

РЕЗУЛЬТАТЫ АКТИВНОГО ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ ТЕРМИЧЕСКИХ ОЖОГОВ. ВЗАИМОСВЯЗЬ КЛИНИЧЕСКИХ РЕЗУЛЬТАТОВ С МОРФОЛОГИЧЕСКИМИ ИЗМЕНЕНИЯМИ И СОСТОЯНИЕМ ЛОКАЛЬНОГО ИММУННОГО ГОМЕОСТАЗА В ОЖОГОВЫХ РАНАХ

Мартыненко Е.Е.¹, Усов В.В.¹, Рева Г.В.¹, Обыденникова Т.Н.², Грибань П.А.², Митряшов К.В.¹, Гусева Е.В.¹, Рева И.В.¹

¹ФГАОУ ВО «Дальневосточный федеральный университет», Владивосток, e-mail: victus-vlad@yandex.ru;

²ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет Минздрава России», Владивосток, e-mail: vl.tamara.n@yandex.ru

Была изучена динамика процессов репаративной регенерации в ожоговой ране и в аутодермотрансплантате на фоне аутодермопластики, проводимой в разные сроки после термической травмы. Исследования проведены на 62 больных с дермальными ожогами III степени площадью от 10 до 20%, индексе Франка 30-60 ед. Морфологические изменения в ране в разные сроки после ожогов оценивали после окраски препаратов гематоксилин-эозином. Для количественной оценки регенераторного потенциала тканей ожоговой раны изучали экспрессию гена Ki-67. Проведена иммуногистохимическая идентификация иммунокомпетентных клеток (клеток Лангерганса, макрофагов, CD-4, CD-8). Пролиферативная активность клеток всех структур, формирующих ожоговую рану, а также эндотелия капилляров достигала максимума на 7-е сутки после травмы, а затем начинала снижаться. Максимальная плотность капилляров кожи на границе с раной также определялась на 7-8-е сутки. Эти сроки, согласно нашим клиническим, морфологическим и гистохимическим исследованиям, являются оптимальными для полного укрытия ожоговых ран. Активное хирургическое лечение включало раннюю некрэктомию и раннюю аутодермопластику. Наилучшие результаты лечения получены при завершении лечения в оптимальные сроки. При аутодермопластике, выполненной в поздние сроки, увеличивался процент лизиса пересаженной кожи, что было связано с нарушением репаративных процессов, патологическим ангиогенезом. Выявлено, что повышенная активность CD8+, макрофагов и клеток Лангерганса может приводить к неинфекционному разрушению трансплантата.

Ключевые слова: термические ожоги, активное хирургическое лечение, локальный иммунный гомеостаз, макрофаги, клетки Лангерганса, CD4. CD8.

RESULTS OF THE ACTIVE SURGICAL TREATMENT OF THERMAL BURNS. RELATIONSHIP BETWEEN CLINICAL RESULTS AND MORPHOLOGICAL CHANGES AND STATUS OF LOCAL IMMUNE HOMEOSTASIS IN BURNING WOUNDS

Martynenko E.E.¹, Usov V.V.¹, Reva G.V.¹, Obydennikova T.N.², Griban P.A.², Mitryashov K.V.¹, Guseva E.V.¹, Reva I.V.¹

¹Far Eastern Federal University, Vladivostok, e-mail: victus-vlad@yandex.ru;

²Pacific State Medical University, Vladivostok, e-mail: vl.tamara.n@yandex.ru

The dynamics of the reparative regenerative processes in the burn wound and in the autologous dermal grafts was studied against the background of the wound covering performed out at different times after the thermal trauma. The studies were carried out on 62 patients with dermal burns of the third degree with the total body surface area (%TBSA) from 10 to 20%, the Frank index of 30-60 points. Morphological changes in the wound at different times after burns were evaluated after staining the patterns with hematoxylin-eosin. Expression of the Ki-67 gene was studied to quantify the regenerative potential of burn wound tissues. Immunohistochemical identification of immunocompetent cells (Langerhans cells, macrophages, CD4, CD-8) was performed. The proliferative activity of the cells of all the structures forming the burn wound, as well as the endothelium of the capillaries, reached a maximum on the 7th day after the trauma, and then began to decrease. The maximum density of capillaries of the skin at the border with the wound was also determined at 7-8 days. These terms according to our clinical, morphological and histochemical studies are optimal for the complete cover of burn wounds. Active surgical treatment included the early necrectomy and the early autologous dermal grafting. In cases of dermal covering of wounds performed at the later time the percentage of lysis of the transplanted skin increased, which was associated with a disruption of reparative processes, pathological angiogenesis. It was found that the increased activity of CD8+, macrophages and Langerhans cells can lead to non-infectious destruction of the graft.

