

Министерство здравоохранения Российской Федерации
РОССИЙСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

На правах рукописи

УДК 611.771-018:616-003.93-089.843

Островский Александр
Александрович

МОРФОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ
РЕГЕНЕРАТОРНОГО ПОТЕНЦИАЛА ЭПИДЕРМИСА
В УСЛОВИЯХ ОТСЛОЙКИ И ТРАНСПЛАНТАЦИИ

14.00.23 - гистология, цитология, эмбриология

Автореферат диссертации на соискание ученой
степени доктора медицинских наук

Москва - 1993

Работа выполнена в Гродненском государственном медицинском институте и в Институте Биохимии АН Республики Беларусь

Научный консультант – член-корреспондент АМН Российской Федерации, профессор В. Н. Ярыгин.

О ф и ц и а л ь н ы е о п п о н е н т ы:

доктор медицинских наук, профессор И. Н. Михайлов;

доктор медицинских наук, профессор В. В. Банин;

доктор медицинских наук, профессор А. В. Павлов.

Будущее учреждение – Институт морфологии человека
АМН Российской Федерации.

Защита состоится 1993 г. в 14 часов на заседании специализированного совета Д.094.14.04 при Российском медицинском университете по адресу, 68, Москва, ул. Островитянова, д. 1.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Российского медицинского университета.

Автореферат разослан

1993 г.

Ученый секретарь специализированного
совета, доктор медицинских наук

А.Н. Тихомиров

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

ИССЛЕДОВАНИЯ. Проблема лечения кожных дефек-

тов, вызванных различными воздействиями внешней среды, а также нарушениями трофики - одна из важнейших в современной медицине. Общеизвестно, что в случае поражения достаточно большого участка кожного покрова человека, в ходе которого погибает не только мекхололикулярный эпидермис, но и эпителий дермидов, безусловно возникает вопрос о необходимости кожной пластики. В условиях нерешенности проблемы иммунологической совместимости алло- и ксеногенных трансплантатов, лишь кожный покров самого больного может быть надежным источником пластического материала для закрытия раны. Отсюда возникает проблема обеспечения минимального травмирования донорского участка.

В настоящее время одним из наиболее простых, надежных и распространенных является метод получения рассеченных кожных лоскутов с помощью различных дерматомов. Однако при его использовании донорский участок повреждается достаточно сильно. Процесс взятия трансплантата резко болезнен, нуждается в непереносимом обезболивании. Полное заживление наступает к 10-30-му дню, оставляя, как правило, в последующем зону гипер- или депигментации (Золтан Я., 1984; Саркисов Д.С. и др., 1981).

В области экспериментальной дерматологии для решения различных задач также нужны по-возможности простые и надежные методы получения различных трансплантатов, включая чисто эпидермальные. Для получения жизнеспособного эпидермального пласта обычно используется отскойка эпидермиса от дермы после помещения лоскута кожи в среду, содержащую протеолитические ферменты (Hill M. et al., 1980; Walzer C. et al., 1982; Longley J. et al., 1981), этилендиаминтетраацетат (Baker K.W. et al., 1983). Однако с помощью этой процедуры крайне трудно отделить эпидермис у лабораторных животных на участках кожи, населенных волосяными фолликулами. Необходимость предварительной заготовки кожного лоскута существенно ограничивает возможность клинического применения упомянутого метода.

Одним из альтернативных методов получения кожных трансплантатов является выращивание таковых в условиях культуры тканей. Метод начал разрабатываться с 50-х годов (Billingham R.E. et al., 1952), впервые применен в лечении ожогов кожи человека в

начале 80-х (O'Connor N.E. et al., 1981) и интенсивно совершенствуется в настоящее время. Основное его преимущество связано с возможностью получения из относительно небольшого биоптата эпидермального или двуслойного трансплантата необходимого размера (Pittelkow M.R. et al., 1986a; Kumagai N. et al., 1988; Сеглу М., 1987). Однако одновременно с решением проблемы относительно минимизации травмирования кожного покрова больного, предложенный метод исключительно трудоемок и сложен. Значительным его недостатком является большой промежуток времени (как правило несколько недель), проходящий с момента взятия биоптата до трансплантации. Все это существенно ограничивает возможности широкого распространения этого перспективного метода, как в клинической, так и экспериментальной практике (Туманов В.П. и др., 1989).

В связи с этим, по-прежнему сохраняет актуальность проблема разработки новых, минимально травматичных методов кожной пластики, обеспечивающих быстрое получение полноценных кожных трансплантатов для экспериментальных и клинических целей (Швец В.Н. и др., 1980; 1992). Преодоление многих сложностей и противоречий существующих методов на наш взгляд может быть основано на использовании явления вакуумной отслойки эпидермиса. Первые сообщения о возможности образования пузырей на коже здорового человека под воздействием неполного вакуума появились в 60-х годах (Sloney S. et al., 1961; Kiistala U. et al., 1964), а первые работы, в которых использовались крышки пузырей в качестве трансплантата - в 80-х (Falabella R., 1984; Koga M., 1988). Как следует из фактического материала исследований методика трансплантации вакуумно отделенного эпидермиса не получила своего развития. Главным препятствием ее широкого клинического применения явилось стремление авторов получать одиночные пузыри большого размера, что увеличивало длительность подготовительного периода и уменьшало надежность процедуры отслойки. В качестве раневых поверхностей, на которые переносили крышки пузырей, использовались лишь неполнослойные дефекты кожи человека. Совершенно не использованы возможности данного метода в экспериментальной трансплантологии, поскольку процедура вакуумной отслойки эпидермиса у животных применялась только для создания стандартных поверхностных ран (Krawczyk W.S. et al., 1971-1973;

Pang S. et al., 1978; Loning T. et al., 1983; Меликянц А.Г. и др., 1992). Морфо-функциональная характеристика эпидермотрансплантата, полученного с помощью отрицательного давления, до настоящего времени отсутствует.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ - изучить морфо-функциональное состояние эпидермиса после вакуумной отслойки и разработать методы его трансплантации для экспериментальной и клинической практики.

