

УДК 616.5-001.17-089.844:622-057.2

© В.В. СОЛОШЕНКО

Інститут невідкладної і відновної хірургії ім. В.К. Гусака АМНУ, Донецький національний медичний університет ім. М. Горького

Морфологічне обґрунтування доцільності використання культури алофібробластів у шахтарів із поширеними дермальними опіками

V.V. SOLOSHENKO

Institute of Urgent and Recovery Surgery by V.K. Husak of MSA of Ukraine, Donetsk National Medical University by M. Horky

MORPHOLOGICAL SUBSTANTIATION OF EXPEDIENCY OF USE OF FIBROBLASTS CULTURE AT MINERS WITH EXTENSIVE DERMAL BURNS

У роботі визначено вплив культури алогенних фібробластів на перебіг ранового процесу при лікуванні дермальних опіків у шахтарів на підставі даних морфологічних досліджень. Вивчали біопсійний матеріал з опікових ран 14 шахтарів, які постраждали від вибуху метано-вугільної суміші на шахтах Донбасу, в лікуванні яких використовувалась культура алофібробластів. При наявності ділянки глибокого дермального опіку культура алофібробластів оптимізує рановий процес шляхом скорішого переходу до стадії проліферації, що дає змогу підготувати рану до автодермотрансплантації швидше, ніж при стандартній схемі ведення рани після ранньої некретомії. Доведено, що використання культури алофібробластів при поверхневих дермальних опіках дозволяє прискорити формування епітеліального пласта в 1,7 раза.

In the work the influence of culture of allogenic fibroblasts on a wound process current in treatment dermal burns at miners on the basis of the given morphological researches is studied. It has been studied a material from burn wounds of 14 miners which have suffered from explosions of a metano-coal admixture on shafts of Donbass in which treatment the culture allogenic fibroblasts has been used. In the presence of sites deep dermal burns the culture allogenic fibroblasts optimised a wound process, by faster transition to a proliferation stage that gives the chance to prepare a wound to skin grafting faster than at the standard scheme of conducting a wound after an early necrectomy. It has been proved that at culture use allogenic fibroblasts at superficial dermal burns allows to achieve faster in 1,7 times formation of an epithelial layer.

Постановка проблеми і аналіз останніх досліджень та публікацій. На сьогодні в провідних опікових центрах світу ведеться розробка способів відновлення шкірного покриву у хворих із поширеними опіками. Ці способи ґрунтуються на використанні культивованих *in vitro* клітин шкіри людини. Дослідження проводяться в двох напрямках. Перший – використання для закриття опікових поверхонь пластів культивованих автокератиноцитів. Другий – використання для закриття ранових дефектів культивованих алогенних клітин – фібробластів. Проте широке впровадження автокератиноцитів вимагає вирощування пластів цих клітин протягом 3 тижнів, крім того, ця методика досить витратна [2].

При трансплантації культивованих фетальних алофібробластів на рану вони прямо або опосередковано включаються в репаративні процеси [1]. Ефективність використання фетальних фібробластів ґрунтується на їх здатності до відновлення процесів фізіологічної регенерації за рахунок стимуляції проліферації збережених клітинних елементів рани, а саме клітин епітелію. Крім відбудови більшості екстрацелюлярних компонентів, таких як колаген, ела-

стин, фібронектин і протеоглікани, фібробласти виробляють мітогени для аутокринної регуляції, а також для регуляції проліферації кератиноцитів і ендотеліальних клітин [3, 4, 7].

Опік полум'ям вибуху метано-вугільної суміші передбачає формування некротичного шару різної товщини, тобто в багатьох випадках це мозаїчне ураження шкіри, де дрібні ділянки поверхневого чи дермального опіку розташовані поруч. При наявності глибокого опіку культура алофібробластів дозволяє підготувати до автодермотрансплантації ранову поверхню і добитися подальшого максимального приживлення розщеплених автодермотрансплантатів, а при поверхневих опіках створити умови для найскорішої епітелізації [8, 9]. Отже, при поширених дермальних опіках з'являються можливості корекції перебігу ранового процесу [5]. Вказане явище відбувається, як вважають патолофізіологи, за рахунок максимально швидкого переходу фази ексудації до фази проліферації [2].

