

© Коллектив авторов, 2016
УДК 616-001.17-06:616.5-001.4-08:[615.847.8+533.9]

М. Г. Подойницына, В. Л. Цепелев, А. В. Степанов, В. В. Крюкова

ИЗМЕНЕНИЯ В ОЖГОВОЙ РАНЕ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ МАГНИТОПЛАЗМЕННОЙ ТЕРАПИИ

ГБОУ ВПО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава РФ
(ректор — проф. А. В. Говорин)

Ключевые слова: ожоги, магнитоплазменная терапия, цитокины

Введение. Термические поражения кожного покрова являются одной из наиболее важных медико-социальных проблем, что обусловлено значительной распространенностью травмы, потерей больными трудоспособности [1, 10]. Значительное место в комплексном лечении ожогов отводится физическим методам, направленным на подготовку ран к дерматомной пластике [2, 4, 6]. Высокую клиническую эффективность показал метод одновременного воздействия на ожоговую рану низкотемпературной воздушной плазмой и переменного электромагнитного поля [5–7]. Между тем, механизмы действия магнитоплазменной терапии (МПТ) на ожоговую рану и ее клеточный состав до конца не изучены. Не исследовано влияние МПТ на продукцию различными клетками ожоговых ран интерлейкина-8 (IL-8), который является одним из основных хемоаттрактантов, способствующих миграции клеток в очаг воспаления [3, 10].

Цель исследования — изучить влияние магнитоплазменной терапии на клеточный состав ожоговых ран и продукцию интерлейкина-8.

Материал и методы. Под нашим наблюдением находились 76 пациентов с глубокими ожогами кожи (IIIБ–IV степени) площадью от 10 до 40% поверхности тела, в возрасте от 30 до 50 лет, получавших лечение в МУЗ «Городская клиническая больница № 1» г. Читы. Всем пострадавшим проводили местное медикаментозное лечение ран, некрэктомию, аутодермопластику, а также общее лечение (инфузионную и антибактериальную терапию). Пациенты были разделены на 2 группы. Основную группу составили 38 пострадавших, которым дополнительно к комплексному лечению на раневую поверхность одновременно воздействовали потоком воздушной плазмы аппаратом

«Плазон» и переменным магнитным полем частотой 50 Гц с магнитной индукцией 30 мТл с применением аппарата МАГ-30. МПТ использовали для воздействия на ожоговую поверхность от 2 до 5 мин в зависимости от площади поражения в течение 10–12 дней с момента получения ожога. Группа сравнения — 38 больных, получавших традиционное общее и местное лечение. Пациенты обеих групп были сопоставимы по возрасту, полу, характеру и площади поражения. Цитологическое исследование раневых отпечатков проводили по методу М.П. Покровской и М.С. Макарова.

Для получения клеточной суспензии кусочки биоптата измельчали и гомогенизировали в гомогенизаторе GentleMACSDissociator («Miltenyi BiotecGmbH», Германия) с использованием набора реагентов TumorDissociationKit («Miltenyi BiotecGmbH», Германия). Полученные клетки отмывали в среде RPMI-1640 с добавлением 10% телячьей сыворотки и стандартного набора антибиотиков. Внутриклеточное содержание IL-8 определяли с помощью проточного цитофлюориметра «Cytomics FC-500» («Beckman Coulter», USA). Проводили стандартное прямое 4-параметрическое иммунофлуоресцентное окрашивание клеток с использованием коммерческого набора для внутриклеточной окраски фирмы «Beckman Coulter» и панель моноклональных антител CD331-FITC/CD15-PC5/CD14-PC7 для идентификации фенотипа клеток в суспензии и анти-IL-8-PE для оценки экспрессии IL-8 внутри клетки. Данные анализировали с помощью программы CXP Cytometer («Beckman Coulter»).

