в ране.

Относительно дисперсионной динамики изменения количества моноцитов и макрофагов в ДНЗР следует отметить почти идентичные значения среднего показателя за весь период проведенного лечения. Так, если, среди больных первой подгруппы среднее количество моноцитов в ДНЗР приравнивалось $17,86 \pm 3,72\%$, то среди больных второй подгруппы оно составило $16,88 \pm 1,52\%$. Однако отдельный динамический контроль выявил

неоднозначную картину изменения количества лимфоцитов в длительно незаживающих ранах (рисунок 4.9).

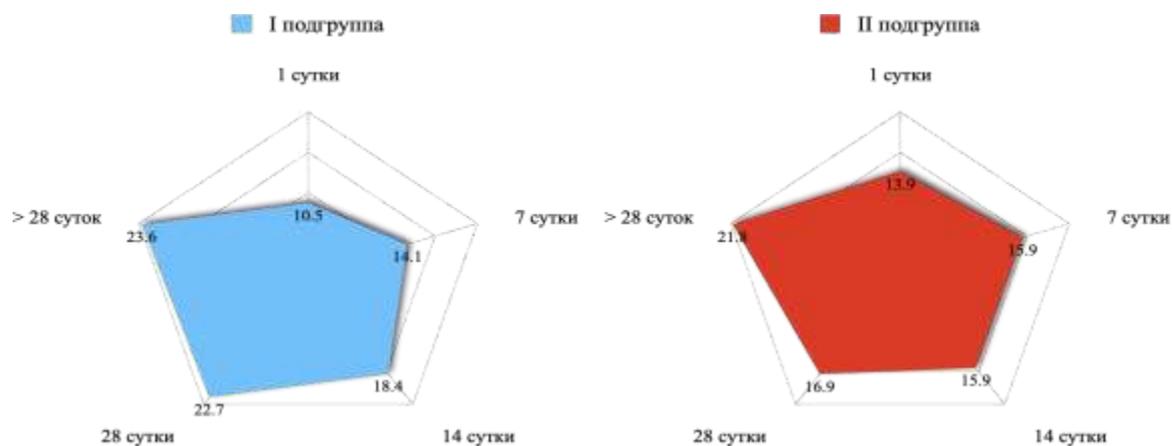


Рис. 4.9. Сравнительный характер динамики изменения количества макрофагов в отпечатках поверхности ДНЗР

В целом среди больных первой подгруппы нами был выявлен относительный прогресс в увеличении количества макрофагов в отпечатках поверхности длительно незаживающих ран. При этом, если, исходное значение данного показателя на 1-сутки проводимого лечения приравнялось $10,5 \pm 2,3\%$, то на протяжении последующих 7-28 суток оно лишь прогрессивно повышалось ($14,1 \pm 3,1\%$ на 7-сутки, $18,4 \pm 3,9\%$ на 14-сутки и $22,7 \pm 4,2\%$ на 28-сутки соответственно). В отдаленный период регенерации ДНЗР количество макрофагов хотя и повышалось ($23,6 \pm 5,1\%$), тем не менее оно было незначительным и не достоверным.

Отличительной стороной динамики изменения количества макрофагов в отпечатках поверхности ДНЗР больных второй подгруппы было относительно стабильное сохранение численного на протяжении 7-28 суток проводимого лечения. Так, если, на 1-сутки проводимого лечения количества макрофагов в отпечатках поверхности ДНЗР приравнялось $13,9 \pm 0,9\%$, то на 7-сутки исследования незначительное увеличение количества данных клеток до $15,9 \pm 1,3\%$ держалось на данном уровне и на 14-сутки исследования ($15,9 \pm 1,2\%$). На 28-сутки проводимого лечения количество макрофагов в отпечатках поверхности ДНЗР повышалось недостоверно до $16,9 \pm 1,6\%$,

однако в отдаленный период проводимого лечения данный показатель изменялся достоверно ($21,8 \pm 2,6\%$; $p < 0,05$).

Весьма характерные были выявлены изменения и в динамике изменения форм нейтрофилов раны (таблица 4.2)

Таблица 4.2

Характер изменения нейтрофилов раны

ПОКАЗАТЕЛИ	ДИНАМИКА ЛЕЧЕНИЯ (сутки)			
	1	7	14	28
Палочкоядерные	$4,52 \pm 0,3$	$4,53 \pm 0,4$	$4,67 \pm 0,2$	$4,95 \pm 0,3^*$
Сегментоядерные	$21,4 \pm 2,6$	$24,6 \pm 2,5$	$29,7 \pm 2,8^*$	$31,9 \pm 3,1^*$
Дегенеративные формы	$15,8 \pm 1,9$	$15,75 \pm 2,1$	$15,7 \pm 2,3$	$15,2 \pm 2,45$
РДИ	$1,64 \pm 0,2$	$1,85 \pm 0,4$	$2,19 \pm 0,2^*$	$2,42 \pm 0,4^*$

* $p < 0,05$ – достоверное значение по отношению к 1-суткам лечения

В частности, отмечался рост регенеративно-дегенеративного индекса на достоверном уровне уже на 14-28-сутки проведения традиционных методов лечения при относительно стабильном количестве дегенеративных форм нейтрофилов.

Таким образом, динамика изменения количества макрофагов в отпечатках поверхности ДНЗР характеризуется присутствием данных клеток на всем протяжении проведенного лечения, при чем в случаях отсутствия генерализации инфекции характерным является увеличение их местной экспрессии.

§ 4.3. Характер и анализ изменения местной иммунологической реакции ДНЗР

Суммарное значение иммуноглобулинов в смывах поверхности ДНЗР на 1-сутки проводимого лечения приравнивалось $50,5 \pm 9,8$ мкг/мл. При этом в 62% случаев они были представлены IgG, в 23,8% случаев – IgA, и в 14,3% случаев – IgM (таблица 4.3).

Применение традиционных методов лечения у больных контрольной группы уже на 7 сутки динамики привело к росту количества

иммуноглобулинов в смывах поверхности длительно незаживающих ран до $61,25 \pm 11,3$ мкг/мл. Данные перемены выражались за счет снижения удельного веса IgG до 51,9% ($p < 0,05$) при росте доли IgA до 26,5% ($p < 0,05$) и IgM до 13,2% ($p < 0,05$). Данный срок характеризовался пиком уровня выявляемых иммуноглобулинов в ране по сравнению со всем периодом проведенного исследования.

Таблица 4.3

Динамика изменения концентрации иммуноглобулинов (мкг/мл) в смывах поверхности ДНЗР

ДИНАМИКА	ИММУНОГЛОБУЛИНЫ					
	IgG		IgA		IgM	
	М	m	М	m	М	m
1-сутки	31,3	6,45	12,0	3,05	7,2	0,45
7-сутки	31,8	4,75	16,25	4,15*	13,2	2,45*
14-сутки	41,9	4,65	8,0	1,8*	7,65	1,5
28-сутки	23,4	4,1*	7,7	1,65*	3,3	0,6*
> 28 суток	20,7	2,95*	8,15	1,7*	3,05	0,35*

* $p < 0,05$ – достоверно по отношению к 1 суткам проводимого лечения

Начиная с 14-суток проводимого традиционного лечения нами выявлялся спад количество иммуноглобулинов в смывах поверхности ДНЗР. Суммарное значение иммуноглобулинов в смывах поверхности ДНЗР составило $57,55 \pm 9,7$ мкг/мл. Однако в структуре исследованных иммуноглобулинов подобного рода изменения были не однозначными. Так, в исследуемый срок повышалась продукция IgG по сравнению с предыдущим сроком исследования на 20,9% ($p < 0,05$) и составило $2/3$ от общей доли выявленных иммуноглобулинов в смывах поверхности ДНЗР. Увеличение доли иммуноглобулина IgG было отмечено за счет снижения удельного веса IgA в 1,9 раза ($p < 0,05$) и IgM – в 1,6 раза ($p < 0,05$).

В последующем, на 28-сутки проводимого традиционного лечения и до появления признаков рубцевания раны, суммарное значение иммуноглобулинов в смывах поверхности ДНЗР количество

иммуноглобулинов уменьшалось до $34,4 \pm 6,1$ мкг/мл и до $31,9 \pm 4,9$ мкг/мл соответственно. То есть снижение количества иммуноглобулинов в ране в столь отдаленные сроки находилось в относительно стабильных параметрах. В данный срок доля количества выявляемых иммуноглобулинов в смывах поверхности ДНЗР снижалось за счет IgG до 68% и до 64,9% при стабильном удельном весе IgM (по 9,6% соответственно). Относительно IgA следует отметить рост его процентного удельного веса на 28-сутки проводимого лечения в 1,6 ($p < 0,05$) и в 1,8 раза ($p < 0,05$) соответственно.

Таким образом, анализ динамики изменения уровня иммуноглобулинов в смывах поверхности ДНЗР показал, что критическим сроком в процессе проводимого традиционного лечения оказались 14-сутки, когда отмечалось усиление выработки иммуноглобулинов за счет IgG и снижения продукции IgA и IgM.

Средний уровень IgG в смывах поверхности ДНЗР у больных первой и второй групп за весь период проведенного исследования не имел достоверного различия и приравнивался $30,26 \pm 3,86$ мкг/мл и $29,38 \pm 5,3$ мкг/мл соответственно.

Отличительными оказались и динамика изменения концентрации IgG в смывах поверхности ДНЗР, которая среди больных первой подгруппы характеризовалась постепенным увеличением с $27,9 \pm 8,6$ мкг/мл на 1-сутки проводимого традиционного лечения до $33,4 \pm 3,4$ мкг/мл на 7-сутки и до $56,9 \pm 4,6$ мкг/мл на 14-сутки соответственно.

В отдаленные сроки проводимого лечения концентрация IgG прогрессивно снижалась до $17,3 \pm 2,3$ мкг/мл на 28-сутки и до $15,8 \pm 0,4$ мкг/мл в средний окончательный период забора проб (рисунок 4.10).

Среди больных второй подгруппы концентрация данного иммуноглобулина в смывах поверхности ДНЗР, в противовес предыдущей подгруппе прогрессивно снижалась с $34,7 \pm 4,3$ мкг/мл на 1-сутки проводимого традиционного лечения до $30,2 \pm 6,1$ мкг/мл на 7-сутки и до $26,9 \pm 4,7$ мкг/мл на 14-сутки соответственно. В отдаленные сроки

проводимого лечения концентрация IgG изменялось не достоверно, находясь на уровне от 20,1 мкг/мл до 35,4 мкг/мл.

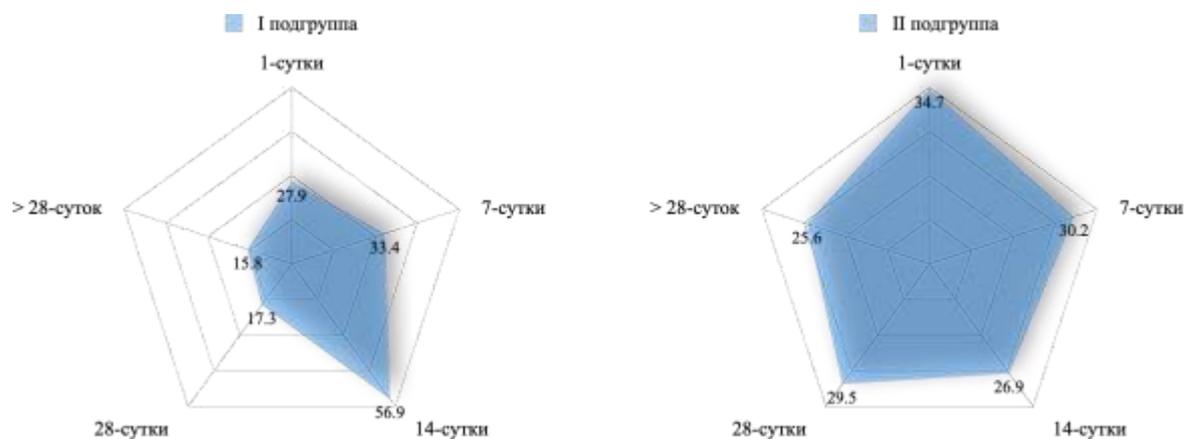


Рис. 4.10. Сравнительный характер динамики изменения концентрации IgG в смывах поверхности ДНЗР

Сравнительный характер динамики изменения концентрации IgA в смывах поверхности ДНЗР, в зависимости от наличия генерализации хирургической инфекции, проявлялся почти идентичной картиной как среди больных первой, так и второй подгрупп. Она проявлялась повышением концентрации IgA в смывах поверхности ДНЗР с $15,3 \pm 4,2$ мкг/мл на 1-сутки лечения и до $17,9 \pm 3,7$ мкг/мл на 7-сутки лечения среди больных первой подгруппы, а также с $8,7 \pm 1,9$ мкг/мл на 1-сутки лечения и до $14,6 \pm 4,6$ мкг/мл на 7-сутки лечения среди больных второй подгруппы. При этом на 14-сутки проводимого традиционного лечения концентрация IgA в смывах поверхности ДНЗР в обеих исследуемых подгруппах больных снижается до $3,7 \pm 1,5$ мкг/мл среди больных первой и до $12,3 \pm 2,1$ мкг/мл – среди больных второй подгруппы (рисунок 4.11).

В отдаленные сроки проведенного исследования нами было выявлено расхождение динамики кривой концентрации IgA в смывах поверхности ДНЗР, которая среди больных первой подгруппы характеризовалось снижением значений до $1,8 \pm 0,6$ мкг/мл и до $1,6 \pm 0,3$ мкг/мл соответственно, а среди больных второй подгруппы – повышением до $13,6 \pm 2,7$ мкг/мл и до $14,7 \pm 3,1$ мкг/мл соответственно.

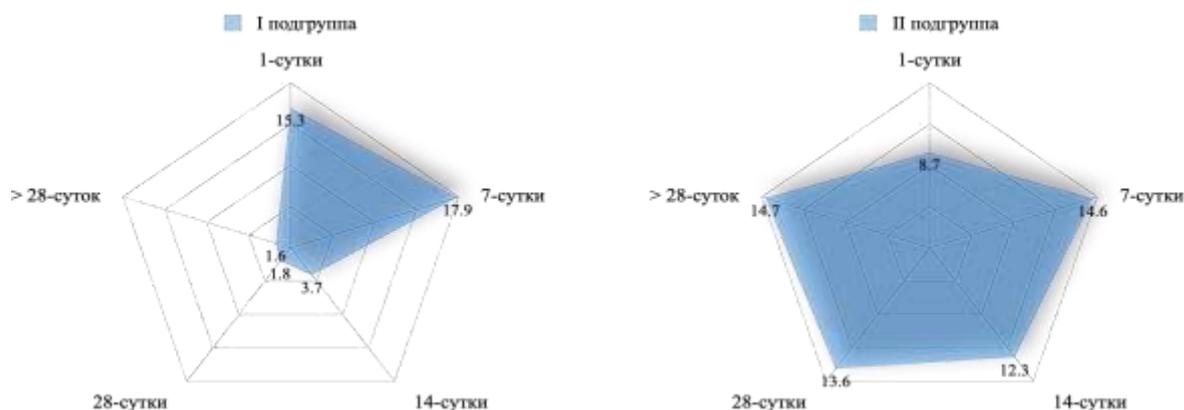


Рис. 4.11. Сравнительный характер динамики изменения концентрации IgA в смывах поверхности ДНЗР

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о факте последствий перенесенного хронического сепсиса, когда даже в условиях ликвидации генерализации инфекции продукция IgA продолжается с заполнением ими раневой поверхности.

Концентрация IgM в смывах поверхности ДНЗР среди больных первой подгруппы была в 5,5 раза выше, чем среди больных второй подгруппы ($p < 0,05$). Как и в предыдущем случае в динамике уже на 7-сутки проведенного традиционного лечения концентрация IgM в смывах поверхности ДНЗР среди больных первой подгруппы повышалась в 1,7 раза ($p < 0,05$), а среди больных второй подгруппы – в 2,6 раза ($p < 0,05$). При этом разница в продукции IgM среди больных первой и второй подгруппы составила 3,5 раза ($p < 0,05$), что было менее выражено чем на исходном уровне (рисунок 4.12).

На 14-сутки проводимого лечения концентрация IgM в смывах поверхности раны среди больных первой подгруппы снижалась с $20,6 \pm 4,2$ мкг/мл до $10,4 \pm 2,8$ мкг/мл, то есть почти в 2 раза ($p < 0,05$). Среди больных второй подгруппы нами так же было отмечено снижение концентрации IgM в смывах поверхности раны с $5,8 \pm 0,7$ мкг/мл до $4,9 \pm 0,2$ мкг/мл ($p > 0,05$). Разница в концентрации данного иммуноглобулина между больными первой и второй подгруппы в данный срок составила 2,1 раза ($p < 0,05$).

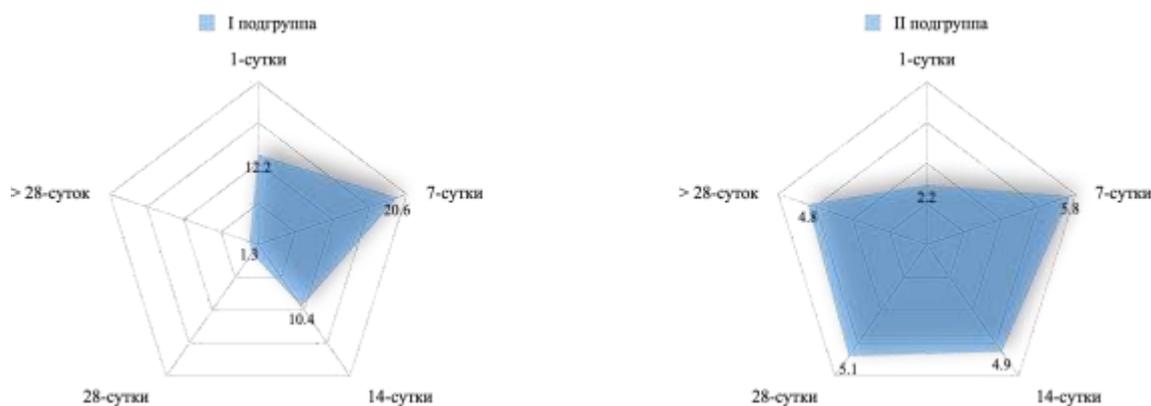


Рис. 4.12. Сравнительный характер динамики изменения концентрации IgM в смывах поверхности ДНЗР

Таким образом, ранний период проведенного лечения характеризовался волнообразным изменением концентрации IgM как среди больных первой, так и второй подгрупп. При этом в случае наличия генерализации инфекции изменения проявлялись незначительно.

В отдаленные сроки проведенного традиционного лечения среди больных первой подгруппы концентрация IgM в ДНЗР выявлялась нами лишь в единичных случаях и очень низких концентрация по сравнению с предыдущими сроками исследования (от 1,1 мкг/мл до 1,9 мкг/мл) составив в среднем $1,5 \pm 0,4$ мкг/мл и $1,3 \pm 0,2$ мкг/мл соответственно. При этом среди больных второй подгруппы изменения носили недостоверный характер и колебались в пределах от 4,3 мкг/мл до 5,9 мкг/мл составив в среднем $5,1 \pm 0,8$ мкг/мл и $4,8 \pm 0,5$ мкг/мл соответственно.

Таким образом, при наличии исходно низкой продукции IgM в раневой поверхности больных с генерализацией инфекции концентрация данного иммуноглобулина лишь нарастает, что, по-видимому, было связано с особенностями проявления общего заболевания. При этом, в случаях отсутствия генерализации инфекции и при условии благоприятного исхода заболевания продукция IgM снижается.

Концентрация лизоцима на поверхности ДНЗР была незначительной ($1,84 \pm 0,33$ мкг/мл) и в основном была представлена за счет больных первой подгруппы ($2,56 \pm 0,58$ мкг/мл) чем второй ($1,11 \pm 0,08$ мкг/мл) – рисунок 4.13.

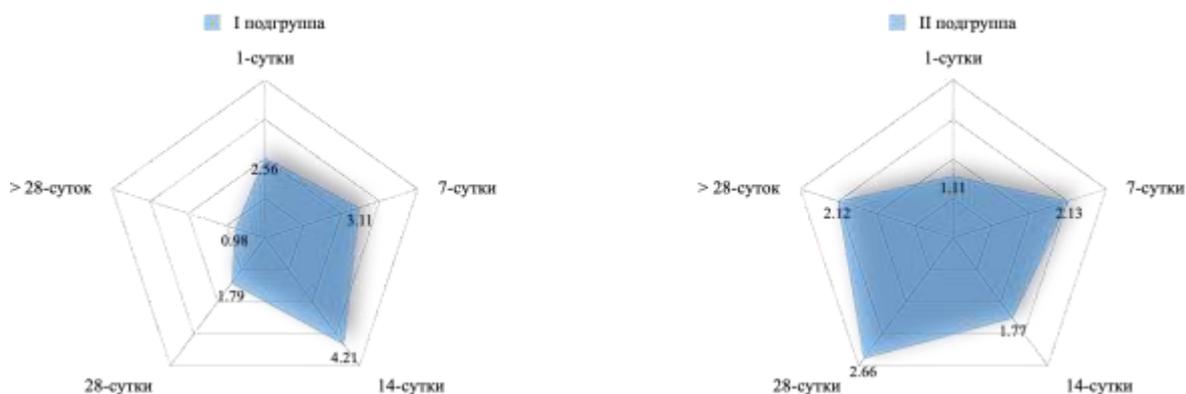


Рис. 4.13. Сравнительный характер динамики изменения концентрации лизоцима в смывах поверхности ДНЗР

В ранние сроки проведения лечения раны концентрация лизоцима в ране постепенно повышалась до $2,62 \pm 0,35$ мкг/мл на 7-сутки и до $2,99 \pm 0,34$ мкг/мл на 14-сутки исследования. При этом в обоих случаях львиная доля концентрации лизоцима в ране была представлена больными первой подгруппы, превышая значения больных в 1,5 ($p < 0,05$) и в 2,4 раза ($p < 0,05$) соответственно.

