© Э.Я.Фисталь, В.В.Солошенко, 2017
УДК 616-008.9-06:616.36-07-089

Э. Я. Фисталь, В. В. Солошенко

ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ АЛЛОФИБРОБЛАСТОВ В ЛЕЧЕНИИ ОБШИРНЫХ ОЖОГОВ

Институт неотложной и восстановительной хирургии им. В.К.Гусака (дир. — д-р мед. наук Э.Я.Фисталь),
г. Донецк

Клиническая эффективность трансплантации аллофибробластов в лечении ожоговых ран уже не вызывает сомнения. Остаются нерешенными некоторые вопросы, касающиеся показаний и сроков для выполнения трансплантации клеточной культуры в лечении пограничных ожогов. Цель исследования: обосновать применение культуры аллофибробластов в хирургическом лечении пострадавших с обширными дермальными ожогами. Для решения поставленной задачи изучали результаты хирургического лечения у 36 шахтеров, которые находились на лечении в ожоговом отделении Института неотложной и восстановительной хирургии им. В.К.Гусака г. Донецка в период с 2004 по 2013 г. Выявлено, что применение фетальных аллофибробластов снизило в основной группе больных количество повторных аутопластик на 36% за счет оптимизации раневого процесса в ожоговых ранах.

Ключевые слова: ожоги, хирургическое лечение, аллофибробласты, трансплантация

E. Ya. Fistal', V. V. Soloshenko

SUBSTANTIATION OF APPLICATION OF ALLOGENIC FIBROBLASTS IN TREATMENT OF EXTENSIVE BURNS

V. K. Gusak Institute of Emergency and Plastic Surgery, Donetsk

Recent researches left no doubt in clinical efficacy of allogenic fibroblasts transplantation in case of burn treatment. There are several problems concerning indications and terms of transplantation performance of cell culture in treatment of boundary burns. The authors would like to prove an application of allogenic fibroblast culture in surgical treatment of victims with extensive dermal burns. The authors analyzed the results of surgical treatment of 36 miners, who were cured in burn department of V. K. Gusak Institute of Emergency and Plastic Surgery (Donetsk) at the period from 2004 to 2013. It was found that the application of fetal allogenic fibroblasts reduced the number of repeated autoplasty on 36% in main group of patients due to optimization of wound healing in case of burns.

Key words: burns, surgery, allogenic fibroblasts, transplantation

Введение. За последнее десятилетие, по данным ведущих ожоговых центров, наметилась тенденция сокращения количества обожженных и одновременно увеличения удельного веса пострадавших с обширными и глубокими ожогами. Из числа госпитализируемых в ожоговые центры у 60–80% пострадавших регистрируются дермальные ожоги, которые во многом определяют тяжесть травмы и ее прогноз [1]. Наряду с традиционными некрэктомиями и аутодермотрансплантациями, в хирургическом лечении обожженных всё чаще используется трансплантация аллогенных фибробластов. Клеточные технологии применяются как самостоятельный метод временного закрытия раневого дефекта, так и как способ подготовки ран

к аутодермотрансплантации [2, 4, 6, 8]. Аллогенные фибробласты оказывают позитивное влияние на цитологическую картину ожоговой раны, что выражается в смене воспалительного типа цитогаммы на воспалительно-регенераторный [3, 5, 7]. Десятилетний опыт использования клеточных технологий в лечении обожженных позволил провести клинический анализ эффективности применения культуры аллогенных фибробластов в лечении одной из наиболее тяжелых категорий обожженных — пострадавших в результате взрывной шахтной травмы.

Цель исследования — обосновать применение культуры аллофибробластов в хирургическом

лечении пострадавших с обширными дермальными ожогами.

Материал и методы. Для решения поставленной цели изучили результаты хирургического лечения 36 шахтеров, которые находились на лечении в ожоговом отделении Института неотложной и восстановительной хирургии им. В.К.Гусака (ИНВХ) в период с 2004 по 2013 г. Воздействие пламени в движущейся зоне горения по подземным выработкам обуславливает дермальные ожоги у пострадавших, как правило, это контурные ожоги участков тела, не защищенных одеждой, сопровождающиеся первичным формированием ожогового струпа. Основную группу составили 18 шахтеров с обширными дермальными ожогами. В комплексе с хирургическим лечением пациентам данной группы выполняли трансплантации культуры аллогенных фетальных фибробластов в соответствии с международными стандартами GMP и GTP. Всего пациентам основной группы выполнены 46 трансплантаций культуры аллофибробластов, при этом использовали 498 доз аллофибробластов. Для группы сравнения были отобраны 18 обожженных с аналогичными травмами, которые находились на лечении в Донецком ожоговом центре в этот же период, но без использования культуры аллофибробластов в связи с объективными техническими причинами в работе лаборатории тканевого и клеточного культивирования.

