

## СПОСОБ СТИМУЛЯЦИИ РАНЕВОГО ЗАЖИВЛЕНИЯ

ФЕДЯНИН С.Д., БУЯНОВА С.В.

Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, г. Витебск, Республика Беларусь

Вестник ВГМУ. – 2017. – Том 16, №5. – С. 62-67.

## THE METHOD FOR STIMULATION OF WOUND HEALING

FEDZIANIN S.D., BUYANOVA S.V.

Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Vitebsk, Republic of Belarus

Vestnik VGMU. 2017;16(5):62-67.

### Резюме.

Авторами разработан способ лечения обширных и вялогранулирующих ран, основанный на аутотрансплантации аспирата костного мозга.

В условиях операционной под местной анестезией иглой И.А. Кассирского выполняют стерильную пункцию и аспирируют красный костный мозг. Производят кюретаж раны ложкой Фолькмана. Аспират костного мозга, содержащий аутологичные стволовые клетки, наносят на раневую поверхность. Поверх кладут марлевые салфетки. Процедуру выполняют однократно при переходе 1 фазы раневого процесса во 2.

Определение площади ран проводили по методам Л.Н. Поповой (1942) и А.Н. Лызикова и соавт. (2008). Идентификацию микроорганизмов проводили с помощью тест-систем на автоматизированном биохимическом анализаторе АТВ Expression фирмы «bioMerieux». Обсемененность раневой поверхности определяли по методу В.Е. Родомана.

Пациентам выполнялась хирургическая обработка гнойно-воспалительных очагов с иссечением некротических тканей. Антибактериальная терапия осуществлялась с применением разработанных для отделения протоколов эмпирической терапии. Медикаментозное лечение было направлено на улучшение реологических свойств крови, местной микроциркуляции и трофики тканей.

Местное лечение ран проводилось согласно современным принципам лечения гнойных ран. Применялись антисептики (септомирин, мукосанин, диоксидин, йодискин, 3% раствор перекиси водорода), мази («Меколь», «Повидон-йод», «Репарэф-2», «Метилурацил», «Гентамицин»), гель «Септомирин-гель», повязка медицинская «ВАП-гель».

В рамках клинических испытаний метод применен у 5 пациентов с обширными и вялогранулирующими ранами различного происхождения и локализации, находившихся на лечении в отделении проктологии государственного учреждения здравоохранения «Витебская городская центральная клиническая больница» в период с 2015 по 2017 год. Получены положительные результаты.

*Ключевые слова:* гнойная рана, красный костный мозг, хирургическая инфекция.

### Abstract.

The authors have developed the method for treating extensive and sluggish wounds, based on the autotransplantation of bone marrow aspirate.

In the operating room under the local anesthesia with a I.A. Kassirsky needle sternal puncture was conducted and red marrow was aspirated. The curettage of the wound with a Folkman spoon was performed. The bone marrow aspirate, containing autologous stem cells was applied to the wound surface. The gauze wipes were put over it. The procedure was carried out once during the transition of the 1st phase of the wound process to the 2nd one. The wound area was determined according to the methods of L.N. Popova (1942) and A.N. Lyzikov et al. (2008). The identification of microorganisms was carried out with the help of test-systems on the automated biochemical analyzer АТВ Expression of the firm «bioMerieux». Dissemination of the wound surface was determined by the method of V.E. Rodoman.

Patients underwent surgical treatment with the excision of necrotic tissues. Antibacterial therapy was carried out using the

empirical therapy protocols, developed for the department of proctology. Medicinal treatment was aimed at improving the rheological properties of the blood, local microcirculation and tissue trophism.

Local treatment of the wounds was carried out according to modern principles of purulent wounds treatment. We used: antiseptics (septomyrin, mucosanin, dioxidine, iodiskin, 3% hydrogen peroxide solution), ointments («Mekol», «Povidone-iodine», «Reporef-2», «Metiluratsil», «Gentamycin»), the gel «Septomirin-gel», the medical dressing «VAP-gel».