В последующие, отдаленные сроки проводимого лечения концентрация лизоцима в ДНЗР постепенно снижалась до $2,23 \pm 0,29$ мкг/мл на 28-сутки и до $1,55 \pm 0,24$ мкг/мл ($p < 0,05$) в последующие сроки. Однако, в отличие от ранних сроков исследования, в данный период основным удельным весом лизоцима выступали больные второй подгруппы. Более высокие концентрации лизоцима, в 1,5 раза ($p < 0,05$) и в 2,2 раза ($p < 0,05$) в смывах ДНЗР у больных второй подгруппы была связана с длительным периодом генерализации инфекции.

Таким образом, концентрация лизоцима в ДНЗР характеризуется изменением динамики в зависимости от наличия генерализации инфекции в виде повышения продукции более чем исходного значения. Такие изменения в концентрации лизоцима напрямую связаны с наличием генерализации инфекции и могут быть использованы при прогнозировании течения воспалительного процесса у больных с ДНЗР.

ГЛАВА V. РАЗРАБОТКА И СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ МЕТОДОВ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ГЕНЕРАЛИЗАЦИИ ИНФЕКЦИИ ПРИ ДНЗР

На этапе анализа клинико-лабораторных, морфологических и иммунологических показателей течения ДНЗР, позволило нам рандомизировать больных, отличительной стороной которых было наличие или отсутствие генерализации инфекции в виде хронического сепсиса. При этом хроническая генерализация воспалительного процесса зачастую носила характер дисфункции/недостаточности какого-либо жизненно-важного органа на фоне умеренно выраженных признаков SIRS. Соответственно, отдельный анализ полученных данных проявления заболевания по общим и местным признакам будет составлять основу нашего дальнейшего анализа и разработок.

§ 5.1. Анализ взаимосвязи изменений показателей клеточного и гуморального иммунитета в крови в патогенезе ДНЗР

При анализе патогенетических взаимосвязей выявленных изменений нами, на первом этапе проводилось изучение графической и корреляционной взаимосвязи полученных данных в разрезе определенных когорт больных (когортный анализ).

Корреляционный анализ показателей клеточного иммунитета относительно динамики изменения общих лейкоцитов в крови у больных с ДНЗР показал, что выраженная положительная связь была отмечена по отношению к динамике CD20⁺-клеток ($R=0,638$), CD25⁺-клеток ($R=0,575$) и CD95⁺-клеток ($R=0,543$). При этом среди относительных величин данных показателей лишь только динамика CD20⁺-клеток обладала прямой корреляционной связью, тогда как CD25⁺ и CD95⁺-клетки имели обратную корреляционную связь ($R=-0,204$ и $R=-0,799$ соответственно) – рисунок 5.1.

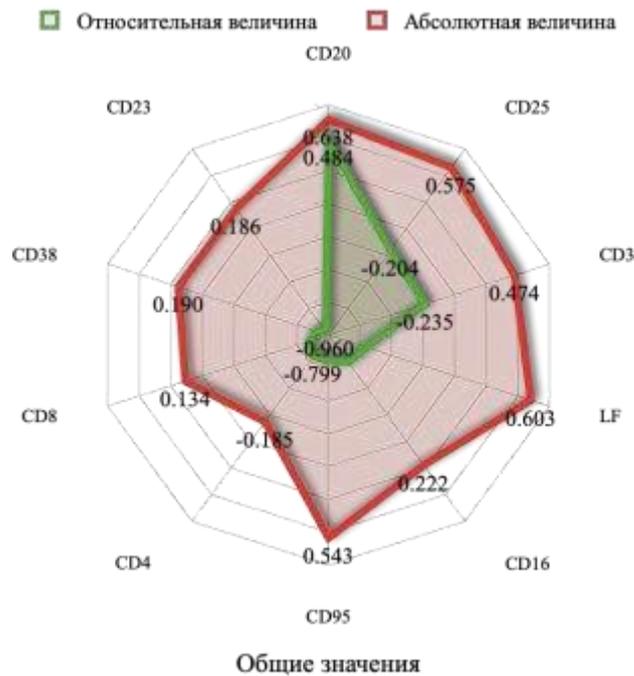


Рис. 5.1. Корреляционная зависимость изменения динамики абсолютных и относительных величин показателей клеточного иммунитета у больных с ДНЗР по отношению к общей динамике лейкоцитов

Среди абсолютных величин относительно низкой прямой корреляционной связью проявились динамика изменения CD3+ ($R=0,474$), CD16+ ($R=0,222$), CD38+ ($R=0,190$), CD23+ ($R=0,186$) и CD8+-клеток ($R=0,134$). При чем динамика изменения относительной величины значения этих клеток изменялась в противоположном направлении и имела обратную корреляционную связь. Следует отметить, что из анализируемых 10 показателей клеточного иммунитета по абсолютной величине лишь 1 показатель носил отрицательное корреляционное значение (CD4+-клетки; $R=-0,185$), тогда как среди абсолютных величин лишь один показатель выделялся прямой корреляционной связью (CD20+-клетки; $R=0,484$). Во всех остальных случаях корреляционная связь динамики изменения относительных величин показателей клеточного иммунитета носили обратный лейкоцитам динамический характер.

Таким образом, уже на первом этапе проведения корреляционного анализа нами выявлена неоднозначная динамика изменений абсолютной и

относительной величины изменения показателей клеточного иммунитета, которая в 90% случаев носит противоположный характер изменения динамики по отношению к уровню лейкоцитов в крови.

Среди больных первой подгруппы с ДНЗР из 10 анализируемых показателей абсолютной величины клеточного иммунитета крови 60% имели прямую корреляционную связь, а в остальных случаях – отрицательную. Наиболее высокими значениями корреляционной связи выделялись абсолютные величины CD25⁺-клетки ($R=0,783$). Следует отметить, что среди показателей относительной величины прямая корреляционная связь была отмечена нами лишь в 20% случаев. Среди них выделялись CD3⁺-клетки ($R=0,528$) и CD20⁺-клетки ($R=0,482$). В остальных случаях относительные величины показателей клеточного иммунитета носили обратную корреляционную связь по отношению к динамике общего количества лейкоцитов в крови (рисунок 5.2).

В случае, когда у больных с ДНЗР имеет место развития генерализации инфекции (вторая подгруппа), все абсолютные величины показателей клеточного иммунитета приобретают прямую положительную корреляционную связь по отношению к динамике общих клеток лейкоцитарного ряда с наиболее выраженными проявлениями среди CD20⁺ ($R=0,632$), CD95⁺ ($R=0,575$) и лимфоцитов ($R=0,552$). В остальных случаях динамика изменений абсолютных величин показателей клеточного иммунитета была менее выраженной, хотя и носила характер прямой корреляционной связи.

Что касается относительных величин показателей клеточного иммунитета в крови, то следует выделить наличия в приоритете обратной корреляционной связи, которая была отмечена в 90% случаев. Большинство из них были выраженными: CD38⁺ ($R=-0,850$), CD23⁺ ($R=-0,781$), CD4⁺ ($R=-0,764$) и др. Лишь CD20⁺-клетки по показателям относительной величины имели очень низкую, но прямую корреляционную связь, которая составила $R=0,090$.

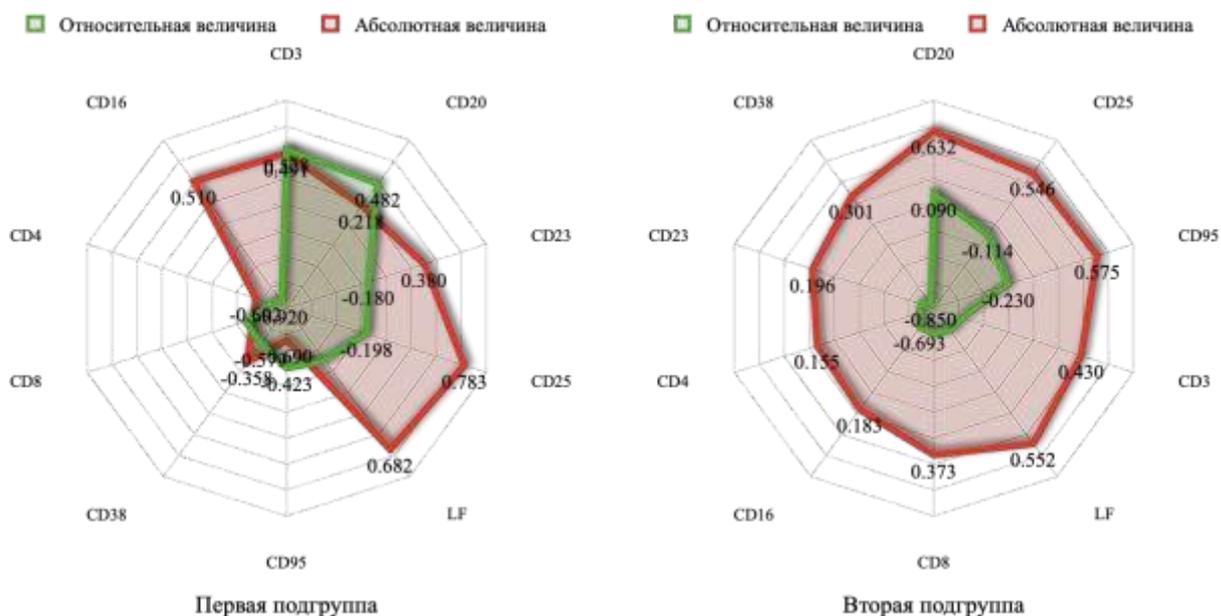


Рис. 5.2. Сравнительный характер корреляционной зависимости изменения динамики абсолютных и относительных величин показателей клеточного иммунитета у больных с ДНЗР в зависимости от наличия генерализации инфекции по отношению к общей динамике лейкоцитов

В сопоставлении обеих подгрупп больных по корреляционной связи динамики изменения клеточного иммунитета, можно выделить лишь стабильные значения абсолютных и относительных величин лимфоцитов. Обратную корреляционную взаимосвязь приобретали относительные величины CD3⁺-клеток (с R=0,528 до R=-0,639); значительно снижались корреляционные значения относительных величин CD20⁺-клеток (с R=0,482 до R=0,090); нарастала обратная корреляционная связь по относительным величинам CD23⁺-клеток (с R=-0,180 до R=-0,781) и другие изменения, отраженные на рисунке 5.2.

В целом следует отметить, что изменение корреляционной связи между показателями клеточного иммунитета крови у больных в зависимости от развития генерализации инфекции, свидетельствует о выраженном нарушении в активности клеток в условиях развития хронического сепсиса (вторая подгруппа больных) что может быть рассмотрена как ключевой фактор в выборе способа прогнозирования данного вида осложнения ДНЗР.

Анализ корреляционной зависимости показателей клеточного иммунитета в разрезе первой и второй подгрупп больных показал, что абсолютные и относительные значения имели не однозначный характер сравнительной привязанности к суммарному уровню.

В общей картине корреляционных значений у больных второй подгруппы были выявлены высокие прямые связи с показателями общих значений, которые в большей степени были выражены по абсолютным значениям (таблица 5.1).

Таблица 5.1

Сравнительные корреляционные значения изменения абсолютных и относительных величин показателей клеточного иммунитета у больных с ДНЗР в разрезе подгрупп

ПОКАЗАТЕЛИ	КОРРЕЛЯЦИОННЫЙ КОЭФФИЦИЕНТ ЗНАЧЕНИЙ			
	Абсолютные (мкл)		Относительные (%)	
	I подгруппа	II подгруппа	I подгруппа	II подгруппа
CD 3+-клетки	0,599	0,985	0,223	0,902
CD 4+-клетки	0,743	0,967	0,984	0,992
CD 8+-клетки	0,115	0,992	0,646	0,939
CD 16+-клетки	-0,215	0,993	0,910	1,000
CD 20+-клетки	0,149	0,992	0,846	0,926
CD 23+-клетки	0,804	0,996	0,054	0,939
CD 25+-клетки	0,505	0,995	0,997	0,996
CD 38+-клетки	0,962	0,999	0,975	0,999
CD 95+-клетки	-0,784	1,000	0,858	0,773

Так, полные совпадения динамики изменения среди абсолютных значений были выявлены нами по отношению к динамике CD95+-клеток, а среди относительных значений – к CD16+-клеткам. Одинаковый характер изменения как по абсолютным, так и по относительным значениям у больных второй подгруппы были выявлены корреляционные значения по CD38+ и CD25+-клеткам. Увеличение корреляционной связи по относительным показателям по сравнению к абсолютным у больных второй подгруппы было выявлено нами по показателям изменения динамики CD16+ и CD4+-клеток.

В то же время, уменьшение корреляционной связи можно отметить по отношению к CD95+, CD23+, CD20+, CD8+ и CD3+ (рисунок 5.3).

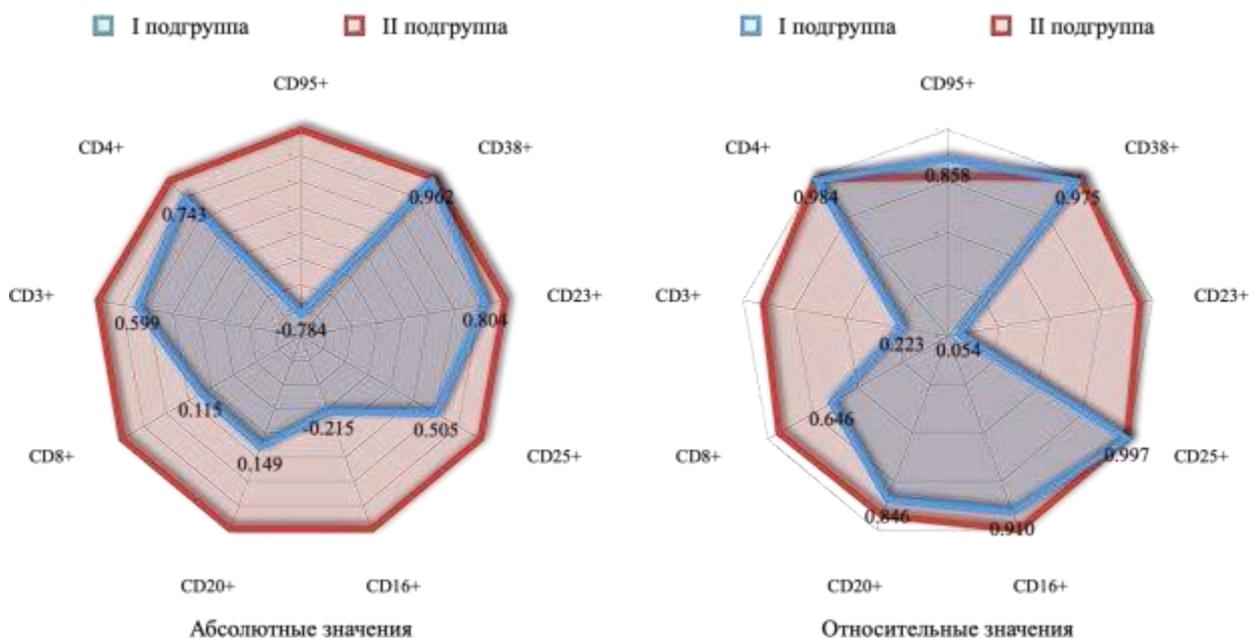


Рис. 5.3. Сравнительный характер корреляционной зависимости изменения динамики абсолютных и относительных величин показателей клеточного иммунитета у больных с ДНЗР в зависимости от наличия генерализации инфекции по отношению подгрупп

Что касается больных первой подгруппы, при анализе корреляционных значений по динамике изменения абсолютных значений показателей клеточного иммунитета нами выявлено наличие высокой прямой связи - CD38+, CD23+ и CD4+ клеткам, умеренной прямой связи - CD25+ и CD3+-клеткам, низкой прямой связи - CD20+ и CD8+-клеткам, а так же обратную связь по CD95+ и CD16+-клеткам. Среди относительных величин корреляционная связь носила прямое направление и лишь по показателям динамики изменений CD23+ и CD3+-клеткам она была низкой.

Таким образом, общая динамика корреляционной связи показателей клеточного иммунитета по абсолютным и относительным величинам у больных разных подгрупп была не однозначной. Среди абсолютных величин преобладали значения апоптоза, старения клеток и их активация В-лимфоцитов, тогда как среди показателей относительного значения

присоединялись естественные клетки киллеры и Т-хелперы. Супрессия в клеточной иммунной системе по абсолютным и относительным показателям была почти идентичной, что свидетельствует о низком клеточном иммунологическом ответе в условиях развития генерализации инфекции.

При сопоставлении корреляционного коэффициента показателей гуморального иммунитета в динамике лечения больных с ДНЗР было выявлено, что по отношению к динамике общих значений большинство больных имели прямую связь. Это свидетельствует о ценности значения в прогнозировании генерализации инфекции показателей гуморального иммунитета.

Так, высокие значения прямой корреляционной связи TNF- α , IgA, IgM, MIP-2 β и IgG у больных второй подгруппы, при условии низких или обратных связей у больных первой подгруппы напрямую подтверждают ценность этих параметров в прогнозировании генерализации инфекции.

В то же время ценность следующих показателей гуморального иммунитета: PDGF, TGF- β , IL-1 и MIP-1 α в прогнозировании генерализации инфекции низкая, так как они могут отражать лишь течение воспалительного процесса у больных с ДНЗР (рисунок 5.4).

Как представлено на рисунке 5.4, сопоставление общей корреляционной значимости в сравнение между подгруппами больных с ДНЗР, можно выделить дифференцированность кривой у больных с генерализацией инфекции, по IgA ($R=-0,398$), тогда как в случае отсутствия осложнения подобного типа достоверному изменению подвергаются MIP-2 β ($R=-0,858$) и IgG ($R=-0,973$).

Таким образом, анализ корреляционной зависимости показателей гуморального иммунитета у больных с ДНЗР выявил преобладающую их роль в генерировании патологического процесса и специфическом изменении некоторых из них в генерализации воспалительного процесса. Другими словами, показатели гуморального иммунитета могут свидетельствовать о наличии воспалительного процесса в большинстве случаев и возможность ее

генерализации в меньшинстве. Возможно, это связано с необходимостью оценки показателей гуморального иммунитета в сопоставлении с показателями клеточного иммунитета.

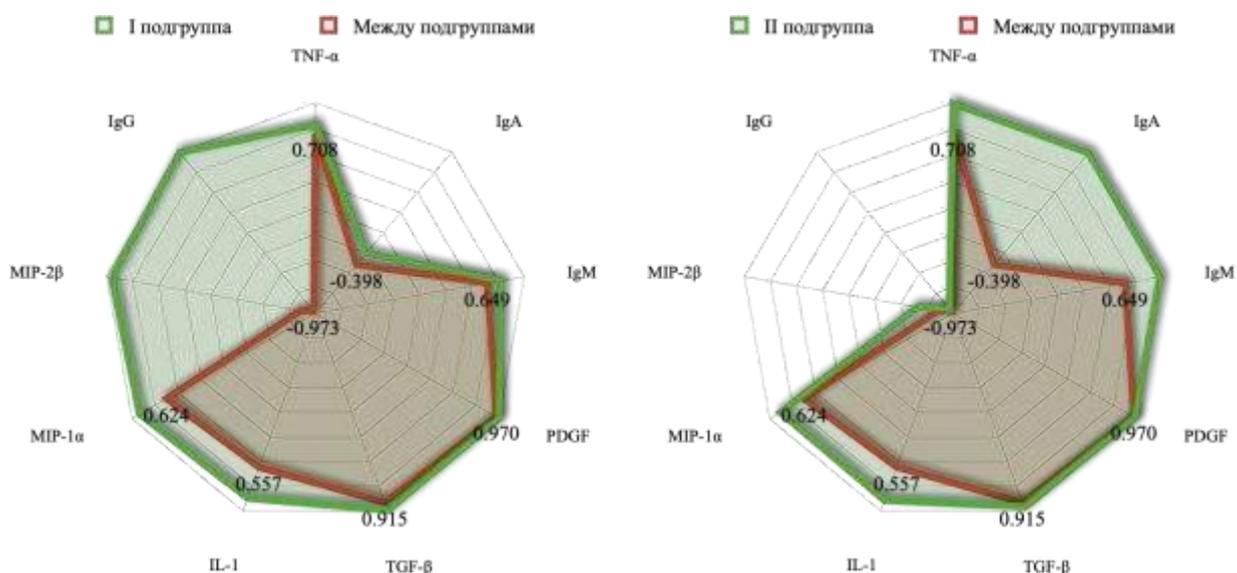


Рис. 5.4. Сравнительный характер корреляционной зависимости изменения динамики показателей гуморального иммунитета у больных с ДНЗР в зависимости от наличия генерализации инфекции по общему значению

В общей сложности было проанализировано 81 показателя корреляционной связи исследованных нами значений клеточного и гуморального иммунитета. При оценке корреляционного значения в общей картине изменения исследованных параметров было обнаружено, что лишь в 14,8% случаев они носили низкую прямую (от $R=0,001$ до $R=0,500$) или обратную (от $R=-0,001$ до $R=-0,500$) связь. В остальных случаях корреляционная зависимость динамики изменений показателей была выраженной (85,2%). При этом лидировала высокая прямая (от $R=0,501$ до $R=1,000$) корреляционная связь, которая была отмечены в 45,7% случаев и высокая обратная (от $R=-0,501$ до $R=-1,000$), которая составила 39,5% (таблица 5.2).

