

В.Д. МЕЛАМЕД, А.А. ОСТРОВСКИЙ

**ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО-КЛИНИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ  
МЕТОДА АУТОЭПИДЕРМОПЛАСТИКИ ПРИ ЛЕЧЕНИИ  
ПОЛНОСЛОЙНЫХ КОЖНЫХ ДЕФЕКТОВ**

УО «Гродненский государственный медицинский университет»,  
Республика Беларусь

В экспериментальной части работы, выполненной на 162 лабораторных крысах, были разработаны устройства для моделирования кожной раны, выявлены оптимальные варианты на каждом из этапов аутоэпидермопластики. Установлено, что для обработки донорского участка перед получением эпидермотрансплантатов целесообразно использовать 0,5% спиртовой раствор хлоргексидина или первомура; перенос эпидермиса в воздушной среде следует осуществлять при температурном режиме 21-24°C и относительной влажности 52-62% не более, чем за 1 минуту. Показано, что для улучшения приживляемости трансплантированного эпидермиса необходимо удалять фибриновые наложения на раневой поверхности непосредственно перед трансплантацией, сохранять максимальную механическую неподвижность эпидермотрансплантатов. Полученные данные позволят более эффективно использовать метод аутоэпидермопластики в лечении полнослойных кожных дефектов.

*Ключевые слова: эпидермис, трансплантация, полнослойный кожный дефект, аутоэпидермопластика.*

In the experimental part of the research, performed on 162 laboratory rats, the devices for dermal wound modeling were worked out; optimal variants at each stage of autoepidermoplasty were revealed. It was established that 0, 5% alcohol solution of chlorhexidine and pervomur should be applied to cleanse the donor portion before obtaining epidermotransplants. Transplantation of epidermis in external medium should be performed at the temperature regime of 21-24oC. Relative humidity should be 52-62%. It is shown that it is necessary to remove fibrinous application on the wound surface directly before transplantation to improve transplanted epidermis settling down. Also it's required to keep maximal mechanical immobility of epidermotransplants. The received data permit to use autoepidermoplasty method more effectively in the treatment of full layer dermal defects.

*Keywords: epidermis, transplantation, full layer dermal defect, autoepidermoplasty.*

История хирургии является историей развития лечения ран. Поэтому возникает необходимость экспериментального обоснования того или иного метода лечения (хирургического, медикаментозного, физиотерапевтического и т.д.), предшествующего клинической апробации. В качестве экспериментальных животных для изучения данной проблематики используют кроли-

ков, собак, лабораторных крыс, причем преимущество последних ввиду их относительно небольшой стоимости и доступности. В доступной нам литературе различными исследователями моделирование полнослойных кожных дефектов в основном достигалось нанесением резаных линейных кожных ран [1, 2, 3, 4, 5]; иссекались участки кожи [6, 7, 8, 9]; ожоговые

поверхности создавали, прикладывая к коже пластинки раскаленного металла с различной временной экспозицией [10, 11, 12, 13]. При этом констатировалось, что у всех животных в 1-е сутки от момента нанесения раны ее площадь увеличивалась за счет центробежной тракции кожного покрова. Затем наблюдалось постепенное сокращение раневой поверхности [14]. Таким образом, при вышеуказанных вариантах моделирования экспериментальной кожной раны не учитывались такие факторы, как контракция раны, а также возможность заживления ее за счет дериватов кожи.

В связи с этим для оптимизации методов лечения полнослойных кожных дефектов необходимо наличие адекватной и удобной модели на животных для оценки приживления различных трансплантатов и варьирования характеристик рецептивного ложа.

Очевиден смысл поисков и разработок новых методов кожной пластики, направленных на минимальную травматизацию донорского участка.