As a part of clinical trials the method was applied in 5 patients with extensive and sluggish wounds of various origin and localization, who were treated at the department of proctology of the State Public Health Establishment «Vitebsk City Central Clinical Hospital» in the period from 2015 to 2017. The positive results were received.

*Key words: purulent wound, red marrow, surgical infection.*

Несмотря на значительные успехи медицинской науки, проблема лечения гнойных ран остается весьма актуальной, требующей существенных материальных затрат государства [1-4]. Особую сложность представляет заживление обширных и вялогранулирующих ран. Возможности применения многочисленных стандартных методов практически исчерпаны. Необходима разработка новых методов стимуляции регенерации и репарации пораженных тканей [5].

В Институте хирургии им. А.В. Вишневского Академии медицинских наук СССР был разработан метод лечения обширных ожоговых ран клеточными культурами культивированных фибробластов. После хирургической обработки раневой поверхности на нее наносят культуру выращенных фибробластов человека. После приживления клеток выполняют аутодермопластику расщепленным сетчатым аутотрансплантатом [6].

В Республике Беларусь С.И. Третьяком и соавт. (2011) разработан способ лечения гнойной раны с использованием аутологичных мезенхимальных стволовых клеток из жировой ткани у пациентов с трофическими язвами [2], который состоит из нескольких этапов: иссечение участка жировой ткани, выделение стволовых клеток жировой ткани, культивирование стволовых клеток, накопление клеточной биомассы *in vitro*, нанесение аутологичных стволовых клеток на рану в период формирования и созревания грануляционной ткани в виде клеточной суспензии или клеток на пленочном перевязочном материале [7].

Однако высокая стоимость клеточных технологий, необходимость наличия специального оборудования и расходных материалов обуславливают невозможность применения данных методик на уровне базового звена системы здравоохранения.

Весьма перспективными представляются методы трансплантации аутологичных материалов, содержащих различные типы клеток-предшественниц, обладающих высоким регенераторным потенциалом. Наиболее доступным источником мультипотентных стромальных клеток является красный костный мозг. Аспират костного мозга включает популяцию стволовых клеток, обладающих не только высокими возможностями регенерации, но и иммунорегуляторным, гемопоетическим действием, способностью к пролиферации и дифференцировке в элементы крови, ангиобласты, эндотелиоциты. Доказанный эффект их трансплантации - индукция и регуляция репаративных процессов [8].

Успешно начато применение аутомиелоаспиратов в сосудистой хирургии для непрямого ревазуляризации при облитерирующих заболеваниях артерий нижних конечностей. В 2007 году в Национальном институте хирургии и трансплантологии имени А.А. Шалимова Украины выполнено исследование возможности использования аутотрансплантации костного мозга и ревазуляризирующей остеотрепанации в комплексном лечении пациентов с хронической критической ишемией нижних конечностей. Результаты продемонстрировали устранение явлений критической ишемии, заживление ран стопы. Это позволило избежать высокой ампутации конечности в 88,2% случаев [5, 8]. В 2010 году были проведены исследования в Институте неотложной и восстановительной хирургии имени В.К. Гусака Украины. Выполнялась пересадка стволовых клеток костного мозга в мышцы голени у пациентов с хронической артериальной недостаточностью IIIa-IV стадии согласно классификации Покровского-Фонтейна. У всех пациентов через 2 месяца после операции отмечалось увеличение дистанции безболевого ходьбы. Показатели реги-

онарной гемодинамики достоверно улучшились у 88,9% пациентов [9].

Таким образом, необходимы дальнейшие исследования по применению аутотрансплантации аспиринов костного мозга в хирургии, в частности, в комплексном лечении гнойных ран.

Цель исследования – разработать способ лечения обширных и вялогранулирующих ран, основанный на применении аутотрансплантации аспиринов костного мозга.

