

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2012

УДК 616-001.17-002.4-089.87:577

## КОМПЛЕКСНОЕ ЛЕЧЕНИЕ ГЛУБОКИХ ОЖОГОВ НА ОСНОВЕ ПРИМЕНЕНИЯ ХИРУРГИЧЕСКОЙ НЕКРЭКТОМИИ И СОВРЕМЕННЫХ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ МЕТОДОВ

А. А. Алексеев\*<sup>1</sup>, К. З. Салахиддинов<sup>2</sup>, Б. К. Гаврилюк<sup>3</sup>, Ю. И. Торников<sup>1, 4</sup>

<sup>1</sup>ГБОУ ДПО «Российская медицинская академия последипломного образования», Москва; <sup>2</sup>Андижанский государственный медицинский университет, Узбекистан; <sup>3</sup>Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, г. Пущино;

<sup>4</sup>Городская клиническая больница № 36, Москва

Представлен сравнительный анализ результатов комплексного лечения 86 пациентов с глубокими ожогами, с общей площадью поражения от 8 до 50% поверхности тела, у которых для восстановления целостности кожных покровов была применена комбинированная аутодермопластика (КАДП) с трансплантацией культивированных фибробластов в различных модификациях или традиционная аутодермопластика (АДП). Показано, что активная хирургическая тактика с применением ранней некрэктомии и КАДП с трансплантацией фибробластов в клеточном геле «Биокол» на этапах лечения позволяет эффективно восстановить целостность кожных покровов за счет быстрой эпителизации и приживления сетчатых кожных лоскутов.

Ключевые слова: глубокие ожоги, комбинированная аутодермопластика, культивированные фибробласты, восстановление кожных покровов.

### Complex treatment of deep burns on basis of surgical necrectomies and modern biotechnological methods

A. A. Alekseev<sup>1</sup>, K. Z. Salakhiddinov<sup>2</sup>, B. K. Gavrilyuk<sup>3</sup>, Yu. I. Tyurnikov<sup>1, 4</sup>

<sup>1</sup>Russian Medical Academy for Postgraduate Education, Moscow; <sup>2</sup>Andijan State Medical University, Uzbekistan;

<sup>3</sup>Institute of Theoretical and Experimental Biophysics, Pushchino; <sup>4</sup>City Clinical Hospital № 36, Moscow

The comparative analysis of results of complex treatment in 86 patients with deep burns, with total areas of burns from 8 to 50% of body surface is presented. To restore integrity of skin in these patients, the combined autodermoplastics (CADP) with transplantation of cultured fibroblasts in different modifications or traditional skin graft were used. It was shown, that active surgical tactics with early necrectomy and CADP with transplantation of fibroblasts in cell gel Biokol, on the stages of treatment, allowed to restore effectively the integrity of skin due to rapid epithelization and engraftment of meshed skin grafts.

Key words: deep burns, combined autodermoplastics, cultured fibroblasts, the restoration of the skin.

Важнейшее значение в комплексной интенсивной терапии обожженных имеет местное лечение ожоговых ран.

Токсичность продуктов распада тканей, инфицирование ожоговых ран, водно-электролитные, белковые и энергетические потери через обширную раневую поверхность определяют ведущую роль ожоговой раны в патогенезе ожоговой болезни и ее осложнений. В связи с этим совершенствование методов хирургического лечения пострадавших от ожогов, направленных на своевременную хирургическую обработку раны и ее адекватное пластическое закрытие, является одной из главных задач [1].

В настоящее время традиционным методом пластического восстановления целостности кожных покровов при обширных глубоких ожогах остается трансплантация сетчатых перфорированных кожных лоскутов. Однако тяжелообожженные могут переносить одномоментное срезание кожи на площади примерно 11% поверхности тела, что позволяет закрывать ожоговые раны трансплантатами аутокожи с коэффициентом перфорации 1:4 лишь на площади 15–20% поверхности тела. Кроме того, при срезании

кожных лоскутов увеличивается общая площадь раневой поверхности, что нередко негативно сказывается на состоянии больного [1].

В связи с этим в 90-е годы в Институте хирургии им. А. В. Вишневского были проведены фундаментальные лабораторно-клинические исследования и разработаны эффективные методы восстановления целостности кожных покровов с использованием культивированных фибробластов (КФ) кожи человека [3–6].

При изучении свойств культивированных фибробластов было установлено, что они сохраняют свою способность активно пролиферировать и синтезировать белки, необходимые для роста клеток и оказывающие стимулирующее влияние на рост и дифференцировку эпидермальных клеток [5–7].

