

На правах рукописи

Козлова Мария Николаевна

**КОМПЛЕКСНОЕ ЛЕЧЕНИЕ БОЛЬНЫХ С ОБШИРНЫМИ
ОЖОГАМИ С ПРИМЕНЕНИЕМ ИННОВАЦИОННЫХ
МЕТОДОВ ИММУНОКОРРЕКЦИИ**

3.1.9. Хирургия (медицинские науки)

3.2.7. Аллергология и иммунология (медицинские науки)

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

доктора медицинских наук

Москва – 2026

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный медицинский исследовательский центр хирургии имени А.В. Вишневского» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научные консультанты:

Алексеев Андрей Анатольевич - доктор медицинских наук, профессор, заместитель генерального директора, руководитель отдела термических поражений ФГБУ «НМИЦ хирургии им. А.В. Вишневского» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Земсков Владимир Михайлович - доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник, руководитель группы клинической иммунологии клинико-диагностической лаборатории ФГБУ «НМИЦ хирургии им. А.В. Вишневского» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Официальные оппоненты:

Благовестнов Дмитрий Алексеевич – доктор медицинских наук, профессор, декан хирургического факультета, заведующий кафедрой неотложной и общей хирургии им. профессора А.С. Ермолова ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России

Калюжин Олег Витальевич - доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры клинической иммунологии и аллергологии Института клинической медицины им. Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет)

Зиновьев Евгений Владимирович – доктор медицинских наук, профессор, руководитель отдела термических поражений ГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт скорой помощи им. И.И. Джанелидзе»

Ведущая организация: федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Приволжский исследовательский медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится «__» _____ 2026 г. в __ часов на заседании диссертационного совета 21.1.044.01 при ФГБУ «НМИЦ хирургии им. А.В. Вишневского» Минздрава России по адресу: 117997, г. Москва, ул. Большая Серпуховская, д.27.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке ФГБУ «НМИЦ хирургии им. А.В. Вишневского» Минздрава России по адресу: 117997, г. Москва, ул. Большая Серпуховская, д. 27; и на сайте: <https://www.vishnevskogo.ru>

Автореферат разослан «__» _____ 2026 г.

Ученый секретарь диссертационного совета 21.1.044.01

доктор медицинских наук

Сапелкин Сергей Викторович

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования

Лечение больных с обширными ожогами остаётся актуальной задачей для здравоохранения. Современное лечение данной категории больных – это всегда комплексный, последовательный, непрерывный и многоэтапный процесс, направленный на восстановление целостности кожных покровов, профилактику и лечение осложнений. Основой комплексного лечения обширных глубоких ожогов является активная хирургическая тактика, направленная на удаление некротизированных тканей и восстановление целостности кожного покрова, с использованием на различных её этапах современных методов местного консервативного и интенсивного общего лечения, что принципиально необходимо для профилактики и успешного лечения гнойно-септических осложнений ожоговой болезни (Алексеев А.А., Бобровников А.Э. и др., 2012, 2020; Зиновьев Е.В., 2016; Johnson C., 2018).

Сепсис и другие инфекционные осложнения ожоговой болезни остаются основными факторами неудовлетворительных результатов лечения и высокой летальности у тяжелообожженных (Алексеев А.А., 1993; Крутиков М.Г., 2010; Greenhalgh D.G., 2017; Dellinger R.P., 2017; Ladhani H.A. et al., 2021; Torres MJM et al., 2021).

Одним из основных факторов развития инфекционных осложнений и сепсиса является вторичное иммунодефицитное состояние, характерное для ожоговой болезни (Колкер И.И., 1980; Пивоварова Л.П., 2000; Алексеев А.А., 2010; Крутиков М.Г., 2010; Boomer J.S. et al., 2011). В тоже время, гиперактивация иммунной системы, поддерживающая системное воспаление, усугубляет иммунодефицит клеточно-гуморальных факторов, замедляя сроки заживления ожоговых ран и процесс выздоровления (Xiao W. et al., 2011; Hotchkiss R.S. et al., 2013; Земсков В.М. и др., 2016). По этой причине понятна высокая значимость своевременного и точного диагноза развития септических осложнений, поскольку промедление лечебных воздействий может оказаться фатальным для обожженного больного. За последние годы были предприняты огромные усилия по разработке стратегии ранней диагностики и стандартов своевременного лечения сепсиса у хирургических больных (Seymour C.W. et al., 2017; Evans L, Rhodes A, Alhazzani W., et al., 2021). Однако, в настоящее время нет четких диагностических критериев, которые можно было с успехом использовать для прогнозирования риска генерализации инфекции и развития сепсиса у больных с ожоговой травмой.

В данном аспекте практическое применение современных методов иммунодиагностики может служить эффективным инструментом в выявлении поврежденных ключевых иммунных маркеров при ожогах, определении степени тяжести нарушений иммунного статуса при ожоговой болезни и риске развития септических осложнений для своевременной иммунокоррекции и обеспечения соответствующей комплексной терапии пациентов с обширными ожогами, включая хирургическое лечение по

восстановлению целостности кожного покрова в оптимальные сроки и системную иммуннокоррекцию поврежденных ключевых иммунных мишеней при ожогах с позиций персонализированного подхода.

Внедрение новых иммунных маркеров оценки регенераторного потенциала, в том числе на основе анализа циркулирующих гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) позволит получить объективную информацию о репаративных возможностях организма и готовности больного к выполнению эффективной операции по пластическому закрытию ожоговых ран. Известно, что ГСК способствуют восстановлению и регенерации тканей через паракринные эффекты или прямую клеточную дифференцировку, являются центральным компонентом восстановления послеожоговой анемии и способны образовывать не только клетки крови, но и другие типы клеток (Ярыгин К.Н., 2008; Ястребов А.П., Гребнев Д.Ю., Маклакова И.Ю., 2016; Baker K.S. et al., 2011; Armenian S.H. et al., 2012; Kida A. and McDonald G.B., 2012). Причем анализ ГСК при ожоговой травме совершенно недостаточен.

Следует отметить, что проблема иммунокорректирующей терапии у тяжелообожженных остается чрезвычайно актуальной, дискуссионной и до конца не решенной. Способность современных препаратов внутривенных иммуноглобулинов не только возмещать дефицитные факторы гуморального иммунного ответа, но и оказывать иммуномодулирующий эффект, купировать развитие системного воспаления и другие изменения гомеостаза (Laupland K.B. et al., 2007; Durandy A. et al., 2009; Alejandria M.M. et al., 2013; Perez E.E. et al., 2017) позволяет рассматривать их применение в качестве эффективного лекарственного средства этиопатогенетической направленности при тяжелой ожоговой травме и септических осложнениях ожоговой болезни. Вместе с тем, до настоящего времени не проводилась надлежащая оценка иммунного статуса на этапах комплексного лечения больных с обширными ожогами в зависимости от тяжести травмы и стадии ожоговой болезни, не проводилась оценка эффективности хирургического лечения по восстановлению целостности кожного покрова на основе анализа иммунного статуса и регенераторного потенциала, не разработаны алгоритмы применения препаратов иммуноглобулинов для коррекции иммунного статуса, профилактики и лечения инфекционно-септических осложнений ожоговой болезни. Это определяет актуальность и цель данного исследования.

Цель исследования. Улучшение результатов комплексного лечения больных с обширными ожогами на основе разработки и применения инновационных методов ранней иммунодиагностики и персонализированного алгоритма иммуннокоррекции для профилактики и лечения гнойно-септических осложнений ожоговой болезни, определения тактики и эффективности хирургического лечения по восстановлению целостности кожного покрова.

Задачи исследования

1. Изучить иммунный статус на разных этапах комплексного лечения больных с обширными ожогами в зависимости от тяжести ожоговой травмы и стадии ожоговой болезни.
2. Выявить ключевые иммунные маркеры развития гнойно-септических осложнений ожоговой болезни на основе комплексной оценки иммунного статуса у больных с обширными ожогами.
3. Разработать иммунную формулу прогноза и диагностики сепсиса у больных с обширными ожогами.
4. Изучить субпопуляции гемопоэтических стволовых клеток на этапах хирургического лечения больных с обширными ожогами для оценки регенераторного потенциала организма.
5. Оценить эффективность иммунодиагностики у больных с обширными ожогами для определения тактики хирургического лечения по восстановлению целостности кожного покрова на основе анализа иммунного статуса и регенераторного потенциала.
6. Изучить эффективность применения препарата «Габриглобин-IgG», для иммунозаместительной терапии в комплексном лечении больных с обширными ожогами и септическими осложнениями.
7. Оценить эффективность профилактики и лечения осложнений ожоговой болезни на основе персонализированного алгоритма иммунокоррекции.

Научная новизна и практическая значимость работы

Впервые получены результаты инновационного исследования иммунного статуса у пациентов с обширными ожогами в зависимости от тяжести ожоговой травмы, выявлены информативные иммунные маркеры для диагностики гнойно-септических осложнений ожоговой болезни и определения тактики лечения. Впервые в мировой практике разработана иммунная количественная формула прогноза и диагностики сепсиса при ожогах. Впервые определены маркеры иммунного статуса и субпопуляций гемопоэтических стволовых клеток у пострадавших от ожогов для оценки адаптационных возможностей, регенераторного потенциала организма и определения оптимальных сроков проведения аутодермопластики. На основе инновационного подхода в иммунодиагностике впервые разработан персонализированный алгоритм иммунокорректирующей терапии с использованием отечественных препаратов иммуноглобулинов для профилактики и лечения сепсиса в комплексном лечении больных с обширными ожогами. Научная новизна диссертационного исследования подтверждена положительным решением о выдаче двух патентов на изобретение (№ 2025132555: приоритет от 22.11.2025; № 2025132556: приоритет от 22.11.2025).

Основные положения, выносимые на защиту

1. При обширных ожогах возникают нарушения иммунного статуса, выраженность которых зависит от тяжести травмы и стадии ожоговой болезни.
2. Иммунная формула (конкретные числовые значения панели информативных иммунных маркеров) дополнительно с клинико-лабораторными данными позволяет прогнозировать и диагностировать развитие сепсиса у обожженных.
3. Комплексное лечение больных с обширными глубокими ожогами на основе активной хирургической тактики, направленной на своевременное удаление нежизнеспособных тканей и восстановление целостности кожного покрова позволяет уменьшить эндогенную интоксикацию и гиперактивацию иммунной системы, купировать иммунодефицит клеточного и гуморального иммунных звеньев с восстановлением регенераторного потенциала на клеточном и субклеточном уровне без применения иммунокорректирующей терапии.
4. Персонализированные методы диагностики иммунного статуса и регенераторного потенциала у больных с обширными ожогами позволяют определить тактику хирургического лечения для эффективного восстановления кожного покрова и своевременно использовать иммунокоррекцию.
5. Персонализированный алгоритм иммунокоррекции на основе комплексного анализа иммунного статуса позволяет эффективно использовать препараты иммуноглобулинов для профилактики и лечения сепсиса у больных с обширными ожогами.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения диссертационной работы соответствуют паспорту научной специальности 3.1.9. Хирургия («медицинские науки»), конкретно пунктам: 1. «Изучение причин, механизмов развития и распространенности хирургических заболеваний», 2. «Разработка и усовершенствование методов диагностики и предупреждения хирургических заболеваний», 4. «Экспериментальная и клиническая разработка методов лечения хирургических болезней и их внедрение в клиническую практику» и паспорту научной специальности 3.2.7. Аллергология и иммунология («медицинские науки»), конкретно пунктам: 2. «Изучение механизмов врожденного и адаптивного иммунитета в норме и при патологии», 6. «Разработка и усовершенствование методов диагностики, лечения и профилактики инфекционных, аллергических и других иммунопатологических процессов», 7. «Разработка способов воздействия на иммунную систему с помощью фармакологических препаратов и методов иммунобиотерапии. Исследование эффективности и безопасности этих воздействий».

Степень достоверности результатов работы. О достоверности результатов свидетельствует достаточная выборка больных (275 пациентов), широкий спектр и большое количество клинико-лабораторных и иммунологических исследований (более 33975). При проведении исследований использовано сертифицированное современное оборудование. Используются различные современные статистические методы и оценочные шкалы. Методами статистической обработки установлена воспроизводимость и достоверность результатов исследования. Автор лично участвовал в выполнении и разработке исследований, получении и анализе исходных данных.

Апробация результатов. Основные положения и результаты диссертации доложены на Российских конференциях и съездах с международным участием по проблемам хирургии, комбустиологии, иммунологии и аллергологии, клинической лабораторной диагностики:

1. III Съезд комбустиологов России (г. Москва, 2010).
2. VI Всемирный конгресс по иммунопатологии и респираторной аллергии. VIII Съезд аллергологов и иммунологов СНГ и V Съезд иммунологов России (г. Москва, 2011).
3. Международная конференция «Термические поражения и их последствия». V Съезд комбустиологов России (г. Москва, 2017).
4. Научно-практическая конференция «Профилактика, диагностика и лечение гнойно-септических осложнений в многопрофильном стационаре» (г. Москва, 2018).
5. Всероссийская конференция с международным участием «Актуальные вопросы комбустиологии» (г. Сочи, 2019).
6. V Научно-практическая конференция «Аллергология и иммунология для практикующих врачей» (г. Сочи, 2019).
7. Всероссийский конгресс с международным участием по фундаментальным проблемам лабораторной диагностики «Академия лабораторной медицины: новейшие достижения» (г. Москва, 2021).
8. Форум комбустиологов России с международным участием (г. Суздаль, 2021).
9. VIII Российский конгресс лабораторной медицины (г. Москва, 2022).
10. Всероссийский симпозиум с международным участием «Трудный пациент в комбустиологии: вопросы интенсивного лечения» (г. Москва, 2022).
11. IX Российский конгресс лабораторной медицины (г. Москва, 2023).
12. Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Ожоги: диагностика, лечение, реабилитация» (г. Махачкала, 2023).
13. Международный форум «Армия 2023» (Алабино, 2023).
14. Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Ожоги у детей и взрослых» (г. Екатеринбург, 2024).

15. VI Национальный конгресс по регенеративной медицине с международным участием (г. Санкт-Петербург, 2024).
16. VII Съезд комбустиологов России с международным участием (г. Москва, 2025).
17. Международная научно-практическая конференция «Актуальные проблемы хирургии и комбустиологии» (Узбекистан, г. Андижан, 2025).

Апробация диссертационной работы проведена на заседании проблемной комиссии по хирургии ФГБУ «НМИЦ хирургии им. А.В. Вишневского» Минздрава России (протокол № 7/2025 от «03» июня 2025 г.).

Внедрение результатов. Основные результаты научно-исследовательской работы внедрены в клиническую практику Ожогового центра ФГБУ «НМИЦ хирургии им. А.В. Вишневского» Минздрава России и в педагогическую практику образовательного отдела ФГБУ «НМИЦ хирургии им. А.В. Вишневского» Минздрава РФ. Результаты исследования позволили включить в разработанные ранее клинические рекомендации «Ожоги термические и химические. Ожоги солнечные. Ожоги дыхательных путей» при их актуализации в 2024 г. в раздел «Диагностика» предложенную иммунную формулу экспресс-диагностики сепсиса у взрослых больных с ожогами, а в раздел «Иммунотерапия» - эффективные дозы препаратов иммуноглобулина человеческого нормального для в/в введения.