Таблица 5.2

Характер распределения значений корреляционной связи между динамикой изменений показателей клеточного и гуморального иммунитета у больных с ДНЗР

R	IgM	IgA	IgG	IL-1	TNF- α	TGF- β	MIP-1 α	MIP-2 β	PDGF
CD3 ⁺	0,240	-0,765	-0,150	0,569	-0,711	-0,609	-0,716	0,578	-0,819
CD4 ⁺	0,805	-0,713	-0,668	-0,625	0,634	0,514	0,869	-0,776	0,905
CD8 ⁺	0,490	-0,713	-0,366	0,543	0,664	0,628	-0,799	0,544	0,709
CD16 ⁺	0,628	-0,903	-0,318	0,562	0,669	0,676	-0,714	0,673	0,881
CD20 ⁺	0,174	-0,830	0,158	0,796	-0,781	-0,730	-0,735	0,804	-0,826
CD23 ⁺	0,620	-0,870	-0,350	0,640	0,610	0,788	-0,794	0,768	0,788
CD25 ⁺	0,360	-0,942	0,650	0,690	-0,619	-0,874	-0,629	0,789	-0,957
CD38 ⁺	0,635	-0,884	-0,349	0,636	0,704	0,797	-0,889	0,882	0,899
CD95 ⁺	0,429	-0,973	0,310	0,737	-0,599	-0,809	-0,676	0,860	-0,886

Высокая корреляционная зависимость динамики изменения показателей гуморального иммунитета по отношению к значения клеточного иммунитета в 43,2% случаев было отмечено по отношению к IL-1 и MIP-2 β , по 13,5% случаев приходилось на значения TNF- α , TGF- β , PDGF. В 10,8% случаев высокая прямая корреляционная связь была отмечена по отношению к IgM и динамики изменения клеточного иммунитета. Обратная корреляционная достоверная связь в 28,1% случаев было отмечено по отношению IgA и в 25% случаев по отношению к MIP-1 α . По 12,5% приходилось на значения TNF- α , TGF- β и PDGF. Единичные случаи были отмечены по отношению корреляционных значений IgG, IL-1 и MIP-2 β . Все это привело к формированию соответствующих идентичностей кривых, представленных на номограммах рисунка 5.5.

В целом анализ показал, что причиной развития ДНЗР одну из ведущих мест занимают MIP-1 α и MIP-2 β , которые, по-видимому, регулируют миграцию мононуклеарных лейкоцитов в очаг воспаления при обострении процесса. Интересным является выявленный нами факт антагонистические изменения этих изоформ макрофагального белка воспалительного процесса. В результате нарушения их соотношения происходит подавление процессов регуляции ангиогенеза и образования эпителия. Это подтверждается

динамикой изменения моноклеарных CD+-клетки, в особенности макрофагального-моноцитарного ряда.

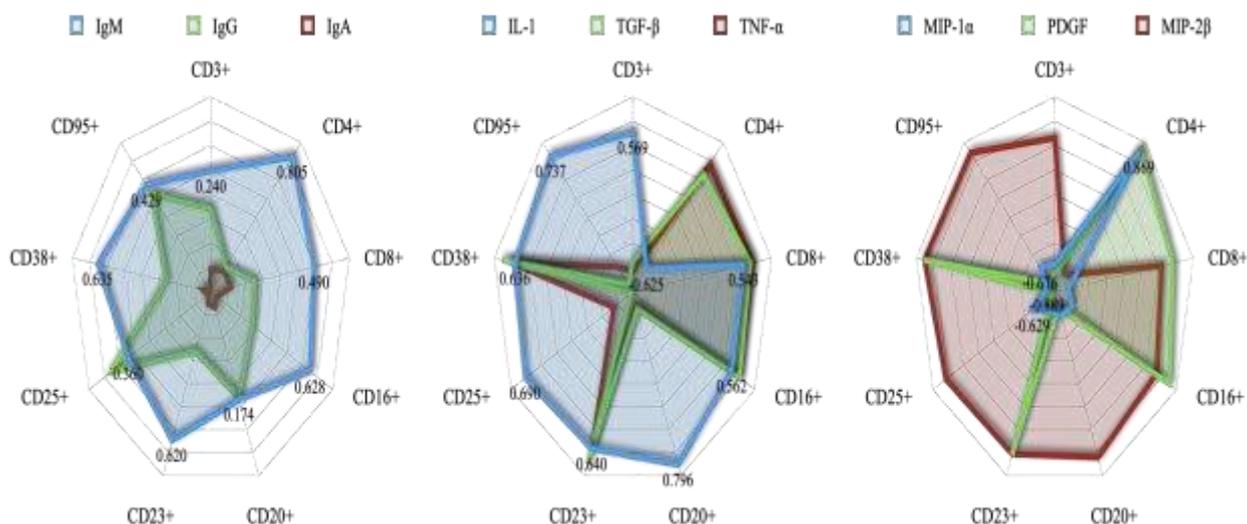


Рис. 5.5. Характер распределения кривых номограмм корреляционного коэффициента динамики изменений показателей гуморального иммунитета по отношению к клеточному иммунитету у больных с ДНЗР

Как показали наши исследования, высокая корреляционная зависимость между определенными моноклеарными лейкоцитами имеет тесную связь с динамикой изменения анализируемых цитокинов и факторов роста. В частности, отмеченная нами сниженная экспрессия TGF-β и PDGF, а также повышенная экспрессия TNF-α способствует ассоциативности факторов и рецепторов заживления раны. Все это может быть главным приоритетом в контракции раневого дефекта.

Таким образом, высокая дифференциация изменения значений среди показателей клеточного и гуморального иммунитета нами было отмечено по отношению к определенным показателям, которые на наш взгляд играют ведущую роль как в патогенезе ДНЗР, так и генерализации инфекции, о чем мы будем излагать в последующих разделах главы.

§ 5.2. Анализ взаимосвязи изменений иммунологических показателей раны в патогенезе генерализации инфекции у больных с ДНЗР

Характер корреляционной связи между больными первой и второй подгрупп по динамике изменения морфометрических параметров раны был почти идентичным. Из 6 значений корреляционной связи среди больных первой подгруппы соотношения динамики изменения фибробластов и макрофагов с гранулоцитами и с лимфоцитами имели высокую обратную зависимость. Положительная корреляционная связь была выявлена нами между динамикой изменений макрофагов и фибробластов, а также лимфоцитами и гранулоцитами. Подобного характера изменений можно констатировать и по отношению к больным второй подгруппы (таблица 5.3).

Таблица 5.3

Корреляционное значение динамики изменений морфометрических параметров клеток в ДНЗР

Г подгруппа	Ф	Г	Л	М	II подгруппа
Макрофаги	R=0,929	R=-0,940	R=-0,977		Макрофаги
Лимфоциты	R=-0,903	R=0,889		R=-0,986	Лимфоциты
Гранулоциты	R=-0,992		R=0,971	R=-0,988	Гранулоциты
Фибробласты		R=-0,950	R=-0,918	R=0,903	Фибробласты

Ф – фибробласты; Г – гранулоциты; Л – лимфоциты; М – моноциты/макрофаги.

В целом можно отметить отсутствие какой-либо информационной значимости в генерализации инфекции показателей динамики изменения исследованных параметров раны. И в том, и в другом случае высокие значения корреляционной взаимосвязи могут свидетельствовать только о едином механизме течения ДНЗР. Соответственно, изолированный анализ клеток в отпечатке раны может судить о фазе течения раневого воспалительного процесса, а также об эффективности проведения местной терапии.

Что касается анализа корреляционной связи динамики изменения иммунологических показателей в ране, то можно отметить неоднозначную реакцию в сравнении больных первой и второй подгрупп. При этом, в случае

отсутствия генерализации инфекции у больных с ДНЗР в 4 из 6 параметров нами были выявлена высокая прямая корреляционная связь по отношению IgG к лизоциму и к IgM, а также IgM к IgA и к лизоциму. В остальных случаях корреляционная связь хотя и была прямой, тем не менее она обладала низкой зависимостью (таблица 5.4).

Таблица 5.4

Корреляционное значение динамики изменений иммуноглобулинов и лизоцима в ДНЗР

I подгруппа	IgG	IgA	IgM	Лизоцим	II подгруппа
Лизоцим	R=0,957	R=0,339	R=0,666		Лизоцим
IgM	R=0,511	R=0,892		R=0,818	IgM
IgA	R=0,138		R=0,926	R=0,840	IgA
IgG		R=-0,752	R=-0,684	R=-0,552	IgG

Однако в случае развития генерализации инфекции у больных с ДНЗР все 6 исследованных иммунологических параметров разделились на 2 противоположных полюса, большая роль в которой принадлежала IgG. Такой биполярный характер изменения динамики изменения иммуноглобулинов и активности лизоцима в ране напрямую может быть информативным при прогнозировании генерализации инфекции, так как эти изменения были неспроста и имеют определенную закономерность с характером изменения количества лейкоцитарных клеток в ране.

У больных первой подгруппы высокая прямая и обратная корреляционная связь была отмечена по 5 (31,25%) отношениям между динамикой изменения гранулоцитов и лимфоцитов, а также фибробластов и макрофагов (моноцитов) к IgA, к IgM и к лизоциму.

Корреляционная зависимость динамики изменения IgG по отношению к лейкоцитарным клеткам в динамике не течения не осложненной формы заболевания была низкой, как в прямой, так и в обратной связи (рисунок 5.6).

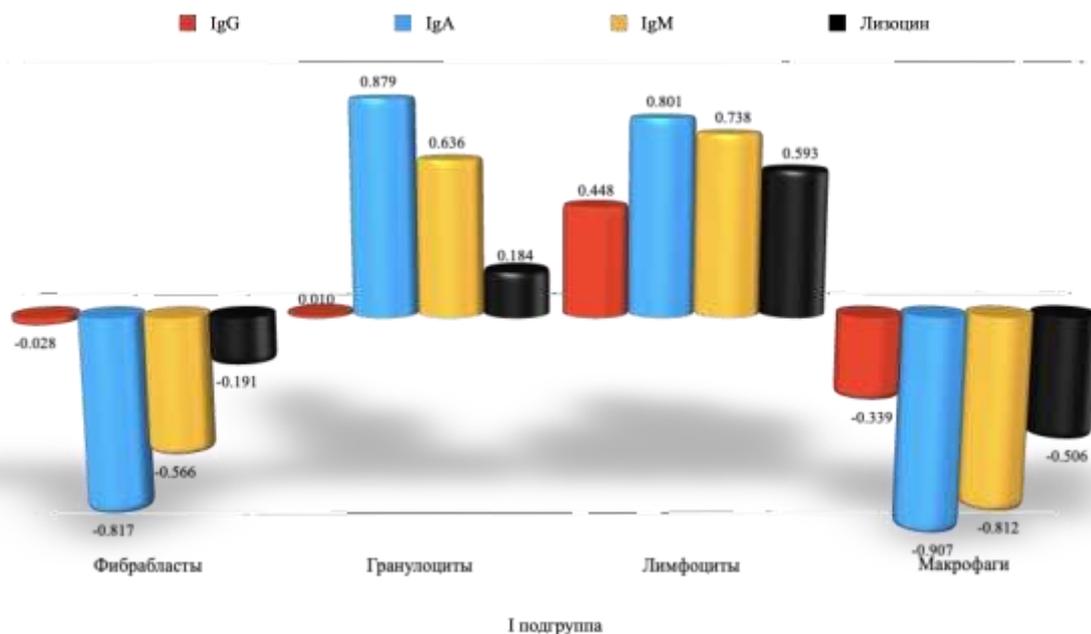


Рис. 5.6. Сравнительный характер корреляционных значений между исследованными показателями раны у больных с ДНЗР без генерализации инфекции

Однако, в условиях развития генерализации инфекции основные высокие значения корреляционной связи были связаны с динамикой изменения IgG.

Так, по отношению к динамике изменения фибробластов и макрофагов в ране корреляционная связь IgG была высокой и обратной, а по отношению к гранулоцитам ($R=0,771$) и лимфоцитам ($R=0,828$) – высокой и прямой. IgA так же отличался высокой корреляционной связью в противоположном значении предыдущего показателя, то есть, высокая и обратная по отношению к динамике изменений гранулоцитов ($R=-0,587$) и лимфоцитов ($R=-0,752$), и высокая и прямая – к макрофагам ($R=0,693$) - рисунок 5.7.

Среди остальных выраженных изменений нами были выявлены корреляционные значения лимфоцитов по отношению к динамике IgM ($R=-0,501$) и активности лизоцима ($R=-0,620$).

Таким образом, рост количества фибробластов и макрофагов в ране у больных с ДНЗР, даже при условии низких значений гранулоцитов и лимфоцитов, при условии роста количества образования IgA и IgM не приводит к развитию генерализации инфекции.

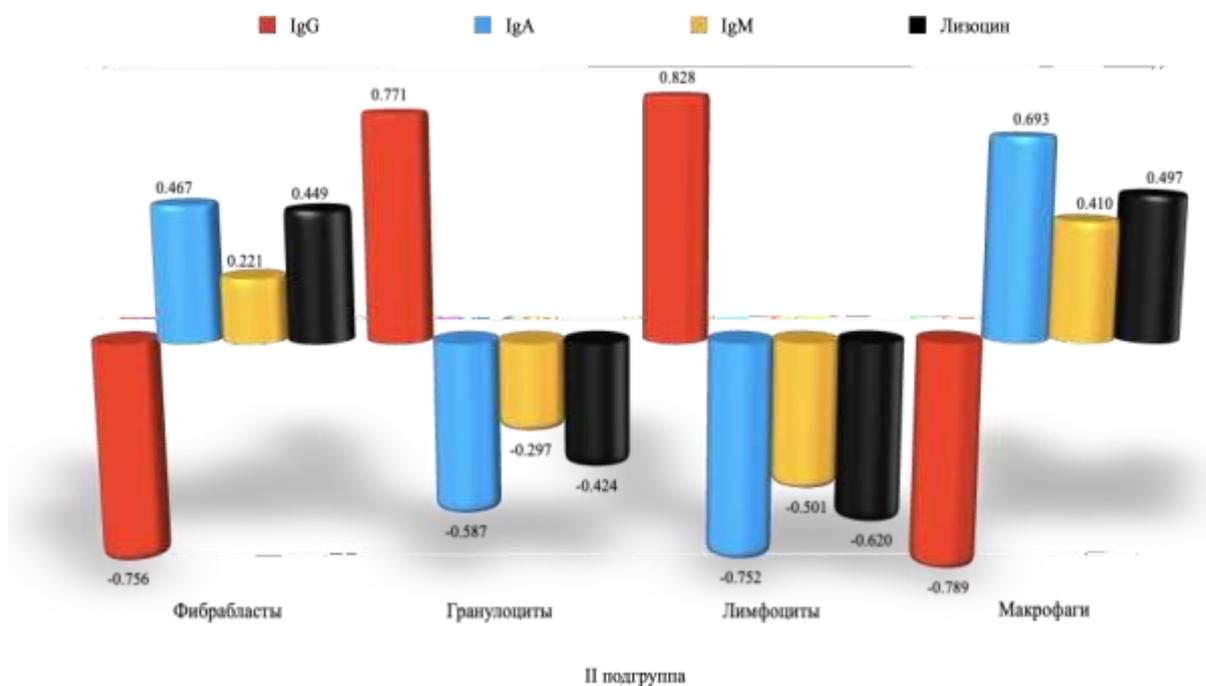


Рис. 5.7. Сравнительный характер корреляционных значений между исследованными показателями раны у больных с ДНЗР, осложненные генерализацией инфекции

Однако, в условиях снижения экспрессии клеток лейкоцитарного ряда в ране, даже при условии роста количества иммуноглобулинов может привести к генерализации инфекции.

При этом активность лизоцима может оставаться стабильной как высокой, так и низкой при условии генерализации инфекции, которая, по-видимому, зависит от других факторов течения воспалительного процесса в ране (наличие некроза, состояния микроциркуляции и др.).

§ 5.3. Обоснование значимости клинико-иммунологической и цитоморфологической патогенетической взаимосвязи в разработке методов прогнозирования генерализации инфекции у больных с ДНЗР

Проведенный отдельный анализ корреляционной зависимости исследованных параметров общего и локального иммунитета в разрезе клеточного и гуморального вида, позволило нам подытожить всю цепочку развития ДНЗР и их осложнения в виде генерализации инфекции. Немаловажную информацию нам удалось получить и при проведении цито-

морфометрических и микробиологических исследований раны. Все это позволило нам выявить патогенетические особенности развития данного воспалительного процесса.

Сравнительные корреляционные значения исследованных параметров иммунологического мониторинга показали, что в случае развития генерализации инфекции более выраженные изменения были отмечены среди общих иммунологических показателей крови. Низкие значения среди общих показателей были отмечены лишь по отношению к TGF- β , PDGF и MIP-1 α . В противовес этому именно эти 3 показателя имели повышению экспрессию среди больных первой подгруппы, то есть не имеющие генерализацию инфекции. В данном случае общие показатели исследованных иммунологических значений имели абсолютно достоверное различие в степени экспрессии и выраженности реакции генерализации инфекции (рисунок 5.8).

Что касается динамики изменения локальных клеточно-иммунологических показателей раны достоверное различие было отмечено нами по отношению гранулоцитам и IgA у больных с ДНЗР, осложненные генерализацией инфекции.

С морфологической точки зрения, рассмотренные нами 3 варианта длительно незаживающих ран (пролежни, трофические язвы у больных синдромом диабетической стопы и трофические язвы вследствие наличия хронического тромбофлебита нижних конечностей) имели на клеточном и субклеточном уровне одинаковую картину, характеризующую хронический воспалительный процесс. В таких ранах нами были выявлены обстоятельства связанные с одновременным течением всех трех фаз раневого процесса. В одно и тоже время в ране выявлялись как грануляции, так и участки с некрозом ткани, инфильтрация и даже эпителизация. Все это было связано именно с особенностями течения ДНЗР.

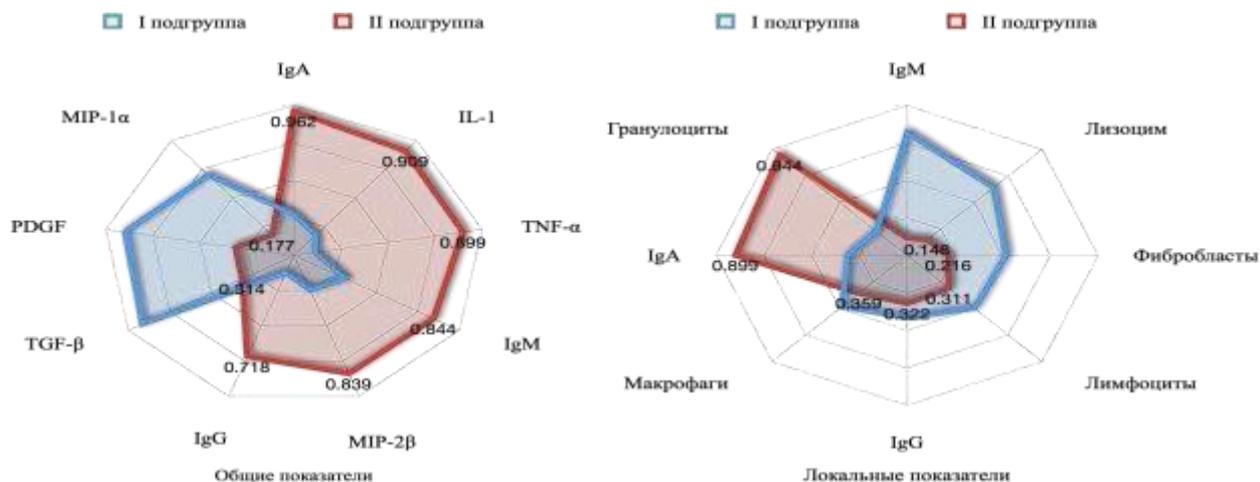


Рис. 5.8. Сравнительный характер корреляционных значений значимых иммунологических показателей крови и раны у больных с ДНЗР

Постоянное накопление некротических тканей и образование струпа в длительно незаживающих ранах является признаком недостаточности локального кровообращения. Накапливается детрит в виде фрагментов умерших клеток. Это в свою очередь поддерживает, а порой и стимулирует колонизацию микроорганизмов в ДНЗР.

Выявленные нами при морфологических исследованиях наличие омертвевших тканей способствует затяжному течению воспалительного процесса и механически препятствует регенерации дефекта кожи, и может выступать в качестве источника генерализации инфекции.