В соответствии с целью были поставлены следующие задачи:

- изучить в динамике на лабораторных животных изменение структуры отдельных компонентов кожно-вакуумных пузырей и особенности заживления кожи после удаления жидкости из пузырей или их крыш;
- разработать экспериментальную модель трансплантации вакуумно отделенного эпидермиса;
- экспериментально обосновать оптимальные параметры подготовки рецептивного ложа к трансплантации эпидермиса, стерилизации донорского участка кожи, переноса эпидермального трансплантата, ухода за раной после размещения эпидермиса;
- изучить на лабораторных животных особенности развития эпидермального трансплантата на поверхности клетчатки; на поверхности коллагенового каркаса дермы; в условиях контакта с волосатыми сосочками;
- изучить изменение морфо-функционального состояния вакуумно отделенного эпидермиса человека в составе крыш кожно-вакуумных пузырей, а также особенности его развития после ксено-трансплантации на поверхность подпослойного кожного дефекта через различные сроки после отслойки;
- разработать устройства и методики вакуумной отслойки и трансплантации эпидермиса для клинических целей;
- изучить особенности заживления донорского участка и раневых поверхностей у больных после аутоэпидермопластики.

НАУЧНАЯ НОВИЗНА. Впервые современными количественными методами изучено изменение морфо-функционального состояния основных структурных компонентов кожно-вакуумных пузырей, сформированных у крыс. Выявлено, что длительность сохранения жизнеспособности эпидермиса в составе крыш пузырей зависит от лейкоцитарного состава пузырной жидкости.

Продемонстрированы особенности развития вакуумно отслоенного эпидермиса на поверхностях интактной дермы с сохраненной базальной мембраной, клетчатки и коллагенового каркаса дермы. Показано, что отслоенный эпидермис, размещенный на поверхности дермы, быстро приобретает черты интактного эпидермиса; на клетчатке, поверхностные слои которой перестраиваются в грануляционную ткань, длительное время остается в состоянии гиперплазии; на коллагеновом каркасе дермы не только разрастается на его поверхности, но и заполняет волосяные сумки, не меняя направления дифференцировки.

Выявлена специфическая реакция междоликулярного эпидермиса половозрелых крыс на присутствие фибробластов волосяного сосочка, свидетельствующая о сохранении кератиноцитами междоликулярного эпидермиса половозрелых животных, по крайней мере, части компетенции, свойственной эмбриональному эпидермису. В тоже время показано, что сочетание трех тканевых компонентов (грануляционная ткань, волосяной сосочек, кератиноциты междоликулярного эпидермиса) недостаточно для повторного развития такой структуры, каковой является волосяной фолликул.

Впервые изучено изменение морфо-функционального состояния вакуумно отделенного эпидермиса человека в составе крыш пузырей за относительно продолжительный промежуток времени, а также клеточного состава полости пузырей. Показано, что после отслойки эпидермиса и сопутствовавшей этому частичной травматизации, его регенерация в составе крыш образовавшихся пузырей осуществляется без пролиферации, а формирование кератогиалиновых гранул и кератиносом наблюдается даже в бывшем ростковом слое.

На основе изучения морфологическими методами эпидермиса человека, находившегося в составе крыш кожно-вакуумных пузырей в течение различных по длительности интервалов времени и ксено-трансплантированного на поверхность полнослойного кожного дефекта, впервые охарактеризованы особенности ранних стадий развития эпидермотрансплантата человека, полученного данным путем; продемонстрирована обратимость блока пролиферации части кератиноцитов в составе крыш вакуумных пузырей; обнаружены признаки одновременного протекания некролиза цитоплазмы и подготовки ядра к митотическому делению.

ТЕОРЕТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ. В связи с обнаружением ряда явлений установлены положения, являющиеся определенным вкладом в современные представления о клеточных основах ответных реакций эпидермиса половозрелых млекопитающих и человека на различные внешние влияния. Эти положения могут быть сформулированы следующим образом:

- в пределах росткового слоя эпидермиса кератиноциты по-разному реагируют на травматизацию, сопровождающую процесс вакуумной отслойки, и на измененные условия существования в составе крми пузырей;
- наблюдающаяся вакуолизация кератиноцитов эпидермиса предшествует его отслойке и является специфической для данного эпидермального дифферона и неспецифичной в отношении вакуумного воздействия;
- кератиноциты росткового слоя, находясь в составе крми кожно-вакуумных пузырей, оказываются в особом состоянии, когда в них блокируются митотические циклы (в части кератиноцитов обратимо), резко повышается чувствительность к лейкоцитарному составу пузырьной жидкости, в большинстве запускается процесс дифференцировки;
- кератиноциты эпидермиса человека кроме основной формы дифференцировки, ведущей к превращению их в погибающие и слущивающиеся роговые чешуйки, имеют альтернативные программы дифференцировки и некролиза, осуществляющиеся в неблагоприятных условиях;
- имеются признаки того, что по крайней мере в один из периодов митотического цикла в кератиноцитах человека процессы, определяющие путь развития клеток, могут осуществляться в ядре и цитоплазме относительно автономно;
- характер развития предварительно отслоенного и трансплантированного эпидермиса зависит главным образом от того, в каких условиях, на каком рецептивном ложе будет происходить его дальнейшее развитие;
- имеются признаки, свидетельствующие о том, что кератиноциты мезодермального эпидермиса половозрелых млекопитающих сохраняют, по крайней мере, часть компетенции, свойственной в полном объеме эмбриональному эпидермису и проявляющейся у последнего в способности при определенных условиях формировать производные;

- вакуумно отслоенный эпидермис человека биологически отличается от такового крысы, в частности, по способности длительное время сохранять жизнеспособность в составе крыши пузыря и медленнее развиваться на поверхности рецидивного ложа.

ПРАКТИЧЕСКАЯ ЦЕННОСТЬ работы заключается в том, что разработана экспериментальная модель стандартного повреждения участка кожи у экспериментальных животных, основанная на феномене вакуумной отслойки эпидермиса, позволяющая более широко проводить исследования по изучению факторов, определяющих ход заживления поверхностных кожных ран.

Разработана модель трансплантации эпидермиса у экспериментальных животных (крысы), позволяющая проводить исследования по изучению морфо-функциональных свойств эпидермиса в различных условиях.

Выявлены оптимальные параметры использования технических устройств и условий осуществления трансплантации эпидермиса на каждом из ее этапов.

Разработаны клинические варианты аутоэпидермопластики кожных дефектов (включая полнослойные), обладающие рядом преимуществ по сравнению с известными аналогами.

ВНЕДРЕНИЕ. Результаты работы внедрены в практику в следующих формах:

Изобретения: "Способ получения эпидермального трансплантата" (А.с. №.1521483 от 15.07.89 г.); "Подложка для трансплантации эпидермиса" (А.с. №.1627152 от 15.10.90 г.); "Способ подготовки пробы лейкоцитов для цитологического исследования" (А.с. №.1659847 от 1.03.91 г.); "Устройство для трансплантации крыш кожно-вакуумных пузырей" (А.с. №.1718884 от 15.11.91 г.); "Способ моделирования структурной организации кожи для изучения условий вторичного гистогенеза волос" - положительное решение Госкомизобретений СССР на выдачу патента от 28.11.91 г. по заявке №.4848452.