Личный вклад автора. Диссертация является результатом обобщения научно-исследовательской и лечебно-диагностической работы автора в ФГБУ «НМИЦ хирургии им. А.В. Вишневского» Минздрава России с 2009 по 2021 годы. Автор лично участвовал в качестве соисполнителя в выполнении четырех тем НИР Государственного задания по хирургии (комбустиологии). Автор самостоятельно разработал концепцию и дизайн работы, лично проводил отбор пациентов согласно критериям включения в исследование с формированием базы данных. Автором лично разработана методика проведения исследования, определены методы статистической обработки данных и осуществлен соответствующий статистический анализ. Автор участвовал в выполнении всех методов иммунодиагностики, самостоятельно консультировал пациентов и курировал их на всех этапах комплексного лечения в качестве клинического иммунолога и непосредственно участвовал в консилиумах по сложным случаям гнойно-септических осложнений и результатам хирургического лечения больных с обширными ожогами. На основе проведенной работы автором сформулированы выводы и разработаны практические рекомендации. Результаты исследования представлены автором в виде научных статей, устных и постерных докладов, глав практического руководства, двух патентов на изобретения.

В 2020 г. в составе авторского коллектива (руководитель, академик РАН Ревишвили А.Ш.) присуждена Премия Правительства Российской Федерации

в области науки и техники за разработку и реализацию инновационных технологий в диагностике и комплексном лечении хирургических иммуноассоциированных заболеваний.

Публикации по теме диссертации. По теме диссертации опубликовано – 25 научных статей, из них 16 работ в журналах, включенных в Перечень ВАК при Минобрнауки России, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени доктора наук, включая 2 статьи в изданиях индексируемых в международной базе Scopus, а также 9 статей в зарубежной печати.

Изданы 2 главы в практическом руководстве, а также 30 иных публикаций в сборниках материалов международных и отечественных научных конференций. Получены положительные решения о выдаче двух патентов на изобретения.

Структура и объем работы. Диссертация изложена на 214 страницах печатного текста, состоит из введения, обзора литературы, главы по описанию материалов, методов исследования и лечения, пяти глав результатов собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка использованной литературы. В списке литературы приведены наименования 226 источников, из которых 47 отечественных и 179 зарубежных авторов. Диссертация содержит 20 таблиц, иллюстрирована 78 рисунками.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материал, методы исследования и лечения

Исследование выполнено на базе отдела термических поражений и группы клинической иммунологии клинико-диагностической лаборатории ФГБУ «НМИЦ хирургии им. А.В. Вишневского» Минздрава России. Работа была одобрена локальным этическим комитетом (протокол № 001-2022 от 28.01.2022).

Диссертационная работа основана на результатах одноцентрового ретроспективного исследования с включением 275 взрослых пациентов (мужчин – 174, женщин - 101) с обширными ожогами, госпитализированных для оказания специализированной высокотехнологичной медицинской помощи в Ожоговый центр ФГБУ «НМИЦ хирургии им. А.В. Вишневского» Минздрава России с 2009 по 2021 годы. Средний возраст пациентов составил $44,6 \pm 1,7$ года, общая площадь ожогового поражения – $46,4 \pm 1,4$ %, из них глубокие ожоги составили в среднем $16,4 \pm 1,3$ % поверхности тела.

Дизайн диссертационной работы (рис.1) включает последовательные этапы анализа 33975 результатов клинико-иммунологических исследований у 275 пациентов в процессе комплексного лечения, включая хирургические операции и иммунокорректирующую терапию, а также результаты

иммунологического обследования 30 здоровых доноров для определения референсных показателей иммунного статуса.

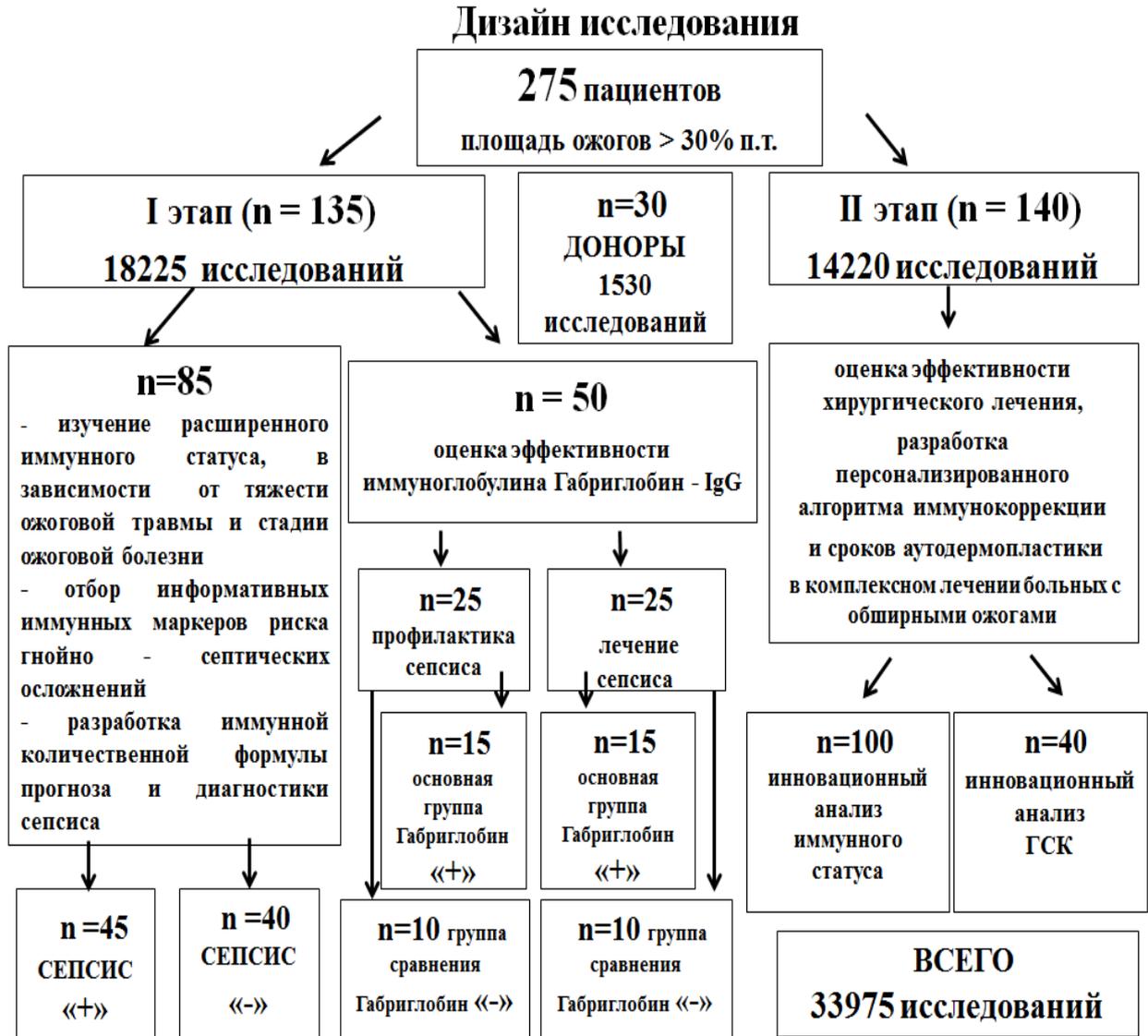


Рисунок 1. Дизайн диссертационной работы

Первый этап диссертационной работы за период 2009-2014 гг. является поисковым и включает комплексные исследования иммунного статуса в количестве 18225 у 135 тяжелообожженных больных.

Из них у 85 пациентов (таблица 1) проанализирован иммунный статус в зависимости от тяжести ожоговой травмы, стадии ожоговой болезни и развития септических осложнений. На основе полученных результатов проведен отбор информативных иммунных маркеров риска гнойно-септических осложнений с разработкой количественной формулы диагностики сепсиса у тяжелообожженных.

Таблица 1. Общая характеристика ожоговых больных I этапа исследования

Распределение пациентов	Основная группа (с сепсисом), n (%)	Группа сравнения (без сепсиса), n (%)
Количество пациентов, n	45 (100)	40 (100)
Возраст, лет		
18-30	13 (28,9)	11 (27,5)
31-50	22 (48,9)	20 (50,0)
51-73	10 (22,2)	9 (22,5)
Общая площадь ожогов, %		
10-29	7 (15,6)	19 (47,5)
30-50	25 (55,6)	16 (40,0)
>50	13 (28,9)	5 (12,5)
	38 (84,4)	21 (52,5)

У 50 других больных с обширными ожогами изучена клинико-иммунологическая эффективность иммунозаместительной терапии препаратом «Габриглобин-IgG» для профилактики и лечения септических осложнений ожоговой болезни. «Габриглобин-IgG» - отечественный препарат иммуноглобулин человека нормальный, раствор для в/в инфузий. Зарегистрирован в МЗСР России (ФСП № 42-8743-07, Изменение №1, Регистрационное удостоверение № ЛС – 000412). Способ применения - согласно инструкции к препарату. Основная группа «профилактика сепсиса» - 15 пациентов получили «Габриглобин-IgG» в дозе по 50 мл (2,5 г) внутривенно ежедневно, курс 5 дней - суммарная доза 250 мл (12,5 г). Основная группа «лечение сепсиса» - 15 пациентов получили «Габриглобин-IgG» в дозе по 50 мл (2,5 г) внутривенно ежедневно, курс 10 дней - с общим объемом полученного препарата 500 мл (25 г). В соответствующие группы контроля «профилактики» и «лечения» сепсиса вошло по 10 больных без включения в комплексную терапию препарата «Габриглобин-IgG». Пациенты всех групп были сходны по диагнозу, полу и возрасту. Результаты иммунологических исследований пациентов проанализированы в исходный период, через 5 и 10 суток от начала лечения, а клинико-лабораторные исследования (биохимический, гематологический, бактериологический анализы, изучение острофазовых реактантов) – в более частые сроки лечения.

На втором этапе работы проведена новая серия исследований в количестве 14220 у 140 пациентов за период 2015-2021 гг.

Для оценки эффективности хирургического лечения больных с обширными ожогами дополнительно проанализированы малоизвестные иммунные маркеры у 100 пациентов. Из них у 55 (основная группа) больных проведен сравнительный анализ результатов изучения иммунного статуса в динамике на разных сроках лечения: (1) при поступлении, (2) на 10-е сутки лечения, (3) на 30-е сутки лечения, в том числе в сравнении с показателями

30 здоровых доноров (контрольная группа). Средний возраст больных основной группы составил $44,2 \pm 1,9$ года, общая площадь ожогового поражения - $51,0 \pm 2,0$ п.т., из них глубокие ожоги в среднем достигали $19,1 \pm 2,1$ п.т.

При разработке персонализированного алгоритма иммунокоррекции и сроков проведения аутодермопластики дополнительно проанализированы субпопуляции гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) у 40 больных в динамике.

Методы комплексного лечения пациентов. Всем пациентам проводилось комплексное интенсивное поликомпонентное лечение с применением противоожоговых (флюидизирующих) кроватей при круглосуточном мониторинге гемодинамики и волемического статуса, инфузионной и анальгетической терапии, нутритивной поддержки и антимикробной терапии согласно чувствительности микроорганизмов к антибиотикам. По показаниям применяли респираторную поддержку с использованием аппаратов искусственной вентиляции легких, экстракорпоральное воздействие на кровь методами ультрагемофильтрации. Хирургическое этапное лечение включало хирургическую некрэктомию, местное медикаментозное лечение ожоговых ран с использованием современных раневых покрытий, повязок с растворами антисептиков и мазей на водорастворимой основе и аутодермопластику гранулирующих ран в возможно ранние сроки после ожоговой травмы.

Методы клинико-лабораторной диагностики. В работе использован широкий диапазон лабораторных методов исследования: иммунологические (более 45 показателей) с определением в периферической крови фенотипических мембранных маркёров на трех типах клеток, уровня сывороточных иммуноглобулинов, кислородного метаболизм фагоцитарных клеток, иммунных индексов и циркулирующих гемопоэтических стволовых клеток; общие биохимические и гематологические анализы, а также клиническое обследование больных, в том числе тесты объективной оценки состояния пациента.

Методы исследования иммунного статуса.

Фенотипический анализ иммунных клеток (лимфоциты, нейтрофилы, моноциты) периферической крови проводили методом проточной цитометрии на приборе FACSCalibur (Becton Dickinson, США). В исследование был включен широкий диапазон различных иммунных маркеров - количественных, активационных и молекул адгезии (табл. 2) с использованием моноклональных антител фирм производителей BD Biosciences (США) и Beckman Coulter (Франция).

Таблица 2. Характеристика основных исследуемых фенотипических маркеров иммунного статуса

Показатель	Основные функции	Экспрессия на клетках
<i>Количественные показатели</i>		
CD 3	Сигнальный комплекс, связанный с TCR	Т-лимфоциты
CD4	Ко-рецептор Т-хелперов лиганд для МНС класса II	Т-хелперы/индукторы
CD4+CD25+	Т-регуляторные лимфоциты	
CD8	Ко-рецептор Т-цитотоксических лимфоцитов	Т-цитотоксические /супрессоры
CD4/CD8	Иммунорегуляторный индекс	
CD21	Субъединица ко-рецептора В-лимфоцитов для рецептора комплемента 2	зрелые В-лимфоциты
CD16	Основная часть рецептора Fc γ	НК-клетки, нейтрофилы, моноциты
CD56	NCAM-1	НК-клетки, моноциты
CD3+CD56+	Естественные Т-киллеры	
<i>Активационные маркеры</i>		
CD14	Рецептор ЛПС, эндотоксинов	моноциты, гранулоциты
CD25	α – цепь рецептора для IL-2	лимфоциты, моноциты
HLA-DR	АГКГ II класса	лимфоциты, моноциты
CD95	Антиген апоптоза APO-1/Fas	лимфоциты, нейтрофилы, моноциты
CD64	Высокоаффинный Fc-гамма-рецептор для IgG	лимфоциты, моноциты, гранулоциты
CD70	Лиганд рецептора CD27, относящийся к суперсемейству ФНО	лимфоциты, нейтрофилы, моноциты
CD35	CR1 рецептор комплемента	лимфоциты, нейтрофилы, моноциты
CD40	5 член семейства рецепторов для ФНО (TNFRSF5)	лимфоциты, нейтрофилы, моноциты
<i>Молекулы адгезии</i>		
CD11b	Интегрин Mac-1	лимфоциты, нейтрофилы, моноциты
CD54	ICAM-1 лиганд для интегрина LFA-1	лимфоциты, нейтрофилы, моноциты

Анализ гуморального иммунного звена проводили методом турбидиметрии на полуавтоматическом биохимическом анализаторе Screen Master Plus фирмы "Hospitex Diagnostics S.r.L." (Италия) с измерением концентрации иммуноглобулинов (IgA, IgM, IgG) в сыворотке крови в соответствии с инструкцией производителя реагентов и калибровочных растворов Biosystems (Испания).