Одним из важных составляющих того или иного метода кожной пластики является степень травмируемости донорского участка. Совершенствование устройств дерматомной техники для получения трансплантата минимальной толщины лимитировано тем, что расщепление кожных лоскутов с ростковыми кератиноцитами без травматизации сосочкового слоя дермы и без последующего участия соединительной ткани в заживлении донорского участка даже теоретически не представляется возможным. Выращивание эпидермиса вне организма имеет ряд недостатков: двухэтапность трансплантации, его дороговизна. Единичным сообщением о применении эпидермиса, полученного с помощью неполного вакуума, присуще несовершенство предлагаемых методик.

Цель исследования – разработка устройств для моделирования полнослойных кожных дефектов и оптимизация метода трансплантации вакуумно отслоенного эпидермиса в эксперименте.

### Материал и методы

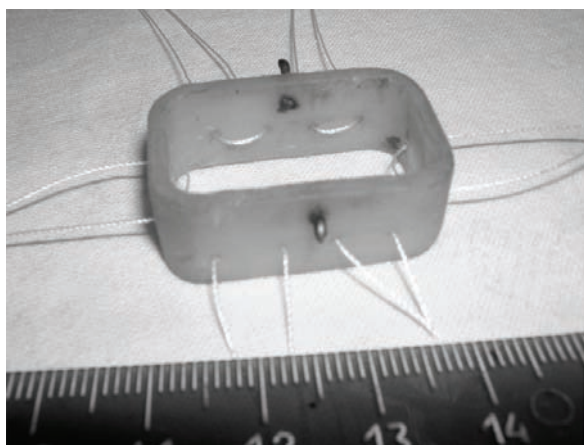
Исследования проведены на 162 лабораторных крысах массой 160-200 г. Использовали самок, так как у них менее грубый подшерсток. Все манипуляции, требующие обезболивания животных, выполнялись под эфирным наркозом.

Для моделирования полнослойного кожного дефекта была разработана предохранительная камера, состоящая из основания в виде укороченного цилиндра с высотой стенок 6-8 мм и диаметром 22 мм, крышечки и крепежной резинки. На расстоянии 1-1,5 мм от нижнего края основания находились 8 пар отверстий для шовных нитей. Камеру фиксировали к коже с помощью подвешивающих и герметизирующих швов (рис. 1). На основание камеры надевали крышечку, которую крепили к основанию с помощью резинки, зацепляя последнюю за крючки, впаянные в основание камеры.

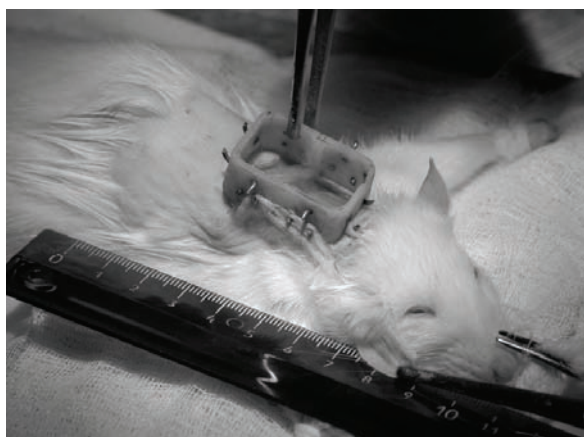
Для экспериментальных исследований на поверхности кожной раны было предложено устройство, состоящее из основания с отверстиями для шовных нитей и двумя расположенными друг напротив друга крючками, имеющего две пологие вырезки по форме спины крысы, крышечки и резинки. Основание имело форму параллелепипеда с закругленными углами, отверстия для шовных нитей расположены на расстоянии 2 мм от верхнего края основания, при этом на меньших сторонах прямоугольного устройства расположено по 1 паре отверстий, на больших сторонах – по 3 пары, промежутки между отверстиями в паре 4 мм, между парами 5-6 мм (рис. 2).



**Рис. 1.** Элементы предохранительной камеры для экспериментальных исследований на поверхности полнослойного кожного дефекта у крыс.