Рационализаторские предложения: выданные Гродненским гос-мединститутом - "Камера для экспериментальных исследований на поверхности кожной раны" №.1079 от 28.11.86 г.; "Способ получения тонкого жизнеспособного кожного трансплантата в эксперименте" №.1091 от 6.03.87 г.; "Способ определения площади кожной поверхности, лишенной эпидермиса, в эксперименте" №.1126 от

17.12.1987г.; "Способ нанесения клея на эпидермис, подготовленный к экспериментальной трансплантации" N.1132 от 15.04.88 г.; выданное Минздравом БССР - "Устройство для островковой эпидермопластики" N.278 от 24.07.88 г.

Разработанные устройства и методы нашли практическое применение в узловой клинической больнице на ст.Гродно, в научно-исследовательской работе на кафедрах биологии, факультетской хирургии и инфекционных болезней Гродненского государственного медицинского института.

ОСНОВНЫЕ ПОЛОЖЕНИЯ, ВЫНОСИМЫЕ НА ЗАЩИТУ:

- с помощью специальных вакуумных камер на участках кожи крысы и человека можно образовать сплошной слой пузырей, крышки которых представлены всеми слоями эпидермиса, состоящими из вакуолизированных, но жизнеспособных кератиноцитов, дно - сосочковым слоем дермы, а полость заполнена тканевой жидкостью. У крысы, используя клеевую, частично растворимую подложку, а у человека с ее же помощью или с помощью проволоочной петли, отслоенный эпидермис может быть перенесен на реципиентное ложе. Успех трансплантации зависит от выполнения ряда условий;
- судьба отслоенного эпидермиса крысы зависит от того, в каких условиях он окажется в дальнейшем. Оставшись в составе крыш пузырей эпидермис быстро погибает (скорость гибели зависит от интенсивности нейтрофильной лейкоинфильтрации); будучи размещенным на прежнем месте (поверхность сосочкового слоя дермы) быстро приживается, приобретая признаки интактного состояния; на клетчатке развивается, проходя через гиперплазированное состояние и медленно возвращаясь к норме; на коллагеновом каркасе адходермы заполняет пустующие волосяные сумки, не меняя направления дифференцировки; развиваясь в тесном контакте с волосяными сосочками обрастает их;
- в процессе отслойки эпидермиса человека наблюдается травматизация кератиноцитов, в результате которой небольшая их часть быстро погибает. В кератиноцитах, оставшихся в составе крыш пузырей, происходит внутриклеточная регенерация, наблюдаются признаки белкового синтеза и дифференцировки, но подавляется митотическая активность;
- большинство кератиноцитов росткового слоя эпидермиса человека после вакуумного отделения и переноса на реципиентное ложе спо-

способны к митотическому делению и специфической дифференцировке, обеспечивая ускорение заживления кожного дефекта. Однако их пролиферативная активность уменьшается по мере увеличения длительности нахождения эпидермиса в приподнятом над дермой состоянии;

- разработанная для клинических целей методика получения и трансплантации вакуумно отслоенного эпидермиса отличается от дерматомной кожной пластики существенно меньшей болезненностью, бескровностью, малой травматизацией донорского участка, что обеспечивает его быстрое последующее заживление. Какие бы то ни было косметические дефекты на месте взятия трансплантата исчезают в течение 1,5-2 лет.

АПРОБАЦИЯ РАБОТЫ. Материалы диссертации доложены и обсуждены на научно-практических конференциях Гродненского мединститута (Гродно, 1989, 1991 гг.), на заседаниях Гродненского областного общества анатомов, гистологов и эмбриологов (Гродно, 1993 гг.), на областных конференциях молодых ученых (Гродно, 1987-1993 гг.), в лаборатории эволюционной гистологии Института эволюционной морфологии и экологии животных им. А.Н. Северцова (Москва, 1989 г.), на Всесоюзном симпозиуме "Кожная пластика в гнойной хирургии" (Москва, 1990 г.), на 2-ом Беларуском съезде анатомов, гистологов и эмбриологов (Минск, 1991 г.), на 10-м съезде хирургов Беларуси (Минск, 1991 г.). Отдельные фрагменты диссертации рецензировались в отделе дерматологии медицинского факультета университета штата Колорадо, США (Денвер, 1990, 1991 гг.) и в отделе дерматологии Киевского университета, ФРГ (Киев, 1992 г.).

ПУБЛИКАЦИИ. Основное содержание диссертации изложено в 28 печатных работах. Ряд ее положений защищен 4 авторскими свидетельствами на изобретения и 5 удостоверениями на рациональные предложения.

СТРУКТУРА И ОБЪЕМ ДИССЕРТАЦИИ. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, 6 глав собственных исследований, заключения, выводов, рекомендаций по внедрению и указателя литературы. Общий объем работы 431 стр., в том числе текстовая часть 243 стр. Диссертация содержит 49 таблиц, 130 фотографий, 15 графиков и схем. Литературный указатель содержит 559 наименований, в том числе 73 на русском языке.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

ОБЪЕКТ ИССЛЕДОВАНИЯ. В процессе выполнения данного исследования использовано 858 беспородных лабораторных крыс массой 180-240 г. Во всех случаях для обездвиживания, обезболивания или умерщвления животных использовали эфирный наркоз. Ряд явлений изучен у 288 здоровых и больных людей.

Распределение материала по сериям, методам обработки и срокам наблюдения представлено в таблице 1.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ. Планиметрия макроскопических структур применялась при определении площади взятого у крыс эпидермиса и прижившего у этих же животных эпидермального вутотрансплантата. При этом донорский участок окрашивали раствором трипанового синего, рядом размещали шкалу и все вместе фотографировали. Изображение на фотопленке просеивали на лист бумаги, обрисовывали, накладывали тест-решетку, подсчитывали количество точек и вычисляли истинное значение площадей. Границы раны и эпидермотрансплантата, используя бинокулярный микроскоп МБС-1, обрисовывали непосредственно на лист бумаги, а затем тем же способом вычисляли истинное значение соответствующих площадей.