Мета роботи: визначити вплив культури алогенних фібробластів на перебіг ранового процесу при лікуванні дермальних опіків у шахтарів на підставі даних морфологічних досліджень.

Матеріали і методи. У Донецькому опіковому центрі ІНВХ у 2008–2009 рр. перебували на лікуванні 14 шахтарів, що постраждали від вибуху метано-вугільної суміші на шахтах Донбасу, в лікуванні яких використовувалась культура алофіброblastів. Загальна площа ураження складала $(53,93 \pm 9,79)\%$ поверхні тіла. Трансплантацію проводили в умовах операційної після проведення тангенціальної некректомії. Виконано 32 трансплантації культури, використано для закриття опікових ран 218 доз культури алогенних фіброblastів.

Від дослідження ми очікували двох явищ: прискорення епітелізації при поверхневих дермальних опіках або швидкого формування повноцінної грануляційної тканини, здатної прийняти вільний автодермотрансплантат, при глибоких дермальних опіках.

Первинне формування опікового струпа в опікових ранах передбачало виконання некректомії. Клінічні ознаки ранової поверхні, товщина цього струпа і стан підлеглих тканин у перші 2-3 доби після травми візуально не відрізнялись. Виконана лазерна доплерівська флоуметрія, згідно з розробленим нами способом (Патент України №29466), дозволила визначити, які ділянки відповідають поверхневому опіку, а які глибокому. Особливістю дермального опіку полум'ям вибуху в шахтарів було мозаїчне розташування дрібних ділянок поверхневого та глибокого дермального опіку під одним шаром некротичного струпа на одній площині ураженого сегмента тіла. На цих ділянках після тангенціальної некректомії виконували трансплантацію культури алофіброblastів із метою отримати найскорішу епітелізацію при поверхневому опіку або формування шару тканини з адекватною васкуляризацією для трансплантації на неї вільного розщепленого автодермотрансплантата.

У досліджуваних пацієнтів із дефіцитом донорських ресурсів вкрай необхідне було застосування тимчасових покриттів при відстроченні радикальної операції з одночасною автодермотрансплантацією. З цією метою нами була використана культура алофіброblastів у колагеновому гелі, що виготовлена в лабораторії тканинного і клітинного культивування Інституту невідкладної і відновної хірургії ім. В.К. Гусака.

Стан ранової поверхні у 14 шахтарів досліджували морфологічно тричі за термін лікування. Перше дослідження було виконано після тангенціальної некректомії на 6–7-му добу після опіку. Для дослідження брали дві візуально однакові ділянки рани (одна з них була контрольною). Всі ділянки були розташовані в середній третині передньої поверхні плеча з метою нівелювати розбіжності у кровопостачанні. На досліджувану ділянку виконувалась трансплантація культури алогенних фіброblastів після виконання гемостазу в рані, чого потребувала капілярна кровотеча. Контрольну ділянку лікували з

використанням водорозчинних мазей і плівкових покриттів для запобігання висиханню рани. При виконанні подальших оперативних втручань у даних пацієнтів проводили морфологічні дослідження цих ділянок на 7-му добу після першої трансплантації культивованих алофіброblastів на ранову поверхню, а потім – на 13–14-ту добу після вказаного терміну.

Морфологічне дослідження висічених під час некректомії ділянок ранової поверхні розміром $0,5 \times 0,5$ см виконували в лабораторії фундаментальних досліджень Інституту невідкладної і відновної хірургії ім. В.К. Гусака. У біоптат потрапляли усі шари рани. Площа висічених ділянок була незначною і не погіршувала стану хворого. Після закінчення дослідження ці ділянки вкривалися розщепленим автодермотрансплантатом під час наступної операції. Фіксований в 10 % розчині формаліну біоптат шкіри заливали парафіном за стандартною методикою. З парафінових блоків виготовляли серійні гістологічні зрізи товщиною (5 ± 1) мкм. Парафінові зрізи забарвлювали гематоксиліном та еозинном. Дослідження проводили за допомогою мікроскопа "Olympus".