Проведенные нами микробиологические исследования показали, что присутствие микроорганизмов на поверхности ДНЗР может быть в виде контаминации и колонизации. Микроорганизмы раны провоцируют продукцию провоспалительных цитокинов, в ответ на выработку липополисахаридов и эндотоксинов.

Такая морфоструктурная особенность течения раневого процесса, как показали наши исследования, происходило вследствие нарушения как межклеточных, так клеточно-матриксных взаимодействий. Проведенный корреляционный анализ выявил превалирование в динамике течения патологического процесса в ране макрофагов моноцитарного происхождения. В это самое время в крови повышался уровень

плазматических клеток, в особенности Т- и В-лимфоцитов. У больных с генерализацией инфекции так было выявлено достоверное нарушение соотношения Т-хелперов и Т-супрессоров как по абсолютным значениям CD4⁺- и CD8⁺-клеток, так и относительным значениям.

Как показали наши исследования показателей клеточного иммунитета у больных с ДНЗР с генерализацией инфекции все параметры достоверно отличались как от референсных значений, так и данных больных с неосложненным течением патологического процесса ($p < 0,05$). Все изученные показатели в разной степени достоверно отличались от референсных значений.

Через 7 суток после проведенного лечения из изученных показателей клеточного иммунитета единичные достоверно отличались от данных до лечения в положительную сторону, хотя и с малой интенсивностью. Привлекает внимание тот факт, что абсолютные показатели лимфоцитов, CD3⁺-, CD4⁺-, CD8⁺- и CD38⁺-клеток еще больше увеличились по отношению к данным до лечения. Но, если параметры клеточного иммунитета до лечения были увеличены в связи с 2-кратным увеличением лейкоцитов, то через 14 суток лечения количество лейкоцитов снижаются, а абсолютные количества иммунокомпетентных клеток увеличиваются. Данный факт указывает на наличие напряженности в иммунной системе организма и малой иммунокорректирующей эффективностью лечебных мероприятий проводимых в группе больных с наличием генерализованной инфекции.

Исследования, проведенные через 28 дней, показали, что все 12 показателей клеточного иммунитета достоверно отличались от уровня параметров до лечения ($p < 0,05$). Обращает внимание тот факт, что практически все относительные параметры иммунокомпетентных клеток оставались на предыдущем уровне, что подтверждает минимальную иммунокорректирующую эффективность традиционного метода лечения. Из всех показателей только 2 (относительные количества лимфоцитов и CD4⁺-

клеток) дошли до уровня контрольных значений ($p < 0,05$). Остальные показатели достоверно отличались от данных контрольной группы ($p < 0,05$).

Таким образом, изучение и оценка показателей клеточного иммунитета у больных с ДНЗР, получивших традиционное лечение, показали, что после лечения отмечали незначительное отличие всех исследованных параметров по отношению к данным до лечения.

Для больных с ДНЗР отмечалось снижение экспрессии фибробластов, что, по-видимому, изменяла дермальную структуру регенерации раны. Затяжной характер заживления раны, в наших исследованиях, связан с низкой репаративным свойством фибробластов. Это в свою очередь приводит к изменению активности лизоцима и снижает синтез компонентов внеклеточного матрикса. Это может привести к активному разрушению коллагеновых волокон в ране с образованием каллезных краев [62].

Численность макрофагов и фибробластов у больных с генерализацией инфекции на фоне ДНЗР уменьшалось, что было связано с апоптозом и увеличением соответствующих CD38⁺-клеток. Это приводило к снижению потока крови в область ДНЗР и соответственно снижению метаболической активности клеток.

У больных с ДНЗР, осложненные генерализацией воспалительного процесса нами отмечено нарушение экспрессии цитокина MIP, которые ответственный за миграцию мононуклеарных лейкоцитов в очаг воспаления. Нами обнаружено, что у больных с ДНЗР, осложненные генерализацией инфекции, исследованные нами две изоформы MIP, в частности MIP-1 α и MIP-2 β , оказывали антагонистичные эффекты. То есть, понижение экспрессии MIP-1 α у больных с генерализацией инфекции сопровождалось повышением данного эффекта по отношению к MIP-2 β . Такой эффект был описан в литературе как дисбаланс макрофагальной воспалительная белка, наподобие повышения продукции С-реактивного белка при развитии сепсиса [27].

Нами выявлено, что у больных с ДНЗР, осложненные генерализацией инфекции полностью нарушен механизм образования новых сосудов микроциркуляторного русла. Это создает сложности в обеспечении раны мононуклеарными лейкоцитами, недостаток которых был отмечен нами среди больных второй подгруппы.



Рис. 5.9. Схема патогенеза иммунологических нарушений при ДНЗР, осложненных генерализацией инфекции

Выявленное нами снижение экспрессии PDGF, соответственно приводит к снижению восприимчивости его рецепторов. На этом фоне, у больных с ДНЗР, осложненные генерализацией инфекции нами выявлено снижение экспрессии TGF-β. Это в свою очередь может стать причиной прогрессирующего снижения синтеза внеклеточного матрикса. Такой неблагоприятный фон, по-видимому, становится причиной выявленного нами дисбаланса фибробластов в ране, которые затрудняются в процессе трансформации в миофибробласты. Снижение последних, как показали наши морфологические исследования, приводит к нарушению контракции раневого дефекта и его закрытию.

Повышается экспрессия провоспалительных цитокинов, что может наравне с нарушением ремоделирования клеток, приводит к замедлению реэпителизации и снижает клеточную миграцию [236].

Анализ полученных нами результатов позволяет создать схему развития генерализации инфекции у больных с ДНЗР (рисунок 5.9).

При ДНЗР отсутствие генерализации инфекции обусловлено не только наличием постоянной бактериальной инфекции, снижения ангиогенеза и нарушения эпителизации тканей. Большая роль в этом отводится к возможности сдерживания баланса нейтрофилов и макрофагов в ране, которые в силу своей активности способствуют к поддержанию высокого профиля воспалительной реакции в самой ране. В результате такого преобразования усиливается экспрессия CD8⁺ Т-клеток, которые в свою очередь так же способствует поддержанию воспалительной реакции организма, снижению васкуляризации и развитию фиброза в ране.

Между тем, периодическое присутствие бактерий в ране не может являться основным ключом в развитии осложненной формы ДНЗР. В данном случае немаловажное значение приобретает наличие некротического струпа в ране и активной колонизации бактерий, которые в наших исследованиях были представлены аэробной культурой. Однако возможность колонизации бактерий в ране возможна лишь при условии снижения способности Т- и В-лимфоцитов устранять бактерий, а также модуляции иммунных реакций и ремоделирования тканей. Способствует этому целый ряд факторов, в основе которых лежит снижение дифференцировки макрофагов и нарушение ядерной структуры нейтрофилов. Это так же приводит к определенной диспропорции иммуноглобулинов, в частности рост IgG, IgM и IgA в крови и снижение их концентрации в ране, без соблюдения цикличности течения фаз раневого процесса. В результате увеличения экспрессии MIP-2 β и снижения экспрессии MIP-1 α происходит цикличное высвобождение провоспалительных цитокинов в системный кровоток с усилением экспрессии TNF- α и IL-1 β на фоне снижения трансформирующего и тромбоцитарного факторов роста. Последние, как известно, активируются в обычных условиях течения раневого процесса. Относительно тромбоцитарного фактора роста, можно отметить его роль в клеточном

делении фибробластов – типа клеток соединительной ткани, которые играют большую роль в регенерации ран. Однако, в силу снижения данного фактора, происходит задержка в регенерации тканей. Именно с этим мы связываем и снижение притока иммунных клеток и фибробластов в ДНЗР, сохраняя ее как источник для циклической генерализации инфекции. Что касается трансформирующего фактора роста- β , можно отметить о его задействии в регуляции клеточной активности лейкоцитов.

Макрофагальный воспалительный белок, являющийся производным от моноцитов, нейтрофилов и лимфоцитов, ответственный не только за транспортировку клеток, но и доведение их до иммунологической реакции. Снижение MIP-1 α в крови напрямую свидетельствует о нарушении этих процессов, что приводит не только к снижению иммунологической ответной реакции, но и способствует прогрессированию агрессивного направления генерализации воспалительной реакции организма. Его снижение так же способствует к затяжному течению раневого процесса. Гемопоетическое его происхождение, наш взгляд, может иметь возможность для регулирования процессов, связанных с активацией MIP-1 α .

У больных с ДНЗР, осложненные генерализацией инфекции отмечалось диспропорция в экспрессии CD⁺ клеток. Наиболее усиление экспрессии было отмечено по отношению к CD38⁺ и CD16⁺-клеткам. Их проявление регулируется активностью макрофагов и нейтрофилов в ране. В наших исследованиях мы выявили длительное присутствие с низкой активностью макрофагов и нейтрофилов в ране, что было связано со снижением активности молекулярных шаблонов, связанных с длительными повреждением тканей некротическим процессом. В результате всего вышеописанного процесса формируется замкнутый круг, где определить стартовую точку развития цепочки патологических процессов, связанных с генерализацией инфекции у больных с ДНЗР, уже становится невозможным. В любом случае, именно снижение способности Т- и В-лимфоцитов устранять бактерии, модулировать иммунную реакцию организма и

ремоделирование роста тканей, наравне с образованием микробных колоний в ране приводит к развитию генерализации инфекции в виде периодического хронического сепсиса. Основанием для такого суждения могут выступать критерии неудовлетворительных результатов лечения ДНЗР, при которых на фоне прогрессирования некротического процесса тканей имеет место дисбаланс экспрессии макрофагального воспалительного белка, CD16+ и CD38+ клеток, факторов роста и провоспалительных цитокинов. Эти показатели, как наиболее приемлемые, могут быть использованы при разработке методов прогнозирования генерализации инфекции у больных с ДНЗР.

Выявленные нами показатели генерализации инфекции у больных с ДНЗР были подвергнуты другому виду корреляционного анализа с построением значений по Спирмену (таблица 5.5).

В данном случае нами были учтены принципы ценности показателей отдельно в первой и второй подгруппах больных, что позволило комбинировать логистические индексы для построения прогностической вероятности развития генерализации инфекции.

Среднее значение показателя ранговой корреляции по Спирмену среди больных первой подгруппы приравнивалось $0,287 \pm 0,011$, тогда как среди больных второй подгруппы оно составило $0,889 \pm 0,024$, то есть в 3,1 раза больше ($p < 0,05$). В целом все выделенные показатели прогнозирования генерализации инфекции у больных с ДНЗР по значению ранговой корреляции превышали среди больных второй подгруппы. Так, максимальная разница (в 7 раз) превышения достоверного значения было отмечено нами по снижению экспрессии TGF- β ($p < 0,001$), а минимальная (в 1,9 раза) – по усилению экспрессии CD38+-клеток ($p < 0,05$). Высокой разницей (более 50%) отличились также показатель снижения экспрессии MIP-1 α (в 6,1 раза; $p < 0,001$), усиление экспрессии IL-1 β (в 4,6 раза; $p < 0,05$) и усиление экспрессии MIP-2 β (в 4,1 раза; $p < 0,05$).

Таблица 5.5

Коэффициент ранговой корреляции по Спирмену между больными с ДНЗР в зависимости от развития генерализации инфекции

ПРОГНОСТИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ	ПОДГРУППЫ БОЛЬНЫХ	
	Первая (n=56)	Вторая (n=28)
Усиление экспрессии CD38+-клеток	R=0,482	R=0,917
Усиление экспрессии CD16+-клеток	R=0,387	R=0,899
Усиление экспрессии TNF- α	R=0,415	R=0,912
Усиление экспрессии IL-1 β	R=0,211	R=0,964
Снижение экспрессии TGF- β	R=0,117	R=0,817
Снижение экспрессии PDGF	R=0,317	R=0,797
Снижение экспрессии MIP-1 α	R=0,153	R=0,932
Усиление экспрессии MIP-2 β	R=0,211	R=0,872

Полученные данные послужили основной для построения многомерного логистического регрессионного анализа значимых и независимых параметров переменных, выявленных в ходе организации матрицы прогнозирования развития генерализации инфекции у больных с ДНЗР. При этом организованная матрица программы прогнозирования генерализации инфекции у больных с ДНЗР выдавала три возможных варианта течения патологического процесса: отсутствие вероятности, незначительная вероятность и выраженная вероятность.

В результате анализа зависимости данных параметров нами разработана платформа компьютерной программы калькулятора «Прогнозирование вероятности генерализации инфекции у больных с ДНЗР - PPIG».

Разработанный нами программный продукт «PPIG» доступен для широкого внедрения в практическое здравоохранение, так как может функционировать на любой компьютерной платформе в различном режиме. Это в свою очередь позволяет минимизировать расчетное время со стороны медицинского персонала.

Оценка эффективности разработанных нами способа прогнозирования генерализации инфекции у больных с ДНЗР «PPIG» была проведена на

основе принципов доказательной медицины с применением метода анализа ROC-кривой совпадения значимых параметров в разрезе их чувствительности и специфичности (рисунок 5.10). При этом в качестве отправного значения нами были использованы предложенные J. Marel и соавт. [158] данные индекса «SAW», который был применен в качестве традиционного метода сепсиса у больных с ДНЗР.

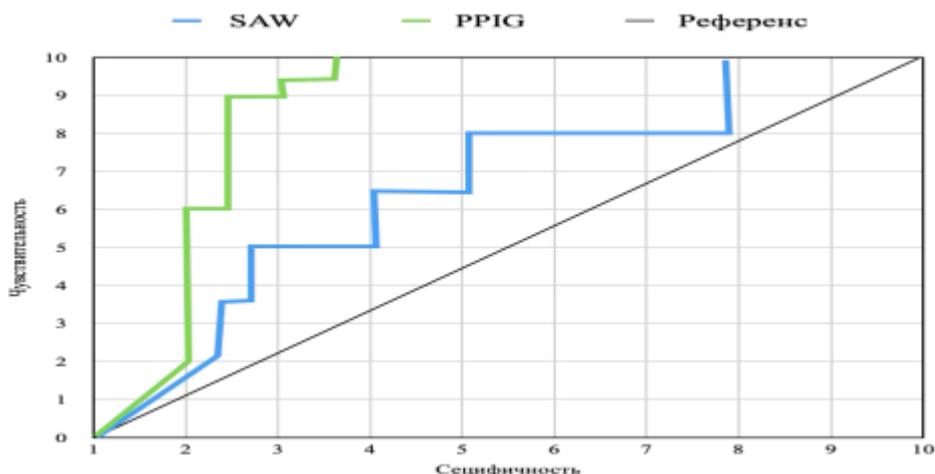


Рис. 5.10. Сравнительная ROC-кривая прогнозирования генерализации инфекции у больных с ДНЗР

Сравнительный анализ первичного обследования больных с ДНЗР с выявлением прогностического индекса вероятности развития генерализации инфекции с программой «PPIG» по сравнению с «SAW» нами было достигнуто увеличение удельного веса больных с истинноположительными и истинноотрицательными результатами на 7,4% и на 17,9% соответственно. Ложноположительные и ложноотрицательные результаты при использовании программы «PPIG» были меньше, по сравнению с аналоговым методом в 2,7 и в 2,2 раза соответственно. Диагностическая чувствительность и специфичность разработанной нами программы прогнозирования генерализации инфекции у больных с ДНЗР была выше аналоговой на 21,4% и на 16% соответственно, что в конечном счете позволило повысить прогностическую ценность метода в 1,7 раза.

На 7-сутки лечения больных прогностические показатели возросли. При оценке по аналоговому методу истинноположительные результаты возросли до 22,6%, а истинноотрицательные – до 41,7%. Уменьшилась доля ложноположительных и ложноотрицательных результатов до 25% и до 10,7%. Оценка прогностической вероятности генерализации инфекции у больных с длительно незаживающими ранами с использованием разработанной нами методики позволило увеличить долю случаев с истинноотрицательными результатами до 32,1%, а истинноотрицательных – до 64,3% , то есть на 9,5% и на 22,6% больше в группе с прототипом. Наравне с этим, при использовании разработанной нами программы, было достигнуто снижение частоты ложноположительных (с 25% до 2,4%) и ложноотрицательных (с 10,7% до 1,2%) результатов тестирования в 10,4 и в 8,9 раза соответственно. Все это позволило уже на 7-сутки лечения повысить чувствительность прогнозирования генерализации инфекции с 67,9% до 96,4%, специфичность – с 79,5% до 98,2%, а прогностическую ценность нашего метода с 47,5% до 93,1%, то есть почти в 2 раза.

Таким образом, при оценке эффективности разработанного нами способа прогнозирования генерализации инфекции у больных с ДНЗР уже при первичном исследовании позволило, по сравнению с традиционным способом повысить истинноположительные результаты на 7,2%, истинноотрицательные результаты – на 17,9%, снизить частоту ложноположительных результатов прогнозирования в 2,7 раза, а ложноотрицательных результатов – в 2,2 раза. В целом, все это позволило повысить уровень прогностической чувствительности метода с 60,7% до 82,1%, а прогностическую специфичность – с 74,4% до 90,4%, что в конечном счете повысить ожидаемую прогностическую ценность разработанного метода с 41,5% до 71,9%.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Длительно незаживающие или хронические раны, известные в хирургии как язвы мягких тканей, представляют собой далеко нерешенную и весьма актуальную проблему здравоохранения.

Актуальность данной проблемы обусловлена наиболее частым сочетанием длительно незаживающих ран (ДНЗР) с другими хроническими заболеваниями (сахарный диабет, атеросклероз, нейропатия и др.), которые наравне с усугублением патологического процесса, создают условия для атипичного течения самого раневого процесса. Физиологический процесс заживления раны включает в себя четыре стадии: гемостаз, воспаление, пролиферацию и рубцевание, слаженная работа которых обеспечивает правильное заживление. Однако, когда раны не проходят через этот организованный процесс, заживление мягких тканей замедляется, и это в конечном итоге приводит к развитию ДНЗР с такими общими признаками как, экссудация, повторное инфицирование, некроз тканей, дефектная реэпителизация, снижение ангиогенеза.

С патогенетической точки зрения, на сегодняшний день общепризнанным является объединение всех длительно незаживающих ран в единую группу заболеваний, вследствие наличия у них идентичного механизма развития. При этом, наравне со значимостью таких факторов формирования ДНЗР как местная тканевая гипоксия, хроническая травматизация, нарушение обмена веществ и др., пристальное внимание ученых обращено на исследования нарушений в иммунной системе, как одного из ключевых порогов как формирования ДНЗР, так и его осложнений в виде генерализации инфекции. Например, иммунные и структурные клетки активно экспрессируют и регулируют цитокины, хемокины и факторы роста в процессе заживления раны. Также, повышенный уровень INF- γ , VEGF и растворимого VCAM-1, наблюдаемый у пациентов с ДНЗР, способствует их заживлению.

Однако в незаживающих ранах нарушаются определенные факторы, что частично отвечает за патогенез травмы. У мышей с дефицитом антагонистов рецепторов IL-36 наблюдалось замедленное заживление ран из-за перепродукции IL-36 γ , TGF- β и CXCL1, избыточной инфильтрации нейтрофилов и макрофагов и избыточного образования грануляционной ткани. Кроме того, хемокиновый рецептор CCR4 негативно влияет на хронические раны, вызванные сахарным диабетом. У мышей с диабетом, истощенных CCR4, наблюдалось снижение экспрессии цитокинов, способствующих заживлению ран, таких как IL-6, IL-12, IL-1 β , TNF- α и IL10.

В другом исследовании выявлено нарушение регуляции транскрипционных факторов FOXM1 и STAT3 у пациентов с ДНЗР. FOXM1 и STAT3 отвечают за пролиферацию макрофагов и нейтрофилов и за их рекрутирование в микроокружение раны. Таким образом, ингибирование этих факторов у пациентов с ДНЗР способствует патогенезу заболевания за счет дефектного рекрутирования иммунных клеток.

Все это послужило предпосылками для проведения более углубленных исследований механизмов иммунной реакции организма как залога возможности улучшения результатов лечения больных с ДНЗР, а также прогнозирования и профилактики генерализации инфекции.

В связи с вышеизложенным, целью нашего исследования явилось улучшение результатов лечения больных с ДНЗР путем определения роли и места клиническо-иммунологических показателей в прогнозировании и профилактики генерализации инфекции.

Для реализации данной цели нами были определены следующие конкретные задачи: оценить характер клинико-лабораторных признаков длительно незаживающих ран, а также выявить частоту и особенности проявления осложнения данного заболевания в виде генерализации инфекции у больных, получавших традиционные методы лечения; исследовать и провести анализ характера изменения основных параметров клеточного и гуморального иммунитета у больных с длительно незаживающими ранами в

динамике применения традиционных методов лечения; провести анализ взаимосвязи изменений показателей клеточного и гуморального иммунитета в крови, а также иммунологических показателей раны в патогенезе длительно незаживающих ран; выявить основные ключевые факторы и обосновать теоретическую и практическую значимость клинико-иммунологической и цитоморфологической патогенетической взаимосвязи в генерализации инфекции у больных с длительно незаживающими ранами; разработать и провести сравнительную клинико-иммунологическую оценку эффективности способа прогнозирования генерализации инфекции у больных с длительно незаживающими ранами; разработать и провести сравнительную клинико-иммунологическую оценку эффективности способа профилактики генерализации инфекции у больных с длительно незаживающими ранами; провести сравнительную оценку эффективности результатов лечения больных с длительно незаживающими ранами.