Метод световой микроскопии использовался в процессе набора материала для всех глав. Так, забирали кожу или грануляционную ткань с раны вместе с трансплантированным эпидермисом в виде полоски шириной 5-7 и длиной 15-20 мм. Полученный участок прищипывали к пластмассовой пластинке соответствующего размера, обеспечивая его расправленное и слегка натянутое состояние во время фиксации по В.Я. Бродскому (формалин, спирт, уксусная кислота в соотношении 3:1:0,3). Из предварительно подрезанных и отточенных в смеси спирта и глицерина парафиновых блоков готовили вертикальные срезы, толщиной около 7 мкм, которые окрашивали гематоксилин-эозином. В случае, если светомикроскопическому исследованию предстояло подвергнуть крыши кожно-вакуумных пузырей, их после среза фиксировали в 10%-м, нейтральном, забуференном формалине. Срезы толщиной 8 мкм окрашивали гематоксилин-эозином и гематоксилин-азур 2-эозином.

Во всей работе с целью выявления ДНК-синтезирующих ключевых элементов использовался импульсный вариант тритий-тимидиновой автораддиографии. При этом крыскам внутривенно за час до забоя в 1 мл физиологического раствора вводили тритий-тимидин из

ХАРАКТЕРИСТИКА ИЗУЧЕННОГО МАТЕРИАЛА

Экспериментальные серии	Коли- чес- тво	Коли- чес- тво	Коли- чес- тво	Сроки набля- дений	Методы иссле- дова- ния *
	групп	крыс	людей	(сут.)	
	1	2	3	4	5
	1	2	3	4	5

ПРОЦЕССЫ НА КОЖЕ КРЫС ПОСЛЕ ОТСЛОЙКИ ЭПИДЕРМИСА

1. При оставлении эпидермиса в приподнятом состоянии.	1	43	-	0-5	Б, В, Г
2. После удаления жидкости из пузырей.	1	42	-	0-5	Б, В, Г
3. После удаления эпидермиса.	1	35	-	0-5	Б, В, Г
4. Контрольные группы.	2	46	-	0-5	Б, В, Г

ОПТИМИЗАЦИЯ МЕТОДИКИ АУТОЭПИДЕРМОПЛАСТИКИ

1. Подготовка рецептивного ложа.	4	40	-	0,3,10	А, Б, Ж
2. Уход за эпидермотрансплантатом на поверхности клетчатки.	6	60	-	10	А, Б
3. Обработка донорского участка антисептиками.	5	43	-	10	А
4. Перенос эпидермиса с донорского участка на рец. ложе.	2	27	-	10	А
5. Уход за эпидермотрансплантатом на поверхности грануляционной ткани.	7	70	-	10	А

РАЗВИТИЕ АУТОТРАНСПЛАНТИРОВАННОГО ЭПИДЕРМИСА КРЫС

1. На поверхности подкожно-жировой клетчатки.	2	96	-	1-28	Б, В, Г, Д
2. На поверхности коллагенового каркаса дермы.	1	36	-	3-28	Б, В
3. При взаимодействии с волосным сосочком.	1	18	-	3-20	Б

ИЗУЧЕНИЕ ОТСЛОЕННОГО ЭПИДЕРМИСА ЧЕЛОВЕКА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

1. На донорском участке после отслойки и оставления в приподнятом состоянии.	1	-	62	0-3	Б, Г, Д, Е
2. В условиях ксенотрансплантации сразу после отслойки.	2	62	62	1-7	Б, В, Г
3. После экспозиции в составе пузыря и ксенотрансплантации.	1	32	32	2-3	Б, Г

РАЗРАБОТКА АУТОЭПИДЕРМОПЛАСТИКИ ДЛЯ КЛИНИЧЕСКИХ ЦЕЛЕЙ

1. Оптимизация устройства клинических вариантов вакуумной камеры.	2	-	74	0-1	З
2. Островковая аутоэпидермопластика.	1	-	22	0-500	Б, Ж, И
3. Аутоэпидермопластика с использованием подложки.	1	-	17	0-400	Ж, И

Всего: 918 биологических объектов (650 крыс и 268 людей)

- *: А - планиметрия макроскопических структур,
 Б - световая микроскопия,
 В - тритий-тимидиновая автордиография,
 Г - морфометрия гистологических и автордиографических препаратов,
 Д - электронная микроскопия,
 Е - цитологическое исследование жидкости пузырей,
 Ж - микробиологическое исследование смывов с раневой поверхности,
 З - оценка ощущений в процессе воздействия вакуума,
 И - изучение отдаленных последствий методом анкетирования.

расчета 6 МБк на животное. После забоя выбранный объект фиксировали также, как для гистологического исследования. Срезы толщиной 7 мкм покрывали фотозмудьсией типа "И" и после экспозиции в течение 1-1,5 месяцев окрашивали гематоксилином Караччи.

Морфометрию гистологических препаратов осуществляли в соответствии с известными принципами (Австандильов Г.Г., 1973).

Для электронно-микроскопического исследования материалов, полученных от лабораторных крыс, фиксировали 1%-м раствором четырехокси осмия, приготовленным на 0,1 М какодилатном буфере, обезвоживали в спиртах, ацетоне заливали в арадит. Ориентируясь по полутонким срезам блоки подрезали так, чтобы они содержали нижние слои эпидермотрансплантата и поверхностные слои грануляционной ткани. При подготовке эпидермиса человека к электронно-микроскопическому исследованию крыши кожно-вакуумных пузырей сначала фиксировали в 2,5%-м растворе глutarового альдегида на какодилатном буфере, затем после промывки в 1%-м растворе четырехокси осмия, обезвоживали и заключали в арадит. Как в первом, так и во втором случаях готовили тонкие срезы на ультратоме LKB-3, контрастировали уранилацетатом и нитратом свинца по Рейнольдсу. Препараты изучали в электронных микроскопах ПЭМ-100 и ЭМВ-100ЛМ.

Для цитологического исследования часть перемешанной жидкости из пузырей помещали на предметное стекло, делали мазок и высушивали. После фиксации в метаноле и окраски по Романовскому определяли относительное содержание различных клеточных форм. Другую часть жидкости помещали в камеру Горяева, где подсчитывали число клеток в 100 больших квадратах.

Для микробиологического исследования смывы, полученные с раневой поверхности крыс и больных, заседали на пластинчатый микопептонный агар. После инкубации в термостате при 37 град. через 24 часа определяли число выросших колоний бактерий и их видовую принадлежность.

Для оценки неблагоприятных ощущений, возникающих у людей в процессе воздействия вакуума применялся метод характеристики испытанным их силы при одновременном воздействии на симметричные участки тела. Метод отличался от известного аналога (Reese-Boon-Wupia J.D.R. иа., 1955) тем, что давал сравнительные, количественные оценки.

