

УДК 616-001.17-092.9:57.086.83

**СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ДИНАМИКИ ИЗМЕНЕНИЙ МИКРОЦИРКУЛЯТОРНОГО
РУСЛА КОЖИ ПРИ ОЖОГАХ С ПРИМЕНЕНИЕМ В ЛЕЧЕНИИ КУЛЬТИВИРОВАННЫХ
АУТОФИБРОБЛАСТОВ И МАЗИ ЛЕВОМЕКОЛЬ**

Е.В. Самаева

Рассмотрено применение культивированных аутофибробластов, выращенных в среде с обогащенной тромбоцитами плазмой и препаратом корня солодки Глицирам, в отличие от традиционного лечения мази Левомеколь. Отмечено активное стимулирование репаративных процессов в обожженной коже, улучшающих кровоснабжение и обмен веществ.

Ключевые слова: ожоговая рана; лечение; культивированные аутофибробласты; сосуды микроциркуляции.

**COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF THE DYNAMICS
OF CHANGES IN THE MICROVASCULATURE OF THE SKIN WITH BURNS,
USING IN TREATMENT OF CULTIVATED AUTOFIBROBLASTS AND OINTMENT LEVOMEKOL**

E. V. Samaeva

The paper considers the using of cultivated autofibroblasts, grown on a nutrient medium with the use of platelet-rich plasma and drug licorice root Gliciram in contrast to traditional treatment ointment Levomekol. Active stimulation of the reparative processes in burned skin, improving blood circulation and metabolism is noted.

Keywords: burn wound; treatment; cultivated autofibroblasts; vessels of the microcirculation.

Актуальность. Термические поражения представляют собой серьезную медицинскую, социальную и экономическую проблему, занимая третье место в структуре травматизма мирного времени [1, 2]. При поверхностных ожогах восстановление кожного покрова проводится при помощи местного консервативного лечения, создающего благоприятные условия для их заживления. При пограничных ожогах IIIA степени мозаичность поражения кожи часто затрудняет самостоятельное заживление, особенно при обширных ожогах, когда за счет нарушений микроциркуляции и инфицирования эпидермальные производные находятся под угрозой гибели. В таких условиях раны могут “углубляться” [3, 4].

При глубоких ожогах требуется проведение кожной пластики. Однако при обширных глубоких ожогах более 15–20 % поверхности тела возникает дефицит донорских ресурсов кожи, существенно затрудняющий возможность одномоментной пластики всех ожоговых ран. При этом образуется дополнительная кожная рана в месте забора лоскута [5].

Для местного лечения ожоговых ран перспективным представляется применение клеточных

культур фибробластов и продуцируемых ими биологически активных веществ [6]. Патогенетическая суть этой методики определяется стимулирующим влиянием трансплантированных на рану фибробластов на пролиферацию эпидермоцитов, сохранившихся в ране, и эпидермоцитов сетчатых лоскутов аутокожи. Такое влияние обуславливает ускорение процессов приживления аутодермотрансплантатов с большим коэффициентом перфорации за счет стимуляции процесса эпителизации ячеек [7].

При этом преимущественно использование аутоклеток: наблюдается длительный клинический эффект, исключен риск заражения пациента инфекционными агентами, а также риск развития аллергических реакций, не возникает трудностей с поиском подходящих доноров [8].

Однако механизмы, в результате действия которых формируются и восстанавливаются ткани, все еще недостаточно изучены, разработка методов лечения с использованием культивированных клеток кожи и ее эквивалентов требует совершенствования на всех этапах, начиная от формирования трансплантата и до его применения.

Цель работы – совершенствование методов местного лечения ожоговых ран на основе использования культивированных аутофибробластов.

Материалы и методы исследования. Эксперименты проводились на лабораторных беспородных крысах обоего пола, массой 200–300 г. В качестве модели термического поражения был использован предложенный У.К. Курамаевой [9] контактный способ нанесения ожога IIIА степени металлической насадкой к электропаяльнику 2 × 2 см, разогретой до 232 °С, экспозиция 4 сек.

После воздействия термического агента ожоговая рана была представлена коагуляционным струпом, который удалялся в пределах жизнеспособных тканей острым путем на 3-и сутки (первичная дермальная тангенциальная некрэктомия). Гистологическая картина послойного кожно-мышечного лоскута соответствовала ожогу IIIА степени.

Распределение на группы проводилось следующим образом: 1-я группа – с ожогом IIIА степени после проведения тангенциальной некрэктомии, леченные мазью Левомеколь; 2-я группа – с ожогом IIIА степени после проведения тангенциальной некрэктомии с пересадкой на 3-и сутки культуры аутофибробластов, выращенных в среде с применением обогащенной тромбоцитами плазмы и препарата корня солодки Глицирам.