Предложенный способ хирургического лечения больных с обширными ожогами IIIБ–IV ст. предусматривает комбинированную аутодермопластику (КАДП) с использованием сетчатых кожных лоскутов, перфорированных в соотношении 1:4, 1:6 и более, и трансплантацию культивированных аллофибробластов на подложке [3].

\*Алексеев Андрей Анатольевич, доктор мед. наук, профессор, зав. кафедрой термических поражений, ран и раневой инфекции. 115093, Москва, ул. Б. Серпуховская, д. 27. E-mail: alexseev@ixv.ru

Патогенетическая суть этой методики состоит в том, что фибробласты, выделяя факторы роста, стимулируют пролиферацию эпидермоцитов сетчатых кожных лоскутов, ячейки которых эпителизируются значительно быстрее, чем при традиционном методе аутодермопластики (АДП) [3, 5].

Вместе с тем применение культивированных фибробластов с использованием подложек при лечении ожоговых ран не всегда удобно.

Во-первых, подложку с нанесенным на нее монослоем культивированных фибробластов не во всех случаях можно хорошо моделировать на ране и закрыть весь ее рельеф; во-вторых, через 1–2 сут после операции требуется удаление подложки из-за возможности скопления раневого отделяемого и опасности нагноения ран, особенно при ее обсемененности более  $10^2$ – $10^3$  КОЕ на  $1\text{ см}^2$ . Кроме того, перенос фибробластов на подложку является дополнительным лабораторным этапом, предшествующим трансплантации клеток на раневую поверхность. При этом следует учитывать также и трудности выбора подложки-носителя.

Вместе с тем экспериментально было показано, что культивируемые фибробласты при нанесении на рану в геле с питательной средой живут и, следовательно, сохраняют пролиферативную активность дольше, чем при использовании подложки [2]. Все это определило актуальность изучения новых возможностей лечения обширных глубоких ожогов с использованием культивированных фибробластов.

В результате нами разработан способ лечения глубоких обширных ожогов, включающий предварительную хирургическую обработку и комбинированную аутодермопластику (КАДП) с использованием сетчатого перфорированного кожного лоскута и фибробластов, распределенных в клеточном геле «Биокол», состоящем из метилцеллюлозы (1,0–3,0 мас.%) с добавлением коллагена (0,005–0,01 мас.%) (пат. РФ № 2385744 от 10.04.2010).

Следует особо отметить, что клеточный гель «Биокол», используемый как носитель для трансплантации культуры фибробластов, обладает рядом необходимых качеств — обеспечивает оптимальную для заживления влажную среду в ране, которая является наиболее благоприятной для развития клеток, препятствует дегидратации организма в результате испарения воды с поверхности ран, обеспечивает питание клеток и газообмен раны, совместим с другими первичными средствами.

Для оценки результатов применения этого способа проведено сравнительное изучение его использования с традиционными методами АДП, а также с комбинированной аутодермопластикой с трансплантацией фибробластов на подложке.

### Материал и методы

На кафедре термических поражений ран и раневой инфекции Российской медицинской академии последипломного образования (РМАПО), на базе Ожогового центра ГКБ № 36 г. Москвы проведено клиническое исследование 86 пострадавших, у которых площадь ожогов составила от 8 до 50% поверхности тела, а глубоких ожогов — от 6 до 25% поверхности тела. Возраст пациентов колебался от 19 лет до

81 года. Ожоги пламенем отмечены в 68,6% случаев, кипятком — в 31,4%. Среди пациентов данной группы мужчины составляли 73,2%, женщины — 26,8%.

В 1-ю группу вошли 29 пациентов, у которых восстановление кожных покровов проводилось с использованием комбинированной аутодермопластики кожным лоскутом, перфорированным 1:4, в сочетании с трансплантацией культивированных фибробластов, распределенных в геле «Биокол»; 2-я группа — 27 пациентов с аутодермопластикой кожным лоскутом, перфорированным 1:4, в сочетании с трансплантацией культивированных фибробластов на подложке; 3-ю группу составили 30 пациентов с традиционной аутодермопластикой перфорированным лоскутом 1:4. Во всех группах в целях защиты и дополнительной фиксации кожных трансплантатов использовалось раневое покрытие «Парапран». Следует отметить, что в 1-й и 2-й исследуемых группах площадь глубоких ожоговых ран была несколько больше, чем в 3-й группе, и составляла от 15 до 25% поверхности тела в 75% наблюдений.

