

ДИНАМИКА ЦИТОЛОГИЧЕСКОЙ КАРТИНЫ ОЖОГОВЫХ РАН ПРИ ПЕРЕСАДКЕ АЛЛОГЕННЫХ ЭМБРИОНАЛЬНЫХ ФИБРОБЛАСТОВ

А.М.ХАДЖИБАЕВ, А.Д.ФАЯЗОВ, М.Д.УРАЗМЕТОВА, Д.А.ДЖАБРИЕВ

The dynamics of cytology of the burnt wound at the transplantation of allogenic embryonic fibroblasts

A.M.Khadjibaev, A.D.Fayazov, M.D.Urazmetova, D.A.Djabriev

Республиканский научный центр экстренной медицинской помощи

Проанализированы результаты цитологических изменений в ране у 63 больных с пограничными (III A степени) и глубокими (IIIB степени) ожогами различной площади и локализации. Полученные результаты показывают, что пересадка культивированных аллофибробластов на пограничные и глубокие ожоговые раны приводит к быстрой смене типа цитогрaмм на более благоприятный.

Ключевые слова: ожог, рана, аллогенные фибробласты

The results of cytologic changes in the wound in 63 patients with boundary (III A level) and deep (IIIB level) burns of the different areas and localization were analyzed. The given results shows the transplantation of cultivated allofibroblasts on the boundary and deep burn wounds leads to the rapid change of cytogram type for more favorable one.

Key-words: burn, wound, allogenic fibroblasts

Традиционные методы лечения пограничных и глубоких ожогов имеют ряд недостатков, таких как длительный период ожидания самостоятельного отторжения некротических тканей, практически неизбежное развитие гнойно-септических осложнений, большая площадь донорского участка, необходимого для аутодермопластики, и обусловленных этим травматичность последней, значительные потери белка и жидкостей через раневую поверхность и др. [2,7].

В последние годы, наряду с использованием алло- и ксенотрансплантатов, временных раневых покрытий, в лечении обожженных широкое применение получают культивированные клетки кожи. Клеточные технологии представляют собой принципиально новую динамично развивающуюся отрасль медицины [8]. В ожоговых центрах стран дальнего зарубежья и СНГ проводятся многочисленные исследования, цель которых - разработка новых методов получения жизнеспособных клеток кожи на различных носителях (кератиноцитов, фибробластов), и изучение их эффективности при лечении больных с ожогами [1,6,8-10].

Нами разработан способ лечения ожогов и ран [4], включающий получение первичной культуры аллогенных фибробластов из эмбриональных тканей человека с последующим наложением клеточной взвеси на раневую поверхность.

Учитывая, что одним из объективных признаков, характеризующим течение раневого процесса и обуславливающих эффективность лечения обожженных, является характер цитологических изменений [4] в ран, нами изучена динамика цитологической картины в ране у больных с пограничными и глубокими ожогами на участках с применением культивированных аллофибробластов (КАФ) и без их использования.

Материал и методы

Цитологические изменения в ране изучены у 63 больных с пограничными (III A степени) и глубокими (IIIB степени) ожогами различной площади и локализации. Всем больным пересаживали КАФ на участки пограничного поражения для достижения самостоятельной эпителизации и на участки глубокого поражения с целью подготовки и последующей пластике.

Первичную культуру фибробластов получали путем ферментизации эмбриональных клеток тканей человека с последующим культивированием фибробластов в культуральной среде RPMI или 199, содержащей 10-15% эмбриональную телячью сыворотку, 2% α-глутамин, среду Нерес и антибиотики. Конечным продуктом являлась взвесь культивированных аллогенных фибробластов в культуральной среде, с концентрацией клеток до 200-300 тыс. клеток на 1 мл культуральной среды, с высоким процентом живых фибробластов (до 90%).

Пересадка КАФ при пограничных ожогах проводилась на 13-е сутки, при глубоких ожогах - на гранулирующие раны на 19-е сутки после травмы. Для объективности исследований у одного и того же больного сравнивали одинаковые по глубине участки поражения, которые лечили с применением КАФ и без них.

