

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПРЕПАРАТА «ВИНФАР» НА ОСНОВЕ ФАКТОРА РОСТА ФИБРОБЛАСТОВ ПРИ АУТОДЕРМОПЛАСТИКЕ

Открытые переломы часто сопровождаются дефектами кожи. Одним из способов закрытия дефектов кожи является аутодермопластика. Частота отторжения трансплантата после аутодермопластики остается высокой. Мы располагаем новым препаратом «Винфар» на основе фактора роста фибробластов человека. В экспериментальной работе показано, что использование данного препарата при аутодермопластике существенно ускоряет адгезию трансплантата, снижает частоту его лизиса, а также значительно улучшает процессы репарации в области раны.

Ключевые слова: открытый перелом, аутодермопластика, фактор роста фибробластов, дефект кожи.

Открытые переломы часто сопровождаются дефектами кожи и мягких тканей. Одним из важнейших направлений в лечении открытых переломов является закрытие раневого дефекта. Аутодермопластика является распространенным способом закрытия дефектов кожи. Однако аутодермопластика нередко сопровождается в последующем лизисом трансплантатов, частота которых достигает 20–40% [1]. Одной из основных причин неудовлетворительных исходов является нарушение механизмов репаративного гистогенеза. Ключевую роль в пролиферации и дифференциации различных клеток и тканей играет группа пептидов, относящихся к фактору роста фибробластов (ФРФ) [2]. В настоящее время проводятся экспериментальные исследования для определения возможностей применения ФРФ в медицине [3, 4, 5]. В Оренбургской государственной медицинской академии обнаружен продуцент нового фактора роста фибробластов. Это бактерии *Bacillus subtilis*, штамм 804 [6]. На основе метаболитов этих бактерий получен новый препарат «Винфар».

Цель работы – улучшение результатов аутодермопластики с использованием нового препарата «Винфар».

Материалы и методы

Мы использовали экспериментальную модель раны мягких тканей. Сорока крысам под фторотановым наркозом были нанесены глубокие скальпированные раны 2х2 см на предварительно выбритые участки в области спины. После формирования струпа на 7–9-е сутки

была выполнена некрэктомия. После очищения ран и формирования грануляционной ткани выполнялась аутодермопластика. Трансплантат забирали с выбритого участка спины марочным способом. 20-ти крысам (опытная группа) непосредственно перед укладкой трансплантата рану орошали 1 мл препарата «Винфар». 20-ти животным контрольной группы рану орошали 1 мл физиологического раствора. Производилось измерение времени адгезии трансплантата. Ежедневно выполнялись наблюдения за состоянием ран, степенью приживления трансплантата, а также регистрировалось потребление корма и воды, особенности поведения, масса тела животных. Клинические анализы крови выполнялись через 3 дня после нанесения раны, в день аутодермопластики (перед операцией), а также на 10-е и 20-е сутки после пересадки кожи.

На 10-е сутки после аутодермопластики по 8 крыс из каждой группы были выведены из опыта с помощью летальной дозы фторотана. Производились морфологические исследования тканей области раны. За остальными животными производилось наблюдение до 1 месяца после кожной пластики.

Методика морфологических исследований

Кусочки тканей фиксировали в 10% растворе формалина, забуференного по Лилли, затем обезживали в этаноле возрастающей крепости и заливали в парафин по общепринятой методике. Гистосрезы толщиной 5–6 мкм после депарафинизации исследовали при помощи

световой микроскопии с применением гистологического метода (окраска гематоксилином Майера и эозином) под общим увеличением в 150, 300, 600 и 1500 раз.

Результаты и обсуждение

Клинические наблюдения.

У животных группы контроля, которым наносился физиологический раствор, адгезия произошла через $55,7 \pm 4,6$ минут. В опытной группе адгезия трансплантата наступила через $3,4 \pm 0,5$ минут, $p < 0,001$. Состояние раны после пластики показано на рис. 1.

На 10-е сутки в группе контроля у четырех животных произошел лизис трансплантата – на вторые (две крысы), третьи и на четвертые сутки после кожной пластики (рис. 2).

У всех крыс опытной группы трансплантат находился на месте пересадки, признаков некроза или лизиса не наблюдалось.

При дальнейшем наблюдении в опытной группе у всех наступило заживление ран, в группе контроля – у двух крыс произошло нагноение раны и отторжение трансплантата (на 13-е и 15-е сутки). Таким образом, заживление ран в опытной группе произошло у 100% животных, в контрольной группе – лишь у 14 (70%) крыс.