Создание тканевых эквивалентов проводилось в лаборатории клеточного и тканевого культивирования ИНВХ им. В.К.Гусака г. Донецка. Клеточный материал для приготовления культуры аллофибробластов получен при плановом прерывании беременности по социальным показаниям у здоровых женщин в стерильных условиях операционной гинекологического отделения нашего института. Срок гестации — до 10 нед. Забор материала проводили по добровольному письменному согласию пациентки. Кроме того, пациентка давала письменное согласие на проведение вирусологических тестов (выявление вируса иммунодефицита человека, вирусного гепатита В и С, цитомегаловируса и другие инфекции, согласно приказу Министерства здравоохранения Украины № 1007-XIV). Все манипуляции по забору материала проводили согласно «Приказу № 226» от 25.09.2000 г. и «Инструкции Z 0701/00 Министерства здравоохранения Украины» «Перечень анатомических образований, тканей, их компонентов и фрагментов, и фетальных материалов, разрешенных к изъятию у донора трупа и мертвого плода человека». Дополнительную констатацию смерти плода до 12 нед не проводили, так как при таких сроках гестации он считается мертвым в момент извлечения его из полости матки. Транспортировку материала в лабораторию тканевого и клеточного культивирования проводил медицинский персонал согласно вышеуказанному приказу и инструкции, время транспортировки составляло 10 мин. Культуру фетальных аллогенных фибробластов изготавливали к моменту оперативного вмешательства в необходимом количестве для трансплантации на ожоговые раны.

Пострадавшие обеих групп были молодыми мужчинами, средний возраст в основной группе составлял $(34,29 \pm 2,03)$ года и в группе сравнения $(38,29 \pm 2,09)$ года, группы сопоставимы по данному показателю ($p=0,19$). Основная группа характеризовалась общей площадью поражения $(57,06 \pm 4,72)\%$ поверхности тела и глубокого ожога $(8,47 \pm 1,95)\%$ поверхности тела. Общая площадь термического поражения в группе сравнения была $(44,35 \pm 5,13)\%$ поверхности тела, в том числе

площадь глубокого ожога — $(5,45 \pm 2,15)\%$ поверхности тела. По общей площади поражения и площади глубокого ожога группы сопоставимы ($p=0,125$ и $p=0,69$). По факторам, определяющим тяжесть сочетанной и комбинированной травмы (черепно-мозговая травма, термоингаляционное поражение, отравление угарным газом и продуктами горения), количественных и качественных различий в группах также не было.

Первичную хирургическую обработку ожоговых ран в период ожогового шока выполняли пациентам обеих групп. Дермабразия выполнялась с последующим закрытием участков поверхностных ожоговых ран лиофилизированными ксенотрансплантатами, некротомия — в зоне глубокого ожога. После завершения периода ожогового шока в последующие 7 сут при наличии глубокого дермального поражения в функционально важных зонах выполняли некрэктомию с одновременной аутодермотрансплантацией. У 5 обожженных основной группы поверх расщепленных перфорированных аутодермотрансплантатов укладывали культуру аллофибробластов с целью стимуляции репаративных процессов в ране и пересаженном трансплантате. При мозаичном термическом поражении (чередовании участков поверхностного и глубокого дермального ожога) некрэктомию выполняли при появлении демаркации некротического струпа (более 14 сут после травмы). В связи с этим средней срок трансплантации культуры аллогенных фибробластов в основной группе составил $(14,88 \pm 3,56)$ сут после травмы. Количество трансплантаций культуры аллофибробластов в основной группе, в среднем, составило $(2,71 \pm 0,67)$ операций на одного больного. При выполнении одной трансплантации использовали одновременно от 10 до 20 доз (чашек Петри 100 мл) культуры фетальных аллофибробластов (данный факт был критерием включения в исследование).