Статистическая обработка полученного цифрового материала производилась на БК СК-1420 с использованием пакета прикладных статистических программ и на персональной ЭВМ ДБК-3М с использованием программы STAT.BAS.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

ПРОЦЕССЫ НА КОЖЕ КРЫС ПОСЛЕ ВАКУУМНОЙ ОТСЛОЙКИ ЭПИДЕРМИСА

Система для отслойки эпидермиса на теле лабораторных крыс состояла из вакуумной камеры, вакуумного насоса и датчика давления. Вакуумная камера (Р.п. N.1091) состояла из стеклянного корпуса конусовидной формы. В его основание, контактировавшее с кожей донорского участка, помещалась круглая пластинка-вкладыш, в центре которой находилось круглое отверстие диаметром 18 мм, затянутое капроновой нитью, формирующей квадратные ячейки, размером 4x4 мм.

В ходе данной части исследования материал набирали в три подопытные и две контрольные группы. У животных первой подопытной группы в межлопаточной области после удаления шерсти с помощью вакуумной камеры за 35 минут формировали пузыри и сверху крепили предохранительную камеру. У крыс второй подопытной группы все манипуляции осуществляли также, как в 1-й группе, но после прекращения воздействия отрицательного давления из образовавшихся пузырей удаляли жидкость, фиксировали предохранительную камеру. У животных третьей подопытной группы все манипуляции осуществляли также, как во 2-й, но после удаления жидкости из пузырей на кожу из пудверизатора наносили дерматомный клей (Р.п. N.1132), с помощью марли срывали отслоенный эпидермис, фиксировали предохранительную камеру.

Первую контрольную группу составили крысы, у которых непосредственно перед забоем и взятием участка кожи для исследования лишь выщипывали шерсть. У животных второй контрольной группы в межлопаточной области удаляли шерсть, выдерживали в течение 45 минут под эфирным наркозом, а затем фиксировали предохранительную камеру.

У животных первой контрольной группы брали два участка кожи с правого бока и из межлопаточной области. Крыс всех остальных групп забивали либо непосредственно после окончания всех манипуляций (срок 0 суток), либо через 1, 2, 3, 5 суток. Материал

брали из области соответствующих воздействий и готовили для гистологического и автордиографического исследования.

Анализ данных морфометрического исследования, полученных от животных первой контрольной группы, позволяет утверждать, что основные признаки микроструктуры эпидермиса на правом боку крысы и в мехлопачочной области существенно не различались. Дополнительные воздействия на кожу, имевшие место у крыс второй контрольной группы, сразу по их прекращению обусловили достоверное снижение митотического индекса в междоликулярном эпидермисе и индекса меченых ядер в наружных корневых влагалищах волосных фолликулов. В дальнейшем возрастали митотический индекс и индекс меченых ядер кератиноцитов базального слоя и наружных корневых влагалищ. После воздействий достоверно увеличивалась общая толщина эпидермиса и доли клеток, в цитоплазме которых содержались кератогиалиновые гранулы, достигая максимума через 2 суток. Эти признаки практически возвращались к норме через 5 суток.

В препаратах, полученных от крыс первой подопытной группы, забитых непосредственно после прекращения всех манипуляций, почти 60% поверхности дермы на участках, подвергшихся воздействию отрицательного давления, была лишена эпидермиса (табл. 2). Последний образовывал крыши пузырей, состоявшие из всех клеточных слоев. Сосочковый слой дермы не был поврежден и не имел на своей поверхности ни клеток, ни их остатков. Большинство кератиноцитов базального, шиповатого и зернистого слоев в составе крыш пузырей содержали по одной крупной центрально расположенной вакуоли, деформировавшей ядро. Поскольку кератиноциты с вакуолями были и на территории участков кожи между пузырями, можно утверждать, что вакуолизация клеток предшествовала отделению эпидермиса. Это предположение согласуется с данными Hunter J.A. et al. (1974) и Взагана Е.Г. et al. (1975). Полость пузырей была заполнена жидкостью, содержавшей лишь небольшую примесь эритроцитов и фибрина. Спустя сутки доля поверхности дермы, над которой был виден отслоенный эпидермис, уменьшилась до 45,5%. После распределения по группам данных для пузырей, найденных в изученных препаратах на 11 см суммарной длины поверхности кожи, выяснилось, что исчезали преимущественно мелкие пузыри, что обусловлено более быстрой реабсорбцией жидкости из их полости. На

Таблица 2.

ФОРМИРОВАНИЕ ЭПИДЕРМАЛЬНОГО ПОКРЫТИЯ НА ПОВЕРХНОСТИ ДЕРМЫ
В ТРЕХ УСЛОВИЯХ ПОСЛЕ ВАКУУМНОГО ОТСЛОЕНИЯ ЭПИДЕРМИСА

СРОК, ко- во- ва- ри- ант	Приподнятое состоя- ние		Отслоенное состоя- ние		Удаленное состояние
	Доля по- верхности дермы (%), не покры- тая эпи- дермисом	Доля по- верхности дермы (%), с отслоен- ным эпи- дермисом	Доля по- верхности дермы (%), не покры- тая эпи- дермисом	Доля по- верхности дермы (%), с отслоен- ным эпи- дермисом	Доля повер- хности дер- мы не по- крытая эпи- дермисом (%)
0 сут. n	П 1** 59,4±3,47 9		П 5 54,3±4,41 9 P1=0,3836*		П 9 79,2±2,71 7 P1=0,0007
1 сут. n	П 2 2,86±0,65 9 P1=0,0000*	П 4 45,3±3,36 9 P1=0,0171	П 6 0,16±0,09 9 P5=0,0000 P2=0,0006	П 8 12,4±2,84 9 P5=0,0000 P4=0,0000	П 10 55,5±4,27 7 P9=0,0005 P2=0,0000
2 сут. n	П 3 0,00±0,00 10 P2=0,0013		П 7 0,00±0,00 8 P6=0,1516		П 11 0,90±0,48 7 P10=0,0000

Примечание: * - показатель достоверности (P) с номером переменной, относительно которой определена достоверность.
** - переменная и ее номер.