Анализ кислородного метаболизма фагоцитов в цельной крови проводили на люминометре L1251 (LKB, Sweden) методом хемилюминесценции, усиленной люминолом или люцигенином с добавлением опсонизированного зимозана (Sigma, Швейцария), выражая результаты в мВ/100 фагоцитов. Также использовали мультиплексный анализ на анализаторе Synergy 2 SLAD (США) с расчетом среднего значения суммарного интеграла импульсов, высчитанное на площади под кривой на протяжении 50 мин реакции из измерений четырех дублирующих образцов. Результат выражали в условных единицах (УЕ) на 10 000 лейкоцитов за вычетом общих лимфоцитов. Окисление в присутствии люминола позволяло определять внутриклеточную генерацию активных форм кислорода, в присутствии люцигенина – выявляло внеклеточную генерацию супероксидного аниона кислорода.

Индексы эндогенной интоксикации: лейкоцитарный индекс интоксикации – ЛИИ (Я.Я. Кальф-Калиф, 1941), индекс ядерного сдвига формулы крови – ИЯС (Н.Н. Бобров, 1952), индекс сдвига лейкоцитов крови – ИСЛК (Н.И. Яблучанский, 1983) рассчитывали по формулам, используя показатели общего клинического анализа крови.

Анализ циркулирующих гемопоэтических стволовых клеток в периферической крови проводили методом проточной цитометрии с использованием моноклональных антител фирмы BD Biosciences (США): CD 45 PerCPCy5.5 (Clone HI30), CD 34 FITC (Clone 581/CD34), CD 38 PE (Clone HIT2) и фирмы Miltenyi Biotec (Германия) CD 133 PE (Clone AC133). Для фенотипирования субпопуляционного состава ГСК проводили трехцветное окрашивание клеток с использованием панели моноклональных антител к соответствующим маркерам: CD45CD34CD38 и CD45CD34CD133. После лизиса эритроцитов выполняли фенотипирование в подготовленных пробах на проточном цитофлуориметре аналитического типа FACSCalibur (Becton Dickinson, США) с использованием программы CellQuest. Поэтапно выделяли ГСК и их субпопуляции на основе сбора не менее 5×10^5 клеток (событий) и Dot Plot анализа образцов с расчетом относительного и абсолютного уровня ГСК разных фенотипов, в том числе жизнеспособных субпопуляций ГСК, а также расчетом соотношения зрелых и незрелых субпопуляций ГСК.

Клинико-лабораторная диагностика ожогового сепсиса проводилась по критериям, разработанным в Институте хирургии им. А. В. Вишневского (Алексеев А.А., 1993): внезапное ухудшение общего состояния больного, не соответствующее стадии развития заболевания и характеру течения раневого процесса, высокая лихорадка постоянная или гектическая с ознобами, расхождение температуры тела и пульса, прогрессирующее ухудшение общего состояния, несмотря на активное лечение, нарушение гемодинамики, развитие почечной и печеночной недостаточности, ухудшение состояния ожоговой раны с появлением вторичных некрозов, атрофичных грануляций, прогрессирование анемии ($Hb \leq 90$ ЕД), лимфопения <10 клеток\л, нейтрофилез, сдвиг формулы крови влево, возрастание СОЭ >60 мм\час, бактериальная обсемененность ожоговых ран выше критических величин, выделение микробов в составе ассоциации $\geq 4-5$ микроорганизмов, стойкая бактериемия, выявление ассоциации микроорганизмов в гемокультуре.

Статистическая обработка полученных данных проводилась с использованием программ GraphPad Prism 7.0 и Microsoft Office Excel 2010 методами вариационной статистики и непараметрических критериев. Количественные признаки, подчиняющиеся законам нормального распределения, представлены в виде M (среднее значение) и m (ошибка среднего значения) ($M \pm m$). При распределении количественных переменных, отличных от нормального, рассчитывали медиану и квартили первого и третьего порядка ($Me [Q1; Q3]$). Для расчета статистической значимости использовали критерий χ^2 - квадрат Пирсона, t-критерий Стьюдента и U-критерий Манна – Уитни. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Использовали оригинальный способ оценки иммунного статуса с расчетом степени иммунной недостаточности (СИН) и степени иммунной стимуляции (СИС) (А. М. Земсков и др., 1995) по формуле: $(\text{показатель больного/нормальный показатель} - 1) \times 100\%$. Если рассчитанная величина имеет знак «минус», у больного определяется иммунная недостаточность, если «плюс» - стимуляция иммунной системы. Диапазон величин в интервале 1-33% соответствует 1 степени иммунных расстройств, что является транзиторным состоянием иммунного статуса и не используется как достоверные изменения. Для статистической обработки использовались только достоверные показатели соответствующие второй (диапазон колебаний 34-66%) и третьей ($> 66\%$) степени.

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Результаты исследований иммунного статуса пострадавших от ожогов в зависимости от тяжести травмы и стадии ожоговой болезни

Поисковые исследования по изучению широкой панели иммунных маркеров позволили выявить разнонаправленный характер изменений ряда параметров иммунного статуса в процессе комплексного лечения.

При общей площади ожога >30% поверхности тела развивается более выраженная эндогенная интоксикация организма с бактериальным компонентом на фоне лейкоцитоза (рис. 2) и сдвига формулы крови влево с возрастанием лейкоцитарного индекса интоксикации ЛИИ вплоть до терминальной фазы при ожогах более 50% поверхности тела (рис. 3).

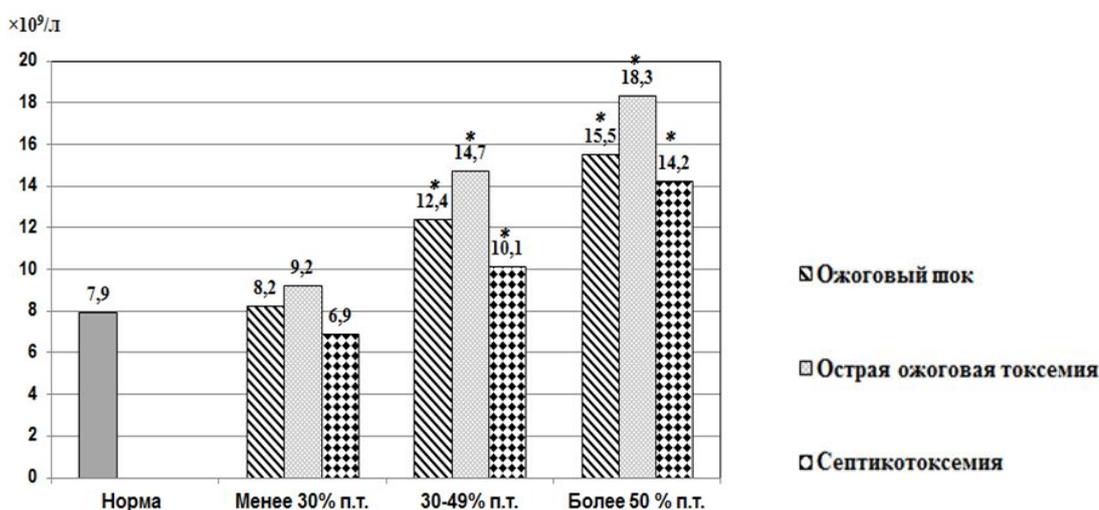


Рисунок 2. Зависимость изменений среднего уровня лейкоцитов от площади ожогового поражения и периода ожоговой болезни, *- $p < 0,05$ по сравнению с нормой

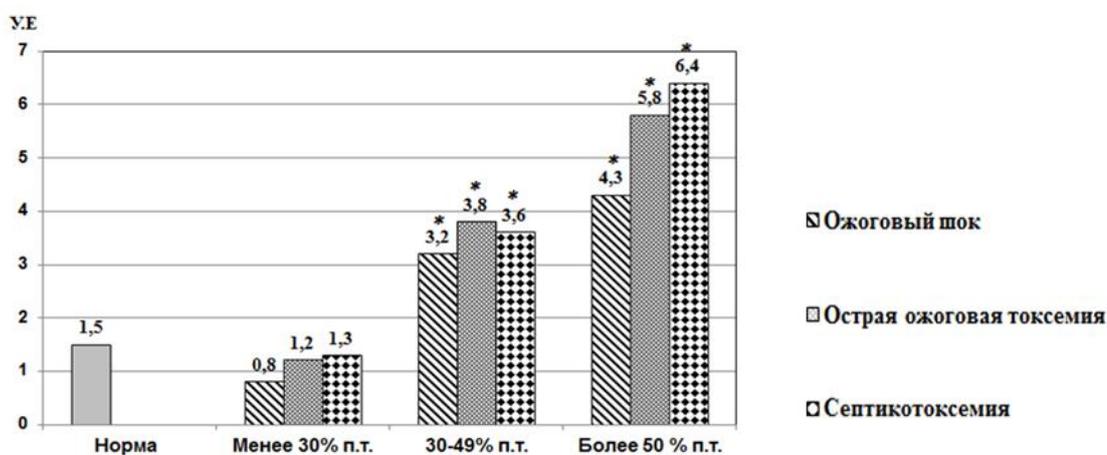


Рисунок 3. Зависимость изменений лейкоцитарного индекса интоксикации (ЛИИ) от площади ожогового поражения и периода ожоговой болезни, *- $p < 0,05$ по сравнению с нормой

При большем ожоговом поражении относительные показатели гранулоцитов с экспрессией провоспалительного высокоаффинного Fcγ-рецептора CD64+ значительно выше, по сравнению с пациентами с меньшей площадью ожогов (рис. 4).

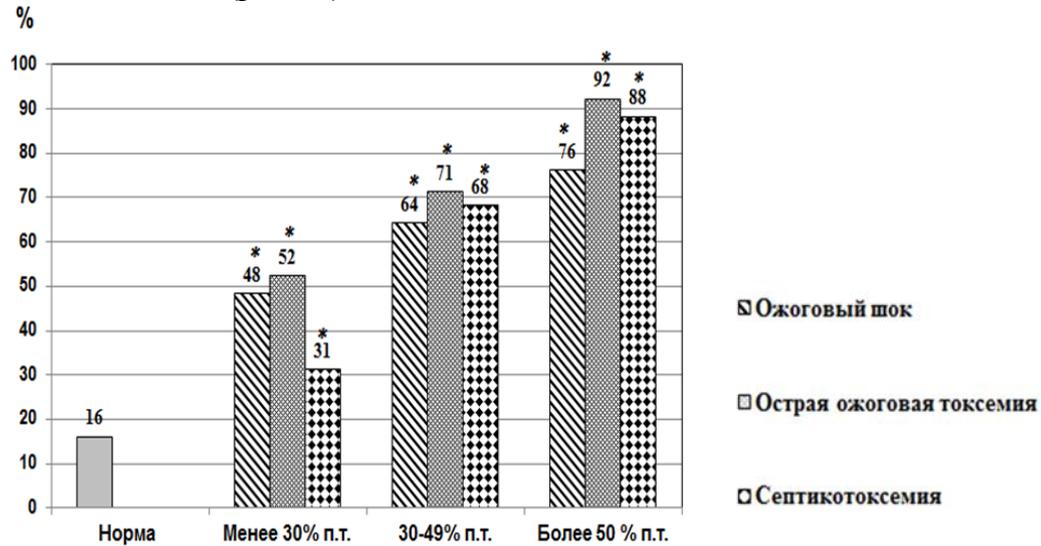


Рисунок 4. Зависимость изменений гранулоцитов CD64+ от площади ожогового поражения и периода ожоговой болезни, *- p < 0,05 по сравнению с нормой

При площади ожогового поражения >30% практически сразу возникает дефицит ключевого иммуноглобулина IgG, причем при большей степени ожогов самостоятельно он не восстанавливается (рис. 5). У трети пациентов возник сочетанный дефицит иммуноглобулинов IgG и IgM, отражающий глубокое поражение гуморальной системы иммунитета.

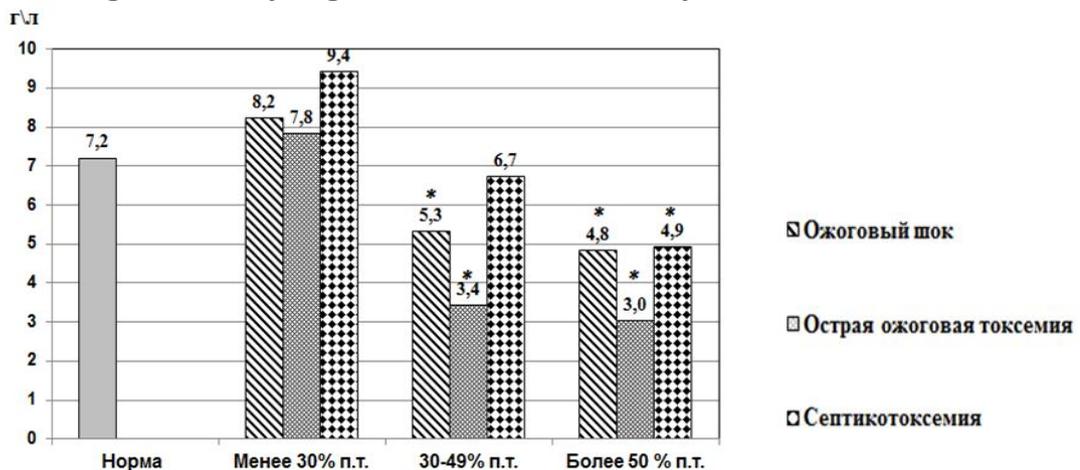


Рисунок 5. Зависимость уровня иммуноглобулина IgG от площади ожогового поражения и периода ожоговой болезни, *- p < 0,05 по сравнению с нормой

Важным аспектом тяжелого течения ожоговой болезни является психоэмоциональный стресс пострадавших, особенно при массовых катастрофах. Поступление пациентов с обширными ожогами в ожоговый

центр ИХВ после массовой трагедии в замкнутом пространстве в клубе «Хромая лошадь» г. Перми позволило получить редкие данные на 1-2 сутки после ожоговой травмы о состоянии иммунитета в период ожогового шока. Результаты обследования 9 больных с ожогами общей площадью $40,1 \pm 8,6$ % и глубокими ожогами $27,5 \pm 8,6$ % поверхности тела в сочетании с тяжелым термоингаляционным поражением и отравлением продуктами горения углекислого газа представлены в таблице 3.