**Рис. 2.** Устройство для экспериментальных исследований на поверхности кожной раны.



**Рис. 3.** Устройство для моделирования полнослойного кожного дефекта у лабораторных животных.

Устройство использовали следующим образом. Под эфирным наркозом после удаления шерсти в межлопаточной зоне делали разрез прямоугольной формы 18x26 мм до подкожной клетчатки, причем большая сторона располагалась в межлопаточной области вдоль позвоночника. Отсепарировывали кожный лоскут в латеральном направлении на 6-8 мм. Затем основание устройства фиксировали П-образными капроновыми швами к внешнему краю разреза, предварительно введя капроновые нити в отверстия основания устройства. Всего требовалось наложить 8 швов. Ввиду хорошей растяжимости кожи натяжения ее при этом не отмечалось, в последующем васкуляризация кожи не нарушалась.

Затем создавали раневую поверхность путем удаления полнослойного кожного лоскута вместе с подкожной мышцей до подкожно-жировой клетчатки, оставшегося внутри устройства. Закрывали основание крышечкой и крепили ее к крючкам с помощью резинки.

Для моделирования полнослойного кожного дефекта у лабораторных животных было разработано устройство, основание которого имело форму параллелепипеда с закругленными углами размером 18x28 мм, на расстоянии 3-4 мм от верхнего края основания впаяны фиксирующие заостренные крючки, острием направленные кверху. На больших сторонах устройства расположено по 2 пары фиксирующих крючков, на меньших сторонах – по 1 паре, при этом промежуток между крючками в паре по большей стороне составлял 5-6 мм, по меньшей – 7-8 мм. Внешний край отсепарированного кожного лоскута посредством накалывания прикрепляли к фиксирующим крючкам (рис. 3).

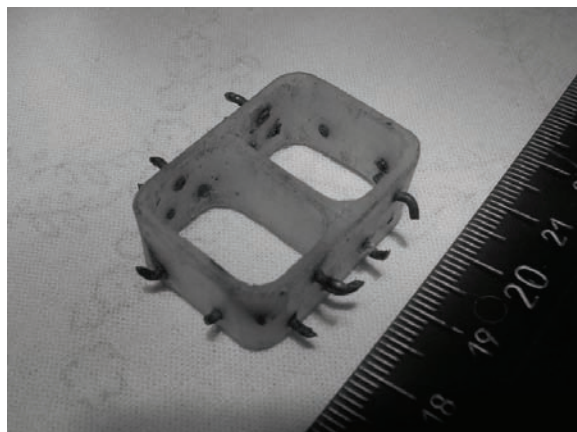
Для экспериментальных исследований приживления дермотрансплантатов в зависимости от характеристик рецептивного

ложа было предложено устройство, состоящее из основания в виде параллелепипеда, аналогично вышеописанному. Однако отличительным моментом являлось то, что основание разделено перегородкой на 2 равные части (рис. 4). После установки устройства создавали раневую поверхность путем удаления полнослойного кожного лоскута вместе с подкожной мышцей до подкожно-жировой клетчатки, оставшегося внутри одной из частей устройства. Оставшийся фрагмент кожи во второй части устройства удаляли через несколько суток в зависимости от задач эксперимента, что позволяло выявить оптимальные условия дермопластики в зависимости от состояния рецептивного ложа.

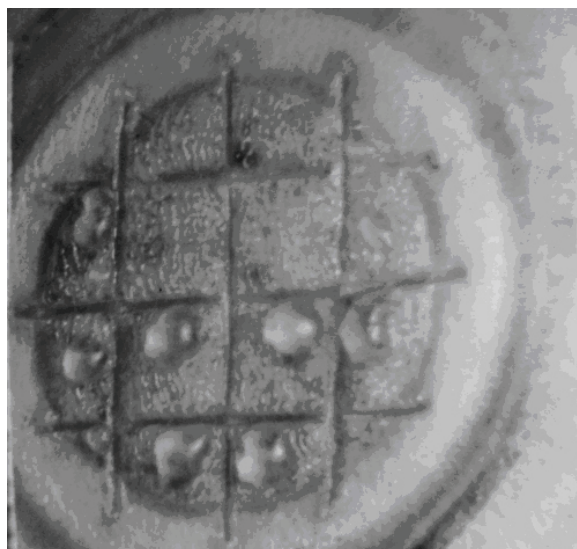
Для образования эпидермальных пузырей на донорском участке (бок крысы) тщательно выщипывали шерсть и аккуратно выбривали подшерсток. Сверху помещали вакуумную камеру для отделения эпидермиса, которая состояла из пластинки-вкладыша, помещавшегося в основание стеклянного корпуса конусовидной формы. Последний переходил в патрубок, соединявшийся с системой для создания отрицательного давления и состоявшей из насоса Камовского, буферной емкости и датчика давления. Постепенно снижая отрицательное давление внутри камеры до  $-0,6 \text{ кг/см}^2$ , достигали образования на донорском участке кожно-вакуумных пузырей различного размера (рис. 5).

