

Опыт использования биологических покрытий в комплексном лечении обширных ожоговых ран

В. С. Борисов, К.М.Н.
А. В. Сачков, К.М.Н.
М. Ю. Каплунова, врач
Г. П. Титова, Д.М.Н.
Н. В. Боровкова, Д.М.Н.
И. Н. Пономарев, К.М.Н.
А. С. Миронов, К.М.Н.

Ожоговый центр ГБУЗ г. Москвы «Научно-исследовательский институт скорой помощи имени Н.В. Склифосовского» Департамента здравоохранения г. Москвы

Experience in use of biological coatings in complex treatment of extensive burn wounds

V.S. Borisov, A.V. Sachkov, M. Yu. Kaplunova, G.P. Titova, N.I. Borovkova, I.N. Ponomaryov, A.S. Mironov
 Research Institute of Emergency Care n.a. N.V. Sklifosovsky, Moscow, Russia

Резюме

В статье представлен опыт успешного оперативного лечения пациента с обширной термической травмой с использованием биологических раневых покрытий на основе аллогенной кожи (аллогенная криоконсервированная кожа, дермальный матрикс) после выполнения некрэктомии. Проведена оценка каждого из представленных биологических покрытий на основе их клинической эффективности (общее состояние пациента, течение раневого процесса, сроки подготовки раны к аутодермопластике) и результатов микроскопического исследования гистологического материала в период подготовки ран к пересадке аутоотрансплантатов.

Ключевые слова: ожог, дермальный матрикс, аллокожа, аутодермопластика.

Summary

The article presents the experience of successful surgical treatment of a patient with a severe burn injury using biological wound coatings with cadaveric skin grafts and dermal matrix after wound debridement. Each of the presented biological coatings was evaluated on the basis of their clinical effectiveness (general condition of the patient, stage of the wound-healing process) and the results of microscopic examination of histological material during preparation of wounds for autotransplantation.

Key words: burn, dermal matrix, cadaveric skin, autograft.

Введение

Современным стандартом лечения ожогов является ранняя некрэктомия с одномоментной или отсроченной аутодермопластикой (АДП) [1]. При выполнении подобных операций актуальна проблема выбора раневых покрытий, способных обеспечить временное закрытие раны и подготовить ее к аутодермопластике. Известно, что существующие синтетические раневые покрытия уступают биотрансплантатам в связи с полным отсутствием биологического соответствия. Отсутствие таких биологических покрытий, как консервированная донорская кожа или ксенотрансплантаты, ограничивает широкое внедрение этого метода лечения в ожоговых стационарах [1, 2]. В мировой практике применение трупной кожи является общепризнанным стандартом в хирургическом лечении ожогов [2, 3, 4, 5]. Наиболее эффективным считается применение аллотрансплантатов кожи при ожогах свыше 30 % поверхности тела (п.т.) [6]. В связи с этим очевидна перспективность разработки биотехнологических методов временного замещения кожного покрова, в частности применение децеллюлированной (бесклеточной) трупной кожи [7]. Основными преимуществами этого материала являются состав и организация используемой дермы, аналогичные собственной дерме пациента, позволяющие использовать ее как временное биологическое покрытие. В бесклеточной трупной коже отсутствуют иммунногенные факторы,

которые могут привести к отторжению донорского материала. В то же время сохранены структура и состав матрикса кожи.

В настоящее время отделением биотехнологий и трансфузиологии НИИ скорой помощи имени Н.В. Склифосовского изготавливаются два типа временных раневых покрытий на основе аллогенной кожи.

Аллогенная криоконсервированная кожа – раневое покрытие, представляющее собой эпидермальный слой кожи с сохраненными жизнеспособными клетками донора. Для изготовления аллотрансплантата у донора-трупа с соблюдением правил асептики и антисептики по стандартной методике забирают дерматомом расщепленный лоскут кожи толщиной до 0,5 мм. Затем биологический материал помещают в стерильную емкость с глицеролом и замораживают до –80 °С. В итоге большая часть клеток кожи остаются жизнеспособными, а также сохраняется структура волокон межклеточного матрикса (рис. 1 А). При этом глицерол является не только эффективным криопротектором, но и обладает антибактериальными и противовирусными свойствами [7].

Дермальный матрикс – раневое покрытие, представляющее собой дермальный слой кожи, лишенный всех донорских клеток (рис. 1 Б). Для этого расщепленный лоскут аллогенной кожи подвергают криодеструкции путем

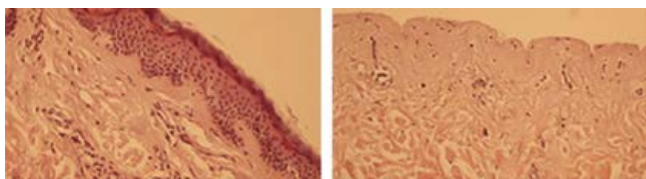


Рисунок 1. Строение аллогенной криоконсервированной кожи (А) и дермального матрикса (Б).