Аналізу подвергаються результати обстеження і лікування 169 хворих з ДНЗР, які знаходились в клініці Бухарського державного медичного інституту за період 2010-2024 роки. Всі хворі були розділені нами на 2 групи – контрольну і основну.

В контрольну групу хворих були включені 84 (49,7%) пацієнта з ДНЗР, які знаходились на лікуванні і обстеженні в клініці в період з 2010 по 2015 роки і отримували традиційні методи лікування відповідно до затверджених стандартів надання лікувально-діагностичної допомоги хворим з даною патологією (хірургічна обробка гнійного осередку і некрэктомія, санація ранової поверхні антисептиками з накладенням пов'язок з гіперосмолярними мазями на водорозчинній основі). Загальні методи лікування хворих з ДНЗР включали в себе застосування антибіотикотерапії, тромбоцитарних дезагрегантів, флеботонізаторів, периферических вазодилаторів, препаратів метаболічного дії і імунотропних засобів. 57 (67,9%) хворих були чоловічої статі, 27 (32,1%) – жіночої. Середній вік хворих $58,6 \pm 8,2$ років.

Клинико-патогенетические формы ДНЗР среди больных контрольной группы были пролежни различной локализации (29 больных - 34,5%), нейротрофические язвы на фоне синдрома диабетической стопы (28 больных – 33,3%) и трофические язвы после тромбоза (27 больных – 32,1%).

В основную группу больных были включены 85 (50,3%) пациентов с ДНЗР, которые находились на лечении и обследовании в клинике в период с 2016 по 2024 годы. Больным основной группы были применены разработанные нами методы прогнозирования и профилактики (хирургическая обработка гнойного очага, вакуумная терапия, лазерная фотодинамическая терапия, Нейпоген® и Инфликсимаб) генерализации инфекции при лечении ДНЗР. 62 (72,9%) больных были мужского пола, 23 (27,1%) – женского. Средний возраст больных $66,5 \pm 10,4$ лет. Клинико-патогенетические формы ДНЗР среди больных основной группы были пролежни различной локализации (36 больных - 42,4%), нейротрофические язвы на фоне синдрома диабетической стопы (27 больных – 31,8%) и трофические язвы после тромбоза (22 больных – 25,9%).

Методы исследования были комплексными и состояли из двух крупных блоков: стандартные методы исследования, утвержденные протоколом оказания лечебно-диагностической помощи больным с ДНЗР и специальные методы исследования, исходящие из цели и задач данной диссертационной работы.

Специальные методы исследования включали в себя цитологические и морфометрические исследования раны; определение в крови маркеров иммунокомпетентных клеток: CD3⁺-, CD4⁺, CD8⁺-, CD16⁺-, CD20⁺-, CD23⁺- CD38⁺-, а также CD25⁺-, CD95⁺-лимфоцитов; определение в сыворотке крови и в раневой поверхности иммуноглобулинов M, A и G и концентрация лизоцима; определение цитокинов IL-1b, TNF- α , TGF- β , MIP-1 α , MIP-2 β и PDGF на 1, 7, 14, 28 сутки лечения больных.

Проведенный анализ распределения больных контрольной группы в зависимости от количества клинико-лабораторных признаков синдрома

системной воспалительной ответной реакции, исходя из критериев постановки диагноза, позволил определить наличие генерализации инфекции у 28 (33,3%) больных. При этом среди больных с пролежнями и с нейротрофическими язвами синдрома диабетической стопы их оказалось больше всего (41,4% и 36,7% соответственно). Это позволяет нам, с целью решения поставленной задачи, разделить больных контрольной группы на две подгруппы, в зависимости от характера течения воспалительного процесса: первую подгруппу составили 56 (66,7%) пациентов у которых были отмечены до 1 клинико-лабораторных признака синдрома системной воспалительной ответной реакции или они отсутствовали так каково; вторую подгруппу составили 28 (33,3%) больных, у которых были отмечены от 2 и более признаков синдрома системной воспалительной ответной реакции на фоне длительно незаживающих ран. Зачастую генерализация инфекции проявлялась в виде хронического сепсиса с органной дисфункцией, которая могла протекать под маской патологии пораженного органа.

Уже при первичном обследовании было выявлено наличие выраженного лейкоцитоза ($12,27 \pm 0,92 \times 10^9/\text{л}$) среди больных с ДНЗР осложненной генерализацией инфекции. При этом выявленные нами у этих больных высокие абсолютные значения лимфоцитов сочетались снижением относительных значений данного показателя. Подобный характер изменений, видимо был характерен для течения хронического сепсиса, описанное в исследованиях К. Jerald, et al. [79]. Такой дифференцированный уровень клеток лейкоцитарного ряда был отмечен нами даже на 14-сутки проведения традиционных методов лечения.

Сравнительная динамика изменения относительных и абсолютных значений CD3⁺-клетки у больных с ДНЗР показала, что у больных с генерализацией инфекции на всем протяжении лечения были отмечены низкие относительные и высокие абсолютные значения данного показателя. Такие же соотношения изменения были выявлены нами и по изменениям уровня в крови CD4⁺- и CD8⁺-лимфоцитов. Все это свидетельствует о

наличии иммунодефицитного состояния у больных с ДНЗР, осложненные генерализацией инфекции.

Учитывая, что именно CD4⁺- и CD8⁺-лимфоциты дифференцируются сразу после попадания патогенов в организм человека, можно отметить о нарушении их пролиферации в условиях развития хронического сепсиса.

Согласно данным S. Peterson, et al., такие изменения являются характерными для больных с хроническим течением воспалительного процесса и его генерализованной формы. Именно в таких ситуациях CD4⁺- и CD8⁺-лимфоциты запрограммированы выполнять свои протективные функции.

Сравнительная динамика изменения относительных и абсолютных значений CD38⁺-клеток у больных с ДНЗР позволила выявить более высокие как абсолютных, так и относительных их значений среди больных с генерализацией воспалительного процесса. Такое не схожее преобразование численности CD38⁺-клеток у больных с ДНЗР, осложненные генерализацией инфекции, возможно было связано с особенностями иммунных функциональных свойствах этих клеток в происходящих процессах, связанные как с течением хронического воспалительного процесса, так и высокой их роли в процессе старения и сахарного диабета. Такое заключение было основано на характерных особенностях больных в контрольной группе.

Более высокие относительные и абсолютные значения в крови были отмечены среди В-лимфоцитов (CD20⁺- и CD23⁺-клеток) у больных ДНЗР осложненные генерализацией инфекции. При этом абсолютное количество этих клеток в крови было 2-кратно повышено среди больных с ДНЗР, осложненные генерализацией инфекции, тогда как относительные значения не имели такую тенденцию.

В целом можно отметить разнонаправленность динамики изменения абсолютно и относительного количества Т- и В-лимфоцитов в крови у больных с ДНЗР, осложнённые генерализацией инфекции, что может свидетельствовать о наличии дисбаланса этих показателей и

сформированной определенной напряженности в иммунной системе больных.

Тесная взаимосвязь между исследованными показателями Т- и В-лимфоцитов взаимосвязано, и направлено на дополнение другого компонента иммунитета, имеющее взаимодействие между собой. Такой характер взаимосвязи был выявлен нами и при изучении лимфоцитов с маркерами ранней активации (CD25+-клетки) и готовности клеток к апоптозу (CD95+-клетки), а также натуральных киллеров (CD16+-клеток) у больных с ДНЗР, осложненные генерализацией инфекции, где вследствие разнонаправленности изменений в содержании этих клеток нами был констатирован факт напряженности иммунной системы связанного с характерным патологическим процессом.

Сравнительная динамика изменения содержания иммуноглобулинов в крови у больных с ДНЗР выявило высокие их значения среди больных с осложненной формой течения заболевания.

Уже при первичном обследовании количество IgM и IgA среди больных с осложненной формой ДНЗР было выше, чем у больных с неосложненной формой заболевания в 2,9 ($p < 0,01$) и в 2,2 раза ($p < 0,032$) соответственно, тогда как относительное повышение IgG было не столь выраженным (в 1,04 раза). При этом, если разница в содержании IgM и IgA у больных с различными формами ДНЗР в динамике применения традиционных методов лечения была относительно стабильной, то по отношению к разнице IgG в сыворотке крови можно отметить ее рост за счет больных с осложненной формой заболевания.

У больных с ДНЗР, осложненные сепсисом, нами выявлены относительно высокие значения концентрации IL-1 (в 1,8 раза) и TNF- α (в 3,4 раза) и относительно низкие значения TGF- β (в 1,1 раза) в сыворотке крови уже при первичном обследовании больных. В динамике проведенного традиционного лечения нами обнаружен рост концентрации IL-1 в сыворотке больных с ДНЗР, осложненные сепсисом (в 2,7 раза на 7-сутки; в 4,9 раза на

14-сутки и в 11,9 раза на 28-сутки лечения), что было связано со снижением концентрации данного провоспалительного цитокина в крови больных с ДНЗР без генерализации инфекции. Что касается динамики изменения TNF- α в крови, то можно отметить снижение его относительного уровня между больными с различными формами течения ДНЗР (в 3,7 раза на 7-сутки; в 3,5 раза на 14-сутки и в 3,4 раза на 28-сутки лечения).

У больных с неосложненной формой ДНЗР в процессе проводимого традиционного лечения отмечался рост концентрации TGF- β в крови, что свидетельствовало об эффективности проводимой терапии. Однако у больных с ДНЗР, осложненные сепсисом, данный показатель оставался без изменений, за счет чего увеличивалась относительная разница между исследуемыми подгруппами больных.

Выявленные нами низкие значения MIP-1 α у больных с неосложненной формой ДНЗР в ранние сроки проведенного лечения в динамике проведенного лечения приводило к увеличению ее экспрессии, тогда как среди больных генерализацией инфекции – к ее снижению. Подобная обратная динамика была выявлена нами при исследовании MIP-2 β , которая проявлялась нарушением экспрессии в противоположном направлении. Низкими значениями выделялись уровень концентрации PDGF в крови, которые у больных с осложненной формой ДНЗР не достигали референсных значений даже в отдаленные сроки проводимого традиционного лечения.

Таким образом, проведенные исследования изменения клинических и лабораторных проявлений ДНЗР, осложненные генерализацией инфекцией, а также динамика изменения показателей клеточного и гуморального иммунитета позволило выявить не состоятельность эффективности методов традиционного лечения, выражающаяся недостаточной иммунокорректирующей терапии. Стихание генерализованной формы заболевания все еще может таить в себе возможность рецидива воспалительного процесса, который в силу своей цикличности приобретает форму хронического сепсиса.

Проведение цитологических исследований отпечатков ДНЗР позволило выявить, что на всем протяжении динамики исследования основным фоном очага воспаления является белковая масса в комбинации с клетками воспалительного ряда и микроорганизмов. Именно такая комбинация клеточно-микробного фактора определяла выраженность течения патологического процесса и развития осложнения в виде генерализации инфекции. В динамике проведенного лечения лейкоцитарная инфильтрация в целом уменьшалась и в приоритете оказывались лимфоциты и клетки гистиоциты.

Сравнительная характеристика содержания фибробластов в длительно незаживающих ранах больных позволило выявить их экспрессию, причем в случае наличия генерализации инфекции такая тенденция была менее выраженной и характеризовалось относительно низкими значениями данного показателя. В то же время динамика изменения количества гранулоцитов в отпечатках ДНЗР характеризуется уменьшением данных видов клеток на протяжении всего периода проводимого лечения. При этом, в случае отсутствия генерализации инфекции гранулоциты в ране прогрессивно снижаются в ранние сроки проводимого лечения, что является характерным относительно благоприятного течения хронического воспалительного процесса. У больных с ДНЗР, осложненные генерализацией инфекции исходное значение лимфоцитов становится не выраженным, хотя в динамике проводимого лечения также имеют тенденцию к уменьшению экспрессии этих клеток в ране.

Нам выявлен рост регенеративно-дегенеративного индекса на достоверном уровне уже на 14-28-сутки проведения традиционных методов лечения при относительно стабильном количестве дегенеративных форм нейтрофилов, а динамика изменения количества макрофагов в отпечатках поверхности ДНЗР характеризуется присутствием данных клеток на всем протяжении проведенного лечения, при чем в случаях отсутствия

генерализации инфекции характерным является увеличение их местной экспрессии.

Анализ динамики изменения уровня иммуноглобулинов в смывах поверхности ДНЗР показал, что критическим сроком в процессе проводимого традиционного лечения оказались 14-сутки, когда отмечалось усиление выработки иммуноглобулинов за счет IgG и снижения продукции IgA и IgM. Полученные данные свидетельствуют о факте последствий перенесенного хронического сепсиса, когда даже в условиях ликвидации генерализации инфекции продукция IgA продолжается с заполнением ими раневой поверхности. В то же время ранний период проведенного лечения характеризовался волнообразным изменением концентрации IgM как среди больных первой, так и второй подгрупп. При этом в случае наличия генерализации инфекции изменения проявлялись незначительно.

Концентрация лизоцима в длительно незаживающих ранах характеризуется изменением динамики в зависимости от наличия генерализации инфекции в виде повышения продукции превышающее исходного значения. Такие изменения в концентрации лизоцима напрямую связаны с наличием генерализации инфекции и могут быть использованы при прогнозировании течения воспалительного процесса у больных с длительно незаживающими ранами.

Сравнительная оценка корреляционных значений изменения абсолютных и относительных величин показателей клеточного иммунитета у больных с ДНЗР позволила нам определить, что у больных с генерализацией инфекции все исследованные показатели клеточного иммунитета как в абсолютном, так и в относительном значении носили исключительно высокую прямую корреляционную связь, тогда как среди больных без генерализации инфекции коэффициенты корреляционной связи были значительно ниже, а по показателям динамики изменений CD 16+ и CD 95+ клеток была выявлена отрицательная корреляционная связь ($R=-0,215$ и $R=-0,784$ соответственно).

В целом, общая динамика корреляционной связи показателей клеточного иммунитета по абсолютным и относительным величинам у больных разных подгрупп была не однозначной. Среди абсолютных величин преобладали значения апоптоза, старения клеток и их активация В-лимфоцитов, тогда как среди показателей относительного значения присоединялись естественные клетки киллеры и Т-хелперы. Супрессия в клеточной иммунной системе по абсолютным и относительным показателям была почти идентичной, что свидетельствует о низком клеточном иммунологическом ответе в условиях развития генерализации инфекции.

При сопоставлении корреляционного коэффициента показателей гуморального иммунитета в динамике лечения больных с длительно незаживающими ранами было выявлено, что по отношению к динамике общих значений большинство больных имели прямую связь. Это свидетельствует о ценности значения в прогнозировании генерализации инфекции показателей гуморального иммунитета.

Так, высокие значения прямой корреляционной связи TNF- α , IgA, IgM, MIP-2 β и IgG у больных с ДНЗР, осложненные генерализацией инфекции, при условии низких или обратных связей напрямую подтверждают ценность этих параметров в прогнозировании генерализации инфекции. В то же время ценность следующих показателей гуморального иммунитета: PDGF, TGF- β , IL-1 и MIP-1 α в прогнозировании генерализации инфекции низкая, так как они могут отражать лишь течение воспалительного процесса у больных с ДНЗР.

Сопоставление общей корреляционной значимости в сравнении между подгруппами больных с ДНЗР, можно выделить дифференцированность кривой у больных с генерализацией инфекции, по IgA ($R=-0,398$), тогда как в случае отсутствия осложнения подобного типа достоверному изменению подвергаются MIP-2 β ($R=-0,858$) и IgG ($R=-0,973$). Анализ корреляционной зависимости показателей гуморального иммунитета у больных с ДНЗР выявил преобладающую их роль в генерировании патологического процесса

и специфическом изменении некоторых из них в генерализации воспалительного процесса.

Корреляционная значимость динамики изменений морфометрических параметров клеток в ДНЗР показала высокие прямые связи между количеством макрофагов и фибробластов, а также лимфоцитов и гранулоцитов в ране как у больных с обычным течением ДНЗР ($R=0,929$ и $R=0,889$ соответственно), так и с осложненным течением заболевания ($R=0,903$ и $R=0,971$ соответственно). В остальных случаях все корреляционные значения носили отрицательный характер.

Однако, при исследовании корреляционного значения динамики изменений иммуноглобулинов и лизоцима в ДНЗР у больных с различными формами течения заболевания, было выявлено различие, которая характеризовалась высокими прямыми корреляционными значениями между динамикой изменения лизоцима и IgG, IgM и IgA ($R=0,957$ и $R=0,892$ соответственно), тогда как среди больных осложненным течением заболевания зависимость лизоцима и IgG приобретала обратный характер ($R=-0,552$) на фоне роста корреляционной зависимости между динамикой изменения IgM и IgA ($R=0,926$). Это может свидетельствует о влиянии концентрации лизоцима на продуктивность иммуноглобулина в ране в условиях развития генерализации инфекции. В целом, рост количества фибробластов и макрофагов в ДНЗР, несмотря на низкие значения гранулоцитов и лимфоцитов, при условии роста количества образования IgA и IgM не приводит к развитию генерализации инфекции. Однако, в условиях снижения экспрессии клеток лейкоцитарного ряда в ране, даже при условии роста количества иммуноглобулинов может привести к генерализации инфекции. При этом активность лизоцима может оставаться стабильной как высокой, так и низкой при условии генерализации инфекции, которая, по-видимому, зависит от других факторов течения воспалительного процесса в ране (наличие некроза, состояния микроциркуляции и др.).

При анализе клинико-иммунологической и цитоморфологической патогенетической взаимосвязи в разработке методов прогнозирования генерализации инфекции у больных с ДНЗР были выявлены, относительно низкие значения корреляционной связи лишь по отношению к TGF- β (R=0,912), PDGF (R=0,932) и MIP-1 α (R=0,853). Однако среди больных с ДНЗР, осложненные генерализацией инфекции, можно констатировать максимально достоверное различие между динамикой изменения гранулоцитов (R=0,944) и IgA (R=0,9899) в ране.

На основании проведенного многофакторного анализа полученных данных и цитоморфологической картины раны, мы можем охарактеризовать патогенез течения ДНЗР. Недостаточность локального кровообращения ДНЗР характеризуется стабильным накоплением некротических тканей в ране. Его образование также приводит к кумуляции детрита, фрагментированного погибших клеток. Все это является благоприятной средой для обитания и развития колоний микроорганизмов. Известно, что длительное присутствие микроорганизмов в ране, вследствие выработки ими липополисахаридов, стимулирует продукцию провоспалительных цитокинов в системный кровоток. Миграция клеток лейкоцитарного ряда в ДНЗР, в первую очередь моноцитов, как потенциальных макрофагов сопровождается повышением уровня плазматических клеток (Т- и В-лимфоцитов) в крови с нарушением соотношения субпопуляционных фракций (Т-хелперы/Т-супрессоры). Выраженность данного процесса можно было выявить среди больных с осложненной формой течения ДНЗР.

Даже через 1 неделю проводимая традиционная терапия не приводила к какому-либо улучшению механизма нормализации соотношения иммунологических показателей в крови. Так, абсолютные показатели ряда лимфоцитов (CD3 $^{+}$ -, CD4 $^{+}$ -, CD8 $^{+}$ - и CD38 $^{+}$ -клеток) еще больше увеличились по отношению к данным до начала лечения. В последующем, несмотря на относительное снижение лейкоцитов в крови, абсолютные количества иммунокомпетентных клеток продолжают увеличиваться.

Такие изменения напрямую могут свидетельствовать о возникновении напряженности в иммунной системе организма. С другой стороны, все это может служить доказательством о низкой эффективности иммунокоррекции традиционных методов лечения. Такой характер течения заболевания, провоцирует не только к удлинению регенеративных процессов, но и, вследствие изменения активности лизоцима, к активному разрушению коллагеновых волокон в ране с образованием каллезных краев [62].

Апоптоз клеток с увеличением экспрессии в крови CD38⁺-клеток сопровождается снижением численности макрофагов в ране, а при ДНЗР, осложненных генерализацией инфекцией, присоединяется еще и дефицит фибробластов. В таких условиях снижается метаболическая активность клеток. Развивается дисбаланс макрофагального воспалительного белка, в частности MIP-1 α и MIP-2 β , что по патоморфологической структуре может соответствовать повышенной продукции С-реактивного белка, который является весьма характерным при сепсисе [27]. Все это происходит на фоне нарушенной микроциркуляции и прогрессирующего снижения экспрессии PDGF и TGF- β . Замедление регенеративных процессов ДНЗР со снижением клеточной миграции является постоянным фоном для возможного развития генерализации инфекции. Такой фон может формироваться под действием высокой экспрессии провоспалительных цитокинов.

Основные исследованные показатели прогнозирования генерализации инфекции у больных с ДНЗР по значению ранговой корреляции превышали среди больных второй подгруппы. Это позволило построить многомерную логистическую регрессию анализа значимых и независимых параметров переменных, выявленных в ходе организации матрицы прогнозирования развития генерализации инфекции у больных с ДНЗР. При этом организованная матрица программы прогнозирования генерализации инфекции у больных с ДНЗР выдавала три возможных варианта течения патологического процесса: отсутствие вероятности, незначительная вероятность и выраженная вероятность.

В результате анализа зависимости данных параметров нами разработана платформа компьютерной программы калькулятора «Прогнозирование вероятности генерализации инфекции у больных с длительно незаживающими ранами - PPIG».