Результати досліджень та їх обговорення.

Як було зазначено вище, під час виконання першої тангенціальної некректомії знаходили дві ідентичні ранові ділянки. Спочатку візуально, а потім морфологічно було підтверджено, що біоптати, взяті після некректомії, між собою морфологічно не відрізняються: жирова клітковина, розділена прошарками дозріваючої грануляційної тканини, з дифузною помірною лімфогістіоплазмоцитарною інфільтрацією, поширені вогнища некрозу, просочені фібрином з нейтрофільною інфільтрацією, фібриноподібний некроз стінки судин.

Через 7 діб у біопсійному матеріалі з досліджуваних і контрольних ділянок намітилися відмінності в морфологічній картині. У досліджуваних ділянках шкіри, де на рану було трансплантовано культуру алофіброblastів у колагеновому гелі, з'явилася грануляційна тканина, покрита тонким епідермісом у вигляді острівців, разом з тим були присутні незначні вогнища гнійного запалення. В контрольних ділянках, де використовувалися пов'язки з водорозчинними мазями та плівкою відповідно до стадії ранового процесу, морфологічна картина характеризувалася вкритою виразками дермою з гнійним запаленням, найбільш вираженим довкола придатків шкіри. Придатки шкіри, які збереглися, в даній ситуації були джерелом регенерації епідермісу при дермальних опіках. Далі на досліджувані ділянки опікової рани ми повторно виконували трансплантацію культури алофіброblastів, контрольні ділянки ран продовжували вести під плівками і пов'язками з водорозчинними мазями.

Наступне морфологічне дослідження виконували на 13-ту добу після некректомії під час чергово-

го оперативного втручання на опікових ранах інших частин тіла. У препараті, узятому з досліджуваної ділянки, де впродовж двох тижнів використовувалася культура алофіброblastів, відмічено рясне розростання грануляційної тканини різної стадії зрілості, багато фіброblastів, місцями ще зберігається інфільтрація нейтрофілами, багато ділянок сформованого епідермісу у вигляді шару (рис. 1).

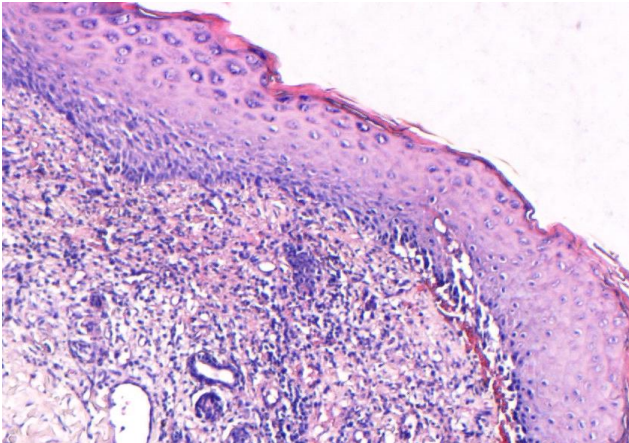


Рис. 1. Досліджувана ділянка рани на 13-ту добу після трансплантації культури алофіброblastів. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Збільшення $\times 37,5$.

Разом з тим у препаратах із контрольних ділянок інфільтрація нейтрофілами була більш виражена, грануляційна тканина представлена тонким шаром, епідерміс присутній у вигляді окремих острівців (рис. 2). Зважаючи на отримані дані морфологічного дослідження, можна зробити висновок щодо сприятливого впливу культури алогенних фіброblastів на репаративні процеси в опікових ранах.