этот срок 93,9% поверхности дна пузырей уже было покрыто новым эпителием в 1-2 ряда клеток. Главным источником формирования нового эпителиального покрытия были прежде всего наружные корневые влагалища волосных фолликулов. Доля меченых ядер клеток базального слоя составила там 38,1%. На данный срок в среднем на 68,9% площади крыш пузырей кератиноциты сохраняли признаки жизнеспособности. В отличие от предыдущих суток в полости пузырей появились лейкоциты, 30,8% которых составили нейтрофилы. Между долей жизнеспособного эпидермиса в составе крыш пузырей и такими показателями, как доля нейтрофилов в смеси лейкоцитов существовала сильная корреляционная связь ($r=-0,800$; $P=0,0001$). В связи с этим гибель кератиноцитов можно объяснить неблагоприятным влиянием, которое оказывали нейтрофильные лейкоциты и сопутствующие им факторы. В свою очередь проникновение избыточных количеств данных клеточных форм по-видимому обусловлено инфицированием полости пузырей. Последнее подтверждается картинами скопления нейтрофилов в отдельных точках в крышах пузырей. В то же время на отсутствие существенного влияния состава лейко-

взвеси на состояние кератиноцитов, мигрирующих по дну пузырей, указывает отсутствие связи между соответствующими показателями. Последнее дает возможность предположить, что кератиноциты в составе крыш пузырей находятся в специфическом, особо чувствительном состоянии.

Через 2 суток эпителий, выросший на дно пузырей состоял уже из 3-5 клеточных слоев, причем во многих клетках обнаруживались кератогиалиновые гранулы. Здесь, в сравнении с 1-ми сутками, резко вырос митотический индекс, но несколько уменьшился индекс меченых ядер. Эпидермис в составе крыш пузырей был погибшим. Спустя 5 суток с начала эксперимента на большинстве участков кожи трудно было отличить эпидермис, который не был отслоен, от новообразованного эпидермиса.

У животных второй подопытной группы на срок 8 суток на большей части поверхности дермы на значительном ее протяжении можно было найти отслоенный эпидермис (табл. 2), большинство кератиноцитов в составе которого были вакуолизированы и выглядели также, как и у животных первой подопытной группы. Между отслоенным эпидермисом и соответствующей ему поверхностью дермы было видно лишь щелевидное пространство. Часть эпидермального пласта оказалась в избытке на небольшом протяжении и образовывала складки. Через сутки доля поверхности дермы, не покрытая эпидермисом, оказалась наименьшей у крыс именно этой группы. Учитывая, что доля поверхности дермы, не покрытая эпидермисом на нулевые сутки у крыс 1-й группы была на 14% больше доли поверхности дермы с отслоенным эпидермисом через сутки (таблица 2, показатели 1 и 4), можно предположить, что примерно на такую величину на части поверхности дермы был вторично восстановлен эпидермальный покров за счет спадения мелких пузырей и прилипания эпидермиса их крыш. Это же сопоставление во 2-й подопытной группе (показатели 5 и 8) позволяет утверждать, что около 42% эпидермального покрытия могло повторно восстановиться на поверхности дермы за счет повторного прилипания эпидермиса крыш кожно-вакуумных пузырей. Таким образом, у животных этой группы за счет удаления жидкости из пузырей в заживлении примерно 25-30% поверхности кожи дополнительно участвовал предварительно вакуумно отслоенный эпидермис.

При изучении препаратов, полученных от крыс третьей подопы-

тной группы непосредственно после удаления отслоенного эпидермиса, последний отсутствовал на площади, явно большей, чем та, на которой был отделен эпидермис у крыс предыдущих двух групп (табл. 2). Это обусловлено тем, что после воздействия вакуума часть кератиноцитов, не отделенных от базальной мембраны, на самом деле оставалась непрочной связанной с ней. Спустя сутки, в отличие от предыдущих двух групп, большая часть поверхности дермы по-прежнему оставалась без эпидермиса. Только через 2 суток после удаления эпидермиса большая часть поверхности кожи, находясь под струпом, была покрыта новым эпителием, который часто еще не имел явных признаков дифференцировки. В отличие от предыдущих подопытных групп у данных животных наиболее длительно метилась значительная часть кератиноцитов. Зернистый и роговой слои в новообразованном эпидермисе оформивались лишь к 3-5-м суткам.

В результате анализа совокупности морфометрических данных, полученных при изучении гистологических и автордиографических препаратов, оценки по ним длительности заживления и приобретения эпидермисом признаков, близких к интактному состоянию, разные сочетания воздействий в направлении увеличения травматизации кожи можно расположить в следующей последовательности: выщипывание шерсти и выбривание подшерстка < то же плюс вакуумная отслойка эпидермиса и последующее приведение крыш пузырей в контакт с дермой < выщипывание шерсти, выбривание подшерстка, вакуумная отслойка эпидермиса с оставлением пузырей в интактном состоянии < то же, но с последующим удалением крыш пузырей. Замедленное развития эпидермиса на дне кожно-вакуумных пузырей с удаленной крышкой объясняется большей сухостью среды, прерывистым характером субстрата, по которому приходится мигрировать клеткам, более агрессивным микроокружением (Краевзук W.S., 1971; Pang S.C., 1978).

Возможности для изучения реэпидермизации поверхности кожи у человека после вакуумной отслойки эпидермиса крайне ограничены (Ortonne J.P. et al., 1980; Saiag F. et al., 1985). Поэтому выяснение как она происходит более широко осуществлялось в опытах на лабораторных животных. При этом использовались либо такой относительно дорогостоящий биологический объект, как свиньи (Fourtanier A. et al., 1984), либо новорожденные, еще не покры-

внесия шерстью крысята (Kawczyk W.S. 1971), либо те участки на теле взрослых крыс, которые не покрыты шерстью (Loning T. et al., 1983) или на которых она не сильно развита (Pang S.C. et al., 1978). Предлагаемая нами модель отличается от известных относительной дешевизной и достаточно большими возможностями для количественной характеристики процесса заживления.

ОПТИМИЗАЦИЯ МЕТОДИКИ АУТОЭПИДЕРМОПЛАСТИКИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ НА ЖИВОТНЫХ

Разработка и усовершенствование удобной экспериментальной модели трансплантации мезофолликулярного эпидермиса у наиболее распространенных экспериментальных животных - лабораторных крыс, оказалась возможной за счет создания устройств, обеспечивающих как отслойку мезофолликулярного эпидермиса на достаточно большой площади донорского участка кожи, так и перенос пленок отделенного от дермы эпидермиса на рецептивное ложе. Кроме того, при создании модели полнослойного кожного дефекта использовали предохранительную камеру (Р.п. N.1678), состоящую из пластмассового основания, крышки и резинки для ее крепления. После удаления шерсти и обработки спиртом передней трети спины крысы, делали циркулярный разрез кожи в мезопаточной области диаметром 2 см до клетчатки. Основание камеры фиксировали двумя рядами швов к наружному краю рассеченной кожи с помощью нитей. Оставшийся внутри кожный лоскут в зависимости от задач эксперимента удаляли либо непосредственно перед переносом эпидермиса, либо за 3 суток до этого.