### Материал и методы

Нами разработан способ лечения обширных и вялогранулирующих ран, основанный на применении аутотрансплантации аспиринов костного мозга (приоритетная справка на патент на изобретение «Способ лечения гнойной раны» (№ заявки а 20150290 от 22.05.2015 г.).

В условиях операционной под местной анестезией иглой И.А. Кассирского выполняют стерильную пункцию и аспирируют красный костный мозг. Производят кюретаж раны ложкой Фолькмана. Аспират костного мозга, содержащий аутологичные стволовые клетки, наносят на раневую поверхность. Поверх кладут марлевые салфетки. Процедуру выполняют однократно при переходе 1 фазы раневого процесса во 2.

В рамках клинических испытаний метод применен у 5 пациентов с обширными и вялогранулирующими ранами различного происхождения и локализации, находившихся на лечении в отделении проктологии государственного учреждения здравоохранения «Витебская городская центральная клиническая больница» в период с 2015 по 2017 год.

Внедрение способа одобрено комиссией по врачебной этике и деонтологии государственного учреждения здравоохранения «Витебская городская центральная клиническая больница».

Определение площади ран проводили по методам Л.Н. Поповой (1942) и А.Н. Лызикова и соавт. (2008). Метод Л.Н. Поповой заключается в следующем. Накладывали стерильный лист полиэтилена на рану и маркером наносили контуры раны на пленку. Полученный рисунок копировали на миллиметровую бумагу и подсчитывали площадь раны. Для определения площади раневой поверхности по методу профессора А.Н. Лызикова применяли источник света (фонарь) с разлинейными квадратами прозрачной насадкой. Выполняли определение площади квадрата сетки путем

свечения на миллиметровую бумагу, располагая источник света на фиксированном расстоянии от листа бумаги. Затем квадраты проецировали на рану, причем фонарь располагали от раны на таком же расстоянии, которое было до листа бумаги в момент калибровки. Площадь раны определяли путем подсчета световых квадратов на ране.

Цитологию раневого процесса изучали методом микроскопии мазков-отпечатков из ран по М.П. Покровской и М.С. Макарову (1942). Стерильное предметное стекло прикладывали к тому участку раны, который необходимо исследовать. Делали мазки-отпечатки с различных участков раны. Отпечаткам давали высохнуть на воздухе, затем их погружали в фиксатор - смесь спирта с эфиром в равных количествах. После выполняли окрашивание по методу Романовского-Гимзы и световую микроскопию.

Идентификацию микроорганизмов проводили с помощью тест-систем на автоматизированном биохимическом анализаторе АТВ Expression фирмы «bioMerieux». Для идентификации использовались тест-системы: ID 32 STAPH – для стафилококков, ID 32 E – для энтеробактерий, ID 32 GN – для грамотрицательных палочек. Кроме того, применялись системы для экспресс-идентификации микроорганизмов: rapid ID 32 A - для анаэробной флоры, rapid ID 32 STREP - для стрептококков, rapid ID 32 E - для энтеробактерий. Создание анаэробных условий осуществлялось с помощью систем «Анаэропак H<sub>2</sub>+CO<sub>2</sub>», наборов «Generbox anaer + indicator» фирмы «bioMerieux», «Gas Pak Plus» фирмы Becton Dickinson. Транспортировку и культивирование анаэробов производили на бульоне Schaedler фирмы Becton Dickinson.

Обсемененность раневой поверхности определяли по методу В.Е. Родомана. Бактериологической петлей брали соскоб с раны и сеяли на кровяной агар в 4 сектора. На первый сектор наносили 40 штрихов. Петлю обжигали. Проводили 4 раза из 1 сектора во 2 по поверхности питательной среды. Петлю обжигали. Затем процедуру повторяли дважды, проводя петлей из 2 сектора в 3 и из 3 в 4. Чашку инкубировали 24 часа в термостате. Считали число микробных колоний, выросших в каждом из секторов. Обсемененность раны определяли по стандартной таблице, в которой отражена зависимость степени обсемененности от числа колоний, выросших в каждом из секторов чашки Петри.