Нами визначено, що вплив трансплантації культури алофіброblastів на рановий процес дозволив прискорити епітелізацію опікових ран у ділянках поверхневого дермального опіку на 6 днів порівняно зі

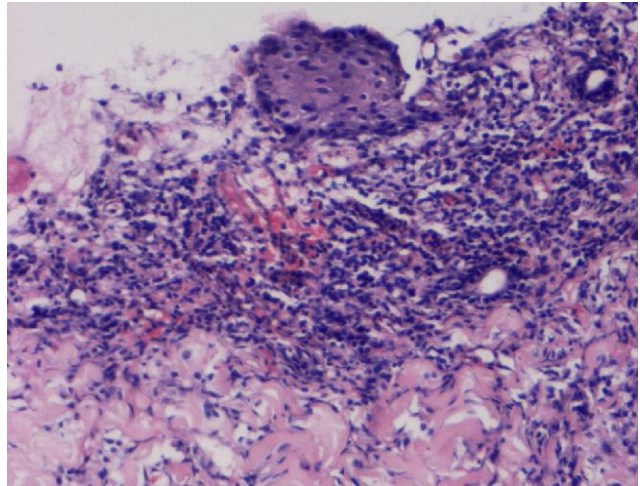


Рис. 2. Контрольна ділянка рани на 13-ту добу після некретомії. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Збільшення $\times 75$.

стандартним лікуванням рани. Використання ліофілізованих ксенотрансплантатів або інших біологічних покриттів у даній ситуації було неможливе через значну ексудацію і гнійне запалення. Крім того, мозаїчне ураження шкіри в цій ситуації робило неможливим виконання ксенотрансплантації або автодермотрансплантації після тангенціальної некретомії. При наявності ділянки глибокого дермального опіку культура алофіброblastів оптимізує рановий процес за рахунок прискорення переходу до стадії проліферації, що дає змогу підготувати рану до автодермотрансплантації швидше, ніж при стандартній схемі ведення рани після ранньої некретомії.

Висновок. Трансплантація культури алофіброblastів при поверхневих дермальних опіках дозволяє прискорити формування епітеліального пласта в 1,7 рази при порівнянні з традиційними методиками місцевого лікування ран.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Попандопуло А.Г. Использование культивированных фетальных фибробластов в лечении обширных ожоговых ран / А.Г. Попандопуло, Е.В. Чеглаков // *Мат. XXI з'їзду хірургів України*. – Запоріжжя, 2005. – С. 51-53.
2. Рахаев А.М. Лечение пограничных ожогов и донорских ран с использованием культивированных фибробластов : автореф дис. ... канд. мед. наук. : спец 14.00.27 "Хирургия" / А.М. Рахаев / – М., 2000. – 96 с.
3. Смирнов С.В. Современные методы клеточной терапии в лечении ожогов / С.В. Смирнов // *Хирургия*. – 2003. – № 12. – С. 58-62.
4. Туманов С.П. Десятилетний опыт использования культивированных клеток кожи человека для лечения термических ожогов / С.П. Туманов, А.А. Алексеев, Л.И. Будкевич // *Архив патологии*. – 1999. – № 4. – С. 41-47.
5. Фисталь Э.Я. Лечение группы пострадавших шахтеров с применением культуры фетальных фибробластов / Э.Я. Фис-

таль, Н.Н. Фисталь // *Мат. XXI з'їзду хірургів України*. – Запоріжжя, 2005. – С. 76-77.

6. Фисталь Е.Я. Перший досвід застосування культуральних аутофіброblastів в потерпілих з глибокими опіками / Е.Я. Фисталь, А.Г. Попандопуло, О.М. Корчак [та ін.] // *Трансплантологія*. – 2003. – Т. 4, № 1. – С. 193-194.
7. Green H. Fibroblast-collagen-matrix contraction: growth-factor signaling and mechanical loading / H. Green // *Cell Biology*. – 2000. – Vol. 10. – P. 363-365.
8. Oshima H. Permanent restoration of human skin treated with cultured epithelium grafting - wound healing by stem cell based tissue engineering / H. Oshima, H. Inoue, K. Matsuzaki // *Human Cell*. – 2002. – Vol. 15(3). – P. 118-128.
9. Tiabiocellsin C. Effects of dermal multipotent cell transplantation on skin wound healing / C. Tiabiocellsin, S. Yongping, R. Xinze // *Journal Surgery Res*. – 2004. – Vol. 121(1). – P. 13-19.

Отримано 05.07.10