Цитологическому исследованию подвергли препараты - отпечатки с поверхности ран по методике, предложенной М.П.Покровским, М.С.Макаровым (1990) [4]. С одного и того же участка предварительно очищенной от некротического слоя и лекарственных препаратов раневой поверхности получали 3 последовательных отпечатка. С участков пограничных ожоговых ран III A степени отпечатки брали на 13- (до пересадки КАФ), 15- и 17-е сутки, с участков глубоких ожоговых ран IIIB степени после удаления струпа в ходе подготовки ран к пласти-

ческому закрытия на 19- (до пересадки КАФ), 21- и 23-е сутки после травмы. Полученные отпечатки фиксировали 96% этиловым спиртом и окрашивали азур-эозином по Нохту. Затем проводили качественный и количественный анализ цитологической картины. В зависимости от цитологической картины различали пять типов цитогамм.

Некротический тип характеризуется наличием детрита и остатков разрушенных нейтрофилов, массивной микрофлоры, расположенной внеклеточно.

При дегенеративно-воспалительном типе имеется большое количество сохранных нейтрофилов с признаками незарашенного фагоцитоза.

Воспалительный тип отличается высоким (до 90%) содержанием сохранных нейтрофилов, наличием лимфоцитов и моноцитов; микрофлора в умеренном количестве в состоянии завершеного и незавершеного фагоцитоза.

При воспалительно-регенераторном типе количество нейтрофилов уменьшается до 60-70%, увеличивается содержание полибластов, фибробластов, лимфоцитов, макрофагов, имеется незначительное количество микрофлоры в состоянии завершеного фагоцитоза.

При регенераторном типе имеется низкое (40-50%) содержание нейтрофилов с преобладанием фибробластов, макрофагов, полибластов, появляются клетки эпителия, возможно наличие микрофлоры в незначительном количестве.

Результаты и обсуждение

На участках ран с пограничными ожогами (IIIА степени) на 13-е сутки после травмы в ране преобладает дегенеративно-воспалительный тип цитогамм, отражающий слабые признаки воспалительной реакции. В препаратах содержится большое количество нейтрофилов в состоянии дегенерации и деструкции, микрофлоры (кокки, палочки), нити фибрина, фагоцитарная активность слабая (единичные макрофаги), фагоцитоз – незавершенный (рис. 1).

На 15-е сутки в группе цитогамм с применением КАФ отмечаются положительные сдвиги: в препаратах выявляются признаки фагоцитарной активности в виде появления отдельных фагоцитирующих клеток, небольшого количества гистиоцитарных элементов; уменьшается количество нейтрофилов и микрофлоры. У пациентов контрольной группы в эти сроки положительные сдвиги на цитогаммах отсутствовали, а у части больных имело место даже ухудшение цитологической картины в виде массы детрита, разрушенных нейтрофилов, обильной микрофлоры (рис. 2).

На 17-е сутки цитогаммы ран с применением КАФ характеризуются воспалительно-регенераторным и регенераторным типом с уменьшением количества нейтрофилов, наличием большого количества макрофагов, фагоцитоза в активном состоянии, увеличением количества полибластов, ретикулоцитов, лимфоцитов, появлением единичных фибробластов и клеток эпителия (рис. 3). Микрофлора присутствует в небольшом количестве. Клинически это проявляется стиханием воспалительной реакции, резким снижением экссудации, активной эпителизацией ран, которая полностью завершается к 21-22-м суткам после травмы. На цитогаммах с контрольных участков ран на 17-е сутки отмеча-

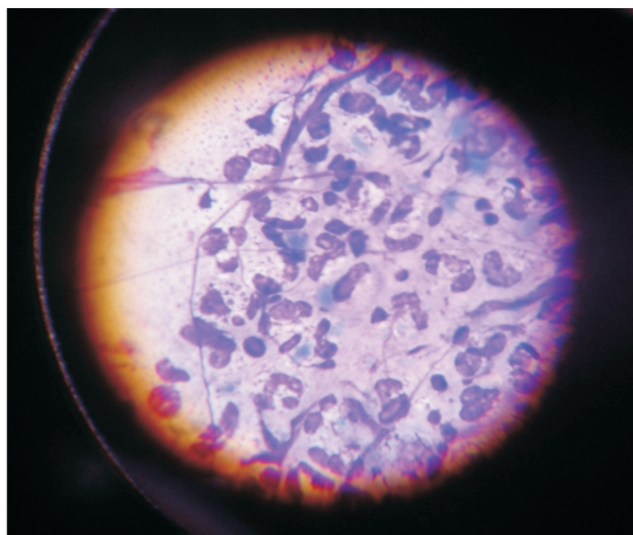


Рис.1. Дегенеративно-воспалительный тип цитогамм. Ув. x 1000.