Для дальнейшего снятия эпидермиса с донорского участка и его переноса на созданное рецептивное ложе использовалась клеевая частично-растворимая подложка, содержащая в качестве водонепроницаемого материала целлофановую пленку толщиной 35 мкм, на поверхности которой был размещен высушенный слой желатиноль-глицеринового раствора толщиной 1-5 мкм.

На роговой слой эпидермиса пульверизатором наносили тонкий сплошной слой



**Рис. 4.** Устройство для экспериментальных исследований приживления дермотрансплантатов в зависимости от характеристик рецептивного ложа.



**Рис. 5.** Образованный слой эпидермальных пузырей на донорском участке у крысы.

дерматомного клея, предварительно разведенного этиловым эфиром. Подложку прикладывали к отделенному эпидермису поверхностью, покрытой желатиноль-глицериновым слоем, после чего удаляли вместе с эпидермисом и укладывали на раневую поверхность эпидермисом вниз. Сверху располагали марлевый тампон, обильно смоченный 0,9%-ым раствором хлорида натрия. Последний, проникая через целло-

фан подложки, растворял желатиноль-глицериновый слой. Это позволяло в последующем беспрепятственно удалять целлофан с поверхности раны, на которой оставался трансплантированный эпидермис.

После трансплантации эпидермиса донорский участок прокрашивали раствором трипанового синего и определяли площадь снятого эпидермиса (рис. 6). Через 10 суток после трансплантации измеряли площадь прижившего эпидермиса, так как к этому времени его границы контурировались на фоне окружающей грануляционной ткани. Вычисляли относительную площадь прижившего эпидермиса (в %), определяя отношение второй величины к первой, что являлось основным критерием эффективности трансплантации.

### Результаты и обсуждение

Оперативное лечение полнослойных кожных дефектов, вне зависимости от этиологических факторов, вызвавших их, включает в себя подготовку раневой поверхности, непосредственно саму трансплантацию, направленную на закрытие кожного дефекта, последовательность которой заключается в обработке донорского участка и рецептивного ложа, образования трансплантатов и их переносе, а также в ведении послеоперационного периода. Ввиду присутствия большого количества факторов на каждом из этапов лечения полнослойных кожных дефектов, которые могут способствовать тому или иному исходу трансплантации, методом варьирования возможных условий осуществлена серия экспериментальных опытов. Выполнение в клинике подобных исследований не представляется возможным из-за этических соображений.

Для оптимизации методов лечения полнослойных кожных дефектов необходима адекватная и удобная экспериментальная

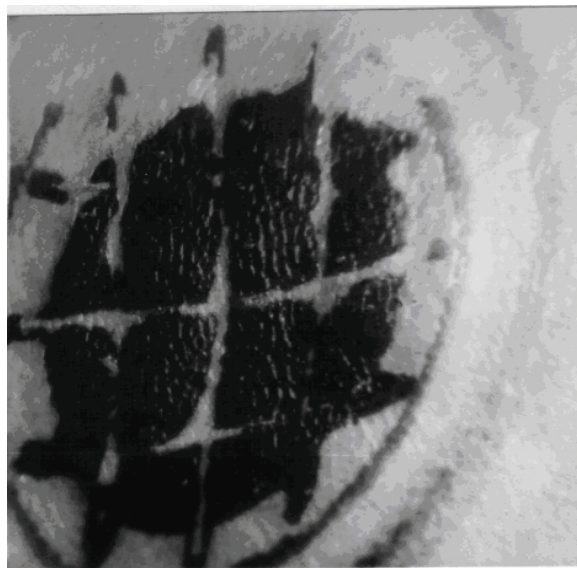


Рис. 6. Лишенные эпидермиса участки кожи (прокраска раствором трипанового синего)