Пациентам выполнялась хирургическая

обработка гнойно-воспалительных очагов с иссечением некротических тканей. Антибактериальная терапия осуществлялась с применением разработанных для отделения протоколов эмпирической терапии. После получения результатов микробиологического исследования, при необходимости, выполнялась ее корректировка. Медикаментозное лечение было направлено на улучшение реологических свойств крови, местной микроциркуляции и трофики тканей.

С целью коррекции нарушений белково-углеводного и электролитного обмена, кислотно-щелочного равновесия применяли инфузионные среды: 5% раствор глюкозы с инсулином, раствор Рингера-Локка, 1% раствор хлорида калия, 4% раствор бикарбоната натрия. По показаниям осуществляли переливание эритроцитарной массы, введение белковых и плазмозамещающих растворов.

Местное лечение ран проводилось согласно современным принципам лечения гнойных ран. Применялись антисептики (септомирин, мукосанин, диоксидин, йодискин, 3% раствор перекиси водорода), мази («Меколь», «Повидон-йод», «Репарэф-2», «Метилурацил», «Гентамицин»), гель «Септомирин-гель», повязка медицинская «ВАП-гель».

### Результаты и обсуждение

У всех пациентов при применении предложенного метода отмечена выраженная положительная динамика в течении раневого процесса. Во всех случаях раны зажили. В качестве демонстрации применения метода приводим клинические примеры.

Случаи представлены с согласия пациентов.

Пациент 73 лет поступил в стационар с облитерирующим атеросклерозом нижних конечностей, окклюзией подвздошных артерий, гангреной нижней конечности. В анамнезе ИБС, инфаркт миокарда, артериальная гипертензия. Пациенту выполнена ампутация бедра на уровне верхней трети. На операции выраженный субфасциальный отек бедра, отмечается обильное подтекание серозы, мышцы кровоточат слабо. Рана велась открытым способом. На 8 сутки после операции в ране активный гнойно-некротический процесс. Выделена ассоциация из *S. aureus*, *E. coli* и *Bacteroides spp.* Обсемененность раневой поверхности  $5 \times 10^8$  КОЕ/мл, дегенеративно-воспалительный тип цитограммы. Проводилось общее и местное лечение согласно современным принци-

пам лечения гнойных ран. Пациенту выполнялись этапные некрэктомии. На 23 день после операции в ране площадью 550 см<sup>2</sup> появились грануляции, бледные, тусклые. На 24 сутки под местной анестезией иглой Кассирского выполнена стерильная пункция и аспирирован красный костный мозг, произведен кюретаж раны ложкой Фолькмана. Аспират костного мозга нанесен на раневую поверхность. Поверх уложены марлевые салфетки. После операции местное лечение проводили метилурациловой мазью и мазью «Репарэф-2». На 32 сутки рана интенсивно гранулирует, обсемененность раневой поверхности  $10^4$  КОЕ/мл, регенераторный тип цитограммы. Пациенту выполнена пластика вторичными швами. Рана зажила.

Пациентка 87 лет поступила в стационар с сахарным диабетом 2 типа, гангреной нижней конечности. В анамнезе артериальная гипертензия, острое нарушение мозгового кровообращения. Пациентке выполнена ампутация бедра на уровне верхней трети. На 5 сутки после операции в связи с нагноением операционной раны сняты швы. В ране площадью 345 см<sup>2</sup> активный гнойно-воспалительный процесс, обсемененность раневой поверхности  $5 \times 10^7$  КОЕ/мл, воспалительный тип цитограммы. Выделена ассоциация из *P. aeruginosa* и *Klebsiella oxytoca*. Проводилось общее и местное лечение согласно современным принципам лечения гнойных ран. На 13 сутки после операции в ране появились грануляции, бледные, тусклые. На 14 сутки под местной анестезией иглой Кассирского выполнена стерильная пункция и получен аутомиелоаспират, произведен кюретаж раны ложкой Фолькмана. Аутоаспират костного мозга нанесен на раневую поверхность. Поверх уложены марлевые салфетки. После операции местное лечение проводили метилурациловой мазью и мазью «Репарэф-2». На 24 сутки рана интенсивно гранулирует, обсемененность раневой поверхности  $10^4$  КОЕ/мл, регенераторный тип цитограммы. Пациентке выполнена пластика вторичными швами. Рана зажила.