После ранения прибавки массы тела у крыс обеих групп не наблюдалось в течение недели. На 14-й день средняя прибавка массы составила в контрольной группе – $7,3 \pm 0,9$ г за неделю, в опытной – $7,4 \pm 1,9$ г; в последующие две недели прибавка массы составила в контрольной группе $15,4 \pm 0,8$ г, а в опытной – $15,5 \pm 0,9$ г. Во всех случаях $p > 0,5$, что указы-

вает на несущественность различий между группами.

При анализе показателей крови (таблица 1) на 3-и сутки после ранения следует отметить показатели гемоглобина – $124,8 \pm 13,7$ г/л в опытной группе и $118,3 \pm 16,2$ в контрольной группе ($p > 0,1$), которые находились на нижней границе нормы (120–170 г/л). В дальнейшем концентрация гемоглобина возрастала. Статистически достоверных различий между группами не было ($p > 0,1$).

Уровень лейкоцитов крови на 3-и сутки после ранения ($13,9 \pm 2,1 \cdot 10^9$ /л в опытной и $14,6 \pm 2,1 \cdot 10^9$ /л в контрольной группе) и в день аутодермопластики ($13,6 \pm 1,2 \cdot 10^9$ /л в опытной и $13,5 \pm 1,5 \cdot 10^9$ /л в контрольной группе) находился около верхней границы нормы ($8-14 \cdot 10^9$ /л), достоверных различий между группами нет ($p > 0,1$).

Однако на 10-е сутки после кожной пластики средняя концентрация лейкоцитов в крови животных опытной группы снизилась ($10,9 \pm 1,9 \cdot 10^9$ /л), а в контрольной группе осталась повышенной ($13,1 \pm 1,5 \cdot 10^9$ /л), хотя и в пределах нормы, $p < 0,001$. На 20-е сутки после операции различие в уровне лейкоцитов между группами сохранялось на границе статистической достоверности ($0,05 > p > 0,1$) – $11,1 \pm 2,0 \cdot 10^9$ /л в опытной и $13,6 \pm 2,2 \cdot 10^9$ /л в контрольной группе. Снижение лейкоцитоза у крыс опытной группы мы связываем с отсутствием нагноений и лизиса трансплантата. Остальные показатели крови не выходили за пределы физиологической нормы, статистически достоверных различий между двумя группами не выявлено.



Рисунок 1. Рана непосредственно после аутодермопластики, опытная группа



Рисунок 2. Лизис трансплантата на третьи сутки после кожной пластики, контрольная группа

Таблица 1. Средние показатели крови крыс опытной и контрольной групп

Показатели	3-и сутки после травмы		Перед аутодермопластикой		10-е сутки после операции		20-е сутки после операции	
	Опыт (n=20)	Контроль (n=20)	Опыт (n=20)	Контроль (n=20)	Опыт (n=20)	Контроль (n=20)	Опыт (n=12)	Контроль (n=12)
Эритроциты, *10 ¹² /л	7,5± 0,8	7,1± 0,7	8,4± 0,1	8,1± 0,6	8,3± 0,7	8,3± 0,7	8,3± 0,8	8,9± 0,8
Лейкоциты, *10 ⁹ /л	13,9± 2,1	14,6± 2,1	13,6± 1,2	13,5± 1,5	10,9± 1,9	13,1± 1,5	11,1± 2,0	13,6± 2,2
Гемоглобин, г/л	124,8±13,7	118,3±16,2	144,8±15,1	142,1±16,8	142,4±14,2	142,1±12,6	137,9±14,6	139,4±18,3
Гематокрит, %	44,1± 3,1	45,4± 2,3	45,0± 2,7	45,3± 3,2	46,3± 2,9	45,7± 2,7	45,3± 2,9	45,3± 3,0
Нейтрофилы, %	26,9± 4,8	29,4± 4,8	26,0± 4,5	24,0± 3,9	20,4± 3,7	21,9± 5,0	25,4± 5,4	27,4± 2,2
Лимфоциты, %	70,1± 4,7	67,8± 5,3	71,4± 5,1	73,4± 3,7	76,9± 3,7	75,3± 4,8	71,9± 4,4	69,9± 2,4
Моноциты, %	2,2± 1,1	2,1± 1,2	2,1± 1,0	2,1± 1,0	2,2± 0,9	2,4± 0,9	2,0± 1,3	2,0± 1,3
Эозинофилы, %	0,8± 0,6	0,8± 0,6	0,5± 0,5	0,5± 0,5	0,6± 0,5	0,6± 0,5	0,7± 0,7	0,7± 0,7
Глюкоза, ммоль/л	4,20± 1,04	4,62± 1,23	4,69± 1,08	4,56± 1,24	4,59± 0,91	4,91± 1,09	4,31± 0,95	4,19± 0,91