Фибробласты были получены в лаборатории роста клеток и ткани ИТЭБ РАН из кожных лоскутов, взятых у пациентов с обширными ожогами через 2–3 сут после госпитализации в стационар и принятия решения о тактике их хирургического лечения. Клетки тестируются на отсутствие вирусных и бактериальных контаминаций и идентифицированы методом точечной цитофлюорометрии как дермальные фибробласты.

Методика получения фибробластов была следующей: фрагменты кожи отмывались в растворе антибиотиков пенициллина и стрептомицина по 200 ЕД в 1 мл, по 15 мин 2 раза. Затем измельчались до 0,5–1 мм и трипсинизировались в 0,2% растворе трипсина при температуре  $37\text{ }^\circ\text{C}$  1–2 ч до получения клеточной суспензии. После осаждения клетки разводились питательной средой ДМЕМ и смешивались с гелем метилцеллюлозой с концентрацией 3%. Конечная концентрация фибробластов составляла 29–40 тыс. в 1 мл.

Лабораторная оценка эффективности лечения проводилась на основе анализа результатов цитологического и микробиологического исследований в динамике. Цитологическое исследование ран выполняли, используя препараты-отпечатки с поверхности ран по методике, предложенной М. П. Покровской и М. С. Макаровым (1942 г.) в модификации О. С. Сергель (1990 г.). О характере раневого процесса судили по количественному соотношению клеточных элементов в отпечатках ран. Общее заключение по цитограммам выражали в виде определения типа цитограмм по М. Ф. Камаеву (1970 г.) в модификации О. С. Сергель (1990 г.). При этом различали следующие типы цитограмм: дегенеративно-воспалительный, воспалительный, воспалительно-регенеративный и регенеративный.

Микробиологическое исследование ожоговых ран проводили путем определения видового состава микрофлоры и количественного содержания микроорганизмов на  $1\text{ см}^2$  поверхности ран методом салфеток по L. Brentano и D. I. Gravens (1967 г.). Забор материала у больных сравниваемых групп осуществляли в динамике до и после проведения аутодермопластики.

## Результаты

Восстановлению целостности кожного покрова предшествовало удаление нежизнеспособных тканей с использованием хирургической некрэктомии (ХН) или иссечение гранулирующих ран.

Хирургическая некрэктомия выполнялась при наличии сформированного ожогового струпа, в том числе с незначительными признаками лизиса. По технике выполнения некрэктомии подразделялись на тангенциальные и окаймляющим разрезом.

При ограниченных ожогах IV ст. с поражением подкожной клетчатки применялась некрэктомия окаймляющим разрезом. Скальпелем в пределах здоровых тканей по периметру раны проводился разрез кожи до подкожной клетчатки или подлежащей фасции (рис. 1). После гемостаза (прошиванием или электрокоагуляцией) тупым и острым путем отсепа- ровывался струп с подкожно-жировой клетчаткой. Если имелись признаки поражения фасции и мышц, то рана иссекалась послойно до визуально жизнеспособных тканей (комбинированная некрэктомия). Кожа краев раны несколько мобилизовывалась, подтягивалась к центру раны и фиксировалась к ее дну швами с интервалом 0,5–1,5 см (в зависимости от локализации и толщины подкожной клетчатки), что позволяло несколько сократить площадь раны, обеспечить более надежный гемостаз, улучшить в дальнейшем косметический результат.

Метод тангенциальной хирургической некрэкто- мии применялся при ожогах IIIБ–IV ст., как ограни- ченных, так и обширных, любой локализации.

Ножом Гамби или дисковым электродерматомом тангенциально (послойно) удалялись некротические ткани до появления капиллярного кровотечения. Гемостаз проводился немедленно после окончания некрэктомии на каждом участке с помощью электро- коагулятора, при необходимости применялось про- шивание сосудов. Капиллярное кровотечение из слое- в дермы останавливалось с помощью аппликации 3% раствора перекиси водорода или физиологического раствора с добавлением адреналина гидрохлорида. Аутодермопластика выполнялась одномоментно или отсроченно, причем одновременно только при отсут- ствии сомнений в жизнеспособности тканей дна раны.