Таблица 3. Изменения параметров иммунного статуса у пациентов с обширными ожогами в стадии ожогового шока при массовой катастрофе

Параметры иммунного статуса	Характер изменений параметра иммунного статуса пациентов: повышение ↑ снижение ↓	Количество пациентов с нарушением параметров иммунного статуса, n (%)	Показатели иммунного статуса пациентов, (M±m)	Показатели иммунного статуса здоровых доноров, (M±m)
Лейкоциты, 10^9 /л	↑	9 (100)	$13,4 \pm 0,7^*$	$6,0 \pm 0,2$
Палочкоядерные гранулоциты, %	↑	9 (100)	$16,0 \pm 3,3^*$	$5,3 \pm 2,1$
CD64 ⁺ Гранулоциты, %	↑	9 (100)	$88,1 \pm 3,4^*$	$3,2 \pm 0,5$
Кислородный метаболизм фагоцитов (ХЛ), Мв\100фагоцитов	↑	5 (55,6)	$24,4 \pm 3,6^*$	$12,3 \pm 5,8$
Лимфоциты, %	↓	8 (88,9)	$6,07 \pm 1,05^*$	$30,9 \pm 1,1$
Естественные киллерные лимфоциты (NK-клетки) CD16 ⁺	↓	4 (44,4)	$3,4 \pm 0,1^*$	$10,5 \pm 0,8$
HLA-DR ⁺ моноциты, %	↓	7 (77,8)	$26,5 \pm 3,9^*$	$83,5 \pm 2,1$
IgG, г/л	↓	9 (100)	$0,93 \pm 0,3^*$	$9,9 \pm 0,4$

Примечание. ХЛ - хемилюминесценция, * - $p < 0,05$ достоверные различия по сравнению с показателями здоровых доноров

У всех пострадавших выявлено возрастание лейкоцитоза до $13,4 \pm 0,7 \times 10^9$ [$10,8 \times 10^9$; $17,5 \times 10^9$] /л и повышение палочкоядерных гранулоцитов до $16,0 \pm 3,3$ [8,0; 39,0] %. В то же время отмечалось резкое возрастание CD64⁺ гранулоцитов $88,1 \pm 3,4$ [70,0; 98,0] %.

У 8 (88,9%) пациентов развилась глубокая относительная лимфопения $6,07 \pm 1,05$ [2,5; 9,0]%. У 5 (55,6%) больных произошло существенное возрастание уровня кислородного метаболизма фагоцитов $24,4 \pm 3,6$ [15,5; 36,9] Мв/100 фагоцитов. Дефицит естественных киллеров (CD16⁺) развился у 4 (44,4 %) больных, их содержание составило $3,4 \pm 0,1$ [2,9; 3,6] % при норме $10,5 \pm 0,8$ [6,5; 17,8] %. Характерно, что высокая степень выраженности воспалительного процесса у 7 (77,8 %) пациентов подтверждалась резким снижением уровня HLA-DR⁺ моноцитов $26,5 \pm 3,9$ [5,9; 44,0] %. У всех 100% больных был выявлен глубокий дефицит IgG, уровень которого составлял $0,93 \pm 0,3$ [0; 3,0] г/л. У ряда больных при очень обширных ожогах с общей площадью от 50% до 80% п.т. иммуноглобулин IgG полностью исчез из циркуляции, что никогда не приходилось наблюдать в предыдущих исследованиях. Изменения иммунной системы в результате массовой катастрофы носили более глубокий негативный характер, чем в группе больных, получивших бытовую травму (табл. 4).

Таблица 4. Изменения параметров иммунного статуса у пациентов (n=11) с обширными ожогами в стадии ожогового шока при бытовой травме

Параметры иммунного статуса	Характер изменений параметра иммунного статуса пациентов: повышение ↑ снижение ↓	Количество пациентов с нарушением параметров иммунного статуса, n (%)	Показатели иммунного статуса пациентов, (M±m)	Показатели иммунного статуса здоровых доноров, (M±m)
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	↑	7 (63,6)	$15,9 \pm 1,5^*$	$6,0 \pm 0,2$
CD64 ⁺ Гранулоциты, %	↑	9 (81,8)	$72,1 \pm 8,8^*$	$3,2 \pm 0,5$
Кислородный метаболизм фагоцитов (ХЛ), Мв\100 фагоцитов	↑	4 (36,4)	$36,1 \pm 8,2^*$	$12,3 \pm 5,8$
Лимфоциты, %	↓	4 (36,4)	$5,6 \pm 1,2^*$	$30,9 \pm 1,1$
Имуноглобулин IgG, г/л	↓	8 (72,7)	$5,3 \pm 0,4^*$	$9,9 \pm 0,4$

Значимые нарушения иммунной системы сохраняются и через 10-14 дней после ожоговой травмы - в стадии септикотоксемии ожоговой болезни. В зависимости от тяжести ожоговой травмы, особенно у пострадавших при массовом поражении, происходят более глубокие иммунологические изменения. При обширных ожогах > 30% п.т. одновременно развиваются два альтернативных процесса – гиперактивация иммунной системы (лейкоцитоз со сдвигом формулы крови влево, активация гранулоцитов с экспрессией высокоаффинного Fcγ-рецептора (CD64+), усиление кислородного метаболизма фагоцитов и функциональная активация HLA-DR+ моноцитов) и её глубокий дефицит (общие лимфоциты, Т-лимфоциты и их субпопуляции (Т-хелперы, цитотоксические Т-лимфоциты), естественные киллеры, иммуноглобулин IgG).

Тяжелые нарушения иммунной системы – это следствие существования обширных глубоких ожоговых ран с наличием инвазивной раневой инфекции и нагноением некротических тканей, приводящих к развитию высокой ожоговой эндогенной интоксикации за счет резорбции продуктов тканевого распада и жизнедеятельности бактерий. Результаты исследования иммунного статуса в динамике обоснованно подтверждают необходимость активного хирургического лечения обожженных, направленного на профилактику гнойно-септических осложнений ожоговой болезни и подготовку пациента к более раннему аутопластическому восстановлению кожного покрова.

Инновационные методы иммунодиагностики септических осложнений ожоговой болезни

Мониторинг иммунного статуса на разных этапах комплексного лечения тяжелообожженных пациентов позволил из широкого диапазона маркеров (более 45 параметров) иммунного статуса отобрать наиболее информативные показатели и адаптировать иммунную панель для получения объективной информации о нарушениях в различных звеньях иммунной системы при ожогах. Полученные результаты явились основой инновационных подходов в иммунодиагностике инфекционных осложнений ожоговой болезни с выделением 7 достоверно значимых основных составляющих прогноза диагноза сепсиса (табл. 5).

Таблица 5. Статистическая значимость иммунных маркеров у ожоговых больных с сепсисом (n=45) и без сепсиса (n=40)

Иммунный маркер	Норма	Уровень маркера	Сепсис, % больных	Без сепсиса, % больных	χ^2	<i>P</i>
Лимфоциты, %	14,0-38,0	< 9,3	66,7	20,0	18,44	< 0,001
Естественные киллеры (NK -клетки), %	6,47-17,8	<5,0	71,1	15,0	26,65	< 0,001
HLA-DR+ моноциты, %	60,2-95,0	< 50,0	53,3	25,0	7,0	< 0,001
Ig G, г/л	7,2-16,4	< 6,0	55,6	7,5	20,39	< 0,001
Палочко-ядерные нейтрофилы, %	0-8,5	> 21,0	75,6	25,0	26,91	< 0,001
Лейкоцитарный индекс интоксикации, У.Е.	< 1,5	> 4,0	55,6	15,0	14,86	< 0,001
CD 64⁺ гранулоциты, %	0,75-15,0	90-100	73,3	32,5	14,05	< 0,001

Таким образом, впервые в мировой практике на основе инновационных иммунодиагностических исследований дополнительно с клиничко-лабораторными данными у больных с ожогами разработана формула иммунной диагностики сепсиса, включающая конкретные числовые значения мультиплексной панели иммунных маркеров:

Лимфоциты < 9,3 %
Естественные киллеры (NK) < 5 %
HLA-DR+ моноциты < 50 %
Иммуноглобулин IgG < 6,0 г\л
Палочко-ядерные нейтрофилы > 21 %
Индекс эндогенной интоксикации ЛИИ > 4,0 ЕД
CD64+ гранулоциты 90 - 100 %

Важно, что одиночные показатели иммунного статуса не позволяют четко диагностировать развитие сепсиса при ожогах, а достоверно работают только в совокупности. Эти данные крайне важны для интенсификации и выбора эффективной тактики комплексного лечения пациентов с ожогами.

Для определения «специфичности» и «чувствительности» иммунной панели у ожоговых больных в прогнозировании развития септических осложнений у 36 больных определяли совпадение клинического диагноза сепсиса с числовой формулой по срокам постановки иммунного диагноза сепсиса: до клинического, одновременно с выставлением клинического диагноза и через сутки после установления клинического диагноза сепсиса. Результаты представлены в таблице 6.

Иммунная формула, включающая панель иммунных маркеров с конкретными числовыми значениями обладает высокой специфичностью (до 95%) в диагностике сепсиса и позволяет предварительно прогнозировать развитие септических осложнений до установления клинического диагноза: у 33,33% больных за 1-2 суток, у 41,7% за 3-4 суток, у 16,7% за 5-7 суток.

Таблица 6. Прогноз развития сепсиса. Совпадение клинического и «иммунного» диагноза сепсиса

«Иммунный» диагноз сепсиса до клинического (число больных)		«Иммунный» диагноз сепсиса одновременно с клиническим (число больных)	«Иммунный» диагноз сепсиса после клинического (1 сутки) (число больных)
N=24		N=7	N=5
Число больных	Прогноз (сутки)		
4	1		
4	2		
8	3		
2	4		
1	5		
2	6		
1	7		
1	13		
1	15		
Суммарный прогноз			
8 (33,33%)	1 - 2		
10 (41,67%)	3 - 4		
4 (16,67%)	5 - 7		
2 (8,33%)	~ 2 недель		

Анализ результатов хирургического лечения пациентов с обширными ожогами на основе изучения иммунного статуса в различные сроки после травмы

Для оценки эффективности хирургического лечения был изучен иммунный статус у 100 больных с обширными ожогами в сравнении с показателями здоровых доноров. Из 45 исследуемых показателей иммунного статуса достоверно значимые изменения у обожженных выявлены по 15 ключевым иммунным маркерам, относительно которых в дальнейшем проведен сравнительный анализ в динамике у 55 больных. Результаты представлены в таблице 7.

Таблица 7. Показатели иммунного статуса здоровых доноров и пациентов с ожогами в различные сроки комплексного лечения, Ме [Q1;Q3]

№	Показатель	Контроль- ная группа, n=30	Основная группа, n=55			Сравни- тельный анализ по значениям <i>P</i> 1/2;1/3;2/3
			Сроки анализа иммунного статуса пациентов, сутки после травмы			
			(1) поступление, 13,18±2,45	(2) 10 сутки лечения, 23,6±2,5	(3) 30 сутки лечения, 40,8±2,9	
1	Лейкоциты, млрд/л	5,89 [5,2; 6,6]	11,60 [8,0; 14,1]*	13,6 [10,0; 16,3]*	10,5 [8,1; 13,3]*	1/2=0,0116 1/3=0,2886 2/3=0,001
2	Нейтрофилы палочкоядерные, %	5,00 [4,4; 6,5]	20,5 [12,5; 29,5]*	16,5 [10,0; 22,5]*	12,5 [7,5; 20,0]*	1/2=0,0227 1/3=0,0009 2/3=0,1757
3	ИСЛК, у.е.	1,6 [1,3; 2,0]	4,3 [3,2; 5,5]*	4,0 [3,0; 5,5]*	2,7 [1,9; 4,4]*	1/2=0,6016 1/3=0,0314 2/3=0,0255
4	ЛИИ, у.е.	0,9 [0,7; 1,3]	3,7 [2,2; 6,1]*	2,3 [1,3; 4,9]*	1,6 [0,8; 2,8]*	1/2=0,6451 1/3=0,0024 2/3=0,0377
5	CD64 ⁺ гранулоциты, %	2,6 [1,2; 5,5]	76,0 [48,7; 92,1]*	66,8 [39,2; 88,8]*	71,0 [37,7; 85,7]*	1/2=0,6115 1/3=0,0853 2/3=0,2062
6	HLA-RD ⁺ моноциты, %	83,5 [79,4; 93,9]	72,0 [43,5; 87,1]*	73,1 [54,1; 89,4]	82,0 [57,7; 90,0]	1/2=0,3595 1/3=0,4977 2/3=0,8736
7	Лимфоциты, %	32,4 [27,6; 34,6]	10,5 [8,8; 16,5]*	13,0 [9,7; 16,3]*	17,0 [10,5; 27,0]*	1/2=0,2365 1/3<0,0001 2/3=0,0007
8	HLA-RD ⁺ лимфоциты, %	10,9 [9,4; 15,6]	19,5 [13,1; 26,7]*	12,9 [10,1; 16,7]	10,5 [7,5; 14,5]	1/2=0,0008 1/3=0,0002 2/3=0,3605
9	CD25 ⁺ лимфоциты, %	6,0 [4,1; 9,3]	16,4 [11,7; 19,3]*	16,0 [11,9; 19,7]*	13,7 [10,0; 17,8]*	1/2=0,6900 1/3=0,0080 2/3=0,0360
10	ИРИ CD4 ⁺ /CD8 ⁺ , у.е.	1,40 [1,24; 1,62]	2,09 [1,4; 3,05]*	2,02 [1,37; 2,48]*	1,56 [1,00; 2,29]	1/2=0,3671 1/3=0,0209 2/3=0,2069
11	CD16 ⁺ естественные киллеры-1, %	10,0 [7,2; 12,3]	6,2 [3,5; 10,8]*	6,0 [4,7; 9,71]*	7,0 [3,9; 10,8]*	1/2=0,8076 1/3=0,6227 2/3=0,7920

12	CD56 ⁺ естественные киллеры-2, %	9,7 [7,2; 10,5]	5,0 [2,3; 8,7]*	5,5 [3,9; 8,9]	6,3 [3,5; 9,6]	1/2=0,6104 1/3=0,6545 2/3=0,9029
13	CD21 ⁺ В-лимфоциты, %	8,7 [7,9; 10,4]	14,5 [9,4; 21,9]*	9,8 [6,1; 15,9]*	7,6 [5,0; 12,0]	1/2=0,0093 1/3=0,0018 2/3=0,4020
14	IgG, г\л	9,7 [9,0; 11,0]	6,3 [5,4; 7,6]*	7,8 [6,9; 10,5]*	7,9 [7,1; 9,9]*	1/2<0,0001 1/3<0,0001 2/3=0,8028
15	IgM, г\л	1,34 [1,01; 1,60]	0,70 [0,52; 1,10]*	0,80 [0,61; 1,09]*	0,78 [0,65; 1,00]*	1/2=0,1824 1/3=0,1557 2/3=0,7418

Примечание: значения Р – при сравнении показателей основной группы на разных сроках комплексного лечения (1/2; 1/3; 2/3); * - Р <0,05 достоверные различия при сравнении показателей основной группы с показателями контрольной группы

На этапе подготовки глубоких ожогов к пластическому закрытию хирургическое лечение включало этапные некрэктомии - иссечение некротических тканей с использованием хирургических инструментов и оборудования, местное консервативное лечение ожоговых ран с использованием современных раневых покрытий, повязок с растворами антисептиков. Аутодермопластика выполнялась обычно через 5-14 суток после некрэктомии. Перед выполнением пластического закрытия ран всем пациентам выполнялась хирургическая обработка с иссечением грануляционной ткани (удаление патологических грануляций, остаточных некрозов, выравнивание дна раны) и тщательный гемостаз. При помощи циркулярного электродерматома с донорских участков кожи проводился забор расщепленных аутодермотрансплантатов толщиной 0,3-0,4 мм. Увеличение площади трансплантата достигалось за счет нанесения на него перфорационных отверстий с применением кожного перфоратора. Расщепленные перфорированные аутодермотрансплантаты укладывались на подготовленные раны, при необходимости фиксировались кожным степлером.