При гистологическом исследовании обнаружено, что из десяти контрольных животных только у четырех после фиксации и проводки материала аутотрансплантаты были тесно связаны с подлежащей тканью. В условиях опыта все пересаженные кусочки оказались прочно фиксированы к месту пересадки.

На 10-е сутки после пересадки кожи в толще аутодермотрансплантата контрольной группы животных сохраняется слабовыраженная, но диффузная лимфогистиоцитарная инфильтрация (рис. 4), проникающая из подлежащего раневого ложа. В почти редуцированной грануляционной ткани под трансплантатом иногда встречаются очаги расширенных полнокровных сосудов, питающих пересаженный участок кожи. В краевых участках трансплантата митотическая активность клеток базального и шиповатого слоев выросла до 45,8±0,5% по сравнению с уча-

стками, удаленными от этой зоны (18,3±0,4%). В результате эпителизации с краев аутодермотрансплантата образуется немногослойный эпидермис (2–3 слоя), который пока все еще рыхло связан с подлежащей тканью, а многослойное строение с признаками ороговения отмечается только в проксимальных отделах. Под эпидермисом располагается незрелая неоформленная рыхлая соединительная с полнокровными и еще многочисленными сосудами, и сохраняющейся лимфолейкоцитарной инфильтрацией.

В толще аутодермотрансплантата опытной группы на 10-е сутки после пересадки сохраняется лишь очаговая лимфогистиоцитарная инфильтрация только в краевых отделах на границе с участками реэпителизации. В остальном строение трансплантата напоминает интактную кожу краев раны (рис. 5). Краевая эпителизация завершена, эпидермис на всем протя-

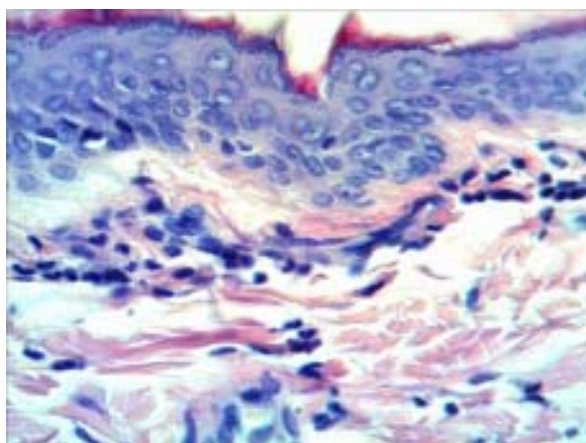


Рисунок 4. Прижившийся трансплантат, 10-е сутки после аутодермопластики. В дерме лимфогистиоцитарный инфильтрат. Контрольная группа. Гематоксилин-эозин, общ. ув. x 600

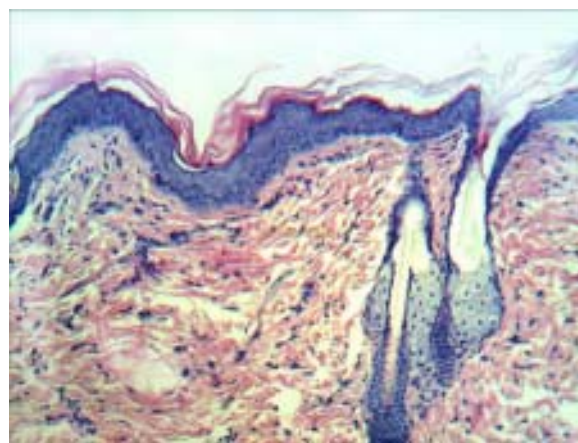


Рисунок 5. Трансплантат, 10-е сутки после аутодермопластики. Опытная группа. Строение трансплантата напоминает интактную кожу. Гематоксилин-эозин, общ. ув. x 150

жении многослойный, полноценный с орогове-нием, подлежащая соединительная ткань с не-большим количеством сосудов, волокнистый матрикс преобладает над аморфным, волокна расположены преимущественно хаотично, иног-да с заметным выравниванием параллельно базальной мембране эпидермиса, сохраняется незначительный диффузный лимфогистиоци-тарный инфильтрат. В связи с завершением формирования эпителиального пласта, диффе-ренцирующегося на все функциональные слои, показатель митотической активности краевых участков трансплантата снижается по сравне-нию с контролем до $32,3 \pm 0,4\%$ и остается оди-наковым по всей площади пересаженного участ-ка кожи.