Трансплантацию эпидермиса осуществляли следующим образом. На правом боку животного тщательно удаляли шерсть и устанавливали описанную ранее вакуумную камеру. В ее полости в течение 35-45 минут создавали и поддерживали отрицательное давление. После снятия вакуумной камеры из пузырей удаляли жидкость. На роговой слой эпидермиса наносили тонкий слой дерматомного клея (Р.п. N.1132). С помощью специально изготовленной клеевой, частично растворимой подложки (А.с. N.1827152) отслоенный эпидермис переносили на раневую поверхность.

Для выяснения оптимальных условий всей методики аутоэпидермопластики процедура трансплантации была разделена на 4 этапа: подготовка рецептивного ложа, обработка донорского участка

антисептиками перед отслойкой эпидермиса, перенос эпидермиса, уход за раневой поверхностью после размещения на ней эпидермиса. Эффективность аутотрансплантации оценивали путем определения отношения площади эпидермотрансплантата через 10 суток после операции к площади взятого с донорского участка эпидермиса (Р.п. N.1128).

С целью выявления оптимальных способов подготовки раневой поверхности к трансплантации эпидермиса у животных 1-й группы кожный лоскут, остающийся внутри основания камеры, удаляли непосредственно перед трансплантацией; во 2-й группе кожный лоскут удаляли за 2-3 часа до трансплантации, а сверху укладывали тампон, смоченный 0,04%-м раствором грамицидина; в 3-й группе после удаления кожного лоскута на поверхности раны в течение 3 суток формировали грануляционную ткань. Было установлено, что наиболее эффективным был 1-й вариант подготовки раневой поверхности (относительные размеры эпидермотрансплантата составили 108%), наихудшим - третий (2,7%). И это несмотря на то, что степень микробного обсеменения раны в последнем случае возросла незначительно (от стерильности до нескольких микробных тел в 1 мл смыва).

Следующая серия опытов, состоявшая из 8 вариантов ухода за раневой поверхностью, была направлена на выявление оптимальных вариантов таковых после выполнения трансплантации на поверхность стерильной клетчатки. Из сопоставления результатов разных групп опытов данной серии стало очевидным, что наилучшими способами ухода были такие, при которых сводилась к минимуму вероятность травмирования развивающегося эпидермиса.

В третьей серии выявляли оптимальные способы обработки донорского участка антисептиками, используемыми в клинических условиях, перед взятием эпидермального трансплантата. Наивысшая эффективность аутоэпидермопластики оказалась после обработки кожи спиртом или спиртовым раствором хлоргексидина (92,0% и 99,3% соответственно), наихудшая - при использовании раствора йодоната (26,4%). Это в значительной степени согласуется с мнением хирургов, которые также отмечают нежелательность применения растворов йода для обработки донорских участков перед получением тонких кожных трансплантатов (Тычинкина А.К., 1972).

В четвертой серии опытов, с целью выяснения условий сохра-

нения жизнеспособности эпидермотрансплантата в процессе переноса на рецептивное ложе, исследовали эффект высыхания и нахождения эпидермиса в изотоническом растворе хлорида натрия. Причем, в первом случае эпидермис на подложке после отделения от дермы держали на воздухе различные по длительности промежутки времени (от 4 секунд до более чем 12 минут). Явное снижение жизнеспособности трансплантата в результате высыхания наблюдалось начиная с 60-секундного периода. Во втором случае возможность существенного снижения эффективности трансплантации наблюдалась при приближении длительности нахождения эпидермиса в водной среде к одночасовому периоду и достоверно снижалась при двухчасовой экспозиции.

В клинике при лечении полнослойных кожных дефектов, как правило, приходится иметь дело не со стерильной поверхностью клетчатки, а с поверхностью грануляционной ткани, покрытой фибрином. Учитывая практическое значение разработки оптимальных способов ведения раневой поверхности с трансплантированным эпидермисом в этих условиях, было решено поставить дополнительную серию опытов, включившую 7 групп животных. Было выявлено, что после трансплантации на раневую поверхность подготовленную, как у животных 3-й группы первой серии, наилучшими были такие способы ухода (эффективность трансплантации приблизилась к 50%), при которых не только обеспечивалась минимальная травматизация развивающегося эпидермиса в процессе смены томпонов, но и постоянное удаление экссудата. Кроме того, была обнаружена тенденция к улучшению результатов трансплантации за счет предварительного удаления фибриновых наложений.

РАЗВИТИЕ ЭПИДЕРМИСА КРЫС, АУТОТРАНСПЛАНТИРОВАННОГО НА РАЗЛИЧНЫЕ ВИДЫ РЕЦЕПТИВНОГО ЛОЖА

На основе разработанной модели трансплантации появилась возможность попытаться выявить максимальный объем гистогенетических потенций междоликулярного эпидермиса у половозрелых млекопитающих. В связи с этим было решено изучить особенности развития эпидермиса на поверхности клетчатки (в условиях ограничения контракции), на поверхности коллагенового каркаса дермы (с сохраненными волосными сумками) и в присутствии волосных сосочков.

Структура эпидермиса на поверхности подкожной клетчатки при исследовании гистологически через 1, 2, 3, 5, 7, 10, 14, 20 и 28 суток после трансплантации, электронномикроскопически через 5, 7, 10 и 14 суток и автордиографически с промежутками в часов, начиная с двухчасового интервала после трансплантации.

Было установлено, что через сутки после ауто трансплантации эпидермис состоял из 1-3 рядов ядросодержащих жизнеспособных клеток и рогового слоя. Причем последний был складчатым, тогда как клетки подлежащих слоев, особенно базального, были распластаны на поверхности рецептивного ложа. Ядра супрабазальных клеток часто содержали по одному-два ядрышка. Зернистый слой был прерывистым. В трансплантированном эпидермисе встречались некротические участки, составлявшие около 3% его объема эпидермиса и около трети площади базального слоя. Непосредственно под эпидермисом находился тонкий слой фибрина, среди нитей которого было видно лишь небольшое количество лейкоцитов, главным образом макрофагов. На последующие сроки наблюдался закономерный процесс превращения клетчатки в грануляционную ткань. В ходе дальнейшего развития эпидермотрансплантата максимальное число ядер с ядрышками в толще шиповатого слоя было на 2-5-е сутки, пик митотического индекса наблюдался на 3-5-е сутки, доля клеток с кератогиалиновыми гранулами среди общего числа ядросодержащих клеток супрабазальных слоев была максимальной на 3-7-е сутки, а общая толщина базального, шиповатого и зернистого слоев эпидермиса - на 7-10-е сутки. Базальная мембрана на границе эпидермиса и дермы только начинала формироваться на 5-е сутки, была видна на значительном протяжении на 7-е и занимала подавляющую часть площади контакта эпидермиса и грануляционной ткани на 10-14-е сутки. Во временном интервале между 5-7-ми сутками аperiodически встречались одиночные врастания эпидермиса в толщу грануляционной ткани, подобные тем, которые описаны другими авторами в близких условиях (Billingham R.A., 1952; Bell E. et al., 1953; Grinnell F. et al., 1955). Однако позже врастания не развивались и исчезали. Через 4 недели на тех участках эпидермотрансплантата, где роговой слой длительно не удалялся, последний был достаточно мощным. Таким образом, получаемые данные не позволяют подтвердить мнение некоторых авторов, что без влияния клеточных элементов дермы в трансплантированном эпидермисе не