Первое оперативное вмешательство выполняли в среднем на 5–6-е сутки с момента травмы, как прави- ло, на площади 5–7% от площади поверхности тела. В случае отсроченной АДП через 2–3 сут после пер- вой операции выполнялась вторичная хирургическая обработка (некрэктомия) для удаления остаточных

некротов с последующей аутодермопластикой. В дальнейшем проводили этапные некрэктомии и ауто- дермопластики.

Комбинированную аутодермопластику с транс- плантацией культивированных фибробластов прово- дили через 15–20 сут после поступления больного в стационар, определения тактики хирургического ле- чения, взятия кожного лоскута для получения фиб- робластов. Именно в эти сроки удавалось подгото- вить необходимое количество культивированных клеток для приготовления фибробластов на подлож- ке или в геле «Биокол» для их трансплантации на ран- невую поверхность после предшествующих этапных некрэктомиий.

В 1-й группе поверх сетчатых лоскутов проводи- лась трансплантация культивированных фиброблас- тов, распределенных в клеточном геле (рис. 2–4), во 2-й группе – трансплантация культивированных фиб- робластов на подложке (рис. 5–7).

В 3-й группе выполнялась традиционная АДП с перфорацией кожных лоскутов 1:4.

При комбинированной аутодермопластике с трансплантацией культивированных фибробластов наблюдалось быстрое разрастание кожного лоскута и заполнение его ячеек. Активная эпителизация ячеек отмечалась уже на 4–5-е сут после пластической опе- рации как в 1-й, так и во 2-й группе.

Средний срок полной эпителизации ран при ис- пользовании КФ в геле составил  $8 \pm 1,4$  сут, КФ на подложке –  $11 \pm 1,8$  сут. В то же время в группе срав- нения полная эпителизация ран после традиционной аутодермопластики отмечалась в среднем через  $14 \pm 1,8$  сут.

Проведенные в динамике микробиологические исследования показали, что исходная картина у боль- ных сравниваемых групп была практически идентич- ной. В большинстве случаев из раны высевались *S. epidermidis*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *P. mirabilis*, *Enterobacter spp.*, *E. coli*, а уровень микробной обсе- мененности составил  $10^3$ – $10^4$  КОЕ микробных тел на  $1 \text{ см}^2$  поверхности ран. Однако уже на 4–5 сутки после проведения КАДП с трансплантацией культиви- рованных фибробластов, распределенных в геле «Биокол» или на подложке, на фоне более активной эпителизации отмечалось уменьшение количества микроорганизмов до  $10^1$ – $10^2$  КОЕ на  $1 \text{ см}^2$ , в то вре- мя как у пациентов 3-й группы в эти сроки в боль- шинстве случаев отмечали исходный (до операции) уровень микробной обсемененности.

При цитологическом исследовании ран до прове- дения АДП в 75% случаев мазки-отпечатки у всех

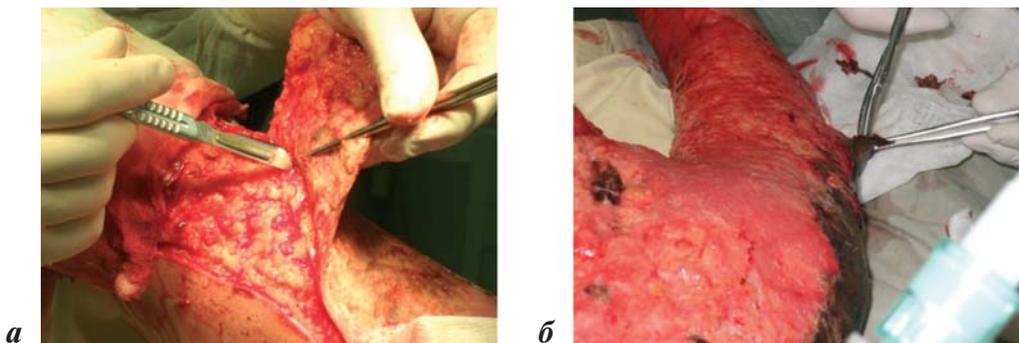


Рис. 1. Хирургическая некр- эктомия (а, б)



Рис. 2. Комбинированная аутодермопластика с трансплантацией культивированных фибробластов, распределенных в клеточном геле «Биокол», на сетчатый кожный лоскут, перфорированный 1:4



Рис. 3. Использование раневого покрытия «Парапран» на сетчатый кожный лоскут после трансплантации фибробластов



Рис. 4. Вид раны через 7 сут после операции – приживление кожных лоскутов с активной эпителизацией оставшихся ячеек