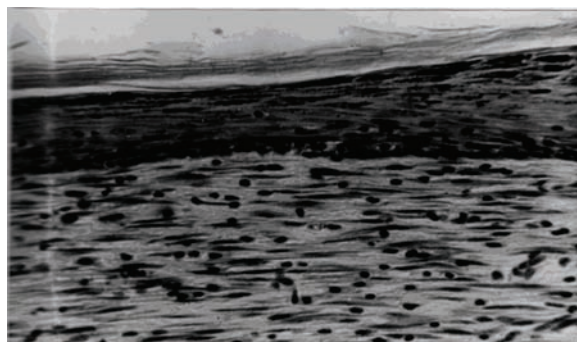


Рис. 7. Гистологическая структура прижившего эпидермиса на 10-е сутки после трансплантации (ув. об. 20, ок. 10).

модель. Ряд известных моделей экспериментальных ран [15, 16] предусматривают предотвращение сокращения раневой поверхности, однако их общим недостатком является несовершенство способа фиксации, существенные трудности при необходимости доступа к ране, недостаточная защита поверхности кожного дефекта.

Разработанная нами специальная предохранительная камера (рис. 1) предотвращала контракцию раны, обеспечивала легкий доступ к поверхности кожного дефекта при ее надежной защите от внешнего за-

разнения. Однако круглая форма не позволяла разместить более одного трансплантата на поверхности рецептивного ложа. Необходимость наложения большого количества швов при установке камеры приводила к значительной затрате времени.

Форма и размеры предложенного устройства для экспериментальных исследований на поверхности кожной раны (рис. 2) объяснялись тем, что у 5-6 месячных крыс межлопаточное расстояние не более 22-24 мм, в связи с чем для минимизации травматизации была придана прямоугольная форма размером 18x28 мм. Расположение отверстий для нитей на расстоянии 2 мм от верхнего края позволяло предотвратить прорастание прилегающей кожи на раневую поверхность, минимизировать такой фактор в заживлении раны как контракция. Прямоугольная форма экспериментальной раны, в зависимости от задач эксперимента, позволяла разместить два дермотрансплантата с расстоянием между ними 2-3 мм, причем последние могут быть различны по происхождению, срокам их забора, методам хранения и консервации. Последующие наблюдения позволяли судить в сравнительном аспекте о степени их приживления.

Разработанное устройство для моделирования полнослойного кожного дефекта у лабораторных животных (рис. 3) предусматривает значительное уменьшение времени на фиксацию при сохранении всех вышеизложенных положительных моментов.

Предложенное устройство для экспериментальных исследований приживления дермотрансплантатов в зависимости от характеристик рецептивного ложа (рис. 4) позволяло судить в сравнительном аспекте о степени приживления трансплантатов в зависимости от времени создания раны, инфицированности и степени готовности кожного дефекта к трансплантации на одной и той же модели, позволяло выявить оптимальные методы лечения.

В первой серии опытов определяли зависимость приживления эпидермотрансплантатов от характера раневой поверхности. У животных первой группы рецептивное ложе было представлено стерильной клетчаткой. Относительная площадь прижившего эпидермиса составила при этом 99,2%. Во второй группе эпидермис помещался на поверхности клетчатки, которая была покрыта тонкой пленкой фибрина и увлажнена раствором антисептика. Относительная площадь прижившего эпидермиса в этой группе была равной 42,1%. В третьей группе кожный лоскут удаляли за трое суток до трансплантации, при этом трансплантированный эпидермис оказывался на поверхности грануляционной ткани, покрытой пленкой фибрина и увлажненной раствором антисептика. Относительная площадь прижившего эпидермиса была равна 3,9%. Таким образом, свежеподготовленная раневая поверхность являлась оптимальным рецептивным ложем.