В результате к 40,8±2,9 суткам после ожоговой травмы в исследуемой группе пациентов удалось выполнить от одной до трех операций по аутодермопластике, восстанавливая кожные покровы при каждой операции на площади до 10,6±1,1 % поверхности тела. В большинстве случаев достигнуто полное приживание пересаженных аутодермотрансплантатов.

По мере закрытия ожоговых ран также отмечено последовательное восстановление ключевых маркеров иммунной системы - лимфоциты (p=0,0001), лимфоциты с экспрессией молекул ранней и поздней активации CD25⁺ (p=0,008) и HLA-DR⁺ (p=0,0002), иммунорегуляторный индекс CD4/CD8 (p=0,02), CD21⁺ В - лимфоциты (p=0,002), IgG (p <0,0001).

Отмечена нормализация показателей врожденного иммунитета, в том числе гранулоцитов с экспрессией CD64⁺ и HLA-DR⁺ моноцитов.

В результате комплексное лечение больных с обширными глубокими ожогами на основе активной хирургической тактики, направленной на своевременное удаление нежизнеспособных тканей и восстановление целостности кожного покрова, позволило в **78,2%** случаях предотвратить развитие септических осложнений и восстановить иммунный статус без применения иммунокорригирующей терапии.

Результаты этапного хирургического лечения пациентов с обширными ожогами на основе анализа регенераторного потенциала

Впервые у больных с ожогами проведен многопараметрический анализ и оптимизирован протокол выделения из периферической крови различных фенотипов гемопоэтических стволовых клеток методом проточной цитометрии для иммунодиагностики регенераторного потенциала на этапах хирургического лечения по восстановлению целостности кожного покрова.

Результаты сравнительного анализа содержания субпопуляций ГСК у здоровых доноров и в процессе комплексного лечения у 25 больных с ожогами общей площадью поражения 44,0±4,7 % п.т. представлены в таблице 8. По гендерным показателям и возрасту доноры и пациенты достоверно не различались ($p = 0,22$).

Таблица 8. Содержание субпопуляций ГСК у здоровых лиц и пациентов с ожогами в динамике

Популяции ГСК	Здоровые доноры (n=15)	Пациенты с ожогами (n=25)			
		при поступлении или Mean±SEM	<i>P</i>	на 20 суток лечения Mean±SEM	<i>P</i>
CD45 ^{dim} 34 ⁺ 38 ⁻ %	0,031± 0,003	0,013±0,002	0,0001#	0,039± 0,009	0,0155*
CD45 ^{dim} 34 ⁺ 38 ⁺ %	0,017±0,003	0,007± 0,002	0,0188#	0,012±0,004	0,2721
CD45 ^{dim} 34 ⁺ 133 ⁻ %	0,017±0,003	0,010± 0,003	0,0785	0,028± 0,008	0,0380*
CD45 ^{dim} 34 ⁺ 133 ⁺ %	0,032±0,004	0,011± 0,003	0,0002#	0,020± 0,006	0,1879

Обозначения: # - достоверные различия между группой здоровых доноров и ожоговыми пациентами при поступлении; * достоверные различия между группами пациентов при поступлении и на фоне лечения

При поступлении в ожоговый центр в исследуемой группе тяжелообожженных пациентов, в сравнении с группой здоровых доноров, выявлен достоверный дефицит в периферической крови общих ГСК $CD45^{+}34^{+}$ ($0,022 \pm 0,003$ %, $p=0,0002$) и их субпопуляций с различными репаративными свойствами. Преимущественно отмечен дефицит «не зрелых» ГСК $CD45^{dim}34^{+}38^{-}$ ($p=0,0001$) и ранних предшественников гемопоэза $CD45^{dim}34^{+}133^{+}$ ($p=0,0002$), что может свидетельствовать о подавлении компенсаторно-приспособительных реакций гемопоэза на этапах поступления больных в тяжелом клиническом состоянии, когда еще не применен весь необходимый комплекс лечебных мероприятий, направленных в первую очередь на компенсацию и протекцию жизненно-важных функций и внутренних констант организма, коррекцию интоксикационного синдрома, профилактику инвазивной раневой инфекции, в т.ч. методы хирургического воздействия на первичные очаги ожогового поражения. Стойкий дефицит, вплоть до полного отсутствия ГСК наблюдали у ряда больных с обширными и глубокими ожогами площадью более 50% поверхности тела при неблагоприятном течении ожоговой болезни с медленным заживлением ожоговых ран, лизисом аутодермотрансплантатов и вялыми грануляциями. Напротив, у пациентов при проведении активного хирургического лечения и выполнении успешной аутодермопластики гранулирующих ран восстановление ГСК происходило быстрее, в среднем на 20-е сутки комплексного лечения (рис. 6).

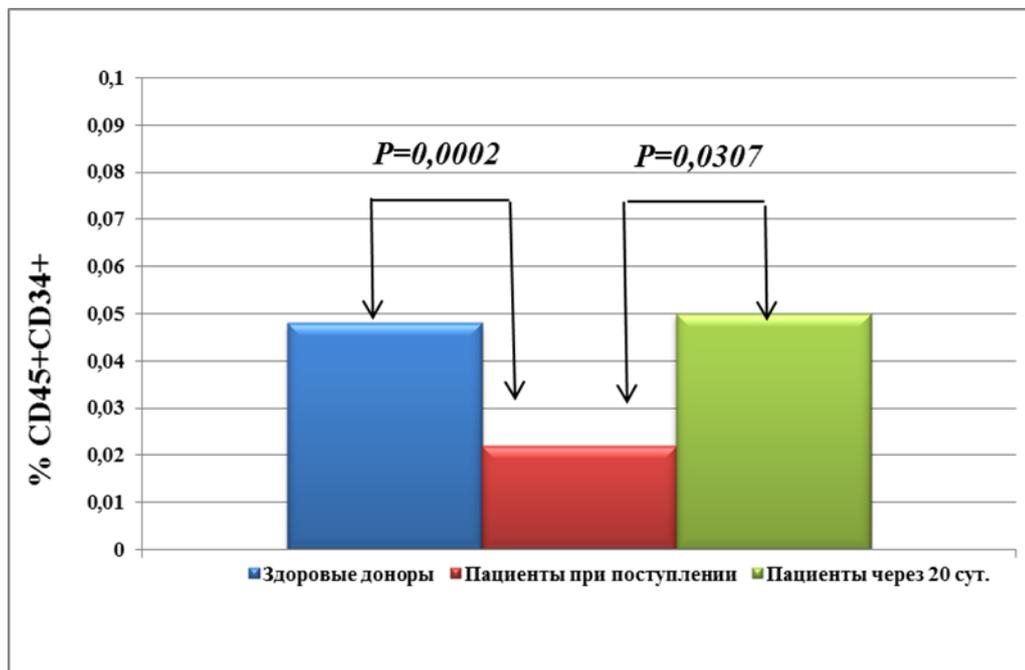


Рисунок 6. Динамика относительного (%) количества общих ГСК $CD45^{+}34^{+}$ в крови пациентов с ожогами в процессе комплексного лечения

Полученные результаты подтвердили целесообразность использования отдельных маркеров ГСК для иммунодиагностики регенераторного потенциала при заживлении ожоговых ран, в том числе в процессе этапного хирургического лечения и аутодермопластики. Однако, для объективной оценки системного регенераторного потенциала и определения готовности больного к выполнению эффективной операции по пластическому закрытию гранулирующих ран определение монопоказателей общих субпопуляций ГСК оказывается недостаточным, поскольку они не учитывают содержание жизнеспособных ГСК в общем пуле белых клеток крови в пробе и лейкоцитов в периферической крови пациента.

Впервые разработанный нами способ основан на определении методом проточной цитометрии совокупности маркеров - жизнеспособных субпопуляций гемопоэтических стволовых клеток, обладающих разной степенью зрелости и регенеративной активностью, а также расчетом конкретных числовых/пороговых показателей (относительных и абсолютных) и их соотношений в зависимости от содержания общих белых клеток крови в пробе, общей популяции жизнеспособных ГСК и уровня лейкоцитов в периферической крови пациента.

Диагностические пороговые значения по каждому показателю (табл. 9) получены в результате апробации изобретения у здоровых доноров и у больных с ожогами, и статистической обработки результатов 4840 анализов.

Таблица 9. Пороговые значения параметров ГСК для оценки системного регенераторного потенциала у ожоговых больных

Параметр	Единицы измерения	Пороговое значение
С1 (жизнеспособные общие ГСК CD45 ^{dim} CD34 ⁺ в общем количестве белых клеток крови в пробе)	%	0,03
С2 (жизнеспособные "зрелые" ГСК CD45 ^{dim} CD34 ⁺ CD38 ⁺ в общем количестве белых клеток крови в пробе)	%	0,02
С3 (жизнеспособные "не зрелые" ГСК CD45 ^{dim} CD34 ⁺ CD38 ⁻ в общем количестве белых клеток крови в пробе)	%	0,01
С4 (жизнеспособные "зрелые" ГСК CD45 ^{dim} CD34 ⁺ CD38 ⁺ в популяции жизнеспособных общих ГСК)	%	72
С5 (жизнеспособные "не зрелые" ГСК CD45 ^{dim} CD34 ⁺ CD38 ⁻ в популяции жизнеспособных общих ГСК)	%	28

D1 (жизнеспособные общие ГСК CD45 ^{dim} CD34 ⁺ в общем количестве белых клеток крови в пробе относительно уровня лейкоцитов периферической крови)	10 ⁹ /л	0,003
D2 (жизнеспособные "зрелые" ГСК CD45 ^{dim} CD34 ⁺ CD38 ⁺ в общем количестве белых клеток крови в пробе относительно уровня лейкоцитов периферической крови)	10 ⁹ /л	0,002
D3 (жизнеспособные "не зрелые" ГСК CD45 ^{dim} CD34 ⁺ CD38 ⁻ в общем количестве белых клеток крови в пробе относительно уровня лейкоцитов периферической крови)	10 ⁹ /л	0,001
D4 (жизнеспособные "зрелые" ГСК CD45 ^{dim} CD34 ⁺ CD38 ⁺ в популяции жизнеспособных общих ГСК относительно уровня лейкоцитов периферической крови)	10 ⁹ /л	3,2 – 8,5
D5 (жизнеспособные "не зрелые" ГСК CD45 ^{dim} CD34 ⁺ CD38 ⁻ в популяции жизнеспособных общих ГСК CD45 ^{dim} CD34 ⁺ относительно уровня лейкоцитов периферической крови)	10 ⁹ /л	1,3 – 3,3

При получении значений $C1 \geq 0,03$, $C2 \geq 0,02$ и/или $C3 \geq 0,01$, $C4 \geq 72$ и/или $C5 \leq 28$, $D1 \geq 0,003$, $D2 \geq 0,002$ и/или $D3 \geq 0,001$, $3,2 \leq D4 \leq 8,5$ и/или $1,3 \leq D5 \leq 3,3$ (рис.7) делают вывод о высоком системном регенераторном потенциале у ожоговых больных, а условия для аутодермопластики считают благоприятными.

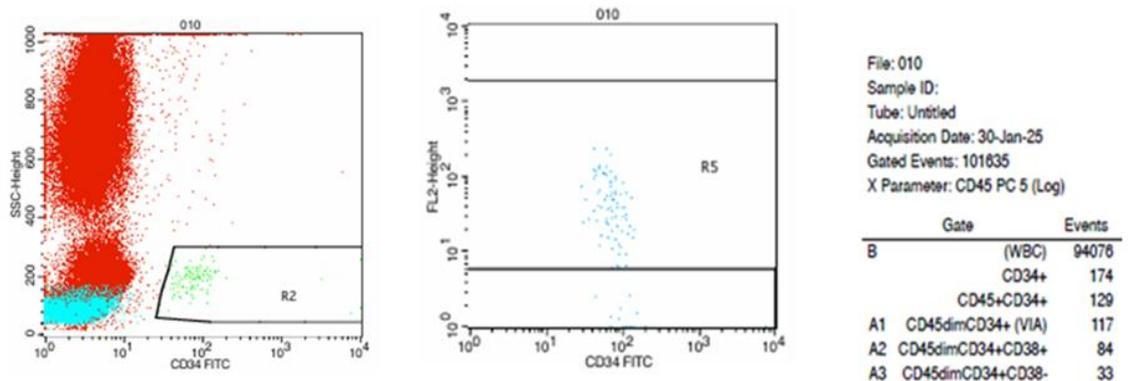


Рисунок 7. Dot Plot при высоком системном регенераторном потенциале (проточная цитометрия)

При получении значений $C1 < 0,03$, $C2 < 0,02$ и/или $C3 < 0,01$, $C4 < 72$ и/или $C5 > 28$, $D1 < 0,003$, $D2 < 0,002$ и/или $D3 < 0,001$, $D4 < 3,2$ и/или $D5 < 1,3$ (рис.8) делают вывод о низком системном регенераторном потенциале у ожоговых больных, а условия для аутодермопластики считают неблагоприятными.

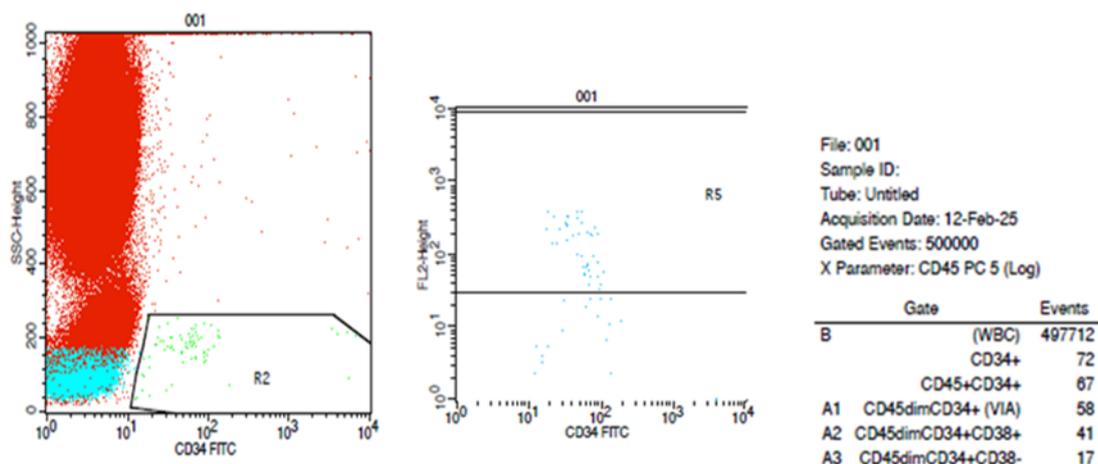


Рисунок 8. Dot Plot при низком системном регенераторном потенциале (проточная цитометрия)

Запатентованный способ убедительно продемонстрировал высокую степень достоверности, процент ошибки составил не более 7%, а точность достигала 93%, что убедительно доказывает его значимость в выборе персонафицированной тактики хирургического лечения и оценке эффективности пластического восстановления кожного покрова при ожогах. Анализ различных фенотипов циркулирующих ГСК показал их потенциальное влияние на заживление ожоговых ран и течение инфекционного процесса при ожоговой болезни. В дальнейшем это может иметь решающее значение для успешного использования биотехнологических методов и клеточных технологий в комплексном лечении ожогов.