Оценка эффективности разработанного нами способа прогнозирования генерализации инфекции у больных с ДНЗР была проведена на основе принципов доказательной медицины в сравнении со значениями предложенные J. Marel и соавт. [158] «SAW».

В целом, при оценке эффективности разработанного нами способа прогнозирования генерализации инфекции у больных с ДНЗР уже при первичном исследовании позволило, по сравнению с традиционным способом повысить истинноположительные результаты на 7,2%, истинноотрицательные результаты – на 17,9%, снизить частоту ложноположительных результатов прогнозирования в 2,7 раза, а ложноотрицательных результатов – в 2,2 раза. В целом, все это позволило повысить уровень прогностической чувствительности метода с 60,7% до 82,1%, а прогностическую специфичность – с 74,4% до 90,4%, что в конечном счете повысить ожидаемую прогностическую ценность разработанного метода с 41,5% до 71,9%.

Шестая глава диссертационной работы посвящена разработке и сравнительной оценке эффективности методов профилактики генерализации инфекции при ДНЗР. При этом оценка эффективности профилактики генерализации инфекции у больных с ДНЗР проводилась как по цитоморфометрическим параметрам раны, так и по изменению иммунной системы у больных основной группы.

Полученные объективные данные, основу которых составляли иммунологические нарушения как общего, так и местного характера, позволили дифференцировать нам прогностическую вероятность развития генерализации инфекции у больных с ДНЗР. При этом, в условиях, когда у больного с ДНЗР отсутствовала прогностическая вероятность генерализации

инфекции или когда она была низкой, нами местно применялись повязки с длительным воздействием контролируемого отрицательного давления. Данный метод лечения ДНЗР характеризуется так же оптимальным для генерации физико-биологических реакций в ране. В случае выявления у больных с ДНЗР выраженной прогностической вероятности развития генерализации инфекции сеансы применения вакуумной терапии продлевались в среднем до $13,6 \pm 2,1$ суток с дополнительным применением лазерной фотодинамической терапии, эффективность которой при лечении гнойных ран уже доказана [59]. Общее профилактическое воздействие на возможную вероятность генерализации инфекции у больных с ДНЗР проводили путем применения препаратов Нейпоген® и Инфликсимаб.

Применение разработанного нами лечебно-диагностического алгоритма профилактики генерализации инфекции у больных с ДНЗР обладало сравнительно выраженным иммунокорректирующим эффектом, за счет повышения функционального состояния иммунной системы. В конечном счете нами был отмечен стабильный уровень показателей клеточного звена иммунитета на протяжении 14-28-сутки проводимого лечения, что может свидетельствовать о высокой эффективности разработанного нами лечебно-диагностического алгоритма профилактики генерализации инфекции у больных с ДНЗР.

Применение разработанного нами лечебно-диагностического алгоритма привело к росту количества нейтрофилов в отпечатках раны уже на протяжении 7-14 суток проводимого лечения, что было больше, чем у больных контрольной группы в 1,34 ($p < 0,05$) и в 1,41 раза ($p < 0,05$) соответственно. Снижалось количество сегментоядерных лейкоцитов в отпечатках раны и дегенеративных форм нейтрофилов до $2,3 \pm 0,1\%$ к концу курса лечения ($p < 0,001$).

Применение разработанного нами лечебно-диагностического алгоритма профилактики генерализации инфекции у больных с ДНЗР обладало сравнительно выраженным иммунокорректирующим эффектом, за

счет повышения функционального состояния иммунной системы. В основной группе больных нами был отмечен рост интенсивности Т-лимфоцитов и их регуляторных субпопуляций, в частности CD3+, CD4+ и CD8+-клеток. В отличие от контрольной группы больных, значения основной группы в конечном счете достигали референсных значений. Неизвестным остается факт уменьшения субпопуляций CD38+-клеток как среди абсолютных, так и относительных значений, что, по-видимому, было связано с применением гранулоцитарного фактора роста нейтрофилов.

В основной группе больных все показатели В-лимфоцитов достигали референсных значений на 28-сутки лечения ($p < 0,001$), что может свидетельствовать о купировании воспалительного процесса и исчезновении вероятности развития генерализации инфекции, что в конечном счете позволило применять окончательные варианты закрытия поверхности ДНЗР.

Сниженные параметры CD25+- и CD95+-лимфоцитов, выявленные до лечения резко повысились после проведенного комплексного лечения - соответственно уже через 7-суток ($p < 0,001$). Содержание лимфоцитов с маркерами активации и апоптоза (CD25+- и CD95+-клетки), а также НК-клеток в периферической крови больных с ДНЗР после проведенного комплексного лечения были достоверно повышенными, доходя до значений контроля (CD25+- и CD95+-клеток) и оставались высокими по отношению к нормальным значениям ($p < 0,001$).

В динамике применения разработанного нами лечебно-диагностического алгоритма интенсивность воспалительного процесса снижалась более выражено по сравнению с контрольной группой больных ($p < 0,05$). Такие изменения можно отметить по отношению к IgM и IgA. Наравне с вышеуказанным, динамика изменения IgG свидетельствовало о выраженных иммунологических ответных реакциях организма, соответствующие их интенсивного проявления и более высокой продукции данного вида иммуноглобулина ($p < 0,05$).

Эффективность разработанных нами лечебно-диагностических мероприятий, направленных на профилактику генерализации инфекции у больных с ДНЗР основной группы доказано достоверным снижением концентрации IL-1 β на 14-28-сутки в 2,1 раза ($p < 0,05$) и в 16,9 раза ($p < 0,05$) с достижением референсных значений, чего не удалось получить среди больных контрольной группы. Интенсивность изменения концентрации провоспалительных цитокинов крови у больных основной группы может свидетельствовать о высокой эффективности разработанных нами лечебно-диагностических мероприятий проявляющаяся снижением воспалительных процессов, которые могли бы стать причиной генерализации инфекции у больных с ДНЗР. Снижение интенсивности общей воспалительной реакции и переход его в локальную форму позволяет достичь положительных результатов лечения что проявилось увеличением показателей тканевого роста.

Весь процесс, связанный с изменением концентрации MIP-1 α и MIP-2 β в крови был идентичным, в частности концентрация MIP-1 α в крови у больных основной группы увеличивалось с $9,2 \pm 1,4$ пг/мл на 1-сутки лечения до $14,1 \pm 2,6$ пг/мл на 28-сутки лечения ($p < 0,05$). При этом уровень концентрации данного показателя соответствовал референсным значениям. На этом фоне нами было выявлено обратная динамика MIP-2 β в крови с $22,7 \pm 3,8$ пг/мл на 1-сутки лечения до $16 \pm 1,8$ пг/мл на 28-сутки лечения ($p < 0,05$).

Повышение уровня PDGF в крови у больных основной группы было более интенсивным (с $8,9 \pm 1,3$ пг/мл до $22,1 \pm 4,5$ пг/мл; $p < 0,05$). Все этом привело к достижению у больных основной группы референсных значений на 28-сутки лечения ($p < 0,05$), что свидетельствует о повышении интенсивности регенеративных процессов в ране.

Таким образом, исследование показателей клеточного и гуморального иммунитета показало значительные изменения с достижением референсных значений в условиях применения разработанных нами лечебно-

диагностических алгоритмов, что свидетельствует об их высокой эффективности.

Сравнительный характер динамики изменений местных клинических признаков ДНЗР показал, что в результате применения разработанного нами лечебно-диагностического алгоритма средняя площадь раны больных уменьшилась с $92,6 \pm 19,5$ мм² до $15,3 \pm 1,3$ мм², тогда как в контрольной группе больных оно уменьшалось с $88,2 \pm 21,4$ мм² до $58 \pm 12,9$ мм². Глубина ДНЗР в основной группе больных в среднем уменьшилась с $3,7 \pm 0,2$ ед. до $1,4 \pm 0,09$ ед., тогда как в контрольной группе больных она уменьшилась лишь с $3,5 \pm 0,4$ ед. до $2,3 \pm 0,1$ ед. Подобного характера изменений были отмечены нами и по уменьшению протяженности инфильтрата раны: с $3,2 \pm 0,17$ см до $0,3 \pm 0,06$ см в основной группе и с $3,1 \pm 0,15$ см до $1,6 \pm 0,08$ см в контрольной группе.

По сравнению с контрольной группой больных, применение разработанного нами лечебно-диагностического алгоритма позволило увеличить частоту самостоятельного заживления раны с 8,3% до 25,9%, достичь уменьшения размеров раны с 21,4% до 49,4% случаев, снизить частоту уменьшения размеров раны с 70,2% до 24,7%. Усиление регенерации раны позволило увеличить частоту возможности применения кожной пластики раны с 29,8% до 61,2% случаев.

Применение разработанных нами методов прогнозирования и профилактики генерализации инфекции у больных с ДНЗР позволило сократить частоту развития данного грозного осложнения в 2,6 раза. Это в свою очередь отразилось на сокращении сроков нахождения больных в клинике в 1,6 раза, а длительность амбулаторного лечения – в 2,3 раза. Все этом может свидетельствовать об эффективности разработанных нами методов прогнозирования и профилактики инфекции у больных с длительно незаживающими ранами.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Анализ стимулирующего влияния обогащенной тромбоцитами аутоплазмы и лимфостимулирующих технологий в лечении больных трофическими язвами венозной этиологии / Ю. М. Шутов, О. А. Шумков, Я. А. Верятин, и др. // Медицина. Социология. Философия. Прикладные исследования. – 2023. – № 6. – С. 102-107.
2. Аутодермопластика в лечении хронических ран: критерии эффективности подготовки к пластическому закрытию и прогнозирование результата / Л. Н. Рубанов, Ю. И. Ярец, З. А. Дундаров и др. // Хирургия. Восточная Европа. – 2016. – № 3(19). – С. 455-468.
3. Богомолов М. С. Венозные трофические язвы – консервативное лечение и его мониторинг с помощью современных технологий // VII съезд хирургов Сибири: Сборник научно-практических работ, Красноярск, 13–14 ноября 2019 года / Ответственный редактор Т.Г. Рукша. – Красноярск: Версо, 2019. – С. 251-260.
4. Бутырский А. Г. Современная парадигма лечения хронических ран // Таврический медико-биологический вестник. – 2023. – Т. 26, № 4. – С. 57-73.
5. Вакуум-терапия в лечении ран. Современные тенденции / А. А. Силин, А. С. Жидков, В. Е. Корик, С. А. Жидков // Военная медицина. – 2019. – № 1(50). – С. 117-122.
6. Влияние раневых материалов из хитозана на пролиферацию стволовых клеток / А. А. Владимирова, С. В. Кивистик, А. И. Маккаева, А. А. Ломакина // Всероссийский научный журнал "Вопросы права". – 2024. – № 2. – С. 25-28.
7. Возможности и перспективы использования бактериофагов в лечении хронических ран мягких тканей / И. Е. Погодин, В. М. Самойленко, А. Г. Киргинцев, А. С. Лузан // Вестник экспериментальной и клинической хирургии. – 2021. – Т. 14, № 2(51). – С. 168-174.

8. Выбор формы внеклеточного коллагенового матрикса для лечения хронических ран / А. В. Дятлов, А. Д. Захаров, М. В. Гурин и др. // Научные исследования и инновации: Материалы XIII Международной научно-практической конференции, Саратов, 12 октября 2021 года. – Москва: "КДУ", "Добросвет", 2021. – С. 139-144.
9. Глухов А.А. Патофизиология длительно незаживающих ран и современные методы стимуляции раневого процесса // Новости хирургии. – 2015. – Т. 23, № 6. – С. 673-679.
10. Домарацкая Е. И. Перспективы использования мезенхимных стромальных клеток для регенерации поврежденной кожи // Успехи современной биологии. – 2017. – Т. 137, № 1. – С. 56-69.
11. Жуков А. А. Опыт применения низкоинтенсивной лазерной и микродозовой лекарственной терапии у пациентов с хроническими заболеваниями вен С6 клинического класса // Аспирантский вестник Поволжья. – 2014. – № 1-2. – С. 152-155.
12. Зайцева Е. Л. Вакуум-терапия в лечении хронических ран // Сахарный диабет. – 2012. – № 3. – С. 45-49.
13. Изменение показателя рН в лечении инфицированных ран на фоне ХВН с применением бактериальной целлюлозы в эксперименте и клинике / Н. М. Тюхтева, Н. С. Соловьева, А. А. Захарченко, М. Н. Кузнецов // VII съезд хирургов Сибири: Сборник научно-практических работ, Красноярск, 13–14 ноября 2019 года / Ответственный редактор Т.Г. Рукша. – Красноярск: Версо, 2019. – С. 315-320.
14. Изучение ранозаживляющих свойств салицилата цинка / С. Е. Лаевский, К. А. Иншакова, И. С. Ракитина и др. // Бутлеровские сообщения. – 2020. – Т. 62, № 4. – С. 109-115.
15. Иммунотерапия: Руководство для врачей / Р. М. Хаитов, Р. И. Атауллаханов, С. Н. Алленов и др. – Москва: Общество с ограниченной ответственностью Издательская группа "ГЭОТАР-Медиа", 2014. – 672 с.

16. Инновационные биологически активные ранозаживляющие и кровоостанавливающие средства на основе хитозана и коллагена: этапы разработки и медико-технические характеристики / Э. В. Фрончек, А. Ю. Григорьян, Л. А. Блатун и др. // Раны и раневые инфекции. Журнал имени проф. Б.М. Костюченка. – 2018. – Т. 5, № 4. – С. 14-21.
17. Исследование влияния низкоинтенсивного лазерного излучения на динамику течения раневого процесса / Ю. Ю. Пушкарь, Д. В. Бадиков, В. С. Пыхтеев и др. // Научный вестник здравоохранения Кубани. – 2020. – № 5(71). – С. 11-20.
18. К вопросу об эпидемиологии и лечении острых и хронических ран / В. И. Васин, В. А. Ступин, К. А. Корейба, и др. // Современная наука: актуальные проблемы теории и практики. Серия: Естественные и технические науки. – 2021. – № 4-2. – С. 70-74.
19. Карапетян Г. Э. Криогенная стимуляция в лечении хронических ран // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 6. – С. 173.
20. Клиническая эпидемиология. Основы доказательной медицины. / Р. Флетчер, С. Флетчер, Э. Вагнер и др. /М.: «Медиа Сфера».-2008;60-98.
21. Клинический анализ эффективности применения современных средств для профилактики нагноения ран в постоперационном периоде / О. Ю. Афанасьева, Ю. А. Македонова, М. В. Кабытова и др. // Cathedra-Кафедра. Стоматологическое образование. – 2022. – № 80. – С. 48-51.
22. Комелягина Е. Ю. Особенности заживления ран у больных с синдромом диабетической стопы // Эндокринология. Новости. Мнения. Обучение. – 2018. – Т. 7, № 4(25). – С. 42-47.
23. Консервативное и хирургическое лечение хронических ран / А. Ю. Соцков, Д. Н. Пономарев, Н. С. Суслов, М. А. Сахипов // Научный Лидер. – 2022. – № 4(49). – С. 74-76.
24. Консервативное лечение декубитальных язв с использованием физических методов воздействия (обзор) / Э. Г. Османов, А. М. Шулутко, А. А. Яковлев и др. // Общая реаниматология. – 2022. – Т. 18, № 2. – С. 83-89.

25. Лечение гнойных ран с применением раневых покрытий "Биатравм" и "Ресорб" (экспериментальное исследование) / В. А. Лазаренко, А. И. Бежин, А. З. Гусейнов, и др. // Вестник новых медицинских технологий. – 2010. – Т. 17, № 3. – С. 200-203.
26. Лечение хронических ран - взгляд через века / А. Г. Орлов, А. Н. Липин, К. Л. Козлов и др. // Кубанский научный медицинский вестник. – 2016. – № 5(160). – С. 147-153.
27. Липницкий Е.М. Лечение трофических язв нижних конечностей // М.: Медицина, 2001. – 160 с.
28. Максимова Н. В. Биологические повязки на основе коллагена в лечении хронических ран при синдроме диабетической стопы // Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. – 2022. – № 12. – С. 109-116.
29. Мельник В.Р. Разработка технологий и компонентов препарата Нейпоген // Фармакология и фарминдустрия.-2012;3(1):218-225.
30. Методические рекомендации по микробиологической диагностике заболеваний, вызванных неспорообразующими анаэробными бактериями / В.И. Кочеровец, А.А. Петраков, Т.Р. Пономарева, В.С. Михайлова. - 1986. – 49 с.
31. Нехрикова С. В. Длительно незаживающие послеоперационные раны промежности и анального канала // Анналы хирургии. – 2013. – № 5. – С. 22-27.
32. Новые технологии оценки здоровья у практически здоровых людей / И. Б. Ушаков, О. И. Орлов, Р. М. Баевский и др. // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 2013. – Т. 99, № 3. – С. 313-319.
33. Ножницева О. Н. Современный взгляд на проблему развития несостоятельных рубцов после операции кесарева сечения // Акушерство и гинекология Санкт-Петербурга. – 2017. – № 3. – С. 13-16.
34. Оболенский В. Н. Современные методы лечения хронических ран. // Медицинский совет. – 2016. – № 10. – С. 148-154.

35. Опыт применения пибактериофага поливалентного очищенного для лечения гнойных ран при длительном и неэффективном лечении антибактериальными препаратами / Т. А. Салмина, А. И. Цыгипало, А. С. Шкода и др. // Трудный пациент. – 2016. – Т. 14, № 10-11. – С. 23-29.
36. Основные свойства применения вакуумной терапии при лечении ран / А.С. Синильник, В.Ф. Метровин, Г.У. Кучеров, и др. // Сборник тезисов международной конференции «Достижения в индустрии XXI века». – 2010:274.
37. Охунов А.О. Критерии оценки эффективности лечения длительно незаживающих ран у больных сахарным диабетом // патент IAP № 31286 ПВ РУз от 23.09.2003 г.
38. Патофизиологические аспекты процесса заживления ран в норме и при синдроме диабетической стопы / Н. В. Максимова, А. Люндуп, Р. О. Любимов и др. // Вестник Российской академии медицинских наук. – 2014. – Т. 69, № 11-12. – С. 110-117.
39. Подгорный П.Р., Сибирякова Р.Н., Мартыненко В.В. Гемопозитический эффект Нейпогена у больных с заболеваниями крови // Онкогематология.-2010;2:34-39.
40. Применение антисептического гидрогеля при мирингопластике / В. С. Исаченко, В. В. Дворянчиков, Д. А. Цыдыпова и др. // Медицинский совет. – 2023. – Т. 17, № 19. – С. 158-163.
41. Проект резолюции согласительной конференции «Сепсис – определение понятия, вопросы терминологии», Москва, 13.10.98 // Хирургия, 1999, №10-С.8-9.
42. Профилактика образования рубцов с помощью биоматериалов / А. Мур, К. Маршалл, М. Лонгакер и др. // Косметика и медицина. – 2017. – № 3. – С. 32-42.
43. Разработка узла магнитного воздействия для системы ускоренного заживления трофических язв / З. Н. Педонова, А. С. Ашанина, Д.

В. Белик и др. // Сборник научных трудов Новосибирского государственного технического университета. – 2014. – № 3(77). – С. 137-146.

44. Раны в амбулаторной практике хирурга: Руководство для врачей / А. Д. Тараско, Н. В. Мальцева, О. Н. Воробьева, и др. – Кемерово: Общество с ограниченной ответственностью "Авторское издательство Кузбассвузиздат", 2016. – 305 с.

45. Реконструкция дефектов покровных тканей методом транспозиции локо-регионарных перфорантных островковых лоскутов / А. А. Воротников, Д. О. Румянцев, Г. А. Айрапетов и др. // Гений ортопедии. – 2022. – Т. 28, № 4. – С. 538-545.

46. Роль коллагена в механизмах заживления хронических ран при синдроме диабетической стопы / Е. В. Силина, В. А. Ступин, Р. Б. Габитов и др. // Клиническая медицина. – 2018. – Т. 96, № 2. – С. 106-115.

47. Смородина Г.В. Насколько требуется применения Нейпоген в условиях усиленной антибиотикотерапии сепсиса? (обзор литературы) // Вестник фармакологии.-2013;3:23-29.

48. Современные взгляды на причины возникновения и патогенез хронической раны / Ю. М. Гаин, М. А. Герасименко, С. В. Шахрай и др. // Инновационные технологии в медицине. – 2017. – № 4. – С. 208-222.

49. Современные возможности местного лечения осложненных форм синдрома диабетической стопы / М. Х. Набиев, Д. А. Абдуллоев, У. Бегаков и др. // Здравоохранение Таджикистана. – 2018. – № 2. – С. 75-82.

50. Современные представления о физиотерапевтических способах лечения хронических ран / И. Г. Моторина, Л. К. Куликов, Т. И. Мелешко и др. // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). – 2012. – Т. 114, № 7. – С. 008-011.

51. Современный взгляд на патогенез и лечение длительно незаживающих и хронических ран нижних конечностей (прошлое и настоящее проблемы и пути ее решения при свете истории) / М. П. Толстых,

В. И. Карандашов, А. А. Раджабов и др. // Московский хирургический журнал. – 2014. – № 1(35). – С. 63-67.