В этой серии исследований с целью подтверждения эпидермальной структуры трансплантата брали образцы ткани для гистологического исследования на 10-е сутки, последний содержал все клеточные слои, характерные для интактного крысинного эпидермиса (базальный, шиповатый, зернистый, роговой), но отличался от последнего тем, что клетки в базальном слое были несколько мельче обычного и содержали более плотные ядра; клетки в шиповатом слое были представлены большим количеством рядов; зернистый слой был непрерывным и также многорядным (рис. 7).

Для выявления оптимальных способов ведения раневой поверхности, представленной клетчаткой с расположенным на ней трансплантированным эпидермисом, была проведена серия опытов, при этом варьировались основные факторы, влияющие на исход эпидермотрансплантации: смещаемость или травмируемость эпидер-

миса, удаление раневого экссудата, избыточная влажность, либо подсыхание трансплантатов, влияние растворов антисептиков. Полученные данные свидетельствовали о том, что основным фактором, влияющим на приживляемость эпидермотрансплантатов, является их минимальная травматизация.

С целью изучения оптимальных способов обработки донорского участка перед получением эпидермального трансплантата использовали 70% раствор спирта, стандартный раствор иодоната, 1% водный раствор хлоргексидина, раствор первомура, 0,5% спиртовой раствор хлоргексидина. Наилучшие результаты были получены при использовании двух последних антисептиков, что обосновывало применение для обработки донорского участка спиртового раствора хлоргексидина и первомура. Использование для этих целей раствора иодоната значительно ухудшало результаты трансплантации эпидермиса.

Для выяснения условий сохранения жизнеспособности эпидермотрансплантатов в процессе переноса с донорского участка на рецептивное ложе исследовали эффект высыхания эпидермиса, а также нахождения его в изотоническом растворе хлорида натрия. Было установлено, что при температуре 21-24° и относительной влажности не ниже 52% явное снижение жизнеспособности эпидермиса в результате высыхания наблюдалось начиная с 60-секундного периода. При помещении отделенного эпидермиса вместе с подложкой в изотонический раствор хлорида натрия на различные промежутки времени зарегистрировано существенное снижение относительной эффективности трансплантации при приближении длительности нахождения эпидермиса в среде к одночасовому периоду и достоверное снижение при двухчасовой экспозиции в сравнении с 15-минутной. Выявленные особенности имеют

непосредственное значение в клинике, когда необходим определенный промежуток времени для придания больному соответствующего положения, в случаях переноса трансплантатов при различной топографической локализации донорского участка и раневой поверхности.

Однако в клинике полнослойные кожные дефекты представлены не поверхностью клетчатки, а грануляционной тканью. Поэтому была проведена серия опытов, где, кроме ряда факторов, влияющих на исход трансплантации (смещаемость или травмируемость эпидермиса, удаление раневого экссудата, влажность, либо подсыхание трансплантатов, воздействие антисептиков), одновременно выясняли значение на раневой поверхности отложений фибрина.

Сопоставляя результаты данной серии опытов, было выявлено, что основными факторами, обуславливающими успех эпидермопластики на грануляционной ткани, являлась минимальная травматизация трансплантированного эпидермиса во время перевязок, адекватное удаление экссудата и фибриновых наложений с раневой поверхности.

## Выводы

1. Разработаны устройства для моделирования полнослойных кожных дефектов у лабораторных крыс, позволяющие варьировать различные характеристики как рецептивного ложа, так и трансплантатов с целью оптимизации метода лечения.

2. Сконструированная вакуумная камера в эксперименте обеспечивает отделение эпидермиса от дермы за относительно небольшой промежуток времени (35-60 минут).