Результаты комплексного лечения больных с обширными ожогами и септическими осложнениями с использованием препарата «Габриглобин-IgG»

Оценка клинической эффективности применения Габриглобина для профилактики и лечения сепсиса у больных с обширными ожогами проводилась по клинико-лабораторным критериям, включающих 9 параметров (таблица 10). По полученным результатам определяли суммарную эффективность (хороший и удовлетворительный эффект) или отсутствие эффекта.

Таблица 10. Оценка клинической эффективности Габриглобина

№	Хороший эффект	Удовлетворит эффект	Нет эффекта
1	Снижение степени тяжести клинического состояния	Положительная динамика клинического состояния	Нет позитивных изменений
2	Нормализация температуры, если гектическая или интермиттирующая – снижение на $\geq 1^{\circ}\text{C}$	Снижение температуры до субфебрильной, если гектическая или интермиттирующая - то снижение $< 1^{\circ}\text{C}$	
3	Снижение лейкоцитоза $\geq 15\%$	Снижение лейкоцитоза $< 15\%$	
4	Снижение ЧД на $\geq 4/\text{мин}$	Снижение ЧД на $< 4/\text{мин}$	
5	Снижение ЧСС $> 10\%$ (от исходного)	Снижение ЧСС $< 10\%$ (от исходного)	
6	Увеличение АД $\geq 15\%$ или его стабилизация	Отсутствие стабилизации АД	
7	Нормализация или повышение тромбоцитов на 30%	Незначительный прирост тромбоцитов $< 30\%$ (от исходного)	
8	Увеличение общего белка крови не менее 5 г/л, но не от введения из вне	Увеличение протеинемии < 5 г/л	
9	Динамика уровня прокальцитонина в сравнении с исходным	_____	

Клинико-иммунологическая эффективность Габриглобина для профилактики сепсиса у больных с обширными ожогами

Включение Габриглобина в комплексное лечение больных с обширными ожогами обеспечивало эффективное иммунозаместительное действие с быстрым восстановлением исходно низкого уровня иммуноглобулина IgG (рис.9). Низкий уровень иммуноглобулина IgG у пациентов в контрольной группе профилактики генерализации инфекции в исходный период и в конце наблюдения отмечался у 40% и 30% больных, тогда как в исходный период у больных основной группы он регистрировался у 93%, а после курса Габриглобина полностью восстановился у всех больных.

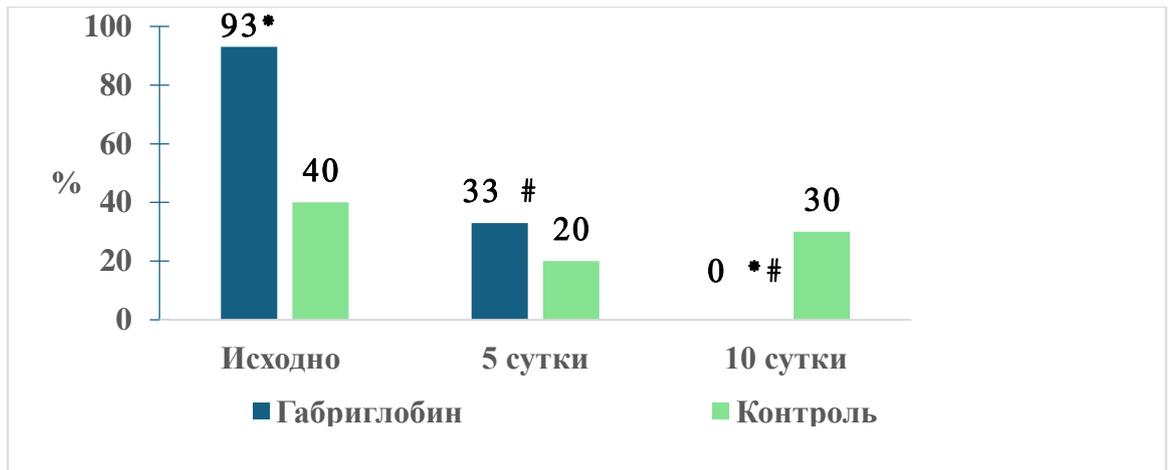


Рисунок 9. Количество больных с дефицитом IgG в динамике

Примечание: *- достоверные ($p < 0,05$) различия между основной и контрольной группами; # - достоверные ($p < 0,05$) различия в сравнении с исходным периодом

Применение Габриглобина у больных с обширными ожогами с целью профилактики сепсиса сопровождалось купированием гиперактивации иммунной системы и эндогенной интоксикации. К 10-м суткам лечения отмечено в основной группе достоверное ($p < 0,05$) снижение в 2,5 раза (с 33% до 13%) количества больных с лейкоцитозом относительно исходного периода и в 3,1 раза по сравнению с контрольной группой, где высокий лейкоцитоз сохранялся у 40% больных. Габриглобин также вызвал более быстрое купирование П/Я нейтрофильного сдвига формулы крови влево уже на 5-е сутки. Причем в основной группе количество больных со сдвигом формулы крови снижалось к 10-м суткам в 2 раза относительно исходного периода и контроля (40% против 80%). Число больных с повышенным уровнем $CD64^+$ гранулоцитов в контрольной группе сохранялось на всем протяжении срока исследования, а к 5-м суткам достигло 100%. В то же время число больных в основной группе с высоким содержанием $CD64^+$ гранулоцитов уже на 5-е сутки стало в 1,7 раза меньше, чем в контроле (60% против 100%) и к 10-м суткам разница увеличилась до 2,4 раза 33% и 80% соответственно.

Аналогична оказалась динамика и уровня нейтрофилов с экспрессией активационных молекул $CD70^+$, участвующих в адаптивных реакциях Т-лимфоцитов и стимуляции врожденного иммунитета. С повышенными значениями $CD70^+$ Нф процент больных к 10-м суткам в основной группе значимо снижался, когда как в группе контроля наоборот возрастал и составил 33% и 90% соответственно.

Вместе с тем содержание лимфоцитов с экспрессией рецепторов к ИЛ–2 CD25⁺, отражающие активацию иммунной системы по Tх1–клеточному типу и компенсаторную реакцию антимикробной защиты в условиях дефицита гуморальной системы, оказалось повышенным у 33% больных, получавших Габриглобин, в сравнении с контрольной группой больных без иммунотерапии, где таких пациентов было лишь 10%.

Результаты убедительно продемонстрировали и клиническую эффективность после курса Габриглобина у тяжелообожженных по 6 клинико-лабораторным параметрам (рис.10)

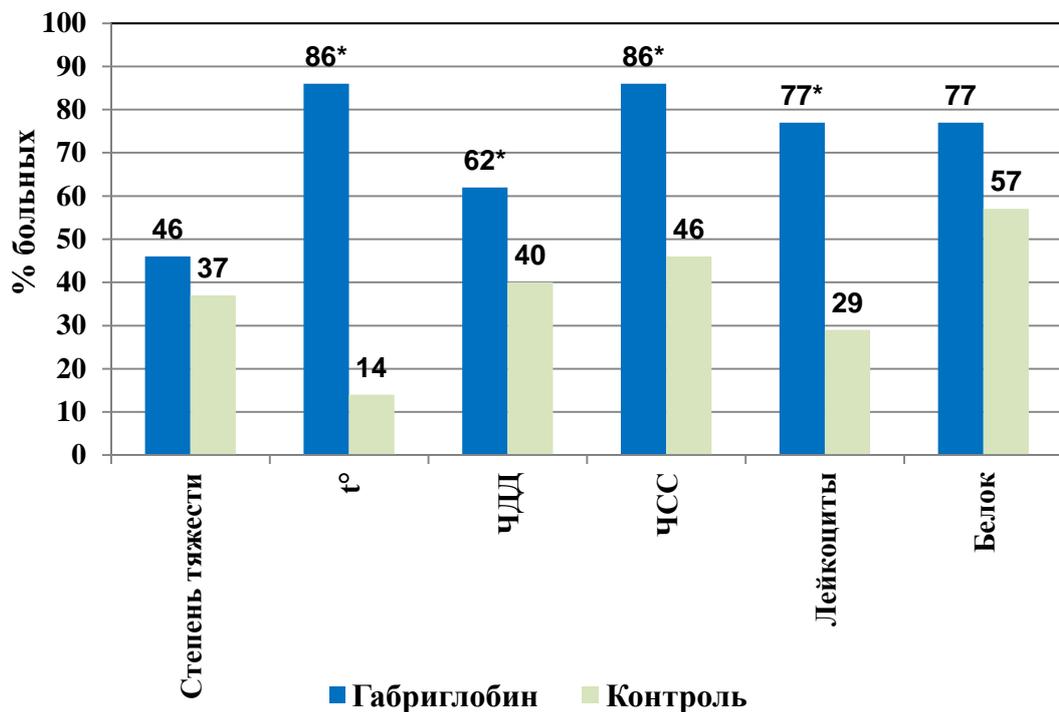


Рисунок 10. Суммарная клиническая эффективность (хороший и удовлетворительный эффект) Габриглобина для профилактики сепсиса

*- достоверные различия относительно контрольной группы

Суммарная эффективность терапии габриглобином по клинико-лабораторным данным для профилактики ожогового сепсиса составила 72 % (в контроле без габриглобина – 37%).

Клинико-иммунологическая эффективность Габриглобина для лечения сепсиса у больных с обширными ожогами

Применение Габриглобина высокоэффективно для иммунозаместительной терапии у больных с септическими осложнениями ожоговой болезни. Кинетика содержания IgG достоверно отличалась у пациентов основной и контрольной групп. Так, если в группе пациентов без Габриглобина гипоиммуноглобулинемия IgG нарастала, то процент больных с дефицитом IgG в группе с применением иммуноглобулина достоверно снижался в 3,1 раза к 10 суткам, несмотря что в исходный период число больных с дефицитом IgG в основной группе было в 5,6 раза выше, чем в контроле (рис. 11).

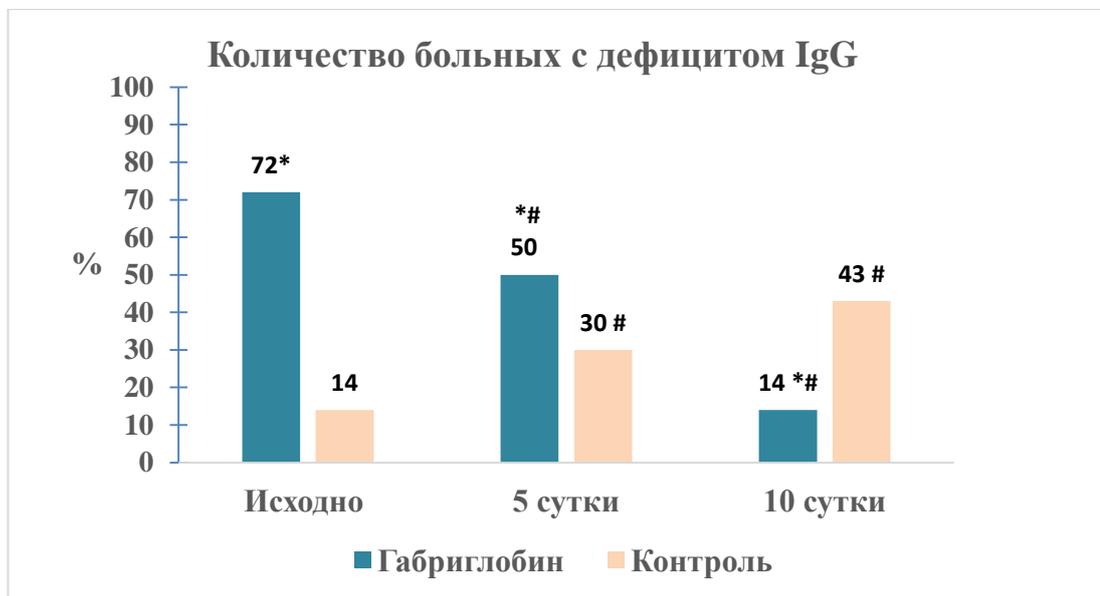


Рисунок 11. Влияние Габриглобина на восстановление дефицита иммуноглобулина IgG у ожоговых больных при лечении сепсиса.

Примечание: *- достоверные ($p < 0,05$) различия между основной и контрольной группами; # - достоверные ($p < 0,05$) различия в сравнении с исходным периодом

Снижение гиперактивации иммунной системы при использовании Габриглобина в лечении ожогового сепсиса показано на примере нормализованного анализа в динамике активационных маркеров П/Я гранулоциты (рис. 12), CD70⁺ (лимфоциты, нейтрофилы, моноциты) (рис. 13), CD64⁺ гранулоциты.

Если в исходный период в основной группе отмечено отсутствие больных с нормальным значением П/Я гранулоцитов, то после курса Габриглобина число их возросло до 33%. В контрольной группе кинетика сдвига формулы крови была обратной – к 10-м суткам у всех больных отмечался высокий уровень П/Я гранулоцитов (рис. 12).

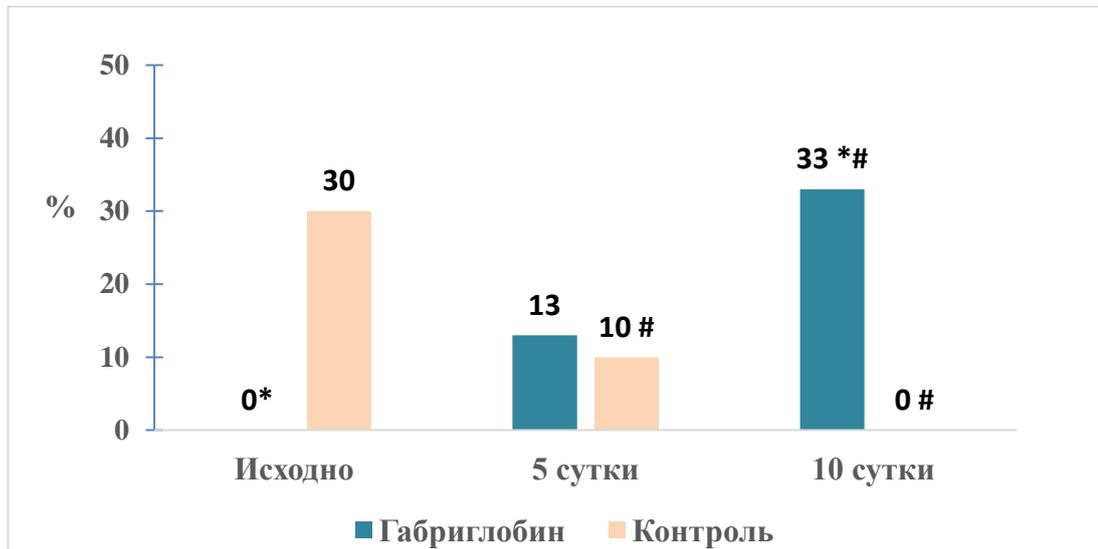


Рисунок 12. Количество больных с нормализованным уровнем П/Я нейтрофилов при использовании Габриглобина в комплексном лечении сепсиса.