В данную работу не вошли 15 пострадавших, которым культуру аллофибробластов применяли для временного закрытия ожоговых ран после выполнения дермабразии и(или) тангенциальной некрэктомии в период ожогового шока. Преимуществ в сравнении с лиофилизированной ксенокожей культура аллофибробластов не продемонстрировала на данной стадии раневого процесса, поэтому экономически более рационально для временного закрытия поверхностных ожоговых ран в период ожогового шока после первичной хирургической обработки использовать ксенокожу. Также в работу не вошли пациенты, у которых трансплантацию аллофибробластов на ожоговые раны применяли однократно и менее 10 доз (чашек Петри 100 мл) во время одной трансплантации, что, по нашему мнению, недостаточно для воздействия на течение ожоговой болезни у обожженного.

Наибольший интерес в исследовании представляли так называемые пограничные ожоги или мозаичное поражение покрова, когда участки поверхностного и глубокого дермального ожога чередуются. В таких случаях важно было ускорить эпителизацию за счет сохранившихся дериватов кожи при поверхностных ожогах или формирование полноценной грануляционной ткани, пригодной для пластики расщепленным кожным трансплантатом при глубоких поражениях. Именно в таких случаях мы использовали культуру аллогенных фибробластов.

Математическую обработку полученных результатов проводили с использованием пакета программ Statistica 6.5. Данные выборки основной группы ($n=18$) и группы сравнения ($n=18$) не соответствовали нормальному распределению, поэтому проверку гипотезы о равенстве генеральных средних

в этом случае проводили с помощью U-критерия Манна—Уитни для независимых переменных. Качественные признаки сравнивали при помощи критерия χ^2 Пирсона.

Результаты. При анализе данных хирургического лечения двух групп выявлено, что первую аутодермотрансплантацию в основной группе выполняли на $(19,12 \pm 2,01)$ -е сутки лечения, а в группе сравнения — на $(18,88 \pm 1,12)$ -е сутки после травмы. По данному параметру группы были сопоставимы ($p=0,48$), что свидетельствует о единой тактике оперативного лечения в группах.

При дальнейшей обработке результатов операций было выявлено уменьшение в 1,57 раза количества аутодермотрансплантаций в расчете на одного пациента в основной группе. Так, в основной группе выполнены $(1,35 \pm 0,21)$ аутодермотрансплантаций на одного пациента, а в группе сравнения количество операций этого вида достигало $(2,12 \pm 0,28)$ на одного обожженного. Различия статистически значимы ($p=0,027$).

Средняя длительность стационарного лечения обожженных шахтеров в основной группе составила $(42,06 \pm 3,09)$ сут, в группе сравнения — $(45,82 \pm 2,56)$ сут. Статистически значимой разницы по данному признаку в группах не получено ($p=0,95$), что было обусловлено тяжестью травмы у пострадавших в обеих группах и требующимся временем для восстановления утраченного кожного покрова.

Обсуждение. Уменьшение количества оперативных вмешательств, связанных с аутодермотрансплантацией, на наш взгляд, обусловлено следующими факторами:

1) культура фетальных аллофибробластов позволяла использовать аутодермотрансплантаты с большим коэффициентом растяжения $1/4$ или $1/6$, что дало возможность одновременно ликвидировать значительные раневые дефекты с хорошим результатом приживления;

2) трансплантация аллофибробластов на ожоговые раны с мозаичным типом поражения (чередованием участков глубокого и поверхностного дермального ожога) оказывала мощное стимулирующее влияние на раневой процесс;

3) применение аллофибробластов позволило добиться быстрой краевой эпителизации мелких ожоговых ран.

Благодаря сокращению количества оперативных вмешательств (аутодермотрансплантаций) в основной группе зафиксировано уменьшение в 1,56 раза числа осложнений, проявившихся в виде анемии тяжелой степени: 14 (82,36%) — в группе сравнения и 9 (52,94%) случаев — в основной. Различие между группами достоверно ($p=0,024$),

использован критерий χ^2 Пирсона. Данный факт, на наш взгляд, можно объяснить тем, что при выполнении аутодермотрансплантации кровопотеря из донорской раны составляет в зависимости от толщины трансплантата: 0,1–1,5 мл на 1 см². Сокращение количества оперативных вмешательств позволило уменьшить кровопотерю.