52. Современный взгляд на процессы механотрансдукции в здоровой и поврежденной коже: обзор литературы / И. В. Павленко, В. Н. Гостев, К. В. Андриюхин и др. // Вестник Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова. – 2022. – Т. 14, № 1. – С. 17-30.

53. Современный метод ведения трофических язв / Г. Э. Карапетян, С. В. Якимов, И. Л. Микитин, и др. // Фундаментальные исследования. – 2013. – № 9-6. – С. 1016-1018.

54. Тамразова О.Б. Длительно не заживающие язвы нижних конечностей: патогенетическое обоснование тактики выбора терапии: Дис... д-ра мед. наук. М. 2013.

55. Трансплантация тканевых эквивалентов в лечении некоторых повреждений кожи / Е.М. Фоминых, В.Ф. Зубритский, В.Н. Митрофанов и др. // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2020. – Т. 22, № 1. – С. 165-173.

56. Трофические язвы нижних конечностей — обзор проблемы. / В.Н. Оболенский, Г.В. Родоман, В.Г. Никитин, М.А. Карев. // РМЖ. 2019;17:25(364):1647-1662.

57. Указ Президента РУз от 28.01.2022 г. № УП-60 «О стратегии развития Нового Узбекистана на 2022-2026 годы». Сборник законодательных актов.

58. Федота Н. В. Применении мази на основе наночастиц в лечении ожоговых ран // Актуальные вопросы патологии, морфологии и терапии животных: материалы 19-й Международной научно-методической конференции по патологической анатомии животных, Ставрополь, 20–22 сентября 2017 года. – Ставрополь: Издательство "АГРУС", 2018. – С. 417-422.

59. Хамдамов Б.З. Иммунопатогенетические аспекты прогнозирования исходов лечения синдрома диабетической стопы с

критической ишемией нижних конечностей. // Дисс. д.м.н., - Ташкент, 2020:230 стр.

60. Храмин В.Н. Современные аспекты местного лечения хронических ран нижних конечностей у больных сахарным диабетом. // Научно-практический медицинский журнал ЭНЦ РАМН.2015;4:26-30.

61. Хронические, длительно не заживающие язвы и раны кожи и подкожной клетчатки / Н. Н. Потекаев, Н. В. Фриго, А. В. Миченко, и др. // Клиническая дерматология и венерология. – 2018. – Т. 17, № 6. – С. 7-12.

62. Хрупкин В.И. Дерматопластика раневых дефектов // М.: ГЕОТАР-Медиа, 2009. – 192 с.

63. Цветкова Е. В. Современные методы лечения хронических ран с использованием электростимуляции. Литературный обзор // Молодые исследователи - современной науке: Сборник статей Международного научно-исследовательского конкурса, Петрозаводск, 17 декабря 2023 года. – Петрозаводск: Международный центр научного партнерства "Новая Наука", 2023. – С. 151-163.

64. Шабатина О. А. Динамическая электронейростимуляция в комплексном лечении пациентов с трофическими язвами венозной этиологии // Проблемы современной медицины: актуальные вопросы : Сборник научных трудов по итогам международной научно-практической конференции, Красноярск, 10 ноября 2015 года. Том Выпуск II. – Красноярск: ИННОВАЦИОННЫЙ ЦЕНТР РАЗВИТИЯ ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ, 2015. – С. 201-203.

65. Эффективность технологии детоксикации организма и восстановления энергетического потенциала клеток при хронических неинфекционных заболеваниях человека с синдромом эндогенной интоксикации / Н. И. Косякова, В. В. Климович, К. Э. Керселян и др. // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2022. – № 12. – С. 53-60.

66. Ющенко, Е. В. Автоматизированная система вакуумной абсорбции и лечения ранений // Приборостроение-2021 : Материалы 14-й Международной научно-технической конференции, Минск, 17–19 ноября 2021 года. – Минск: Белорусский национальный технический университет, 2021. – С. 376-378.
67. A controlled release system for simultaneous delivery of three human perivascular stem cell-derived factors for tissue repair and regeneration. / N. Mansurov, W.C. Chen, H. Awada, et al. // J. Tissue Eng. Regen. Med.-2018;12: e1164–e1172.
68. A high glucose environment induces M1 macrophage polarization that impairs keratinocyte migration via tumour necrosis factor- α : An important mechanism to delay diabetic wound healing. / S.M. Huang, C.S. Wu, M.H. Chiu, et al. // J. Dermatol. Sci- 2019;96:159–167.
69. Advanced drug delivery systems and artificial skin grafts for skin wound healing. / H.S. Kim, X. Sun, J.H. Lee, et al. // Adv. Drug Deliv. Rev.-2019;146:209–239.
70. Advances and Challenges in Sepsis Management: Modern Tools and Future Directions. / E. Santacroce, M. D'Angerio, A.L. Ciobanu, et al. // Cells.-2024;13(5):439.
71. Ameri A.H., Moradi Tuchayi S., Zaalberg A. IL-33/regulatory T cell axis triggers the development of a tumour-promoting immune environment in chronic inflammation. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA-2019;116:2646–2651.
72. An angiogenic switch in macrophages involving synergy between Toll-like receptors 2, 4, 7, and 9 and adenosine A(2A) receptors. / G. Pinhal-Enfield, M. Ramanathan, G. Hasko, et al. // Am. J. Pathol. 2023;163(2):711–21.
73. An economic evaluation of the impact, cost, and medicare policy implications of chronic nonhealing wounds. / S.R. Nussbaum, M.J. Carter, C.E. Fife, et al. // Value Health.2018;21:27–32.

74. ATP modulates acute inflammation in vivo through dual oxidase 1-derived H₂O₂ production and NF- κ B activation. / S. de Oliveira, A. Lopez-Munoz, S. Candel, et al. // *J. Immunol.*-2014;192(12):5710–9.
75. Baggiolini M., Loetscher P., Moser B. Interleukin-8 and the chemokine family. // *Int J Immunopharmacol.* 1995;17(2):103–8.
76. Bi X., Zhou L., Liu Y. MicroRNA-146a deficiency delays wound healing in normal and diabetic mice. // *Adv.Wound Care.*-2021.
77. Biological depletion of neutrophils attenuates pro-inflammatory markers and the development of the psoriatic phenotype in a murine model of psoriasis. / G. Han, A. Havnaer, H.H. Lee, et al. // *Clin. Immunol.* 2020, 210, 108294.
78. Blasi F., Carmeliet P. uPAR: a versatile signalling orchestrator. // *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.*-2022;3(12):932–43.
79. Blood cells' reaction to developing chronic sepsis in patients with diabetes mellitus based on meta analysis. / K. Jerald, M. Mirson, P. Baras, et al. // *Immunology and Immunotherapy* – 2004; 3(12):285-299.
80. Bone R. Sir Isaac Newton, sepsis, SIRS and CARS // *Crit. Care Med.* 1996, vol. 24, #7 – P.1125-1127.
81. Bone R. The sepsis syndrome: Definition and general approach to management // *Clinics in Chest Medicine*, 1996, vol.17, #2 – P. 175-181.
82. Bone R. Why sepsis trials fail // *JAMA*, 1996, #276 – P.565-566.
83. Bone R., Balk R., Fein A. A second large controlled clinical study of ES, a monoclonal antibody to endotoxin: results of a prospective, multicenter, randomized clinical trial // *Crit. Care Med.* 1995, # 23 – P. 994-1006.
84. Bone R., Grodzin Ch., Balk R. Sepsis: A New Hypothesis for Pathogenesis of the Disease Process. // *Chest*, 1997, vol. 112, # 1 – P.235-243.
85. Borregaard N. Neutrophils, from marrow to microbes. // *Immunity.*-2020;33(5):657–70.
86. Brinkmann V., Reichard U., Goosmann C. Neutrophil extracellular traps kill bacteria. // *Science.* 2023;303(5663):1532–5.

87. Burden of venous leg ulcers in the United States. / J.B. Rice, U. Desai, A.K. Cummings, et al. // *J. Med. Econ.* 2014;17:347-356.
88. Canedo-Dorantes L., Canedo-Ayala M. Skin acute wound healing: A comprehensive review. // *Int. J. Inflamm.*-2019;18:e.3706315.
89. Cavillon J.M., Singer M., Skirecki T. Sepsis Therapies: Learning from 30 Years of Failure of Translational Research to Propose New Leads. // *EMBO Mol. Med.*-2020;12:e10128.
90. CD163 overexpression using a macrophage-directed gene therapy approach improves wound healing in ex vivo and in vivo human skin models. / D.W. Ferreira, C. Ulecia-Morón, P.A. Alvarado-Vázquez, et al. // *Immunobiology*-2020;225:151862.
91. Chemokine and inflammatory cytokine changes during chronic wound healing. / D.P. Fivenson, D.T. Faria, B.J. Nickoloff, et al. // *Wound Repair. Regen.*-2017;5(4):310–22.
92. Chemokines have diverse abilities to form solid phase gradients. / D. D. Patel, W. Koopmann, T. Imai, et al. // *Clin. Immunol.*-2021;99(1):43–52.
93. Chemokines IL-8, GROalpha, MCP-1, IP-10, and Mig are sequentially and differentially expressed during phase-specific infiltration of leukocyte subsets in human wound healing. / E. Engelhardt, A. Toksoy, M. Goebeler, et al. // *Am. J. Pathol.*-2018;153(6):1849–60.
94. Chen C.Y., Rao S.S., Ren L. Exosomal DMBT1 from human urine-derived stem cells facilitates diabetic wound repair by promoting angiogenesis. // *Theranostic.*-2018;8:1607–1623.
95. Chen Y.L., Hardman C.S., Yadava K. Innate lymphocyte mechanisms in skin diseases. // *Ann. Rev. Immunol.*-2020;38:171–202.
96. Collagenase-2 (MMP-8) and matrilysin-2 (MMP-26) expression in human wounds of different etiologies. / E. Pirila, J.T. Korpi, T. Korkiamaki, et al. // *Wound Repair Regen.*-2007;15(1):47–57.

97. Combined effects of metformin and photobiomodulation improve the proliferation phase of wound healing in type 2 diabetic rats. / M. Bagheri, A. Mostafavinia, M.A. Abdollahifar, et al. // *Biomed. Pharmacother.*2020;123:109776.
98. Composite cryogel with polyelectrolyte complexes for growth factor delivery. / B. Sultankulov, D. Berillo, S. Kauanova, et al. // *Pharmaceutics.*-2019;11:650.
99. Comprehensive characterization of myeloid cells during wound healing in healthy and healing-impaired diabetic mice. / N. Joshi, L. Pohlmeier, M. Ben-Yehuda Greenwald, et al. // *Eur. J. Immunol.*2020 50:1335–1349.
100. Cutaneous wound healing in diabetic mice is improved by topical mineralocorticoid receptor blockade. / V.T. Nguyen, N. Farman, R. Palacios-Ramirez, et al. // *J. Investig. Dermatol.*-2020;140:223–234.e227.
101. Das A. Correction of MFG-E8 resolves inflammation and promotes cutaneous wound healing in diabetes. // *J. Immunol.*-2016;196:5089–5100.
102. Debes G.F., McGettigan S.E. Skin-associated B-cells in health and inflammation. // *J.Immunol*-2019;202:1659–1666.
103. Degradation of the epidermal-dermal junction by proteolytic enzymes from human skin and human polymorphonuclear leukocytes. / R.A. Briggaman, N.M. Schechter, J. Fraki, G.S. Lazarus. // *J. Exp. Med.*-2014;160(4):1027–42.
104. Deregulated immune cell recruitment orchestrated by FOXM1 impairs human diabetic wound healing. / A.P. Sawaya, R.C. Stone, S.R. Brooks, et al. // *Nat. Commun.*2020;11:4678.
105. Dinarello C.A., Simon A., van der Meer J.W.M. Treating Inflammation by Blocking Interleukin-1 in a Broad Spectrum of Diseases. // *Nat. Rev. Drug Discov.*-2012;11:633–652.4
106. DiPietro L.A., Wilgus T.A., Koh T.J. Macrophages in Healing Wounds: Paradoxes and Paradigms. // *Int.J.Mol.Sci.*-2021;22:950.
107. Direct and Indirect Roles of Macrophages in Hypertrophic Scar Formation. / Y. Feng, Z.L. Sun, S. Liu, et al. // *Front. Physiol.*-2019;10:1101.

108. Docosa hexa enoicacidim proves diabetic wound healing in a rat model by restoring impaired plasticity of macrophage progenitor cells. / Y.C. Jia, S. Qiu, J. Xu, et al. // *Plast. Reconstr. Surg.*-2020;145:942e–950e.
109. Domenic R., Cifù A., Quaglia S. Pro-inflammatory stimuli enhance the immunosuppressive functions of adipose mesenchymal stem cells-derived exosomes. // *Sci. Rep.*-2018;8:13325.
110. Driscoll P. Wound prevalence and wound management, 2012–2020. 2013. // Accessed on 14 September 2015. Available online: <http://blog.mediligence.com/2013/01/29/wound-prevalence-and-wound-management-2012-2020/>
111. Efficacy of MMP-inhibiting wound dressings in the treatment of chronic wounds: A systematic review. / J. Dissemond, M. Augustin, M. Dietlein, et al. // *J. Wound Care.*2020;29:102–118.
112. Efficacy of Neupogen in the complex of cytotoxic therapy / R. Ching, F. Bore, Y. Yangu, et al. // *Bulletin of Oncohematology.*-2021; 8(11):1428-1433.
113. Efficacy of the anti-TNF-alpha antibody infliximab against refractory systemic vasculitides: an open pilot study on ten patients. / P. Bartolucci, J. Ramanoelina, P. Cohen, et al. // *Rheumatology (Oxford).* 2002;41(10):1126-32.
114. Ellis S., Lin E.J., Tartar D. Immunology of wound healing. // *Curr. Dermatol. Rep.*-2018;7:350–358.
115. Emerging progress on the mechanism and technology in wound repair. / L. Su, J. Zheng, Y. Wang, et al. // *Biomed. Pharmacother.*-2019;117:109191.
116. Exosome-guide phenotypic witch of M1 to M2 macrophages for cutaneous wound healing. / H. Kim, S.Y. Wang, G. Kwak, et al. // *Adv. Sci.*-2019;6:1900513.
117. Exploring microRNAs in diabetic chronic cutaneous ulcers: Regulatory mechanisms and therapeutic potential. / X. Nie, J. Zhao, H. Ling, et al. // *Br. J. Pharmacol.*2020.177:4077–4095.
118. Features of the chronic, sluggish inflammatory process manifestation in patients with multiple necrotic skin lesions after thermal damage / S. Peterson,

B. Minar, U. Vash, et al. // *Fundamentals of experimental research* – 1996;12:13-24.

119. Fernandes-Cunha G.M., Na K.S., Putra I. Corneal wound healing effects of mesenchymal stem cell secretome delivered within a viscoelastic gel carrier. // *Stem Cells Transl. Med.*-2019;8:478–489.

120. Fife C.E., Eckert K.A., Carter M.J. Publicly reported wound healing rates: The fantasy and the reality. // *Adv. Wound Care*-2018;7:77–94.

121. Futosi K., Fodor S., Mocsai A. Neutrophil cell surface receptors and their intracellular signal transduction pathways. // *Int. Immunopharmacol.* 2013;17(3):638–50.

122. Garraud O., Hozzein W.N., Badr G. Wound healing: Time to look for intelligent, “natural” immunological approaches? // *BMC Immunol.*2020;(18):23.

123. Gillitzer R., Goebeler M. Chemokines in cutaneous wound healing. // *J. Leukoc. Biol.* 2021;69(4):513–21.

124. GnR Himpairs diabetic wound healing through enhanced NETosis. / Y.S. Lee, S.U. Kang, M.H. Lee, et al. // *Cell. Mol. Immunol.*-2020;17:856–864.

125. Goldberg S.R., Diegelmann R.F. What makes wounds chronic. // *Surg.Clin.NewAm.*-2020;100:681–693.

126. Gould J.C. Quantity and quality in the diagnosis of urinary tract infections // *Brit. J. URL.* – London, 1965. – Vol. 37. – P. 7-12.

127. Grinnell F., Zhu M. Fibronectin degradation in chronic wounds depends on the relative levels of elastase, alpha1-proteinase inhibitor, and alpha2-macroglobulin. // *J. Invest. Dermatol.*-2016;106(2):335–41.

128. Haak B.W., Wiersinga W.J. The Role of the Gut Microbiota in Sepsis. // *Lancet Gastroenterol. Hepatol.* 2017;2:135–143.

129. Hanayama R. Identification of a factor that links apoptotic cells to phagocytes. *Nature.*-2002;417:182–187.

130. Hard-to-heal wounds, biofilm and wound healing: An intricate interrelationship. / M.M. Azevedo, C. Lisboa, L. Coimbra, C. Pina-Vaz, A. Rodrigues. // *Br. J. Nurs.*-2020;29:S6–S13.

131. Harnessing the innate and adaptive immune system for tissue repair and regeneration: Considering more than macrophages. / L.C. Shanley, O.R. Mahon, D.J. Kelly, A. Dunne. // *Acta Biomater.*-2021.

132. Healing of chronic wounds: An update of recent developments and future possibilities. / M.N. Kathawala, W.L. Ng, D. Liu, et al. // *Tissue Eng. Part B Rev.*-2019;25:429–444.

133. High glucose activates ERK1/2 to stabilize AP1 and increase MMP9 expression in diabetic foot ulcers. / J. Lang, C. Yang, L. Liu, et al. // *Exp. Cell Res.* 2021;112550.

134. Huang J., Fu J., Liu B. A synthetic curcuminoid analogue, (2E,6E)-2,6-bis(2-(trifluoromethyl)benzylidene) cyclohexanone, ameliorates impaired wound healing in streptozotocin-induced diabetic mice by increasing miR-146a. // *Molecules*-2020;25: 920.

135. Identifying Specific miRNAs in Neutrophils of Type 2 Diabetic Mice: Overexpression of miRNA-129-2-3p Accelerates Diabetic Wound Healing. / T. Umehara, R. Mori, K.A. Mace, et al. // *Diabetes.*-2019;68:617–630.

136. IL-36 receptor antagonist deficiency resulted in delayed wound healing due to excessive recruitment of immune cells. / K. Saito, Y. Iwata, H. Fukushima, et al. // *Sci. Rep.*2020;10:14772.

137. Immune regulation of skin wound healing: Mechanisms and novel therapeutic targets. / J. Larouche, S. Sheoran, K. Maruyama, et al. // *Adv. Wound Care.*2018;7:209–231.

138. In vivo restoration of laminin 5 beta 3 expression and function in junctional epidermolysis bullosa. / P.B. Robbins, Q. Lin, J.B. Goodnough, et al. // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 2021;98(9):5193–8.

139. Inflammatory M1-like macrophages polarized by NK-4 undergo enhanced phenotypic switching to an anti-inflammatory M2-like phenotype upon co-culture with apoptotic cells. / K. Kohno, S. Koya-Miyata, A. Harashima, et al. // *J. Inflamm.*-2021;18:2.

140. Integrated skin transcriptomics and serum multiplex assays reveal novel wound healing mechanisms in diabetic foot ulcers. / G. Theocharidis, D. Baltzis, M. Roustit, et al. // *Diabetes*.2020;69:2157–2169.
141. Jia Y., Wei Y. Modulators of microRNA function in the immune system. // *Int.J.Mol.Sci.*-2020;21:2357.
142. Jiang D., Rinkevich Y. Scarsor regeneration? Dermal fibroblasts as drivers of diverse skin wound responses. // *Int.J.Mol.Sci.*-2020;21:617.
143. Kalekar L.A., Rosenblum M.D. Regulatory T-cells in inflammatory skin disease: From mice to humans. // *Int. Immunol.*-2019;31:457–463.
144. Kanno E., Tanno H., Masaki A. Defect of interferon γ leads to impaired wound healing through prolonged neutrophilic inflammatory response and enhanced MMP-2 Activation. // *Int. J. Mol. Sci.*- 2019;20:5657.
145. Kolaczowska E., Kubes P. Neutrophil recruitment and function in health and inflammation. *Nat Rev Immunol.*-2023;13(3):159–75.
146. Kucharzewski M., Rojczyk E., Wilemska-Kucharzewska K. Novel trends in application of stem cells in skin wound healing. // *Eur. J. Pharmacol.*-2019;843:307–315.
147. Lack of lymphocytes impairs macrophage polarization and angiogenesis in diabetic wound healing. / P.M. Seraphim, E.C. Leal, J. Moura, et al. // *Life Sci.*2020;254:117813.
148. Leibovich S.J., Ross R. The role of the macrophage in wound repair. A study with hydrocortisone and antimacrophage serum. *Am J Pathol.*-2015;78(1):71–100.
149. Li Q., Zhao H., Chen W. Human keratinocyte-derived microvesicle miRNA-21 promotes skin wound healing in diabetic rats through facilitating fibroblast function and angiogenesis. // *Int. J. Biochem. Cell Biol.*-2019;114: 105570.
150. Li X., Xie X., Lian W. Exosomes from adipose-derived stem cells overexpressing Nrf2 accelerate cutaneous wound healing by promoting vascularization in a diabetic foot ulcer rat model. // *Exp. Mol. Med.*-2018;50:1–14.