Keywords: thermal burns, active surgical treatment, local immune homeostasis, macrophages, Langerhans cells, CD4, CD8.

Ожоги остаются одной из актуальных проблем современной медицины. По данным ВОЗ, в 2004 году во всем мире 11 млн человек получили тяжелые ожоги и нуждались в экстренной медицинской помощи [1]. В США ежегодно регистрируется 410-450 тыс. обожженных (136–140 на 100 000 населения), из них госпитализируется не менее 40 000 [2]. В 2013 году было зарегистрировано 3 400 погибших от термической травмы [3]. В Российской Федерации в 2014 году было зафиксировано 280 000 обожженных [4], из них 6% были госпитализированы. Общая летальность среди взрослых обожженных составляет 7,2%, а при глубоких, обширных ожогах – 13-14% [5]. Подобная закономерность отмечается и в Приморском крае.

Воздействие высокой температуры ведет к локальному повреждению кожных покровов, как следствие, к нарушению защитных функций покровных тканей и интоксикации организма продуктами распада в очаге повреждения с последующим нарушением гемодинамики, микроциркуляции, приводящим к шоку и развитию комплекса патологических процессов во всем организме и самой коже в области повреждения [6].

Результаты лечения и выздоровление тяжелообожженных находится в прямой зависимости от того, как скоро будет восстановлен утраченный кожный покров [7]. Современная инфузионная терапия и другие приёмы реанимации позволяют в большинстве случаев справиться с ожоговым шоком и восстановить нарушенный гомеостаз [8]. Большинство летальных исходов у обожженных в настоящее время отмечается в последующих стадиях ожоговой болезни и связано с прогрессирующей интоксикацией, ожоговым истощением, развитием гнойно-септических осложнений, приводящих к синдрому полиорганной недостаточности и гибели пострадавших [9].

При значительных успехах, достигнутых в реконструктивной и пластической хирургии, в разработке новых методов оперативных вмешательств, многие вопросы лечения и реабилитации больных, получивших термическую травму, остаются нерешёнными.

В настоящее время общепризнанно, что в лечении обожжённых патогенетически обоснованной является ранняя хирургическая некрэктомия с одномоментной или отсроченной аутодермопластикой. Однако возможность применения этого метода ограничена при ожогах, занимающих значительную поверхность тела. Недостаточная площадь донорских участков является фактором, отдаляющим момент аутодермопластики. Кроме того, сами участки эксплантации являются фактором значительного болевого воздействия на пациента, увеличивают площадь ран, нуждающихся в заживлении [10]. Кроме того, несмотря на современные достижения медицинской науки, для оценки

готовности ран к аутодермопластике используются только клинические методы, которые нельзя считать объективными при выставлении показаний к проведению хирургических мероприятий.

Наименее исследованным вопросом в лечении ожоговых больных является выработка гистологических критериев готовности раны к некрэктомии и одномоментной аутодермопластике [11; 12]. Вопросы развития репаративных процессов и ангиогенез в приживленном аутодермотрансплантате также остаются пока малоизученными и являются предметом острых дискуссий.

Цель исследования

Целью нашего исследования является усовершенствование методов активного хирургического лечения тяжелообожженных, определение оптимальных сроков аутодермотрансплантации, сокращение сроков нахождения больных в стационаре.

Задачи исследования

Изучить динамику репаративной регенерации в ожоговой ране и в аутодермотрансплантате на фоне аутодермопластики, проведенной в разные сроки после термической травмы.

Выработать морфологические критерии приживления аутодермотрансплантата путем изучения содержания клеток макроцитарно-макрофагального ряда.