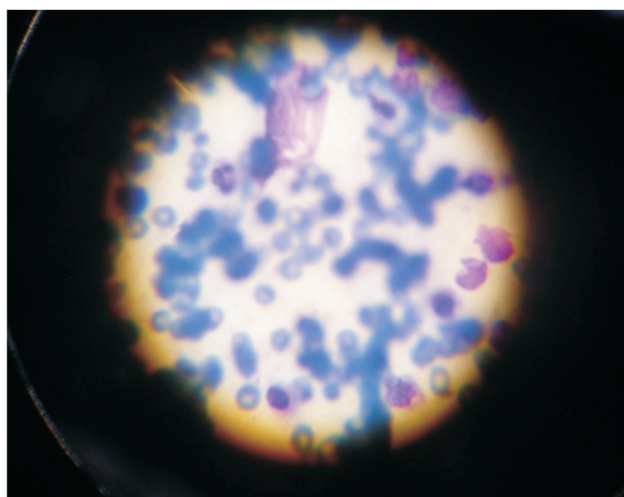


Рис.2. Регенераторно-воспалительный тип цитогамм. Ув. x 1000.

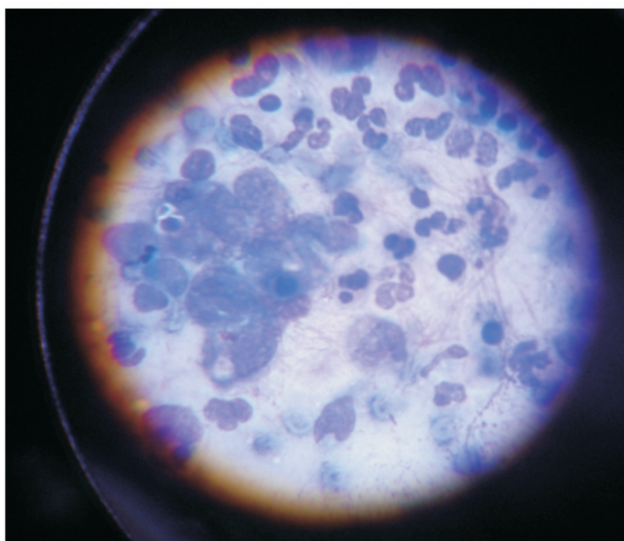


Рис.3. Регенераторный тип цитогамм. Ув. x 1000.

ется слабая положительная динамика в смене дегенеративно-воспалительного типа на воспалительно-регенераторный, высокое содержание микрофлоры, незавершенный фагоцитоз. Клинически это выражается наличием ран с обильной и умеренной серозно-гноной экссудацией, отсутствием признаков краевой и островковой эпителизации.

Аналогичная тенденция отмечается при сравнении цитологической картины с участков глубокого поражения (IIIБ степени). В цитограммах больных основной группы отмечали быстрое очищение ран от микрофлоры, раневая поверхность интенсивно очищается от некротического детрита и фибрина, что связано с активацией фагоцитарной функции нейтрофилов и макрофагов по отношению не только к микробам, но и к разрушенным тканевым и клеточным элементам. Это проявляется более ранней сменой дегенеративно-воспалительного типа цитограмм на воспалительно-регенераторный и регенераторный, клинически выражается в готовности ран к проведению пластики на 20-22-е сутки после травмы с приживлением пересаженных лоскутов в 85-100% случаев.