Статистическую обработку полученного материала проводили с использованием пакета STATISTICA 10 непараметрическими методами: сравнение независимых выборок проводили с помощью критерия Манна—Уитни, для парных признаков применяли критерий Вилкоксона. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. У больных, получавших магнитоплазменную терапию, уменьшалось количество отделяемого из ожоговых ран, появлялись мелкозернистые розовые грануляции, хорошо определялась краевая эпителизация. Сроки начала отторжения ожогового струпа и проведения первой аутодермопластики были достоверно ниже по сравнению с группой

Сведения об авторах:

Подойницына Мария Геннадиевна (e-mail: mgp12@mail.ru), Цепелев Виктор Львович (e-mail: viktorcepelev@mail.ru), Степанов Александр Валентинович, Крюкова Виктория Викторовна (e-mail: mir_lek@mail.ru), Читинская государственная медицинская академия, 672000, г. Чита, ул. Горького, 39а

пациентов, леченных традиционным способом. Так, начало отторжения струпа при использовании МПТ наступало на 5,6-е сутки, в то время как в группе клинического сравнения — на 7,9-е сутки ($p<0,01$). Первая аутодермопластика в основной группе больных проводилась на 15,4-е сутки, а в группе клинического сравнения — на 20,3-е сутки ($p<0,05$).

Цитологическое исследование раневого экссудата позволяет объективно судить о характере морфологических изменений в ране, состоянии неспецифической иммунобиологической реактивности организма, об эффективности лечения, четко определить фазы течения раневого процесса [3, 12]. Полученные нами данные о клеточном составе ран представлены в *табл. 1*.

Цитологическая картина раневых отпечатков в 1-е сутки после некрэктомии была представлена в основном нейтрофилами. Подавляющее большинство данных клеток имели дегенеративные изменения, и лишь единичные клетки находились в стадии фагоцитоза. Другие клеточные элементы встречались и в единичных экземплярах.

На 5-е сутки после некрэктомии у пациентов группы клинического сравнения в раневых отпечатках выявляли дегенеративно-измененные нейтрофилы (61,3%), а также единичные нейтрофилы в стадии фагоцитоза (5,8%) и макрофаги (13,2%). Однако цитограммы в этот

период преимущественно носили дегенеративно-воспалительный характер. У больных, получавших магнитоплазменную терапию, цитологическая картина отличалась: уменьшалось количество нейтрофилов в 1,5 раза ($p<0,01$), в том числе клеток, имеющих дегенеративные изменения — на 72%, возрастало количество лимфоцитов на 47% ($p<0,001$). Вместе с этим происходило увеличение количества фибробластов на 48%. В этот период было характерно очищение раневой поверхности и заполнение раневого дефекта ярко-красными грануляциями.

При исследовании цитограмм на 10-е сутки в основной группе больных отмечалось значительное снижение количества нейтрофилов ($p<0,01$), особенно имеющих дегенеративные изменения — в 2,3 раза, при этом в 3 раза возрастало количество фагоцитирующих нейтрофильных лейкоцитов. На 88% увеличивалось количество фибробластов по отношению к группе клинического сравнения. Такая цитологическая картина указывает на активизацию регенераторных процессов в ране [9]. В отличие от этого, в контрольной группе больных сохранялось высокое количество нейтрофилов (54,3%), раневые отпечатки к 10-м суткам имели признаки продолжающегося воспаления.

Из других клеточных элементов нас интересовали макрофаги. Макрофагальная реакция

Таблица 1

Показатели цитограммы ран у больных с глубокими ожогами (Ме [квартили 25-й, 75-й])

Клетки (%)	Сроки после некрэктомии, сутки					
	1-е	5-е	10-е	1-е	5-е	10-е
	Больные, получавшие традиционную терапию			Больные, получавшие магнитоплазменную терапию		
Нейтрофилы	85,3 [76,2; 88]	65,1 [54,8; 65,2]	54,3 [47,2; 59,3]	82,9 [75,2; 86,7] $p>0,05$	43,8 [34,6; 49,1] $p<0,01$	39,5 [36,2; 43,4] $p<0,01$
Нейтрофилы с дегенеративными изменениями, % от общего числа клеток	81,0 [71,8; 89,7]	61,3 [53,5; 64,4]	48,1 [47,2; 58,4]	76,4 [74,4; 81,3] $p>0,05$	35,7 [31,2; 39,7] $p<0,01$	21 [17,3; 27,8] $p<0,001$
Фагоцитирующие нейтрофилы, % от общего числа клеток	4,3 [3,0; 5,6]	5,8 [2,9; 8,8]	6,2 [4,1; 9,3]	6,5 [3,9; 9,7] $p<0,05$	8,1 [6,3; 10,2] $p<0,01$	18,5 [13,8; 23,7] $p<0,001$
Макрофаги	8 [7,1; 9,5]	13,2 [9,1; 15,3]	19,4 [15,9; 23,5]	8,5 [6,8; 9,7] $p>0,05$	22,6 [18,6; 24,9] $p<0,01$	29,1 [25,3; 34,8] $p<0,001$
Фибробласты	—	5,1 [4,2; 6,9]	8,3 [7,1; 9,5]	—	7,5 [6,1; 9,7] $p<0,01$	15,6 [13,7; 17,9] $p<0,001$
Лимфоциты	—	2,5 [2,1; 4,5]	3,6 [2,9; 4,2]	—	5,3 [4,2; 7,1] $p<0,001$	6 [4,9; 7,0] $p<0,01$