На основе изучения репаративной активности клеточных элементов ожоговой раны разработать рекомендации для определения оптимальных сроков аутодермопластики.

Материалы и методы

В основу работы положены исследования 62 больных в возрасте от 18 до 60 лет с термическими ожогами, находившихся на лечении в Приморском ожоговом отделении ФБГОУ «Дальневосточный окружной медицинский центр» ФМБА России в период с 2007 по 2015 год. Критериями включения было наличие ожогов IIIA-IIIБ степени площадью от 10 до 20% поверхности тела, индекс Франка 30-60 ед. Критериями исключения было наличие у пострадавших большой площади поверхностных ожогов I и II степени, а также глубоких IV степени.

Для исследования динамики морфологических изменений у всех пациентов после получения письменного добровольного согласия из ожоговых ран под местной анестезией был взят биопсийный материал. Размер биоптатов составлял 2-3 мм³. В зависимости от целей исследования материал забирался в разные сроки.

В зависимости от сроков укрытия ожоговых ран все пациенты были разделены на 2 группы: в первую вошли пострадавшие, которым окончательный этап аутодермопластики

был выполнен в первые 7-14 суток (32 человека), во вторую – окончательное укрытие ран в более поздние сроки (30 пациентов).

Морфологические изменения в ране оценивали после окраски препаратов гематоксилин-эозином. Для количественной оценки регенераторного потенциала тканей ожоговой раны изучали экспрессию гена Ki-67 с применением панели моно- и поликлональных антител к этому антигену с последующим окрашиванием гематоксилином. Проведена иммуногистохимическая идентификация иммунокомпетентных клеток (клеток Лангерганса, макрофагов, CD-4, CD-8) по одинаковой схеме, несмотря на различную локализацию антигена в клеточных структурах: мембраны, лизосомы, ядра, комплекс Гольджи.

Все пациенты получали стандартизированное лечение: инфузионную, антибактериальную терапию, препараты с целью профилактики острых стрессовых язв верхних отделов желудочно-кишечного тракта, ДВС-синдрома.

В местном лечении придерживались активного хирургического подхода с целью максимально раннего удаления некротических тканей. Так, хирургическая некрэктомия была выполнена у 24 (38,7%) пострадавших, некротическую некрэктомия проводили у 5 (8,1%) больных, самостоятельное отторжение струпа происходило у 33 (53,2%) обожженных.

Полученные данные статистически обработаны на ПК с использованием программы Excel 2010 для Windows 10. Проведено вычисление средней величины показателя (M), ошибки средней ($\pm m$), квадратического отклонения ($\pm \sigma$). Достоверность различий между сравниваемыми показателями устанавливалась по коэффициенту достоверности Стьюдента-Фишера (P).

Результаты исследования и обсуждение полученных результатов

При гистологическом исследовании биоптатов на 1-е и 2-е сутки после ожоговой травмы в патологическом очаге регистрировались участки кровоизлияний и наблюдалось незначительное увеличение количества кровеносных сосудов в подлежащей к эпидермису или к раневой поверхности рыхлой волокнистой соединительной ткани. В области, граничащей с зоной повреждения, регистрировали невысокую пролиферативную активность камбиальных элементов. В шиповатом слое, а также в стенках волосяных фолликулов и в сальных железах активность гена Ki67 отсутствовала. Эндотелий кровеносных сосудов также содержал небольшое количество пролиферирующих клеток (табл. 1).

Таблица 1

Характеристика пролиферативной активности структурных элементов кожи в разные сроки после травмы