Рис. 5. Комбинированная аутодермопластика с трансплантацией культивированных фибробластов на подложке на сетчатый кожный лоскут



Рис. 6. Использование раневого покрытия «Парапран» после трансплантации культивированных фибробластов на подложке



Рис. 7. Вид раны во время удаления подложки через 5 сут после КАДП с трансплантацией культивированных фибробластов на подложке

обследованных больных характеризовались как воспалительные, а в 25% — как воспалительно-регенеративные. На 3-и сутки после операции в 1-й и 2-й группах исследуемых больных отмечалось достоверное снижение числа лейкоцитов, которое составило в среднем по каждой группе  $41,6 \pm 5,9\%$  (в 3-й группе —  $61,2 \pm 2,4\%$ ), а число клеток, характеризующих регенеративные процессы, достоверно возросло. В частности, удельный вес фибробластов увеличился до 9,2%, полибластов — до 12%, макрофагов — до  $12,7 \pm 5,6\%$ . В дальнейшем на 10-е сутки после КАДП у 21 (72,4%) больного 1-й группы был зарегистрирован регенеративный тип цитограммы, в 6 (20,6%) случаях — воспалительно-регенеративный и в 2 (6,9%) — воспалительный. Во 2-й группе показатели в эти сроки несколько отличались: регенеративный тип цитограммы отмечен в 14 (51,9%) случаях, воспалительно-регенеративный — в 12 (44,4%) и воспалительный — в 1 (3,7%) случае. У больных 3-й группы в эти же сроки в 8 (26,7%) случаях отмечен регенеративный тип цитограммы, в 19 (63,3%) — воспалительно-регенеративный и в 3 (10%) — воспалительный.

Анализ послеоперационных осложнений показал, что у 1 (3,4%) из 29 больных 1-й группы отмечался частичный лизис пересаженных кожных лоскутов на площади 1% поверхности тела после КАДП с трансплантацией фибробластов, распределенных в геле. В случае трансплантации культивированных фибробластов на подложке в 3 случаях отмечалось нагноение раны в связи с выраженным скоплением экссудата под подложкой, что привело у 2 (7,4%) пациентов к лизису кожного трансплантата на площади до 1% поверхности тела. В 3-й группе частичный, на площади до 2% поверхности тела, лизис пересаженных кожных лоскутов после традиционной АДП отмечен в 10% наблюдений.

Таким образом, комбинированная аутодермопластика с трансплантацией культивированных фибробластов, распределенных в геле, обеспечивает эффективное восстановление целостности кожных покровов в оптимальные сроки за счет быстрой эпителизации и приживления сетчатых кожных лоскутов и снижения частоты послеоперационных осложнений.

Применение этого метода у тяжелообожженных в комплексе с ранней хирургической некрэктомией позволит улучшить результаты лечения больных с обширными глубокими ожогами.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. *Алексеев А. А.* Современные методы лечения ожогов и ожоговой болезни // Комбустиология. Науч.-практ. журнал. 1999. № 1 (эл. ресурс) www.burn.ru.
2. *Алексеев А. А., Гаврилюк Б. К., Салахиддинов К. З.* и др. Способ лечения глубоких ожогов: пат. РФ № 2385744, от 10.04.2010.
3. *Алексеев А. А., Кашин Ю. Д., Яшин А. Ю., Рахаев А. М.* Тактика хирургического лечения тяжелообожженных на основе применения культивированных аллофибробластов // Сб. научных трудов II Международного симпозиума «Новые методы лечения ожогов с использованием культивированных клеток кожи». Саратов. 1998. С. 9–11.
4. *Алексеев А. А., Крутиков М. Г., Рахаев А. М.* Лечение пограничных ожогов и донорских ран с применением культивированных аллофибробластов // Анналы хирургии. 2001. № 1. С. 59–65.
5. *Саркисов Д. С., Алексеев А. А.* и др. Теоретические и практические аспекты использования культивированных фибробластов при восстановлении целостности кожного покрова // Вестник РАМН. 1994. № 7. С. 6–11.
6. *Саркисов Д. С., Туманов В. П., Глуценко Е. В.* и др. Использование культивированных фибробластов при лечении обожженных // Журнал ЭБиМ. 1990. № 3. С. 400–402.
7. *Boyce S. T., Goretsky M. J., Greenhalgh et al.* Comparative assessment of cultured skin substitutes and native skin autograft for treatment of full-thickness burns // Ann. Surg. 1995. Vol. 222. P. 743–752.

Поступила после переработки 16.12.2012