Примечание. p — уровень значимости различий показателей у больных, получавших магнитоплазменную терапию, и группы сравнения в соответствующие сроки исследования.

Таблица 2

Количество клеток, продуцирующих интерлейкин-8, в биоптатах ожоговых ран (Ме [25; 75])

Клетки (%)	Традиционное лечение (n=38)		МПТ (n=38)	
	Сроки после некрэктомии, сутки			
	3-и	10-е	3-и	10-е
Макрофаги (CD45+CD14+IL-8+)	19,92 [16,66; 29,47]	15,95 [14,84; 19,56] p ₁ <0,01	31,43 [19,60; 41,95] p ₂ <0,05	12,88 [9,06; 15,81] p ₁ <0,001 p ₂ <0,01
Нейтрофилы (CD45+CD15+IL-8+)	20,35 [15,1; 27]	17,34 [13,94; 19,64] p ₁ <0,05	29,26 [15,91; 38,49] p ₂ <0,05	12,73 [8,81; 16,32] p ₁ <0,001 p ₂ <0,01
Фибробласты (CD331+IL-8+)	10,39 [8,72; 14,47]	8,2 [6,41; 9,61] p ₁ <0,01	10,66 [8,02; 12,66] p ₂ >0,05	7,02 [5,48; 8,95] p ₁ <0,01 p ₂ >0,05

Примечание. p_1 — уровень значимости различий показателей у больных на 3-и и 10-е сутки; p_2 — уровень значимости различий показателей у больных, получавших традиционное лечение и МПТ в соответствующие сроки исследования.

является основным цитологическим признаком, определяющим начало очищения раны. Макрофаги поглощают и переваривают микроорганизмы и клетки, находящиеся в раневом экссудате: нейтрофилы, эритроциты, лимфоциты. Макрофаги несут основную фагоцитирующую функцию [3, 11]. У больных, получавших МПТ, на 5-е сутки после некрэктомии количество макрофагов в мазках-отпечатках увеличивалось на 71%, на 10-е сутки — в 1,5 раза по отношению к группе сравнения. Это свидетельствует о более раннем очищении ран у больных, получавших магнитоплазменную терапию.

Дальнейшие исследования были направлены на изучение механизмов изменения клеточного состава ожоговых ран. Учитывая то, что IL-8 способствует миграции клеток в очаг воспаления, нами изучено содержание данного цитокина в клетках биоптата ожоговых ран. Результаты представлены в табл. 2.

Наши исследования показали, что основными продуцентами IL-8 являются макрофаги и нейтрофилы. На 3-и сутки после некрэктомии у больных, получавших магнитоплазменную терапию, количество макрофагов в ране, продуцирующих IL-8, было в 1,6 раза выше аналогичного показателя у пациентов группы клинического сравнения ($p < 0,05$), а нейтрофилов, секретирующих данный цитокин, больше на 44% ($p < 0,05$). При этом количество фибробластов с внутриклеточным содержанием IL-8 в обеих группах достоверно не отличалось. На 10-е сутки после некрэктомии на фоне магнитоплазменной терапии на 24% уменьшалось количество макрофагов, продуцирующих IL-8, и на 36% снижалось число нейтрофилов,

секретирующих данный цитокин. Снижение концентрации IL-8 свидетельствует об уменьшении воспалительной реакции [8, 9].