Структуры	Кол-во клеток с меткой Ki67 в поле зрения, по суткам							
	1	2	3	4	5	6	7	8 и >
Эпидермис:								
1. Базальный слой	2±0,1	6±0,2	34±1,5	48±2,8	51±4,8	62±2,3	74±3,6	61±2,8
2. Шиповатый слой	-	2±0,1	17±1,3	29±1,6	32±2,3	32±1,1	35±1,7	-
3. Зернистый слой	-	-	4±0,2	6±1,2	-	-	-	-
Дерма:								
1. Волосяные фолликулы	7±0,1	11±0,4	19±0,3	31±1,1	55±4,1	69±5,4	32±2,7	20±1,6
2. Фиброциты	10±0,4	18±0,9	47±3,8	64±2,9	73±6,7	81±5,6	40±3,1	21±1,7
3. Гландулоциты	3±0,1	6±0,2	15±0,6	28±1,3	41±3,8	59±4,5	43±2,9	27±2,1
4. Эндотелий	2±0,05	5±0,3	9±0,2	19±1,4	41±3,7	52±4,2	37±2,9	24±1,3
Гиподерма:								
1. Адипоциты	3±0,05	11±0,8	16±0,9	23±1,7	47±2,3	61±3,4	31±2,6	28±1,1
2. Фиброциты	12±0,4	17±1,1	29±0,7	45±2,8	57±4,8	72±2,1	53±4,9	31±2,4
3. Эндотелий	2±0,05	7±0,2	19±1,7	29±1,1	45±3,8	51±4,8	33±2,6	17±1,1

Достоверное различие $P < 0.05$.

К 3-4-м суткам регенераторный потенциал кожи, прилежащей к зоне повреждения, увеличивался. На границе живой и погибшей ткани обнаруживали эпителиальные клетки с включением гена Ki67. На 5-е и 6-е сутки количество пролиферирующих клеток во всех структурах кожи возрастало, достигая максимума на 7-й день. Параллельно нарастала пролиферативная активность в эндотелии микрососудов. Начиная с 7-8-го дня пролиферативная активность всех структур кожи в зоне ожогового поражения начинала снижаться.

Количественный анализ плотности капиллярной сети кожи показал, что плотность капилляров нарастает начиная с 7-8-х суток, затем находится приблизительно на одинаковом уровне до 9-14-х суток. В более поздние сроки происходит некоторое снижение этого показателя (табл. 2).

Таблица 2

Плотность капилляров в коже, окружающей ожоговую рану

Показатель	Сутки со дня травмы					
	1-3	7-8	10-12	14-18	21-24	28-35
Число капилляров на 1 мм ² среза	42±2,5	48±2,3	47±3,4	44±2,0	39±3,2	27±2,8

Анализ изменения численности CD8⁺ и CD4⁺ клеток в эпителии показывал, что их количество находится в зависимости от исходов репаративных процессов. Нами найдено, что при полном приживлении трансплантата количество CD8⁺ увеличивается менее чем в 2 раза к 5-7-м суткам и к 14-15-м суткам остается незначительно повышенным от исходного

уровня. При полном лизисе трансплантата их содержание увеличивается в три раза и остаётся высоким и на 18-21-е сутки. При изучении CD4⁺ найдено, что в случае полного приживления аутодермотрансплантата их количество незначительно увеличивается к 5-7-м суткам, остается на том же уровне до 15 суток, а затем быстро возвращается к исходному уровню. При полном лизисе количество этих клеток остаётся повышенным длительное время, но этот показатель не является достоверным (табл. 3, 4).

Таблица 3

Динамика содержания CD4⁺ в ожоговой ране, укрытой в разные сроки после термической травмы

Сроки АДП	№	Количество клеток в поле зрения (по суткам после аутодермопластики)				
		1-3	5-7	9-12	14-15	18-21
АДП до 7 суток	18	3,5±0,05	4,2±0,3	4,3±0,2	4,0±0,3	3,8±1,7
АДП после 14 суток (полное приживление)	18	3,8±0,2	4,6±0,07	4,2±0,2	4,1±0,1	3,9±0,09
АДП после 14 суток (полный лизис)	14	4,2±0,05	5,0±0,05	4,8±0,02	5,0±0,2	4,8±0,1

Достоверное различие I, II и III группы P < 0.2.

Таблица 4

Динамика содержания CD8⁺ в ожоговой ране, укрытой в разные сроки после термической травмы

Сроки АДП	№	Количество клеток в поле зрения (по суткам после аутодермопластики)				
		1-3	5-7	9-12	14-15	18-21
АДП до 7 суток	18	12±0,5	20±0,3	18±0,5	16±0,5	10±0,1
АДП после 14 суток (полное приживление)	18	11±0,3	23±0,05	20±0,2	18±0,3	3,9±0,1
АДП после 14 суток (полный лизис)	14	10±0,2	30±0,4	28±0,3	28±0,3	24±0,2

Достоверное различие I, II и III группы P < 0.05.