Оценка состояния ожоговой раны проводилась на 1-е, 3-и, 7-е, 10-е, 15-е, 25-е, 40-е сутки после нанесения ожоговой травмы и проведения курса лечебных мероприятий. Полученный фактический материал подвергали компьютерной обработке с помощью пакета прикладных программ Microsoft Excel с учетом критерия Стьюдента.

Результаты и обсуждение. В норме сосудистая система дермы является частью общециркуляторной системы кожи. Плотность распределения сосудов в дерме равна $1,5 \pm 0,3$ в 1 мм^2 , при их среднем диаметре в $7,7 \pm 0,6$ мкм.

При гистологическом исследовании спустя сутки после нанесения ожога сосуды микроциркуляторного русла расширены. В зоне поражения определялось краевое стояние лейкоцитов. Средняя плотность сосудов микроциркуляции составила $2,5 \pm 0,2$ на 1 мм^2 , что больше интактной кожи на 40 %. Средний диаметр сосудов составил $8,6 \pm 0,6$ мкм, что больше интактной кожи на 10,5 %.

На 3-и сутки после нанесения ожога кровеносные сосуды микроциркуляции расширены, плотностью $2,1 \pm 0,4$ на 1 мм^2 , диаметром $8,3 \pm 0,9$ мкм. Эндотелиальная выстилка сосудов разрыхлена и отечна. Просветы сосудов заполнены форменными элементами, отмечается выраженный эритро- и лейкодиapedез. Вокруг сосудов появляются муфты из клеток: нейтрофилы, лимфоциты,

плазмоциты. Плотность сосудов микроциркуляции немного снизилась по сравнению с предыдущим значением (на 16 %), но все еще остается высокой по сравнению с интактной кожей – на 28,5 %. Средний диаметр сосудов также несколько снизился по сравнению с предыдущим значением – на 3,5 %, но еще остается больше контроля – на 7 %.

В последующем заживление происходило по двум разным сценариям. В 1-й группе лечение проводилось традиционным методом лечения – мазью Левомеколь. Во 2-й группе после предварительной тангенциальной дермальной некрэктомии проводили пересадку на ожоговую рану культивированных дермальных аутофибробластов, выращенных на ростовой среде с применением обогащенной тромбоцитами плазмы и препарата корня солодки Глицирам.

На 7-е сутки сосуды микроциркуляторного русла расширены полнокровны, эндотелий истончен, местами разрушен. В просвете характерно наличие форменных элементов. В 1-й группе плотность и диаметр сосудов не отличались от предыдущего срока исследования и остаются больше интактной кожи на 28 и 7 %, соответственно. Во 2-й группе плотность сосудов несколько уменьшилась, по сравнению с предыдущим значением, и, соответственно, со значением показателя в 1-й группе и контрольной группой на 38 и 13 %, соответственно, и составила $1,3 \pm 0,2$ на 1 мм^2 . Диаметр сосудов микроциркуляции больше на 41,5 % диаметра сосудов при предыдущем сроке исследования и в 1-й группе, соответственно, и больше контрольной группы на 46 %, и составил $14,2 \pm 0,8$ мкм.

В этот срок во 2-й группе наблюдалось появление тонкостенных новообразованных сосудов в более глубоких слоях дермы. В 1-й группе они отсутствовали.

В обеих группах в толще сосочкового слоя дермы появились сосуды регенерации синусоидного типа: в 1-й группе плотностью $1,8 \pm 0,6$ на 1 мм^2 , что на 78 % меньше 2-й группы, где этот показатель составил $8,1 \pm 0,5$ на 1 мм^2 . Что касается диаметра сосудов, то он в 1-й группе был также меньше на 18,6 % ($4,8 \pm 0,6$ мкм), чем во 2-й – $5,9 \pm 0,7$ мкм.

На 10-е сутки после термического ожога средний диаметр сосудов регенерации синусоидного типа в 1-й группе был на 5 % меньше, чем во 2-й и составил $5,9 \pm 0,8$ мкм, но это значение больше предыдущего на 18,6 %. Во 2-й же группе средний диаметр сосудов регенерации составил $6,2 \pm 0,4$ мкм, что больше предыдущего значения на 4,8 %.