3. Предложенная частично-растворимая клеевая желатиноль-глицериновая подложка позволяет осуществить трансплантацию группы эпидермальных пузырей.

4. В эксперименте определены оптимальные способы антисептической обработки донорского участка, условия сохранения жизнеспособности эпидермотрансплантатов, варианты подготовки рецептивного ложа и условия ведения послеоперационного периода.

5. Доказана возможность использования вакуумно отслоенного эпидермиса в качестве полноценного трансплантата для экспериментальных целей, что обосновывает возможность применения аутоэпидермопластики в клинической практике.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Грабовой, А. Н. Васкуляризация соединительнотканых регенератов кожи при заживлении ран в условиях воздействия нейротрансмиттеров и их антагонистов / А. Н. Грабовой // Морфология. – 1997. – № 2. – С. 73-76.
2. Дугина, Т. И. Влияние синтетического пептида-агониста рецептора тромбина, инкапсулированного в микрочастицы на основе сополимера молочной и гликолевой кислоты, на заживление экспериментальных кожных ран у мышей / Т. И. Дугина, Е. В. Киселева, М. А. Ланге // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2004. – №12. – С. 523-526.
3. Строение соединительного каркаса кожного регенерата у крыс при стимуляции заживления раны трипсином и ронидазой / Т. В. Суракова [и др.] // Морфология. – 1997. – №2. – С. 76-79.
4. Специфическое влияние фактора роста эпидермиса, иммобилизованного в раневое покрытие с растворимым коллагеном, на заживление ран в эксперименте / И. А. Чекмарева [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2000. – №4. – С. 465-469.
5. Экспериментально-клиническое обоснование плазмодинамической терапии ран оксидом азота / А. Б. Шехтер [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1998. – №8. – С. 210-215.
6. Влияние фибробластов коллагена на процесс заживления ран, образовавшихся после срезания расщепленных кожных лоскутов у крыс / М. И. Блинова [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1997. – №8. – С. 229-232.
7. Иванов, Ю. В. Резепителлизация кожной раны под покрытием на основе коллагена / Ю. В. Иванов // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1998. – №1. – С. 110.
8. Способ создания модели для оценки эффективности подготовки раневой поверхности к аутодермопластике в эксперименте / Л. А. Мамедов [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1998. – №2. – С. 246-248.
9. Кузин, М. И. Раны и раневая инфекция: Руководство для врачей / М. И. Кузин, Б. М. Костючков. – М.: Медицина, 1990. – 592 с.
10. Кочетыгов, Н. И. О способах воспроизведения термических ожогов в эксперименте / Н. И. Кочетыгов. – Л.: ВМОЛА им. С.М.Кирова, 1964. – 46 с.
11. Ранозаживляющее действие препарата на основе папайи в экспериментальной модели термической травмы / Е. В. Михальчик [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2004. – №6. – С. 638-640.
12. Парамонов, Б. А. Методы моделирования термических ожогов кожи при разработке препаратов для местного лечения / Б. А. Парамонов, В. Ю. Чеботарев // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2002. – №11. – С. 593-597.
13. Bairy, K. L. An experimental model to produce partial thickness burn wound / K. L. Bairy, S. N. Somayaji, C. M. Rao // Indian J. Exp. Biol. – 1997. – N1. – P. 70-72.
14. Действие ксеногенного иммобилизованного костного матрикса на течение раневого процесса / П. - Е. Анфимов [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2006. – №4. – С. 448-450.
15. Karasek, M. A. Growth and differentiation of transplanted epithelial cell cultures / M. A. Karasek // J. Invest. Dermatol. – 1968. – Vol. 51, N 4. – P. 247 – 252.
16. Worst, P. K. M. Reformation of organized epidermal structure by transplantation of suspensions and cultures of epidermal and dermal cells / P. K. M. Worst, I. C. Mackenzie, N. E. Fusenig // Cell Tissue Res. – 1982. – Vol. 225, N 1. – P. 65 – 77.

Поступила 30.11.2007г.