151. Li Z., Hodgkinson T., Gothard E.J. Epidermal Notch1 recruits ROR γ (+) group 3 innate lymphoid cells to orchestrate normal skin repair. // *Nat. Commun.*-2016;7:11394.
152. Linehan J.L., Harrison O.J., Han S.J. Non-classical Immunity controls microbiota impact on skin immunity and tissue repair. // *Cell.*-2018;172:784–796.e718.
153. Liu S., He C.Z., Cai Y.T. Evaluation of negative-pressure wound therapy for patients with diabetic foot ulcers: Systematic review and meta-analysis. // *Ther. Clin. Risk Manag.*-2017;13:533–544.
154. Local administration of interleukin-1 receptor antagonists improve diabetic wound healing. / D.P. Perrault, A. Bramos, X. Xu, et al. // *Ann. Plast. Surg.*-2018;80:S317–S321.
155. Local Immunomodulation using an adhesive hydrogel loaded with miRNA-laden nanoparticles promotes wound healing. / B. Saleh, H.K. Dhaliwal, R. Portillo-Lara, et al. // *Small.*-2019;15:e1902232.
156. Long non-coding RNAGAS5 regulates macrophage polarization and diabetic wound healing. / J. Hu, L. Zhang, C. Liechty, et al. // *J. Investig. Dermatol.*-2020;140:1629–1638.
157. Macrophages that have ingested apoptotic cells in vitro inhibit proinflammatory cytokine production through autocrine/paracrine mechanisms involving TGF-beta, PGE2, and PAF. / V.A. Fadok, D.L. Bratton, A. Konowal, et al. // *J. Clin. Invest.*-2018;101(4):890–8.
158. Marel J. Mathematical and Computational Methods for Predicting Sepsis in Wound Infection by Immunity Indicators // *Programming and Digitalization.*-2011;2(4):112-119.
159. Maritte P.K. Immunological Competencies in Patients with Diabetes Mellitus // *Endocrinology*-1993; 42(1):97-113.
160. Martins-Green M., Petreaca M., Wang L. Chemokines and their receptors are key players in the orchestra that regulates wound healing. // *Adv. Wound Care.* 2023;2(7):327–47.

161. Mast cells contribute to scar formation during fetal wound healing. / B.C. Wulff, A.E. Parent, M.A. Meleski, et al. // *J. Investig. Dermatol.*2022;132:458–465.
162. Mast Cells in diabetes and diabetic wound healing. / J. Dong, L. Chen, Y. Zhang, et al. // *Adv. Ther.*2020;37:4519–4537.
163. Matrix metalloproteinases (MMPs) and diabetic foot: Pathophysiological findings and recent developments in their inhibitors of natural as well as synthetic origin. In *The Eye and Foot in Diabetes*. / K. Kaur, A. Singh, S. Attri, et al. // Intech. Open: London, UK, 2020.
164. Mesenchymal stem cells for chronic wound healing: Current status of preclinical and clinical studies. / Y.Z. Huang, M. Gou, L.C. Da, et al. // *Tissue Eng. Part B. Rev.*2020;26:555–570.
165. Mesenchymal stromal cells from dermal and adipose tissues induce macrophage polarization to a pro-repair phenotype and improve skin wound healing. / H.D. Zomer, T.D.S. Jeremias, B. Ratner, A.G. Trentin. // *Cytherapy.*-2020;22:247–260.
166. MFG-E8 accelerates wound healing in diabetes by regulating the “NLRP3 inflammasome-neutrophil extracellular traps” axis. / W. Huang, J. Jiao, J. Liu, et al. // *Cell. Death. Discov.*-2020;6:84.
167. MicroRNA-146 deficiency delays wound healing in normal and diabetic mice. / X. Bi, L. Zhou, Y. Liu, et al. // *Adv.Wound Care.*-2021.
168. MicroRNA-34 family enhances wound inflammation by targeting LGR4. / J. Wu, X. Li, D. Li, et al. // *J. Investig. Dermatol.*2020;140:465–476.e411.
169. MicroRNAs in several cutaneous autoimmune diseases: Psoriasis, cutaneous lupus erythematosus and atopic dermatitis. / S. Domingo, C. Solee, T. Molinee, et al. // *Cells*-2020;9:2656.
170. MiR-19a/b and miR-20a promotes wound healing by regulating the inflammatory response of keratinocytes. / D. Li, H. Peng, L. Qu, et al. // *J. Investig. Dermatol.*2021;141:659–671.

171. MiR-203 Acts as an inhibitor for epithelial-mesenchymal transition process in diabetic foot ulcers via targeting interleukin-8. / L. Yuan, Y. Sun, M. Xu, et al. // *Neuro immunomodulation*.2019;26:239–249.
172. Mirza R., DiPietro L.A., Koh T.J. Selective and Specific Macrophage Ablation Is Detrimental to Wound Healing in Mice. // *Am. J. Pathol.*-2009;175:2454–2462.
173. MMP-8 is the predominant collagenase in healing wounds and nonhealing ulcers. / B.C. Nwomeh, H.X. Liang, I.K. Cohen, D.R. Yager. // *J. Surg. Res.*-2019;81(2):189–95.
174. Modulating neutrophil extracellular traps for wound healing. / T. Kaur, S. Dumoga, V. Koul, N. Singh. // *Biomater. Sci.*-2020;8:3212–3223.
175. Moor A.N., Vachon D.J., Gould L.J. Proteolytic activity in wound fluids and tissues derived from chronic venous leg ulcers. // *Wound Repair Regen.*-2019;17(6):832–9.
176. Mulholland E.J., Dunne N., McCarthy H.O. MicroRNA as therapeutic targets for chronic wound healing. *Mol. Ther. Nucleic Acids.*-2017;8:46–55.
177. Murdoch C., Finn A. Chemokine receptors and their role in inflammation and infectious diseases. // *Blood.*-2020;95(10):3032–43.
178. Nathan C. Neutrophils and immunity: challenges and opportunities. // *Nat. Rev. Immunol.*-2016;6:173.
179. Negative pressure wound therapy inhibits inflammation upregulates activating transcription factor-3 and downregulates nuclear factor- κ B in diabetic patients with foot ulcerations. / T. Wang, R. He, J. Zhao, et al. // *Diabetes Metab. Res. Rev.*-2017;33.
180. Negative pressure wound therapy promoted wound healing by suppressing inflammation via down-regulating MAPK-JNK signalling pathway in diabetic foot patients. / T. Wang, X. Li, L. Fan, et al. // *Diabetes Res. Clin. Pract.*-2019;150:81–89.

181. Negative pressure wounds the rap promote wound healing by suppressing macrophage inflammation in diabetic ulcers. / H. Song, Y. Xu, W. Chang, et al. // *Regen. Med.*-2020;15:2341–2349.

182. NETosis delays diabetic wound healing in mice and humans. / G.P. Fadini, L. Menegazzo, M. Rigato, et al. // *Diabetes.*-2016;65(4):1061–71.

183. Neutrophil Extracellular Traps Are Markers of Wound Healing Impairment in Patients with Diabetic Foot Ulcers Treated in a Multidisciplinary Setting. / S. Yang, Z. Gu, C. Lu, et al. // *Adv. Wound Care.*-2020;9:16–27.

184. Neutrophil Extracellular Traps Kill Bacteria. / V. Brinkmann, U. Reichard, C. Goosmann, et al. // *Science.*-2004;303:1532–1535.

185. Neutrophil migration in infection and wound repair: in the future, it will be reversed. / S. Oliveira, E.E. Rosowski, A. Huttenlocher. // *Immunol.* 2016;16(6):378–91.

186. Niemiec S.M., Louiselle A.E., Liechty K.W. Role of microRNA in pressure ulcer immune response, pathogenesis // *Int. J. Mol. Sci.*-2020;22:64.

187. Oliveira A., Simões S., Ascenso A. Therapeutic advances in wound healing. // *J. Dermatol.Treat.*-2020;1–21.

188. Omar A., Wright J.B., Schultz G. Microbial biofilms and chronic wounds. *Microorganisms*-2017;5:9.

189. Omar M.T., Gwada R.F., Shaheen A.A. Extracorporeal shockwave therapy for treating a chronic wound of the lower extremity: Current perspective and systematic review. // *Int. Wound J.*-2017;14:898–908.

190. Opdenakker G., Van Damme J., Vranckx J.J. Immunomodulation as a rescue for chronic atonic skin wounds. // *Trends Immunol.*-2018;39:341–354.

191. Pan H., Shi C., Yang R. Controlled release of KGF-2 for regulation of wound healing by KGF-2 complexed with “lotus seedpod surface-like” porous microsphere. // *J. Mater. Chem. B.*-2021;3:21-24.

192. Papayannopoulos V., Zychlinsky A. NETs: a new strategy for using old weapons. // *Trends Immunol.*-2019;30(11):513–21.

193. Persistent Inflammation and Immunosuppression: A Common Syndrome and New Horizon for Surgical Intensive Care. / L.F. Gentile, A.G. Cuenca, P.A. Efron P.A., et al. // *J. Trauma Acute Care Surg.*-2012;72:1491–1501.
194. Phagocytosis of Wnt inhibitor SFRP4 by late wound macrophages drives chronic Wnt activity for fibrotic skin healing. / D. Gay, G. Ghinatti, C.F. Guerrero-Juarez, et al. // *Sci. Adv.*-2020;6:3704.
195. Piipponen M., Li D., Landeen N.X. The immune functions of keratinocytes in skin wound healing. // *Int. J. Mol. Sci.*2020;21:8790.
196. Pittman K., Kubes P. Damage-associated molecular patterns control neutrophil recruitment. // *J. Innate Immun.*-2023;5(4):315–23.
197. Pivotal role for skin transendothelial radio-resistant anti-inflammatory macrophages in tissue repair. / O. Barreiro, D. Cibrian, C. Clemente, et al. // *eLife.*-2016;5:e15251.
198. Protective and healing effects of apoptotic mimic-induced M2-like macrophage polarization on pressure ulcers in young and middle-aged mice. / R. Toita, E. Shimizu, M. Murata, et al. // *J. Control. Release.*-2021;330:705–714.
199. Rabins, K.V. Role and place of CD38+ cells in the ageing of the organism under conditions of aggressive external factors // *Cell Technologies* – 1982; 7(2):1143-1151.
200. Rak G.D., Osborne L.C., Siracusa M.C. IL-33-Dependent group-2 innate lymphoid cells promote cutaneous wound healing. // *J. Investig. Dermatol.*-2016;136:487–496.
201. Razyieva K., Smagulova A., Kim Y. Preconditioned and genetically modified stem cell for myocardial infarction treatment. // *J. Mol. Sci.*-2020;21: 7301.
202. Recent advances in the controlled release of growth factors and cytokines for improving cutaneous wound healing. / A.Nurkesh, A. Jaguparov, S. Jimi, A. Saparov. // *Front. Cell Dev. Biol.*-2020;8:638.

203. Ren S., Chen J., Duscher D. Microvesicles from human adipose stem cells promote wound healing by optimizing cellular functions via AKT and ERK signalling pathways. // *Stem. Cell. Res. Ther.*-2019;10:47.

204. Restoration of the healing microenvironment in diabetic wounds with matrix-binding IL-1 receptor antagonist. / J.L. Tan, B. Lash, R. Karami, et al. // *Commun. Biol.*-2021;4:422.

205. Role of chemokine receptor CCR4 and regulatory T cells in wound healing of diabetic mice. / J.F. Barros, I. Waclawiak, C. Pecli, et al. // *J. Investig. Dermatol.*2019;139:1161–1170.

206. Role of cytokines and chemokines in wound healing. In *Wound Healing, Tissue Repair, and Regeneration in Diabetes*; Bagchi, D., Das, A., Roy, S., Eds.; / H. Strang, A. Kaul, U. Parikh, et al. // Elsevier: Amsterdam, The Netherlands.-2020; pp. 197–235.

207. Role of microRNA-21 and Its Underlying Mechanisms in Inflammatory Responses in Diabetic Wounds. / C. Liechty, J. Hu, L. Zhang, et al. // *Int. J. Mol. Sci.*-2020;21:3328.

208. Schloss R., Palmer A., Berthiaume F. The role of macrophages in acute and chronic wound healing and interventions to promote pro-wound healing phenotypes. // *Front. Physiol.*-2018;9:419.

209. Sequential delivery of cryogel-released growth factors and cytokines accelerates wound healing and improves tissue regeneration. / S. Jimi, A. Jaguparov, A. Nurkesh, et al. // *Front. Bioeng. Biotechnol.*-2020;8:345.

210. Serhan C.N., Chiang N., Van Dyke T.E. Resolving inflammation: dual anti-inflammatory and pro-resolution lipid mediators. // *Nat. Rev. Immunol.* 2018;8(5):349–61.

211. Shankar-Hari M., Singer M., Spencer J. Can Concurrent Abnormalities in Free Light Chains and Immunoglobulin Concentrations Identify a Target Population for Immunoglobulin Trials in Sepsis? // *Crit. Care Med.*-2017;45:1829–1836.

212. Simpson D.M., Ross R. The neutrophilic leukocyte in wound repairs a study with antineutrophil serum. // *J. Clin. Invest.*-2022;51(8):2009–23.
213. Sîrbulescu R.F., Boehm C.K., Soon E. Mature B-cells accelerate wound healing after acute and chronic diabetic skin lesions. // *Wound Repair Regen.*- 2017;25:774–791.
214. Skin microbiota and its interplay with wound healing. / M. Tomic-Canic, J.L. Burgess, K.E. O’Neill, et al. // *Am. J. Clin. Dermatol.*2020;21:36–43.
215. Skin tissue engineering: Wound healing based on stem-cell-based therapeutic strategies. / A.N. Dehkordi, F.M. Babaheydari, M. Chehelgerdi, S.R. Dehkordi. // *Stem Cell Res. Ther.*-2019;10:111.
216. Skin wound healing process and new emerging technologies for skin wound care and regeneration. / E.M. Tottoli, R. Dorati, I. Genta, et al. // *Pharmaceutics.* 2020;12:735.
217. Stojanovic´ S., Najman S. The Effect of Conditioned Media of Stem Cells Derived from Lipoma and Adipose Tissue on Macrophages’ Response and Wound Healing in Indirect Co-culture System In Vitro. // *Int. J. Mol. Sci.*-2019;20:1671.
218. Stone R.C. A bioengineered living cell construct activates an acute wound healing response in venous leg ulcers. // *Sci. Transl. Med.*2017;9(371):eaaf8611.
219. Strang H., Kaul A., Parikh U. Role of cytokines and chemokines in wound healing. In *Wound Healing, Tissue Repair, and Regeneration in Diabetes*; Bagchi, D., Das, A., Roy, S., Eds.; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, 2020; pp. 197–235.
220. Takagi S., Oyama T., Jimi S. A novel autologous micrografts technology in combination with negative pressure wound therapy (NPWT) for quick granulation tissue formation in chronic/refractory ulcer. // *Healthcare.*-2020;8:513.

221. The critical role of tumour necrosis factor- α in the early wound healing process in the skin. / M. Ritsu, K. Kawakami, E. Kanno, et al. // *J. Dermatol. Dermatol. Surg.*-2017;21:14–19.

222. The CXCL8/IL-8 chemokine family and its receptors in inflammatory diseases. / R.C. Russo, C.C. Garcia, M.M. Teixeira, F.A. Amaral. // *Expert. Rev. Clin. Immunol.*-2014;10(5):593–619.

223. The Histone Methyltransferase Setdb2 Modulates Macrophage Phenotype and Uric Acid Production in Diabetic Wound Repair. / A.S. Kimball, F.M. Davis, A. denDekker, et al. // *Immunity.*-2019;51:258–271.e255.

224. The humanistic and economic burden of chronic wounds: A systematic review. / M. Olsson, K. Järbrink, U. Divakar, et al. // *Wound Repair Regen.* 2019;27(1):114-125.

225. The sweet spot: how GAGs help chemokines guide migrating cells. / Y. Monneau, F. Arenzana-Seisdedos, H. Lortat-Jacob, et al. // *J. Leukoc. Biol.* 2016;99(6):935–53.

226. The transcriptional activation program of human neutrophils in skin lesions supports their important role in wound healing. / K. Theilgaard-Monch, S. Knudsen, P. Follin, N. Borregaard. // *J. Immunol.*-2014;172(12):7684–93.

227. Transactivation of vascular endothelial growth factor receptor-2 by interleukin-8 (IL-8/CXCL8) is required for IL-8/CXCL8-induced endothelial permeability. / M.L. Petreaca, M. Yao, Y. Liu, et al. // *Mol. Biol. Cell.* 2017;18(12):5014–23.

228. Up-regulation of elastase in acute wounds of healthy aged humans and chronic venous leg ulcers are associated with matrix degradation. / S. Herrick, G. Ashcroft, G. Ireland, et al. // *Lab. Invest.*-2017;77(3):281–8.

229. Update on Sepsis and Septic Shock in Adult Patients: Management in the Emergency Department. / M. Guarino, B. Perna, A.E. Cesaro, et al. // *J. Clin. Med.* 2023 Apr 28;12(9):3188.

230. Vachharajani V., Liu T., McCall C.E. Epigenetic Coordination of Acute Systemic Inflammation: Potential Therapeutic Targets. // *Expert. Rev. Clin. Immunol.*-2014;10:1141–1150.
231. Validation of matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) as a novel target for the treatment of diabetic foot ulcers in humans and discovery of a potent and selective small-molecule MMP-9 inhibitor that accelerates healing. / T.T. Nguyen, D. Ding, W.R. Wolter, et al. // *J. Med. Chem.* 2018;61:8825–8837.
232. Vasculitic and autoimmune wounds. / V.K. Shanmugam, D. Angra, H. Rahimi, S. McNish. // *J. Vasc. Surg. Venous Lymphat Disord.* 2017;5(2):280-292.
233. Victor A.R., Nalin A.P., Dong W. IL-18 drives ILC3 proliferation and promotes IL-22 production via NF- κ B. // *J. Immunol.*- 2017;199:2333–2342.
234. Virgilio F.D. The Therapeutic Potential of Modifying Inflammasomes and NOD-Like Receptors. // *Pharmacol. Rev.*-2013;65:872–905.
235. Widgerow A.D. Cellular resolution of inflammation - catabasis. // *Wound Repair Regen.*-2022;20(1):2–7.
236. Widgerow A.D. Chronic wound fluid-thinking outside the box // *Wound Repair and Regeneration.* – 2011; 19(3):287–91.
237. Wilgus T.A., Roy S., McDaniel J.C. Neutrophils and wound repair: positive actions and negative reactions. // *Adv. Wound Care.*-2023;2(7):379–88.
238. Wlaschek M., Scharffetter-Kochanek K. Oxidative stress in chronic venous leg ulcers. // *Wound Repair Regen.*-2015;13(5):452–61.
239. Wound healing: A cellular perspective. / M. Rodrigues, N. Kosaric, C.A. Bonham, G.C. Gurtner. // *Physiol. Rev.* 2019;99:665–706.
240. Wu Y., Zhang K., Liu R. MicroRNA-21-3p accelerates diabetic wound healing in mice by downregulating SPRY1. // *Aging*-2020;12:15436–15445.
241. Wu Y.K., Cheng N.C., Cheng C.M. Biofilms in chronic wounds: Pathogenesis and diagnosis. // *Trends Biotechnol.*-2019;37:505–517.
242. Wynn M., Freeman S. The efficacy of negative pressure wound therapy for diabetic foot ulcers: A systematised review. // *J.Tissue Viability.*- 2019;28:152–160.

243. Yager D.R., Kulina R.A., Gilman L.A. Wound fluids: a window into the wound environment? // *Int. J. Low. Extrem. Wounds.*-2017;6(4):262–72.

244. Zgheib C., Hilton S.A., Dewberry L.C. Use of cerium oxide nanoparticles conjugated with MicroRNA-146a to correct the diabetic wound healing impairment. // *J. Am. Coll. Surg.*- 2019;228:107–115.

245. Zubair M., Ahmad J. Role of growth factor and cytokines in diabetic foot ulcer healing: A detailed review. // *Rev.Endocr.Metab. Disord.*-2019;20: 207–217.

СПИСОК УСЛОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ:

АЛТ	- Аланинаминотрансфераза
АСТ	- Аспартатаминотрансфераза
ДНЗР	- Длительно незаживающие раны
ДФН	- Дегенеративные формы нейтрофилов
ЛФДТ	- Лазерная фотодинамическая терапия
ММП	- Матриксных металлопротеиназы
ПЯН	- Палочкоядерные нейтрофилы
РДИ	- Регенеративно-дегенеративный индекс
СОЭ	- Скорость оседания эритроцитов
СЯН	- Сегментоядерные нейтрофилы
CLR	- Рецепторы лектина типа С
DAMP	- Молекулярные модели, связанные с повреждением
IL	- Интерлейкин
INF- γ	- Интерферон-гамма
iNOS	- Индуцируемая синтаза оксид азота
MicroRNA	- МикроРНК
NET	- Внеклеточные нити (ловушки) нейтрофилов
NETosis	- Neutrophil extracellular traps (нетоз)
NF- κ B	- Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells
PAMP	- Молекулярные модели, связанные с патогенами
PDGF	- Тромбоцитарный фактор роста
PRR	- Рецепторы распознавания образов
SIRS	- Systemic inflammatory response syndrome
TGF- β	- Трансформирующий фактор роста-бетта
TLR	- Toll-подобные рецепторы
TNF- α	- Фактор некроза опухоли-альфа
VEGF	- Фактор роста эндотелия сосудов