Сосуды микроциркуляции расширены. Стенка сосудов местами с плазматическим пропитыва-

ванием, наблюдается истончение эндотелиальной выстилки, вплоть до разрывов с формированием мелких очагов кровоизлияний. Характерен отек периваскулярного пространства. Плотность сосудов в 1-й группе составила $2,1 \pm 0,8$ на 1 мм^2 , а во второй – $1,3 \pm 0,2$ на 1 мм^2 (в 1-й группе на 38 % больше, чем во 2-й). Эти показатели аналогичны показателям предыдущего измерения (на 7-е сутки). Плотность сосудов микроциркуляции в 1-й группе на 29 % выше показателя интактной кожи, а во 2-й группе на 13 % меньше. Средний диаметр сосудов в 1-й группе составил $10,4 \pm 0,1$ мкм, что больше предыдущего значения на 80 % и меньше показателя 2-й группы на 22,4 %, где этот показатель составил $13,4 \pm 0,4$ мкм. Диаметр сосудов микроциркуляции во 2-й группе по сравнению с предыдущим значением уменьшился на 6 %. Этот показатель остается выше показателя интактной кожи в обеих группах (на 26 и 42,5 %).

На 15-е сутки после термического поражения в толще сосочкового слоя дермы обнаруживались сосуды регенерации синусоидного типа: плотность в 1-й группе – $11,4 \pm 1,2$ на 1 мм^2 , что больше предыдущего значения на 58 % и больше на 51 % показателя плотности во 2-й группе ($5,8 \pm 0,3$ на 1 мм^2), где этот показатель уменьшился, по сравнению с предыдущим значением, на 19 %. Средний диаметр сосудов регенерации в 1-й группе составил $6,1 \pm 0,1$ мкм, что больше по сравнению с предыдущим значением на 3 %. Во 2-й группе диаметр сосудов регенерации синусоидного типа составил $5,9 \pm 0,6$ мкм, это меньше показателя 1-й группы на 3 % и, если сравнивать с диаметром сосудов при предыдущем измерении, этот показатель уменьшился на 5 %.

Сосуды микроциркуляции расширены. Средний диаметр сосудов в 1-й группе составил $11,1 \pm 0,5$ мкм, что больше по сравнению с предыдущим значением на 6,3 %, но меньше среднего диаметра сосудов 2-й группы на 14 %, где этот показатель составил $12,9 \pm 0,1$ мкм, который уменьшился по сравнению с предыдущим значением на 4 %. Средняя плотность сосудов микроциркуляции в 1-й группе составила $2,4 \pm 1,1$ на 1 мм^2 , что на 14 % меньше показателя во 2-й группе, где этот показатель составил $2,8 \pm 1,0$ на 1 мм^2 . Показатель плотности сосудов на данном сроке исследования больше по сравнению с предыдущим измерением в обеих группах на 12,5 и 53,5 %, соответственно.

На 25-е сутки после ожоговой травмы в толще рыхлой неоформленной волокнистой соединительной ткани местами просматривались синусоидные регенераторные сосуды в 1-й группе плотностью $2,4 \pm 1,0$ на 1 мм^2 и средним диаметром $5,2 \pm 0,9$ мкм, что несколько меньше предыдущих

значений на 79 и 15 %, соответственно. Если сравнивать эти показатели с аналогичными показателями во 2-й группе (плотность – $2,4 \pm 0,9$ на 1 мм^2 , диаметр – $3,5 \pm 0,2$ мкм), то показатель плотности сосудов идентичен, а средний диаметр сосудов регенерации в 1-й группе больше на 33 %, чем во 2-й. Что же касается динамики плотности и среднего диаметра сосудов регенерации во 2-й группе по сравнению с предыдущими значениями, то они уменьшились на 59 и 41 %, соответственно.

Сосуды микроциркуляции в 1-й группе местами спавшиеся, пустые. Другие расширены с истонченной эндотелиальной выстилкой, плотностью $4,2 \pm 1,1$ на 1 мм^2 , диаметром $10,4 \pm 0,8$ мкм. Плотность сосудов несколько увеличилась по сравнению с предыдущим значением на 43 %, а вот средний диаметр, наоборот, уменьшился на 6 %. Во 2-й группе эти показатели меньше на 2 и 20 %, соответственно и составили: плотность – $4,1 \pm 0,8$ на 1 мм^2 , средний диаметр – $8,3 \pm 0,5$ мкм. Некоторые имеют щелевидный вид. Если сравнивать значения плотности и среднего диаметра сосудов во 2-й группе с предыдущими значениями, то плотность сосудов несколько увеличилась – на 32 %, а средний диаметр, наоборот, уменьшился – на 36 %.