Рисунок 2. Внешний вид ожоговых ран при поступлении: А – правое бедро; Б – левое бедро.



Рисунок 3. Раны после некрэктомии: А – правое бедро; Б – левое бедро.



Рисунок 4. Послеоперационная рана на левом бедре закрыта дермальным матриксом.

трехкратного замораживания до -196°C и нагревания до $+37^{\circ}\text{C}$. Затем биоматериал помещают в гипертонический раствор хлористого натрия до полного отслоения эпидермиса. Для удаления из межклеточного вещества фрагментов разрушенных клеток проводят децеллюляризацию с помощью растворов детергентов (0,2 %-ного раствора додецилсульфата натрия). В заключение для полного удаления токсических продуктов многократно

обрабатывают трансплантат физиологическим раствором с контролем на биосовместимость в культуре фибробластов человека.

На рис. 1 А при микроскопическом исследовании видно, что аллогенная криоконсервированная кожа имеет типичное для кожи строение, в то же время на рис. 1 Б представлено раневое покрытие, состоящее из белков межклеточного матрикса дермы и имеющее однородную волокнистую структуру.

Клинический случай

Пациент Б., 48 лет, поступил в ожоговый центр НИИ скорой помощи имени Н. В. Склифосовского с диагнозом «ожог пламенем II–III степени 30 % (III степени – 12 %) п. т. по МКБ-10».

При поступлении на осмотре комбустиологом выявлен следующий характер повреждения кожных покровов: ожоговые раны I степени в виде гиперемии на площади 5 % п. т. в области грудной клетки, левого плеча; ожоговые раны II степени в виде участков десквамации эпидермиса, эрозивных поверхностей с налетом фибрина на площади 13 % п. т. в области правого плеча, обоих предплечий, передней брюшной стенки, обеих голеней, мошонки, паховых областей, корня полового члена; ожоговые раны III степени в виде сформированного толстого плотно фиксированного сухого некроза с участками влажных поверхностей на площади 12 % п. т. в области передней брюшной стенки, тела и крайней плоти полового члена, обоих бедер, голеней (рис. 2).

В ожоговом центре проводилось патогенетическое и симптоматическое лечение, которое включало в себя инфузионно-трансфузионную (глюкозо-солевые растворы, свежесамороженная плазма), антибактериальную, гастропротекторную, антикоагулянтную терапию. В анализах крови отмечено наличие признаков интоксикации: рост количества лейкоцитов до $20,36 \times 10^9$; палочкоядерный сдвиг (метамиелоциты – 1 %, палочкоядерные нейтрофилы – 20 %, сегментоядерные нейтрофилы – 64 %); гипопротеинемия (общий белок – 54,16 г/л).

На 9-е сутки с момента травмы под спинномозговой анестезией электродерматомом с зазором 0,7–0,8 мм выполнена тангенциальная некрэктомия на площади 12 % п. т. с обнажением глубоких слоев дермы и подкожно-жировой клетчатки (рис. 3). Интраоперационная кровопотеря составила 300 мл.

Учитывая высокий риск развития лимфостаза нижних конечностей и вероятность грубого косметического дефекта при радикальном удалении условно жизнеспособной подкожно-жировой клетчатки до глубокой фасции области обоих бедер, было принято воздержаться от более глубокой некрэктомии. Для закрытия послеоперационных ран были применены временные биологические покрытия: на послеоперационные раны области правого бедра – аллогенная кожа, криоконсервированная в растворе глицерина; на послеоперационные раны области левого бедра – дермальный матрикс (рис. 4).

В ближайшем послеоперационном периоде отмечено улучшение состояния пациента. Нормализовалась

температура тела. В анализах крови отмечено снижение лейкоцитоза до $16,30 \times 10^9/\text{л}$, уменьшение сдвига формулы крови влево (миелоциты – 1 %, палочкоядерные нейтрофилы – 13 %). Благодаря прекращению потери белка с раневых поверхностей уровень общего белка достиг 73,29 г/л. В послеоперационном периоде переливание СЗП больше не проводили.