Выводы. 1. Магнитоплазменная терапия способствует смене воспалительного типа цитограм ожоговых ран на регенераторный. Это выражалось в уменьшении на 5-е сутки количества нейтрофилов в ране, снижении к 10-м суткам дегенеративно-измененных лейкоцитов, увеличении во все сроки исследования фагоцитарной активности нейтрофилов, нарастании макрофагальной реакции к 5-м суткам и увеличении количества фибробластов в ране на 10-е сутки.

2. На 3-и сутки после некрэктомии под влиянием магнитоплазменной терапии увеличивается количество нейтрофилов и макрофагов в ране, синтезирующих IL-8. На 10-е сутки количество клеток, продуцирующих IL-8, снижается.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Алексеев А.А., Бобровников А.Э. Современные технологии местного консервативного лечения пострадавших от ожогов // *Анналы хир.* 2012. № 2. С. 32–38.
2. Ефименко Н.А., Есипов А.В., Мусаилов В.А., Москаленко В.В. Плазменная хирургия в военной медицине // *Воен.-мед. журн.* 2014. № 6. С. 34–38.
3. Кетлинский С.А., Симбирцев А.С. Цитокины. СПб.: ФОЛИАНТ, 2008. 552 с.
4. Крылов К.М., Крылов П.К. Современные возможности местного лечения ожогов // *Амбулаторная хир. Стационарные замещающие технологии.* 2010. № 1. С. 30–35.
5. Подойницына М.Г., Цепелев В.Л., Степанов А.В. Клиническая эффективность магнитоплазменной терапии ожогов кожи // *Забайкальский мед. вестн.* 2015. № 2. С. 99–102.
6. Подойницына М.Г., Цепелев В.Л., Степанов А.В. Применение физических методов при лечении ожогов кожи // *Современные*

- проблемы науки и образования. 2015. № 5; URL: <http://www.science-education.ru/128-22156>.
7. Подойницына М.Г., Цепелев В.Л., Степанов А.В. Изменение микроциркуляции при дермальных ожогах // Фундаментальные исследования. 2015. № 1–9. С. 1893–1896.
 8. Цепелев В.Л. Механизмы действия регуляторных пептидов при иммунодефицитных состояниях и воспалении: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. Чита, 2003. 40 с.
 9. Цепелев В.Л., Степанов А.В. Влияние регуляторных пептидов на продукцию провоспалительных цитокинов // Забайкальский мед. вестн. 2015. № 2. С. 147–150.
 10. Шурыгина И.А., Шурыгин М.Г., Аюшинова Н.И., Каня О.В. Фибробласты и их роль в развитии соединительной ткани // Сибирский мед. журн. 2012. № 3. С. 8–12.
 11. Csontos C., Foldi V., Palinkas L. et al. Time course of pro- and anti-inflammatory cytokine levels in patient with burns-prognostic value of interleukin-10 // Burns. 2010. Vol. 36, № 4. P. 483–494.
 12. Madenci O.C., Yakupoglu S., Benzonana N. et al. Evaluation of soluble CD14 subtype (presepsin) in burn sepsis // Burns. 2014. Vol. 40, № 4. P. 664–669.

Поступила в редакцию 15.12.2015 г.

M. G. Podoynitsina, V. L. Tsepelev, A. V. Stepanov,
V. V. Kryukova

CHANGES IN BURNING WOUND IN APPLICATION OF MAGNETO-PLASMATIC THERAPY

Chita State Medical Academy

The article analyzed treatments results of 76 patients with deep burns. It was stated that magneto-plasma therapy facilitated to the change from an inflammatory type of burn cytograms to regenerative type. These changes were expressed in reducing of neutrophil quantity in wound on the fifth day, decreasing of degenerative changed leukocytes on the tenth day, increasing of phagocytic activity of neutrophils in all terms, growing of macrophage reaction by the fifth day and multiplication of fibroblast quantity in wound on the tenth day. The neutrophil and macrophage quantities were increased in the wound after necrectomy due to influence of magneto-plasmatic therapy on the third day. There was synthesized interleukin-8. The quantity of cells producing IL-8 was reduced on the tenth day.

Key words: *burns, magneto-plasmatic therapy, cytokine*