Примечание: *- достоверные ($p < 0,05$) различия между основной и контрольной группами; # - достоверные ($p < 0,05$) различия в сравнении с исходным периодом

Количество больных с высокой экспрессией $CD70^+$ на иммунных клетках достоверно снижалось при лечении сепсиса, тогда как в контрольной группе не выявлено существенной динамики в процессе наблюдения (рис.13).

У больных с ожоговым сепсисом исходно высокий уровень $CD64^+$ гранулоцитов (медиана 94,2%) после лечения Габриглобином достоверно ($p < 0,05$) снижался (медиана 75%), тогда как в контрольной группе достоверных различий к 10 суткам лечения не происходило (медиана 93,5% против 88,7%).

Важно, что применение Габриглобина нивелировало глубокий дефицит ряда других параметров, в том числе клеточного иммунного звена, подтверждая иммуномодулирующие свойства препарата. У 61,5% пациентов основной группы отмечена нормализация содержания лимфоцитов, и происходило резкое снижение числа пациентов с дефицитом НК-клеток в отличие от контрольной группы, где у 75% пациентов сохранялась глубокая относительная лимфопения и в 3,6 раза больше регистрировался дефицит НК-клеток.

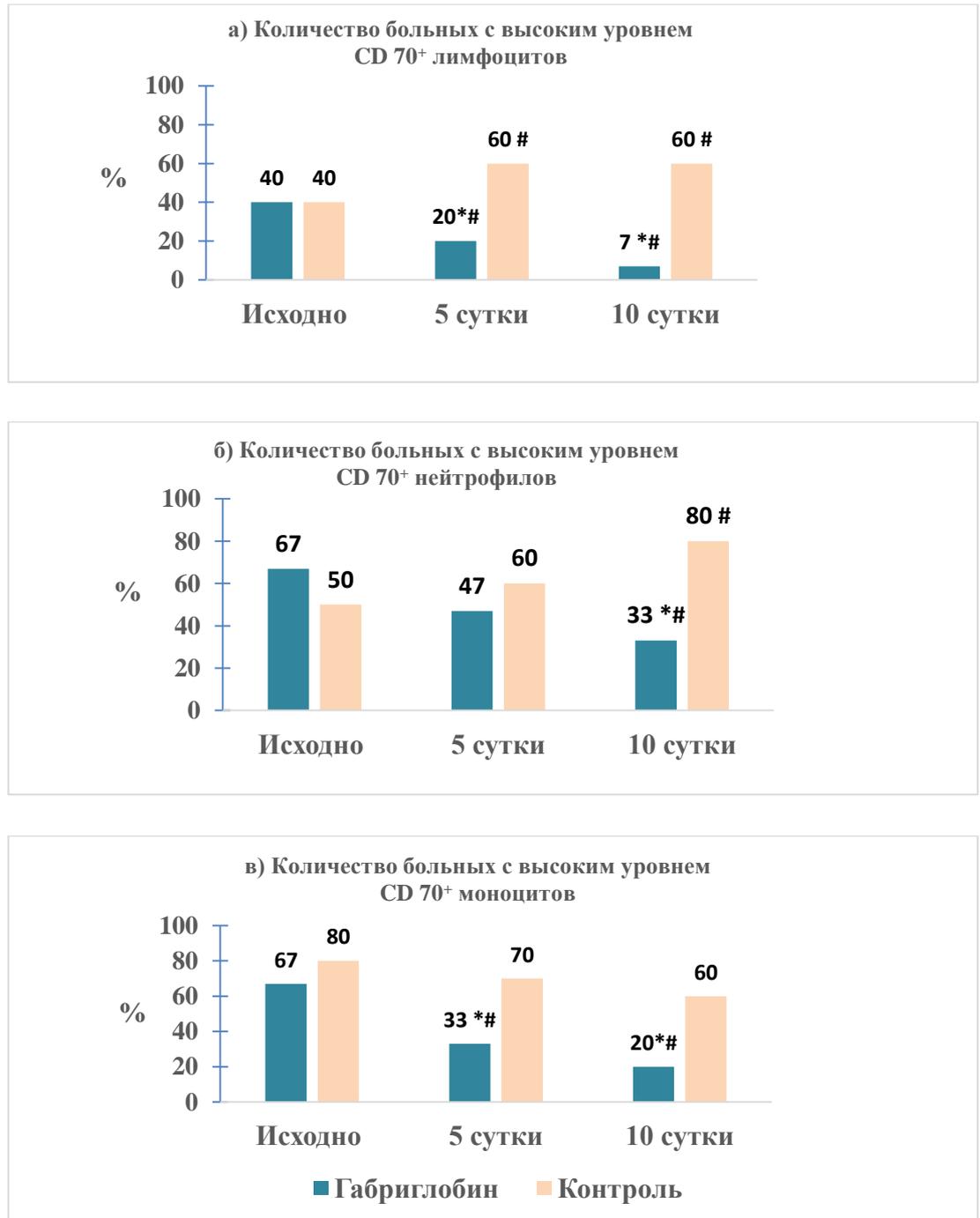


Рисунок 13. Влияние Габриглобина на снижение маркера гиперактивации иммунной системы CD70⁺ на лимфоцитах (а), нейтрофилах (б), моноцитах (в) у ожоговых больных при лечении сепсиса.

Примечание: *- достоверные ($p < 0,05$) различия между основной и контрольной группами; # - достоверные ($p < 0,05$) различия в сравнении с исходным периодом.

Результаты эффективности Габриглобина при лечении сепсиса у тяжелообожженных в сравнении с контрольной группой также показали существенные достоверные различия по 8 клинико-лабораторным показателям (рис. 14).

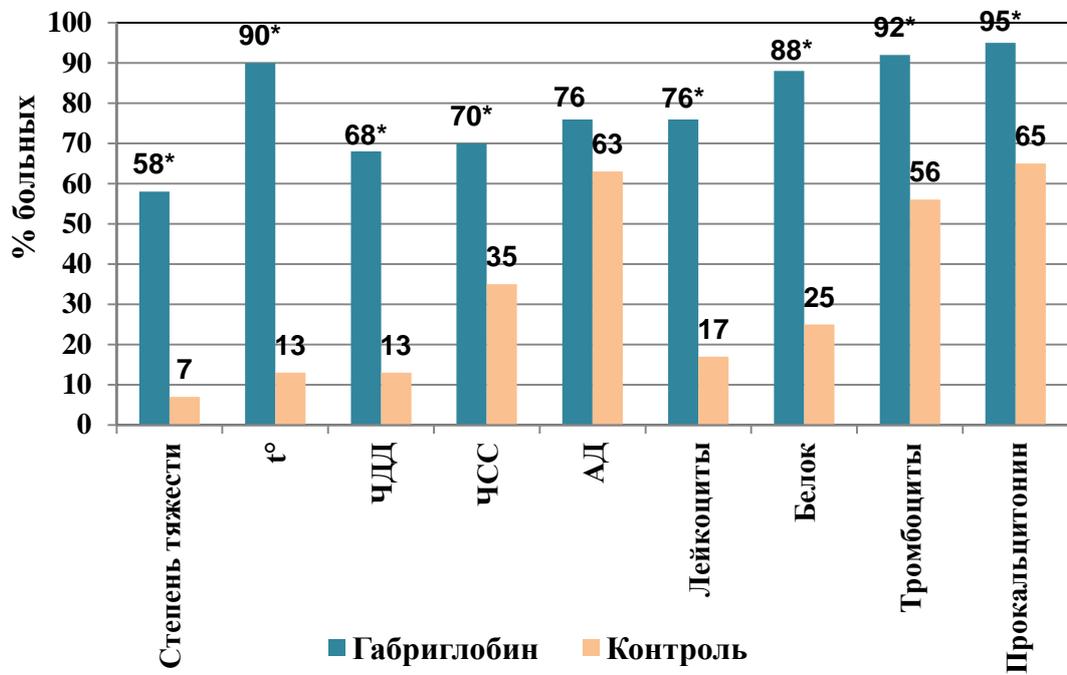


Рисунок 14. Суммарная клиническая эффективность (хороший и удовлетворительный эффект) Габриглобина для лечения сепсиса, *- достоверные различия относительно контрольной группы

Суммарный клинический эффект иммунотерапии габриглобином отмечен у 79% тяжелообожженных больных с сепсисом, тогда как при традиционном лечении без иммуноглобулина эффективность составила лишь 32%.

Эффективность профилактики и лечения осложнений ожоговой болезни на основе персонализированного алгоритма иммунотерапии

Важной составляющей в разработке персонализированного подхода в назначении иммунотерапии и других видов комплексного лечения больных с обширными ожогами явилось расширение анализа иммунного статуса за счет изучения перспективных иммунофенотипических маркеров, позволяющих всесторонне и функционально оценить индивидуальный характер нарушений иммунной системы у каждого пациента.

Впервые подобраны маркеры с экспрессией HLA-DR+ антигенов ГКГС, субпопуляций естественных киллеров, Т-киллеров, Т-регуляторных лимфоцитов, клетки с экспрессией L-селектинов, адгезионных молекул, рецепторов комплемента, аналогов рецептора ФНО, эндотоксинов бактерий и ЛПС (см. табл. 2). Впервые использованы иммунные индексы - соотношения клеток с экспрессией маркеров активации (CD25, HLA-DR), адгезии (CD11b) и апоптоза (CD95), отражающие функциональное состояние иммунной системы (активность иммунокомпетентных клеток, истощение иммунной системы).

Впервые обнаружено в общем пуле CD40⁺ лимфоцитов две субпопуляции-1 и 2. Показана четкая связь между уровнем клеточного компонента гуморального звена В-лимфоцитов и CD40⁺ - субпопуляцией – 2 (рис. 15).

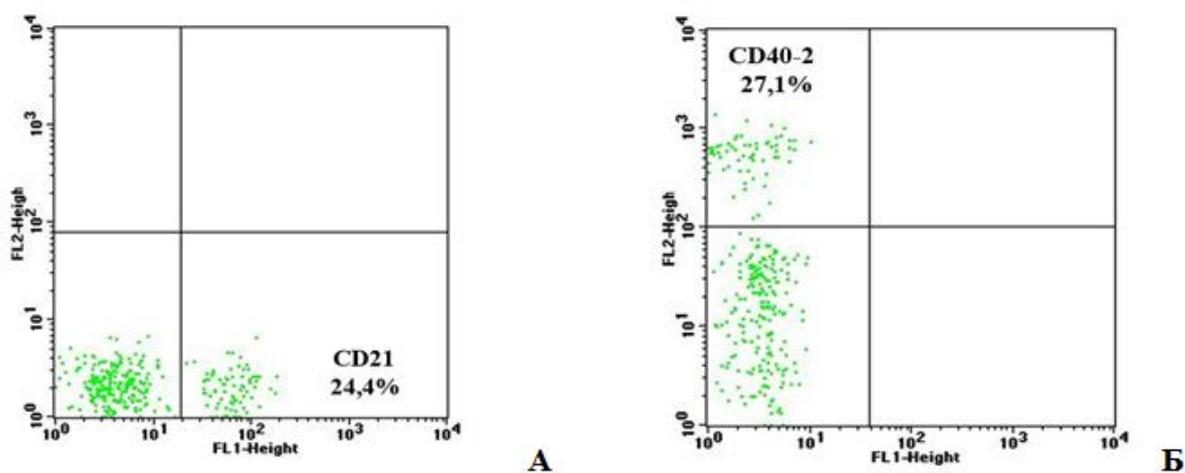


Рисунок 15. Уровень В-лимфоцитов (А) и субпопуляции CD40⁺ - 2 лимфоцитов (Б) у пациента с ожогами (Dot Plot, проточная цитометрия)

В 100% случаев высокий уровень В-лимфоцитов сопровождался достоверным увеличением и CD40⁺ субпопуляции - 2. Кроме того показано, что в популяции CD21⁺CD40⁺ основную часть (около 97%) составляют именно В-лимфоциты.

Выявленный феномен представляет повышенный интерес для интерпретации иммунного статуса при ожогах, тем более что маркеру CD40 принадлежит существенная роль в осуществлении воспалительной реакции и репарации, контактных взаимодействиях между Т- и В-клетками, пролиферации и дифференцировке В-лимфоцитов, синтезе различных классов иммуноглобулинов и др. (Banchereau J., 1995; Fecteau J.F., 2003; Elgueta R., 2009).

Инновационный иммунодиагностический подход апробирован у 20 тяжелообожженных пациентов с последующим использованием персонализированного алгоритма иммунокоррекции в комплексном лечении. Наиболее высокая эффективность отмечена после проведения курсового

лечения ВВИГ в более высоких разовых дозах (0,2-0,4 г/кг) в виде продленных инфузий 3-5 дней подряд при условии своевременного начала иммунозаместительной терапии до развития сепсиса. В ряде наблюдений у 7 пациентов с обширными ожогами более 50% п.т., рефрактерным течением септического процесса, комбинированной травмой и лизисом пересаженных аутодермотрансплантатов потребовались повторные курсы введения ВВИГ (от 900 - 1200 мл) с положительным клинико-иммунологическим эффектом.

В результате удалось своевременно и эффективно проводить хирургическое лечение по пластическому восстановлению кожного покрова у больных с обширными ожогами и сократить частоту гнойно-септических осложнений в 1,6 раза.

ВЫВОДЫ

1. Анализ иммунного статуса позволяет своевременно выявлять количественные и функциональные нарушения иммунной системы на этапах комплексного лечения больных с обширными ожогами, в зависимости от тяжести травмы и стадии ожоговой болезни.

2. У больных с площадью ожогового поражения более 30% поверхности тела развиваются гиперактивация и супрессия иммунной системы, о чем свидетельствуют достоверное повышение ($p < 0,05$) количества лейкоцитов, палочко-ядерных нейтрофилов, гранулоцитов с экспрессией высокоаффинного Fc γ -рецептора (CD64+) и рецептора к ЛПС (CD14+) при одновременном достоверном снижении ($p < 0,05$) уровня общих лимфоцитов, естественных киллерных (NK) лимфоцитов, HLA-DR+ моноцитов, иммуноглобулина G.

3. Разработанная иммунная формула прогноза и диагностики сепсиса у больных с обширными ожогами: лимфоциты ($< 9,3$ %); NK-клетки ($< 5,0$ %); HLA-DR+ моноциты ($< 50,0$ %); IgG ($< 6,0$ г/л); палочко-ядерные нейтрофилы ($> 21,0$ %); ЛИИ ($> 4,0$ ЕД); CD64+ гранулоциты (90 - 100 %) показала высокую (до 95%) специфичность и возможность раннего (до 7 суток) прогнозирования развития септических осложнений ожоговой болезни.