Другие генерализованные осложнения ожоговой болезни (сепсис, пневмония, энцефалопатия) были по количеству одинаковы в обеих группах, так как развивались в интервале 4–10 сут после травмы, поэтому использование культуры аллофибробластов в хирургическом лечении ожоговых ран не могло повлиять на их развитие. В то же время, предупредить дальнейшую эскалацию осложнений ожоговой болезни может быстрая ликвидация ожоговых ран, которая осуществлялась с помощью клеточных технологий. Однако изучение данного факта не было целью нашего исследования и будет изложено в последующих работах.

Вывод. Применение фетальных аллофибробластов в лечении дермальных ожогов у пострадавших в результате взрывов метаноугольной смеси позволило снизить количество аутодермотрансплантаций на 36%. Оптимизация раневого процесса позволяет добиться более быстрой ликвидации ожоговых ран.

ЛИТЕРАТУРА [REFERENCE]

1. Алексеев А.А., Салахиддинов К.З., Гаврилюк Б.К., Тюриков Ю.И. Комплексное лечение глубоких ожогов на основе применения хирургической некрэктомии и современных биотехнологических методов // *Анналы хирургии*. 2012. № 2. С. 41–45 [Alekseev A.A., Salahiddinov K.Z., Gavriljuk B.K., Tjurikov Ju.I. Kompleksnoe lechenie glubokih ozhogov na osnove primeneniya hirurgicheskoy nekrjektivnoy i sovremennykh biotekhnologicheskikh metodov // *Annaly hirurgii*. 2012. № 2. P. 41–45].
2. Алексеев А.А., Яшин А.Ю. Комбинированная аутодермопластика с трансплантацией культивированных фибробластов при обширных глубоких ожогах; клинические результаты и перспективы // *Материалы междунар. симпозиума*. Тула, 1996. С. 1–3 [Alekseev A.A. Jashin A.Ju. Kombinirovannaja autodermoplastika s transplantaciej kul'tivirovannykh fibroblastov pri obshirnykh glubokih ozhogah; klinicheskie rezul'taty i perspektivy // *Materialy mezhdunar. simpoziuma*. Tula, 1996. P. 1–3].
3. Расулов М.Ф., Василенко В.Т., Зайденов В.А. Клеточная трансплантация подавляет воспалительную реакцию и стимулирует репаративные процессы в ожоговой ране // *Бюл. экспер. биол.* 2006. Т. 1, № 142. С. 112–115 [Rasulov M.F., Vasilenko V.T., Zajdenov V.A. Kletochnaja transplantacija podavlyaet vospalitel'nuju reakciju i stimuliruet reparativnye processy v ozhogovoj rane // *Bjul. jekspe. biol.* 2006. Vol. 1, № 142. P. 112–115].
4. Таричко Ю.В. Хирургия без донорской крови // *Хирургия*. 2004. № 10. С. 63–67 [Tarichko Ju.V. Hirurgija bez donorskoj krovi // *Hirurgija*. 2004. № 10. P. 63–67].

5. Böttcher-Haberzeth S., Reichmann E. Tissue engineering of skin // Burns. 2010. Vol. 36, № 4. P. 450–460.
6. Nedelec B., De Oliveira A., Saint-Cyr M., Garrel D. Differential effect of burn injury on fibroblasts from wounds and normal skin // Plast Reconstr Surg. 2007. Vol. 119, № 7. P. 2101–2109.
7. Paeura M., Kaartinen I., Suomela S. Improved skin wound epithelialization by topical delivery of soluble factors from fibroblast aggregates // Burns. 2012. Vol. 38, № 4. P. 541–550.
8. Price R.D., Das-Gupta V., Harris P.A. et al. The role of allogenic fibroblasts in an acute wound healing model // Plast. Reconstr. Surg. 2004. Vol. 113. P. 1719–1729.
9. Wong T., McGrath J.A., Navsaria H. The role of fibroblasts in tissue engineering and regeneration // Br. J. Dermatol. 2007. Vol. 156. P. 1149–1155.

Поступила в редакцию 13.05.2016 г.

Сведения об авторах:

Фисталь Эмиль Яковлевич (e-mail: burncenter@mail.ru), директор института,
Солошенко Виталий Викторович (e-mail: burncenter.vs@gmail.com), ст. науч. сотр. отдела термических поражений,
Институт неотложной и восстановительной хирургии им. В.К. Гусака,
283045, Донецкая Народная Республика, г. Донецк, Ленинский пр., 47