На 3-и сутки после операции (27.09.2018) выполнена перевязка под внутривенным наркозом с одновременным забором гистологического материала с помощью punch-биопсии (punch-диаметр – 6 мм) в области внутренней поверхности бедер. При осмотре операционных ран, закрытых временными биологическими покрытиями, были отмечены особенности в течении раневого процесса в зависимости от вида применяемого раневого покрытия. В месте применения аллогенной криоконсервированной кожи отмечен ее лизис с формированием неровных бледных отечных грануляций (рис. 5). Гистологически отмечено, что сохранялся контакт аллокожи с подкожно-жировой тканью раны при наличии широкого воспалительного вала между ними без вовлечения в воспаление ткани трансплантата (рис. 6 А). На поверхности жировой ткани после удаления аллокожи сформировался узкий слой грануляционной ткани, инфильтрированной преимущественно лимфоцитами, плазмócитами и макрофагами с различными капиллярами без признаков нагноения (рис. 6 Б).

При использовании в качестве раневого покрытия дермального матрикса на 3-и сутки отмечена хорошая его фиксация к подлежащим тканям без признаков выраженного нагноения и отторжения (рис. 5 Б). Гистологически между подкожно-жировым слоем раны и дермальным матриксом имелся гнойный детрит с миграцией лейкоцитов между пучками коллагеновых волокон, что привело к их расслоению и расщеплению (рис. 7). Под матриксом в подкожно-жировой ткани раны можно видеть широкий слой смешанного воспалительного инфильтрата с умеренными признаками его распространения на жировую ткань.

На 7-е сутки после применения временных биологических покрытий на послеоперационные раны (01.10.2018) выполнена перевязка под внутривенным наркозом с повторным забором гистологического материала с помощью punch-биопсии (punch-диаметр – 6 мм) в области внутренней поверхности обоих бедер для морфологической оценки состояния подлежащих тканей. Клинически при осмотре послеоперационных ран было отмечено, что на месте наложения аллокожи на правом бедре имелось активное отторжение остаточных его участков с формированием полноценных гранулирующих ран ярко-красного цвета, в то время как дермальный матрикс оставался плотно фиксированным к ране (рис. 8).

Гистологически через 7 суток раневая поверхность в области наложения аллокожи была представлена жировой тканью с нешироким слоем рыхлой многоклеточной соединительной ткани (грануляции), инфильтрированной клетками воспаления без нагноения, с миграцией фибробластов, лимфоцитов по узким соединительнотканым прослойкам жировой клетчатки.



Рисунок 5. Третьи сутки после некрэктомии и укрытия ран биологическими покрытиями: А – лизис аллогенной криоконсервированной кожи (рана на правом бедре); Б – дермальный матрикс мумифицирован и фиксирован к подлежащим тканям (рана на левом бедре).

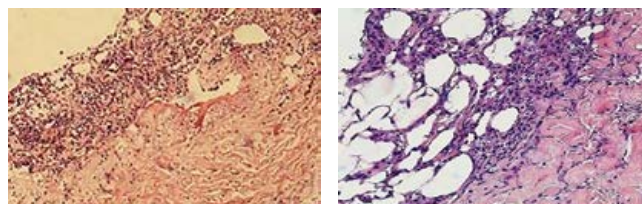


Рисунок 6. Микроскопическая картина раны на 3-и сутки после наложения аллотрансплантата кожи: А – зона нагноения между аллокожей и дном раны; Б – узкая зона грануляционной ткани поверхности ожоговой раны в зоне контакта дермы с аллотрансплантатом кожи. Окраска гематоксилином и эозином.

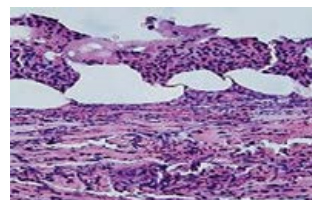


Рисунок 7. Третьи сутки после покрытия дермальным матриксом. Гнойно-некротический детрит с миграцией лейкоцитов в толщу с разобщением и фрагментацией волокон дермального матрикса. Окраска гематоксилином и эозином, ув. 200х.



Рисунок 8. Седьмые сутки после некрэктомии и укрытия ран биологическими покрытиями: А – формирующиеся гранулирующие раны области правого бедра; Б – дермальный матрикс мумифицирован и местами фиксирован к подлежащим тканям (рана на левом бедре).

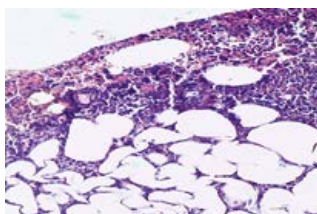


Рисунок 9. Через 7 суток после укрытия раневой поверхности ожоговой раны аллокожей. Узкий слой грануляционной ткани без признаков нагноения. Окраска гематоксилином и эозином, ув. 100х.

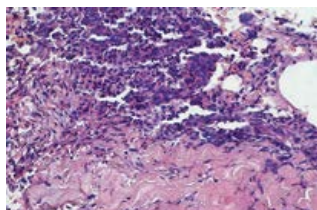


Рисунок 10. Через 7 суток – формирование воспалительного инфильтрата под дермальным матриксом. Окраска гематоксилином и эозином, ув. 100х.