Пациентка 80 лет поступила в стационар с сахарным диабетом 2 типа, трофической язвой голени. В анамнезе ишемическая болезнь сердца, мерцательная аритмия. Язва в течение 2 лет. Неоднократно лечилась стационарно. На голени на границе средней и нижней трети по латеральной поверхности язвенный дефект 15 см<sup>2</sup>. Обсемененность раневой поверхности  $10^4$  КОЕ/мл. Выделена *P. aeruginosa*. Грануляции бледные, тусклые. Проводилось общее и местное лечение согласно

современным принципам лечения гнойных ран. Через 10 дней эффекта от проведенного лечения нет. На 11 сутки под местной анестезией иглой Кассирского выполнена стерильная пункция и аспирирован красный костный мозг, произведен кюретаж раны ложкой Фолькмана. Аутомиелоаспират нанесен на раневую поверхность. Поверх уложены марлевые салфетки. После операции местное лечение проводили метилурациловой мазью и мазью «Репарэф-2». На 18 сутки язва заэпителизовалась.

### Заключение

1. Таким образом, разработан и внедрен способ лечения гнойных ран, основанный на применении аутотрансплантации аспирата костного мозга.

2. Необходимы дальнейшие исследования по оценке эффективности предложенного способа.

### Литература

1. Сепсис: классификация, клинико-диагностическая концепция и лечение / С. Ф. Багненко [и др.]. – 4-е изд., доп. и перераб. – М. : Медицинское информационное агентство, 2017. – 406 с.
2. Хирургические инфекции кожи и мягких тканей : рос.

### References

1. Bagnenko SF, Baybarina EN, Beloborodov VB, Belotserkovskiy BZ, Belykh AN, Buslaeva GN, i dr. Sepsis: classification, clinicodiagnostic concept and treatment. 4-e izd dop i pererab. Moscow, RF: Meditsinskoe informatsionnoe agentstvo; 2017. 406 c. (In Russ.)
2. Gel'fand BR, Kubyshkin VA, Kozlov RS, Khachatryan NN. Surgical infections of a skin and soft tissues: ros nats rekomendatsii. 2-e pererab i dop izd. Moscow, RF; 2015. 109 p. (In Russ.)
3. Efimenko NA, Novozhilov AA, Knorring GYu. Systemic enzymotherapy in purulent surgery. Ambulatornaia Khirurgiia Statsionarozameshchaiushchie Tekhnologii. 2005;(3):51-5. (In Russ.)
4. Yakovleva SV, Sidorenko SV, Rafal'skogo VV, Spichak TV, red. Strategy and tactics of rational use of antimicrobial agents in out-patient practice: Euroasian clinical references. Moscow, RF: Pre100 Print; 2016. 144 p. (In Russ.)
5. Dryuk NF, Kirimov VI. The revascularizing operations at an obliterating lesion of arteries of an anticnemion and