4. На основе модифицированного многопараметрического анализа циркулирующих гемопоэтических стволовых клеток получены достоверные ($p < 0,05$) различия содержания фенотипов ГСК в периферической крови здоровых доноров и больных с ожогами. Нормализация общих CD45⁺CD34⁺ ($p=0,03$) и ранних CD45^{dim}34⁺38⁻ ($p=0,02$) популяций циркулирующих гемопоэтических клеток на этапах хирургического лечения глубоких ожогов свидетельствует о восстановлении регенераторного потенциала организма и подтверждает значение активной хирургической тактики в эффективности комплексного лечения больных с обширными ожогами.

5. Показана эффективность мониторинга состояния иммунной системы с применением современных методов иммунодиагностики для определения тактики хирургического лечения по восстановлению кожного покрова на этапах комплексного лечения больных с обширными ожогами. Своевременное удаление нежизнеспособных тканей и восстановление целостности кожного покрова с использованием современных методов хирургического и местного лечения ожоговых ран сопровождалось нормализацией показателей иммунного статуса и регенераторного потенциала в среднем на $40,8 \pm 2,9$ сутки после ожоговой травмы, что позволило предотвратить развитие септических осложнений у 78,2% пациентов.

6. Клинико-иммунологическая эффективность иммунотерапии препаратом «Габриглобин-IgG» в комплексном лечении больных с обширными ожогами для профилактики сепсиса составила 72 %, а для его лечения – 79 %, что оказалось в 1,9 и 2,5 раза выше в сравнении с результатами профилактики и лечения сепсиса у пациентов без иммуноглобулина.

7. Применение инновационных методов иммунодиагностики и персонализированного алгоритма иммунокоррекции позволили своевременно и эффективно проводить хирургическое лечение по пластическому восстановлению кожного покрова, сократить частоту гнойно-септических осложнений в 1,6 раза и улучшить результаты комплексного лечения больных с тяжелой ожоговой травмой.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Больным с обширными глубокими ожогами рекомендуется проводить комплексное исследование иммунного статуса на основе применения современных методов иммунодиагностики для своевременной иммунокоррекции иммунодефицита.

2. Для ранней диагностики и прогноза ожогового сепсиса у больных с обширными ожогами рекомендована следующая иммунная формула (конкретные числовые значения мультиплексной панели иммунных маркеров):

Лимфоциты < 9,3 %

Палочко-ядерные нейтрофилы > 21%

Индекс эндогенной интоксикации (ЛИИ) > 4 ЕД

Естественные киллеры < 5 %

CD64+ гранулоциты 90 - 100 %

HLA-DR+ моноциты < 50%

IgG < 6 г\л

3. У больных с ожогами более 30% поверхности тела рекомендуется динамический мониторинг иммунного статуса и регенераторного потенциала в качестве дополнительных и важных объективных критериев эффективности проводимого комплексного лечения и определения тактики, сроков и объема оперативных вмешательств по пластическому закрытию ожоговых ран.

4. У больных с обширными глубокими ожогами при лабораторном подтверждении иммунодефицита с целью иммунокоррекции рекомендуется применение препаратов иммуноглобулинов нормальных человеческих для внутривенного введения.

5. У больных с обширными глубокими ожогами для профилактики и лечения сепсиса рекомендуется применение в комплексном лечении препаратов иммуноглобулина нормального человеческого для в/в введения в дозах 0,2-0,4 г/кг.

6. Для достижения наилучшего результата лечения ожоговой болезни на фоне проводимой комплексной терапии, этапного хирургического и местного лечения ожоговых ран режим применения препаратов иммуноглобулинов нормальных человеческих для внутривенного введения и решение вопроса о необходимости проведения повторных курсов иммунокоррекции должны основываться на персонализированном подходе, учитывая как тяжесть ожоговой травмы, так и нарушения иммунного статуса.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Козлова М.Н., Алексеев А.А., Земсков В.М., Бобровников А.Э., Шишкина Н.С., Куликова А.Н., Демидова В.С., Соловьева М.С. Оценка эффективности хирургического лечения пациентов с обширными ожогами на основе исследования иммунного статуса. Вестник экспериментальной и клинической хирургии. 2025; Т. 18. № 1. С. 9-18.

2. Козлова М.Н., Земсков В.М., Алексеев А.А. Иммунодиагностика и иммунотерапия ожогового сепсиса. Вестник экспериментальной и клинической хирургии. 2023; Т. 16. № 3. С. 261-271.

3. Козлова М.Н., Земсков В.М., Шишкина Н.С., Барсуков А.А., Демидова В.С., Алексеев А.А. Персонализированный алгоритм иммунокоррекции внутривенными иммуноглобулинами для профилактики и лечения осложнений ожоговой болезни на основе комплексного анализа иммунного статуса. Российский иммунологический журнал. 2020; Т. 23. №4. С. 523-528.

4. Козлова М.Н., Земсков В.М., Алексеев А.А., Демидова В.С., Шишкина Н.С., Куликова А.Н., Земсков А.М., Бобровников А.Э. Исследование гемопоэтических стволовых клеток у больных с

обширными ожогами. Вестник экспериментальной и клинической хирургии. 2022; Т. 15. № 4. С. 300-305.

5. Козлова М.Н., Земсков В.М., Алексеев А.А., Барсуков А.А., Шишкина Н.С., Демидова В.С. Особенности иммунного статуса и иммунокоррекции при ожоговой болезни. Российский аллергологический журнал. 2019; Т. 16. №1. С. 76-79.

6. Козлова М.Н., Земсков В.М., Алексеев А.А., Шишкина Н.С., Барсуков А.А., Демидова В.С. Характер иммунных нарушений и возможности иммунокоррекции при ожоговой болезни. Российский иммунологический журнал. 2019; Т. 13(22). №4. С. 1479-1481.

7. Земсков В.М., Козлова М.Н., Барсуков А.А., Шишкина Н.С., Земсков А.М., Алексеев А.А., Демидова В.С. Актуальность исследования лимфоидных и фагоцитарных клеток различных фенотипов при ожоговой болезни. Российский аллергологический журнал. 2017; № 1. С. 64-66.

8. Земсков В. М., Козлова М. Н., Шишкина Н. С. Принципы иммуотропной терапии в хирургии. Российский аллергологический журнал. 2016; №3. Т. 2. С. 75-76.

9. Земсков В. М., Алексеев А. А., Козлова М. Н., Шишкина Н. С., Гнатенко Д. А., Земсков А. М., Бахов Н. И. Иммунная диагностика септических осложнений при ожогах. Успехи современной биологии. 2015; Т. 135. № 6. С. 531-541.

10. Земсков В.М., Алексеев А.А., Крутиков М.Г., Лагвилава М.Г., Козлова М.Н., Барсуков А.А., Соловьёва М.С., Ахмадов М.А. Изменения иммунного статуса у пострадавших от ожогов, в том числе при массовых катастрофах. Вестник экспериментальной и клинической хирургии. 2013; Т. 6. № 1. С. 9-18.

11. Земсков В. М., Алексеев А.А., Козлова М. Н., Барсуков А. А., Шишкина Н. С. Комбинированная иммунотерапия у тяжелообожженных. Российский аллергологический журнал. 2013; №2, ч.2. С. 110-111.

12. В.М. Земсков, А.А. Алексеев, М.Н. Козлова, А.А. Барсуков, М.С. Соловьёва, М.А. Ахмадов. Изучение клинко-иммунологической эффективности иммунозаместительной терапии габриглобином при лечении ожоговой болезни и её осложнений. Русский медицинский журнал. 2012; Т. 20. №5. С. 216-222.

13. А.А. Алексеев, В.М. Земсков, М.Н. Козлова, М.Г. Крутиков, А. А. Барсуков, М.С. Соловьёва, М.А. Ахмадов. Применение Габриглобина для профилактики и лечения сепсиса у тяжелообожженных. Скорая медицинская помощь. 2011; Т. 12. №3. С 4-7.

14. Земсков В. М., Барсуков А. А., Гнатенко Д. А., Шишкина Н. С., Куликова А.Н., Козлова М. Н. Фундаментальные и прикладные аспекты анализа кислородного метаболизма фагоцитарных клеток. Успехи современной биологии. 2013; Т. 133. №5. С. 469-480.

15. В.М. Земсков, А.Ш. Ревিশвили, М.Н. Козлова, Н.С. Шишкина, А.Н. Куликова, А.В. Балбуцкий, А.А. Алексеев, А.М. Земсков, В.С. Демидова, В.А. Попов, Г.П. Плотников, Т.И. Гришина, С.В. Сучков, О.С. Васильев, М.С. Соловьева. Анализ субпопуляций моноцитов при сердечно-сосудистой, ожоговой и иной патологии (классификация 2010 г.). Медицинский совет. 2023; 17(4):154-163.

16. Земсков В.М., Земсков А.М., Нейманн В., Барсуков А.А., Козлова М.Н., Земскова В.А., Шишкина Н.С., Демидова В.С., Алексеев А.А. Иммунные реакции как факторы индукции и коррекции патологии. Медицинский совет. 2022; 16(6):166–174.

17. Zemskov VM, Alekseev AA, Gnatenko DA, Kozlova MN, Shishkina NS, Zemskov AM, Zhegalova IV, Bleykhman DA, Bahov NI, Suchkov SV. Composite Biomarker Panel as a Highly Informative and Reliable Tool for Predicting Septic Complications. *Jacobs Journal of Biomarkers*. 2016; Vol. 2(1): 016. P. 1-10.

18. V.M. Zemskov, A.A. Alekseev, M.N. Kozlova, N.S. Shishkina, D.A. Gnatenko, A.M. Zemskov and N.I. Bahov. Immune diagnostics of septic complications in burns. *Biology bulletin reviews*. 2016; Vol. 6. No. 4. P. 344-354.

19. Zemskov VM, Alekseev AA, Kozlova MN, Shishkina NS, Bleykhman DA, Zemskov AM, Suchkoiv SV. Changes in the immune system depending on the stage of burn disease and the area of thermal destruction. Immunoglobulin replacement therapy with gabriglobin. *International Journal of Recent Scientific Research*. 2017; Vol. 8. Issue 1. P. 15407- 15412.

20. Vladimir M. Zemskov, Konstantin N. Pronko, Maria N. Kozlova, Alexander A. Barsukov, Nadezhda S. Shishkina, Andrey A. Alekseyev and Valentina S. Demidova. Overview of stem cells and their research in burn patients. *International Journal of Current Research*. 2018; Vol. 10. Issue 01. P. 64731-64736.

21. Zemskov V.M., Zemskov A.M., Neymann V., Kozlova M.N., Alekseev A.A., Pronko K.N., Zemskova V.A., Demidova V.S. & Revishvili A. Sh. Mathematical Modeling for the Development of a Multilevel "Electronic Physician Assistant" and Simplified Assignment of Corrective Therapy to Immunocompromised Patients. *Global Journal of Medical Research - K: Interdisciplinary*. 2021; Vol. 21; Issue 1; Version 1.0.

22. Zemskov V.M., Zemskov A.M., Neymann V., Pronko K.N., Barsukov A.A., Zemskova V.A., Kozlova M.N., Shishkina N.S. Demidova V.S., Alekseev A.A. Contradiction to clinical immunology. Suppression and stimulation of immune reactivity in pathological processes. *Innovative Journal of Medical and Health Science*. 2021; 11 (05). P. 1656-1664.

23. Zemskov VM, Zemskov AM, Pronko K, Neumann V, Demidova V, Zemskova V, Barsukov AA, Kozlova MN, Shishkina NS, Revishvili ASh.

Immuno-metabolic aspects of pathological processes. International Journal of Current Research and Review. 2021; V. 13. Issue 21. P. 8-13.

24. Vladimir Zemskov, Alexander Barsukov, Maria Kozlova, Nadezhda Shishkina, Oleg Vasiliev, Konstantin Pronko, Valentina Demidova, Larisa Samadurova. Uncountered Effects of Immunomodulators. International Journal of Medical Science and Health Research. 2022; Vol.6. No. 02. P. 43-46.

25. Vladimir Zemskov, Andrey Zemskov, Victoria Neymann, Alexander Barsukov, Maria Kozlova, Veronika Zemskova, Nadezhda Shishkina, Konstantin Pronko, Sergey Suchkov, Valentina Demidova. Principles for the Purpose of Immunotherapy. International Journal of Medical Science and Health Research. 2022; Vol. 6. No. 01. P. 102-110.

26. Алексеев А. А., Алешкин В. А., Афанасьев М. С., Афанасьев С. С., Бобровников А. Э., Вишнеvский В. А., Гаврилин А. В., Глухов А. А., Демидова В. С., Джантуханрова С. В., Епифанова Н. Ю., Ефанов М. Г., Жаворонкова О. И., Земсков А. М., Земсков В. М., Икрамов Р. З., Козлова М. Н., Крутиков М. Г., Кригер А. Г., Кулабухов В. В., Лютов А. Г., Мостовская Е. В., Попов В. А., Ревншвили А. Ш., Савченко Т. Н., Солодинина Е. Н., Старков Ю. Г., Хлебников Е. П., Чжао А. В., Шишкина Н. С. (Ред. А. Ш. Ревншвили, В. М. Земсков, А. М. Земсков). Оптимизация диагностики и лечения гнойно-воспалительных заболеваний (инновационные технологии). Практическое руководство. Санкт-Петербург: Издат. «Спец Литература». 2020. 319с.

26. Способ иммунологической оценки регенераторного потенциала у больных с ожогами. Козлова М.Н., Земсков В.М., Шишкина Н.С., Куликова А.Н. Патент на изобретение № 2025132555: приоритет от 22.11.2025, решение о выдаче патента 21.01.2026.

27. Способ оценки системного регенераторного потенциала у больных с ожогами. Козлова М.Н., Алексеев А.А., Земсков В.М., Филимонов К.А., Демидова В.С. Патент на изобретение № 2025132556: приоритет от 22.11.2025, решение о выдаче патента 22.01.2026.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АГ – антиген
АДП – аутодермопластика
ВВИГ – внутривенные иммуноглобулины
ГКГС - главный комплекс гистосовместимости
Гр – гранулоциты
ГСК – гемопоэтические стволовые клетки
ИРИ – иммунорегуляторный индекс
ИС - индекс сдвига
ИСЛК - индекс сдвига лейкоцитов
ЛИИ – лейкоцитарный индекс интоксикации
Лк - лейкоциты
ЛПС – липополисахарид
ЛФ – лимфоциты
МКАТ- моноклональные антитела
Мн – моноциты
Нф – нейтрофилы
ОРИТ – отделение реанимации и интенсивной терапии
П.т. – поверхность тела
П/Я Нф – палочкоядерные нейтрофилы
СИН – степень иммунной недостаточности
СИС – степень иммунной стимуляции
СОЭ – скорость оседания эритроцитов
СПОН – синдром полиорганной недостаточности
СРП – С-реактивный протеин
Тх-1 – Т-хелперный лимфоцит первого типа
Тх-2 - Т-хелперный лимфоцит второго типа
ФНО - фактор некроза опухолей
ХЛ – хемилюминесценция
CD – кластер дифференцировки
Ig (G, A, M) – иммуноглобулины классов G, A, M
NK – клетки – натуральные (естественны) киллеры
S – площадь ожога