Особый интерес представляла новообра-зованная соединительная ткань в условиях опыта. Наряду с активной редукцией сосудов и синтезом коллагеновых волокон возросло чис-ло фибробластов на условной единице площа-ди по сравнению с контролем. Кроме того, ока-

залось значительно увеличенным число тучных клеток, деятельность которых могла быть свя-зана с интенсификацией ими процесса волок-нообразования. В условиях контроля подобной картины не наблюдалось.

Выводы

Таким образом, при клинических наблю-дениях выявлено, что однократное использо-вание при кожной пластике препарата «Вин-фар», содержащего фактор роста фиброблас-тов, существенно ускоряет адгезию транс-плантата и снижает частоту его лизиса.

Данные гистологического исследования показывают, что у животных, получавших данный препарат, происходит ускоренное вос-становление функций клеток-эффекторов репаративного процесса, что обеспечивает благоприятные условия микроокружения для более эффективного и неосложненного при-жизления аутодермотрансплантата.

11.05.2012

Список литературы:

1. Шапкин, Ю.Г. Способ повышения эффективности пластического закрытия ран после отморожения // *Анналы хирургии*. – 2010. – №5. – С. 72–74.
2. Botcher R.T., Niehrs C. Fibroblast growth factor signaling during early vertebrate development // *Endocr. Rev.* – 26 (1). – P. 63–77.
3. Bendfeldt K., Radojevic V., Kapfhammer J. Basic fibroblast growth factor modulates density of blood vessels and preserves tight junctions in organotypic cortical cultures of mice: a new in vitro model of the blood-brain barrier // *J Neurosci.* – 2007. – Mar 21;27(12). – P. 3260–3267.
4. Akita S., Akino K., Imaizumi T. Basic fibroblast growth factor accelerates and improves second-degree burn wound healing // *Wound Repair Regen.* – 2008. – Sep-Oct;16(5). – P. 635–641.
5. Yao C., Yao P., Wu H., Zha Z. Acceleration of wound healing in traumatic ulcers by absorbable collagen sponge containing recombinant basic fibroblast growth factor // *Biomed Mater.* – 2006. – Mar;1(1). – P. 33–37.
6. Патент № 2427644 С1 RU МПК С12N А61К. Штамм бактерий *Bacillus subtilis* – продуцент фактора роста фибробластов. В.И. Никитенко. – опубл. 27.08.11. Бюл. №24.

Сведения об авторах:

Копылов Вадим Анатольевич, доцент кафедры травматологии и ортопедии, кандидат медицинских наук, e-mail: vadkopl@rambler.ru

Никитенко Иван Евгеньевич, аспирант кафедры травматологии и ортопедии 460000, г. Оренбург, пр-т Победы, 1, тел. (3532) 313967

Миханов Василий Александрович, ассистент кафедры патологической анатомии, кандидат медицинских наук, e-mail: vmikhanov@gmail.com

Полякова Валентина Сергеевна, заведующий кафедрой патологической анатомии, доктор медицинских наук, e-mail: profpolyakova@yandex.ru

Абзенелева Регина Асраровна, аспирантка кафедры патологической анатомии 460000, г. Оренбург, ул. Советская, 6, тел. (3532) 776222, e-mail: profpolyakova@yandex.ru

UDC 224 035.01

Kopylov V.A., Nikitenko I.E., Mihanov V.A., Polyakova V.S., Abzeneleva R.A.

E-mail: vadkopl@rambler.ru

USING THE «VINFAR» ON THE BASIS OF FIBROBLAST GROWTH FACTOR FOR DERMAL AUTOPLASTY

Open fractures are often accompanied by defects of the soft tissues. One way to treat it is autodermoplasty. The frequency of graft rejection after autodermoplasty remains high. We have new drug named «Vinfar» on the basis of human fibroblast growth factor. As a result of experimental work provided evidence that use of this drug in autodermoplasty significantly accelerates the adhesion of the graft, decreasing incidence of graft rejection and improving reparative processes in the wound area.

Key words: open fracture, dermal autoplasty, fibroblast growth factor, skin defect.