В ожоговых ранах, укрытых в сроки до 7-9-х суток, исследовали содержание макрофагов и клеток Лангерганса в биоптатах, полученных на границе аутодермотрансплантата и неповрежденной кожи. Найдено, что в случае полного приживления аутодермотрансплантата содержание клеток Лангерганса резко возрастает начиная с первых суток после аутодермопластики, достигает максимального значения на 3-и сутки и остается на высоком уровне до 7-го дня, что соответствует разворачиванию активных процессов ангиогенеза и приживления кожного лоскута. После завершения процессов формирования единой сосудистой сети раневого ложа и аутодермотрансплантата количество этих клеток резко снижается. Аналогичная картина наблюдается при изучении макрофагов в ожоговой ране, что свидетельствует о формировании жизнеспособного кожного лоскута и наличии небольшого количества антигенного материала, нуждающегося в утилизации (табл. 5, 6).

Таблица 5

Динамика иммунокомпетентных клеток в ожоговой ране, укрытой АДТ на 7-9-е сутки после травмы, в разные сроки после АДП (приживление)

Тип клеток	Количество клеток в поле зрения (по суткам после аутодермопластики)								
	1	3	5	7	9	12	14	18	21
Клетки Лангерганса	13 ±0,7	54 ±3,6	47 ±4,1	46 ±2,7	43 ±3,3	32 ±1,2	21 ±0,9	16 ±0,3	12 ±1,1
Макрофаги	22 ±1,8	32 ±1,7	39 ±2,1	48 ±3,6	29 ±2,2	22 ±1,7	17 ±0,6	14 ±1,1	9 ±0,6

* P < 0.05.

Таблица 6

Динамика иммунокомпетентных клеток в ожоговой ране, укрытой АДТ на 7-9-е сутки после травмы, в разные сроки после АДП (лизис)

Тип клеток	Количество клеток в поле зрения (по суткам после аутодермопластики)								
	1	3	5	7	9	11	14	18	21
Клетки Лангерганса	14 ±0,9	43 ±2,2	49 ±3,3	52 ±4,3	48 ±4,2	46 ±1,9	52 ±4,3	38 ±3,2	26 ±1,1
Макрофаги	20 ±0,7	37 ±2,3	46 ±3,9	53 ±4,3	51 ±4,4	47 ±3,1	39 ±2,3	41 ±2,1	24 ±1,1

* P < 0.05.

Выявленные нами закономерности регенеративных процессов в ожоговой ране легли в основу хирургической тактики лечения ожоговых ран. Местное лечение проводилось с учётом тяжести ожоговой травмы на основе комплексного подхода, определённого как «активная хирургическая тактика лечения ожоговых больных».

Как показано нашими морфологическими и гистохимическими исследованиями процессов, происходящих в ожоговых ранах, оптимальными сроками полного укрытия ожоговых ран являются 7–8-е сутки после травмы. На 9–14-е сутки условия для аутодермопластики сохраняются хорошими, но в ранах происходят явления формирования рубцовой ткани, склерозирование сосудов. В сроки позже 14 суток после травмы условия для аутодермопластики ухудшаются.

Нами были проведены исследования результатов аутодермопластики в зависимости от сроков выполнения окончательного этапа аутодермопластики. В группе, где полное укрытие раневых поверхностей выполнено в оптимальные сроки, полное приживление трансплантатов было у 81,3% прооперированных, частичный лизис - у 12,5%, полный лизис - у 6,3%. У пострадавших, для которых оперативный этап лечения был завершён на 9-14-е сутки, полное приживление кожных лоскутов произошло у 76,9%, что достоверно не отличается от предыдущей группы. Небольшим был процент прооперированных, у которых произошёл частичный или полный лизис трансплантатов. В группе, где заключительный этап аутодермопластики был выполнен позже 14 суток после травмы, полное приживление кожного лоскута произошло только у 65,6% больных, что достоверно хуже, чем в других группах. Высоким был процент пациентов с частичным или полным лизисом трансплантатов (табл. 7).