- нац. рекомендации / Б. Р. Гельфанд [и др.]. – 2-е перераб. и доп. изд. – М., 2015. – 109 с.
3. Ефименко, Н. А. Системная энзимотерапия в гнойной хирургии / Н. А. Ефименко, А. А. Новожилов, Г. Ю. Кнорринг // Амбулаторная хирургия: стационарозамещающие технологии. – 2005. – № 3. – С. 51–55.
4. Стратегия и тактика рационального применения антимикробных средств в амбулаторной практике: Евразийские клинические рекомендации / ред.: С. В. Яковлева [и др.]. – М. : Пре100 Принт, 2016. – 144 с.
5. Дрюк, Н. Ф. Реваскуляризирующие операции при облитерирующем поражении артерий голени и стопы у больных с хронической критической ишемией нижних конечностей / Н. Ф. Дрюк, В. И. Киримов // Клин. хирургия. – 2007. – № 5/6. – С. 48–49.
6. Применение культивированных фибробластов при ожогах кожи / В. Д. Фёдоров [и др.] // Врач. – 1993. – № 11. – С. 26–28.
7. Метод лечения с использованием аутологичных мезенхимальных стволовых клеток из жировой ткани у пациентов с трофическими язвами : инструкция по применению № 093-0911 : утв. М-вом здравоохранения Респ. Беларусь 18.11.2011 г. / С. И. Третьяк [и др.]. – Минск, 2011. – 9 с.
8. Применение аутологичных аспириатов, а также мультипотентных стромальных клеток костного мозга и жировой ткани в сосудистой хирургии / Н. Ф. Дрюк [и др.] // Клин. хирургия. – 2012. – №12. – С. 24–29.
9. Аутотрансплантация стромальных стволовых клеток в лечении облитерирующих заболеваний артерий нижних конечностей / В. К. Гринь [и др.] // Вестн. неотлож. и восстанов. медицины. – 2010. – Т. 11, № 4. – С. 512–513.

*Поступила 08.06.2017 г.*

*Принята в печать 10.10.2017 г.*

- foot at patients with a chronic critical ischemia of the lower extremities. Klin Khirurgiia. 2007;(5-6):48-9. (In Russ.)
6. Fedorov VD, Sarkisov DS, Tumanov VP, Glushchenko EV. Use of the cultivated fibroblasts at skin combustions. Vrach. 1993;(11):26-8. (In Russ.)
7. Tret'yak SI, Baranov EV, Volotovskiy ID, Lobanok ES, Vasilevich IB. Treatment method with use the autologichnykh of mesenchymal stem cells from fatty tissue at patients with trophic ulcers: instruksiia po primeneniui № 093-0911: utv M-vom zdravookhraneniia Resp Belarus' 18.11.2011 g. Minsk, RB; 2011. 9 p. (In Russ.)
8. Dryuk NF, Kirimov VI, Barna IE, Dmitrenko IP, Shkuropat VN. Use the autologichnykh of aspirates and also the multipotentnykh the stromalnykh of cells of marrow and fatty tissue in vascular surgery. Klin Khirurgiia. 2012.:(1):24-9. (In Russ.)
9. Grin' VK, Shtutin AA, Popandopulo AG, Basatskiy AV, Varshaver PL. Autografting the stromalnykh of stem cells in treatment of obliterating diseases of arteries of the lower extremities. Vestn Neotlozh Vosstanov Meditsiny. 2010;11(4):512-3. (In Russ.)

*Submitted 08.06.2017*

*Accepted 10.10.2017*

**Сведения об авторах:**

Федянин С.Д. – к.м.н., доцент кафедры госпитальной хирургии с курсами урологии и детской хирургии, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет;

Буянова С.В. – к.б.н., доцент кафедры общей и клинической биохимии, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет.

**Information about authors:**

*Fedzianin S.D. – Candidate of Medical Sciences, associate professor of the Chair of Hospital Surgery with the courses of Urology & Pediatric Surgery, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University;*

*Buyanova S.V. – Candidate of Biological Sciences, associate professor of the Chair of General & Clinical Biochemistry, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University.*

**Адрес для корреспонденции:** Республика Беларусь, 210023, г. Витебск, пр. Фрунзе, 27, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, кафедра госпитальной хирургии с курсами урологии и детской хирургии. E-mail: fedyanin-1977@mail.ru – Федянин Сергей Дмитриевич.

**Correspondence address:** Republic of Belarus, 210023, Vitebsk, 27 Frunze ave., Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Chair of Hospital Surgery with the courses of Urology & Pediatric Surgery. E-mail: fedyanin-1977@mail.ru – Siarhei D. Fedzianin.