А (× 40)



Б (× 100)

Рисунок 11. Десятые сутки после некрэктомии и закрытия ран биологическими покрытиями: А – гранулирующие раны правого бедра; Б – гранулирующие раны левого бедра.

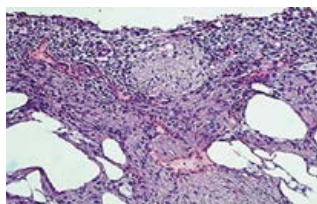


Рисунок 12. Десятые сутки после укрытия ран аллокожей. Зрелая грануляционная ткань с многочисленными кровеносными капиллярами, умеренно выраженной мононуклеарной воспалительной инфильтрацией. Окраска гематоксилином и эозином, ув. 100х.

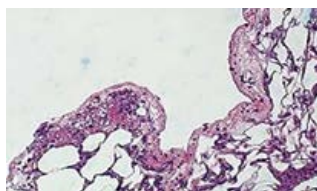


Рисунок 13. Десятые сутки после наложения дермального матрикса. Тонкий слой грануляционной ткани на поверхности подкожно-жирового слоя раны, единичные кровеносные капилляры. Окраска гематоксилином и эозином, ув. 100х.



Рисунок 14. Внешний вид ожоговых ран на 5-е сутки после аутодермопластики.

Малочисленные полнокровные капилляры были различимы на границе грануляционной и жировой ткани раны (рис. 9).

В эти же сроки наблюдения после имплантации дермального матрикса послеоперационная ожоговая рана при гистологическом исследовании была

выстлана его фрагментами, окруженными многоклеточной соединительной тканью, а между матриксом и дном раны имелся гнойный детрит с узкой полосой воспалительного инфильтрата (рис. 10).

На 10-е сутки после применения временных биологических покрытий на послеоперационные раны (04.10.2018) была выполнена перевязка под внутривенным наркозом с повторным забором гистологического материала с помощью punch-биопсии (punch-диаметр – 6 мм) в области внутренней поверхности обоих бедер для морфологической оценки состояния подлежащих тканей. *Status localis*: у пациента имелись раны в области передней брюшной стенки, бедер, голеней, правой стопы в виде легко травмируемых диапедезно-кровотокающих грануляций общей площадью 12% п.т. На дальнейших этапах местное лечение ожоговых ран с целью подготовки к аутодермопластике проводилось с помощью атравматических повязок с мазевыми компонентами. Обращал на себя внимание более выраженный процесс экссудации со стороны раны на правом бедре (в месте применения кадаверной кожи) в отличие от раны левого бедра (дермальный матрикс).

Гистологически через 10 суток после укрытия раны аллокожей поверхность раны была представлена зрелой грануляционной тканью, при этом сохранялась рыхлая лимфо-плазмноклеточная воспалительная инфильтрация с глубокими узкими инвагинатами – прослойками соединительной ткани вглубь подкожно-жирового слоя с многочисленными полнокровными кровеносными капиллярами (рис. 12).

На 10-е сутки после закрытия послеоперационной раны дермальным матриксом выявлено, что подлежащие ткани (подкожно-жировая клетчатка) были очищены от некротического и воспалительного детрита, поверхность была представлена тонким слоем грануляционной ткани с наличием соединительно-тканых участков в жировой клетчатке со слабо выраженной васкуляризацией (рис. 13).

Состояние пациента на момент выполнения аутодермопластики (16.10.2018) средней степени тяжести, субфебрилитет. Жалоб активно не предъявлял. Сон, аппетит сохранены. Язык влажный. По органам и системам – без особенностей. Физиологические отправления в норме. Клинический анализ крови (08.10.2018): гемоглобин – 116,00 г/л, эритроциты – $3,91 \times 10^{12}/л$, гематокрит – 35,3%, лейкоциты – $11,35 \times 10^9/л$, палочкоядерные нейтрофилы – 2%; тромбоциты – $466,00 \times 10^9/л$. Биохимический анализ крови (08.10.2018): общий белок – 72,06 г/л, билирубин общий – 8,20 мкмоль/л, мочевины – 7,52 мкмоль/л, глюкоза – 5,07 ммоль/л, K^+ – 3,92 ммоль/л. *Status localis*: у пациента имелись гранулирующие раны в области передней брюшной стенки, бедер, голеней, правой стопы общей площадью 12% п.т.

Под эндотрахеальным наркозом на 16-е сутки после выполнения некрэктомии и использования временных биологических покрытий была выполнена аутодермопластика на площади 12% п.т. Послеоперационный период протекал без осложнений. Отмечено полное приживление трансплантатов. Не отмечено лимфостазы со стороны нижних конечностей, нет дефицита объема ткани в области послеоперационных ран.