В контрольной группе препаратов цитологическое исследование свидетельствовало о замедленном течении раневого процесса. На 19-е сутки после травмы существенного различия в цитограммах по сравнению с исходом не отмечается: в мазках содержится большое количество нейтрофилов в состоянии дегенерации и деструкции, микрофлоры (кокки, палочки), нити фибрина, фагоцитарная активность слабая (единичные макрофаги), фагоцитоз – незавершенный. На 21-е сутки наблюдается некоторое снижение микробной контаминации, усиление фагоцитоза и незначительное увеличение содержания макрофагов и фибробластов, т.е. переход к воспалительному типу цитограмм. Однако и в эти сроки инфицированность и воспалительная реакция остаются выраженными, что влияет как на сроки проведения пластических операций (23-27-е сутки после травмы), так и на результаты операции (лизис до 50% пересаженных лоскулов).

Таким образом, полученные нами данные свидетельствуют о том, что пересадка культивированных аллофибробластов на пограничные и глубокие ожоговые раны приводит к быстрой смене типа цитограмм на более благоприятный.

Выводы:

Цитологические исследования отпечатков с ожоговых ран после пересадки КАФ выявили более раннюю смену дегенеративно-воспалительного типа цитограмм на воспалительно-регенераторный и регенераторный, что клинически выразилось ранним самостоятельным заживлением пограничных ожогов и лучшими результатами оперативного лечения глубоких ожогов.

Литература

1. Алексеев А.А. Биотехнологические методы лечения ожогов в России: 20 лет спустя.

Сборник научных трудов 1-го съезда комбустиологов России. М 2005; 192-194.

2. Алексеев А.А., Лавров В.А. Актуальные вопросы организации и состояния медицинской помощи пострадавшим от ожогов в Российской Федерации. 2-й съезд комбустиологов России. Сб. науч. Тр. М 2008; 3-5.
3. Алексеев А.А., Попов С.В., Кузнецов В.А. Современные принципы и методы лечения ожогов. Burn. RU. Комбустиология 2004; 18.
4. Кузин М.И., Костиченок Б.М. Раны и раневая инфекция. Руководство для врачей М Медицина 1990.
5. Уразметова М.Д., Шек А.А. Способ лечения ожогов и ран. Патент РУз № 4995. Ташкент 1998.
6. Фисталь Э.Я., Попандопуло А.Г., Чеглаков Е.В., Фисталь Н.Н. Первый опыт использования культивированных фибробластов в лечении группы пострадавших от взрывной шахтной травмы. Burn. RU. Комбустиология 2005; 22-23.
7. Хаджибаев А.М., Фаязов А.Д. Современные подходы к хирургическому лечению глубоких и распространенных ожогов. Пробл клин мед 2006; 2 (6): 74-77.
8. Chester D.L., Balderson D.S., Papini R.P. A review of keratinocyte delivery to the wound bed. J Burn Care Rehabil 2004; 25 (3): 266-275.
9. Loo M.M., Vern T.Z., Latenser B.A., Kowal-Vern A. Trends in burn research as reflected in american burn association presentations 1998 to 2003. J Burn Care Rehabil 2005; 26 (5): 397 – 404.
10. Papini R.P., Wilson A.P., Steer J.A. et al. Wound management in burn centres in the United Kingdom. Brit J Surg 1995 ;82 (4): 505-509.

ЭМБРИОНАЛ АЛЛОГЕН ФИБРОБЛАСТЛАРНИ КЎЧИРИБ ЎТКАЗИШДА КУЙГАН ЯРАНИНГ ЦИТОЛОГИК КЎРИНИШИНING ДИНАМИКАСИ

Хаджибаев А.М., Фаязов А.Д.,
Уразметова М.Д., Джабриев Д.А.
Республика шошилич тиббий Ёрдам
илмий маркази

Турли локализация ва майдонли чегараланган (IIIA даражали) ва чукур (IIIB даражали) куйиш жароҳати бўлган 60 та беморнинг яраларидаги цитологик ўзгаришлар таҳлил қилинди. Чегарали ва чукур куйиш жароҳатларида ўстирилган аллофибробластларни кўчириб ўтказиш цитограмма-лардаги ўзгаришларнинг ижобийлигини таъминлаши кўрсатилган.

Контакт: д.м.н. Фаязов Абдулази Джаилилович
РНЦЭМП,
100107, Ташкент, ул. Фархадская, 2,
тел: +99897-402-5041