На 40-е сутки от момента термической травмы сосуды микроциркуляции в 1-й группе сужены. Плотность и диаметр сосудов составили в 1-й группе $1,3 \pm 0,1$ на 1 мм^2 и $6,5 \pm 0,4$ мкм, что меньше показателей предыдущего измерения на 69 и 37,5 %, соответственно, и меньше показателей интактной кожи на 13 и 16 %, соответственно. Во 2-й группе показатели плотности и диаметра сосудов микроциркуляции составили $1,7 \pm 0,2$ на 1 мм^2 и $8,0 \pm 0,5$ мкм, что меньше предыдущего значения на 59 и 4 %, соответственно, но несколько больше плотности и диаметра сосудов микроциркуляции интактной кожи на 12 и 4 %, соответственно.

Таким образом, в дерме наблюдалось выраженное расширение просвета сосудов микроциркуляции с увеличением их плотности в 1-е и 3-и сутки исследования. В первые несколько суток сохранялись микроциркуляторные расстройства, такие как периваскулярный отек, эритроз, лейкостаз. Затем во 2-й группе наблюдалась тенденция к стиханию гиперемических проявлений и к 25-м суткам достоверного отличия от интактной кожи не имела.

В 1-й же группе в начальные сроки наблюдалось значительное расширение сосудов микроциркуляции, эта тенденция продолжалась до 25-х суток исследования. К концу исследования (на 40-е сутки) сохраняющиеся процессы перестройки кровеносного русла привели к снижению диаметра и плотности сосудов микроциркуляции.

Во 2-й группе с 7-х суток наблюдалось появление тонкостенных новообразованных сосудов в более глубоких слоях дермы, из которых происходит их прорастание в более поверхностные слои, в 1-й группе подобное явление происходило с 10–15-х суток исследования, на 7-е сутки полностью отсутствовали новообразованные сосуды, более того, существующие сосуды были тромбированы. Раннее появление новообразованных сосудов в дерме приводит к нормализации обменных процессов, выраженному снижению отечных явлений в дерме, что ведет к ускорению регенерации эпидермиса и дермы.

Характерно – на 10-е сутки в группе лечения мазью Левомеколь появление сосудов регенерации синусоидного типа, количество и диаметр которых достигли максимума к 15-м суткам, а затем наблюдалось их постепенное снижение с полным исчезновением только к 40-м суткам.

Во 2-й группе наличие сосудов регенерации синусоидного типа было отмечено еще на 7-е сутки, когда наблюдалась максимальная их плотность и диаметр, с последующим снижением и практически полным исчезновением на 25-е сутки исследования.

На основании вышеизложенного можно заключить, что применение культивированных аутофибробластов, выращенных в среде с применением обогащенной тромбоцитами плазмы и Глицирама, активно стимулирует репаративные процессы в обожженной дерме, улучшая кровоснабжение и обмен веществ.

Литература

1. Полянина Д.А. Психотерапия больных с ожогами / Д.А. Полянина, Н.М. Енифанова, С.В. Смирнов // Российский медицинский журнал. 2005. № 3. С. 16–20.
2. Фисталь Э.Я. Комбустиология: учебник / Э.Я. Фисталь, Г.П. Козинец, Г.Е. Самойленко и др. Донецк, 2006. 315 с.
3. Парамонов Б.А. Ожоги: руководство для врачей / Б.А. Парамонов, Я.О. Порембский, В.Г. Яблонский. СПб.: СпецЛит, 2000. 480 с.
4. Дедовской С.Н. Анализ клинической эффективности применения фетальных и зрелых аллогенных диплоидных фибробластов в лечении пограничных ожогов / С.Н. Дедовской, Ю.Е. Бурда, В.А. Лазаренко // Успехи современного естествознания. 2008. № 9. С. 47–50.
5. Лаврухин Ю.Н. Методы лечения остаточных ран у обожженных / Ю.Н. Лаврухин, Е.В. Чеглаков., В.В. Арефьев // Вестник неотложной и восстановительной медицины. 2005. Т. 6. № 2. С. 386–387.
6. Патоморфологические изменения ожоговых ран после пересадки аллогенных фибробластов / Е.Г. Колокольчикова, Л.И. Будкевич, А.Э. Бобровиков и др. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2001. № 1. С. 107–111.
7. Федоров В.Д. Пластическое восстановление кожных покровов с использованием культивированных фибробластов / В.Д. Федоров, Д.С. Саркисов, А.А. Алексеев и др. // Анналы хирургии. 1996. № 4. С. 16–19.
8. Жилина Н.М. Сравнительный анализ кожной пластики традиционными методами и с использованием клеточной культуры фибробластов / Н.М. Жилина, В.Б. Иванов, Н.Н. Корень // Вестник новых медицинских технологий. 1997. Т. IV. № 1. С. 88–92.
9. Курамаева У.К. Способ нанесения термического ожога кожи на экспериментальных животных / У.К. Курамаева // Рац. предложение № 36/07 от 13.09.07. КГМА.