Таблица 7

Распределение больных с ограниченными глубокими ожогами в зависимости от результатов аутодермопластики (ИФ 31-45)

Сроки заключительного этапа АДП (сутки)	Полное приживление трансплантата		Частичный лизис трансплантата		Полный лизис трансплантата	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
до 7	13	81,3	2	12,5	1	6,3
9-14	10	76,9	2	15,4	1	7,7
Позже 14	21	65,6	3	9,4	8	25

Заключение и выводы

Согласно нашим клиническим, морфологическим и гистохимическим исследованиям процессов, происходящих в ожоговых ранах, оптимальными сроками полного укрытия ожоговых ран являются 7–8-е сутки после травмы. В ожоговой ране после аутодермопластики, выполненной в поздние сроки, отмечается нарушение репаративных процессов, связанных с патологическим ангиогенезом, агрессивной реакцией иммунокомпетентных клеток, приводящих к неинфекционному разрушению трансплантата, к его лизису.

Диагностическими критериями лизиса трансплантата могут быть клетки CD8⁺ макрофаги и клетки Лангерганса.

Список литературы

1. Burns [Электронный ресурс]. – World Health Organization, 2016. - URL: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs365/en/> (дата обращения: 24.07.2017).
2. Handbook of burns. Vol. 1. Acute burn care / M.G. Jeschke, L-P. Kamolz, F. Sjöberg, S.E. Wolf. – Wien: Springer-Verlag, 2012. – 493 p.
3. Burn Incidence and Treatment in the United States: 2016 [Электронный ресурс]. – American Burn, 2017. - URL: <http://ameriburn.org/who-we-are/media/burn-incidence-fact-sheet/> (дата обращения: 24.07.2017).
4. Здоровоохранение в России. 2015: Статистический сборник / Федеральная служба государственной статистики. – М.: Росстат, 2015. – 174 с.
5. Алексеев А.А., Тюрников Ю.И. Основные статистические показатели работы ожоговых стационаров Российской Федерации за 2015 год [Электронный ресурс] // Комбустиология. – 2016. - № 55-56. – URL: <http://combustiology.ru/journal/tezisy-konferentsii/> (дата обращения: 24.07.2017).
6. Pham T.N., Cancio L.C., Gibran N.S. American Burn Association practice guide burn shock resuscitation // J. Burn Care Res. - 2008. - Vol. 29. – N 1. - P. 257–266; DOI:10.1097/BCR.0b013e31815f3876.
7. Puri V., Khare N.A., Chandramouli M.V. et al. Comparative Analysis of Early Excision and Grafting vs Delayed Grafting in Burn Patients in a Developing Country // J. Burn Care Res. - 2016. - Vol. 37. – N 5. - P. 278-282. doi:10.1097/BCR.0b013e31827e4ed6.
8. Клинические рекомендации по оказанию медицинской помощи пострадавшим с термической травмой в чрезвычайных ситуациях / ред. Шабанов В.Э., Саввин Ю.Н., Алексеев А.А., Крутиков М.Г., Бобровников А.Э., Деменко В.В. – М.: Б.и., 2015. – 37 с. – URL: <http://www.kuzdrav.ru/node/3143/> (дата обращения: 24.07.2017).

9. Dries D.J. Management of burn injuries – recent developments in resuscitation, infection control and outcomes research // *Scand. J. Trauma Resusc. Emerg. Med.* - 2009. - Vol. 17. – N 1. - P. 1-14. doi:10.1186/1757-7241-17-14.
10. Rowan M.P., Cancio L.C., Elster E.A. et al. Burn wound healing and treatment: review and advancements // *Crit Care.* - 2015. - Vol. 19. – N 6. - P. 243-253. doi: 10.1186/s13054-015-0961-2.
11. Юрова Ю.В. Диагностика готовности гранулирующих ожоговых ран к свободной аутодермопластике: автореф. дис. ... канд. мед. наук. – СПб., 2014. – 21 с.
12. Горшеев А.Н. Ранняя профилактика гнойно-септических осложнений у тяжелообожженных: автореф. дис. ... канд. мед. наук (14.00.27) / Владивосток. гос. мед. ун-т. - Владивосток, 2006. - 23 с.