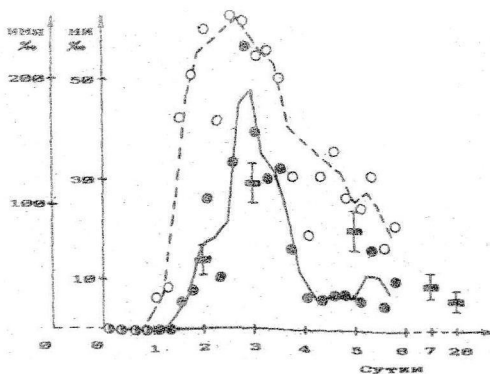


Рис. 1. Динамика митотического индекса (МИ) и индекса меченых ядер (ИМЯ) в базальном слое аутоотрансплантированного эпидермиса крыс. Обозначения: --- кривая индекса меченых ядер (построена методом скользящей средней), o — данные отдельных измерений; — кривая митотического индекса, ● — данные отдельных измерений; ■ — митотические индексы (среднее арифметическое с обозначением ошибки средней).

формируется зернистый слой и слабо развит роговой (Worst P.K.M. et al., 1982; Mackenzie I.C. et al., 1983). В отличие от других количественных признаков число гематогенных клеточных элементов в толще трансплантированного эпидермиса, большинство которых были идентифицированы электронно-микроскопически как лимфоциты, постепенно нарастало к 10-м суткам и поддерживалось на достигнутом уровне вплоть до конца исследования. По наличию большого числа лимфоцитов среди кератиноцитов, непрерывному зернистому слою, увеличенному числу рядов клеток, распластанным клеткам базального слоя эпидермис, находящийся на поверхности рецептивного ложа, даже через месяц все еще отличался от интактного мезодермального эпидермиса.

Дополнительное изучение особенностей развития пролиферативного процесса в аутоотрансплантированном эпидермисе крыс позволило установить, что первые клетки в S-периоде интерфазы появились сначала в развивающейся грануляционной ткани на срок 20 часов, первые меченые кератиноциты — 6 часов спустя в базальном слое эпидермиса (рис. 1). Доля последних там быстро достигла 15-25% и оставалась в пределах этих значений в интервале 1 сутки 14 часов — 3 суток 14 часов, а затем постепенно уменьшилась до 7,5-14%. Первые делящиеся митозом кератиноциты были обнаружены через 12 часов после нахождения первых меченых кератиноцитов.

Для изучения развития эпидермиса на поверхности коллагенового каркаса дермы (ККД) его изготавливали из кожи забитой крысы. При этом взятый с живота полнослойный кожный лоскут помещали в 2%-й раствор двузамещенного углекислого натрия, затем удаляли эпидермис и его производные, промывали и помещали в среду 199 (Положит. реш. на выдачу патента от 28.11.81 г.). В межлопаточной области крепили предохранительную камеру, удаляли кожный лоскут и на поверхность клетчатки помещали участок ККД размером 1х1,5 см, а с донорского участка на него переносили эпидермис. Происходящие процессы исследовали гистологически и автордиографически.

В данном случае можно было наблюдать, что на ранние сроки (3-5 суток после трансплантации) эпидермис, перенесенный на поверхность ККД и сохранивший жизнеспособность, развивался, становясь более многослойным, и дифференцировался. Его клетки систематически заполняли пустующие волосяные сумки, мигрируя вглубь по их стенкам, и вступали в митотический цикл. Это приводило к образованию фолликулоподобных структур. В свою очередь с поверхности рецептивного ложа в пространство между коллагеновыми волокнами проникали гематогенные клеточные элементы. Во временном интервале 6-8 суток многие волосяные сумки оказались в наибольшей степени заполнены кератиноцитами, которые не только продолжали митотически делиться (судя по продолжавшемуся синтезу ДНК), но и дифференцировались в направлении, типичном для их естественного расположения. Однако в интервале 10-15 суток после трансплантации кератиноциты эпидермальных вращаний прекращали делиться и, также как в серии с трансплантацией на поверхность клетчатки, подвергались деструкции. При этом наблюдалось снижение доли меченых тирий-тимидином ядер, появление просветленных гибнущих клеток и депозитов корнеоцитов в виде характерных многослойных структур. Начиная с 20-х суток о возможном предшествующем периоде заполнения волосяных сумок ККД кератиноцитами аутоэпидермиса можно было лишь догадываться по извилистой контуре базальной поверхности эпидермотрансплантата.

Таким образом, при заполнении кератиноцитами вакуумно отслоенного эпидермиса волосяных сумок бесклеточного ККД не проявилось признаков их трансдифференцировки. Возможно, что причи-

на этого обусловлена достаточно жесткой детерминированностью кератиноцитов мекфолликулярного эпидермиса к дифференцировке в корнеоциты, с другой стороны возможно, что созданные условия явились недостаточным стимулом для раскрытия всех гистогенетических потенций данных клеточных форм, поскольку показано, что для повторной организации производных, даже из преддетерминированных клеточных элементов перинатальных млекопитающих, необходимо специфическое взаимодействие с фибробластами верхних слоев кожи. Субдермальные фибробласты таким влиянием не обладают (Briggaman R.A. et al., 1971; Mackenzie I.C. et al., 1983).

В связи с этими обстоятельствами большой интерес приобрело изучение развития эпидермиса в присутствии аутофибробластов волосяных сосочков, выделенных из фолликул вибрисс. Рецептивное ложе готовили в мехлопаточной области так, как описано ранее. В центр ее укладывали от 3 до 6 волосяных сосочков, затем переносили эпидермис. Их взаимоотношение изучали на серийных срезах через 3, 5, 7, 10, 14 и 20 суток.

На срезах волосяные сосочки легко узнавались по соответствующему размеру, форме и выглядели в виде плотной группы мелких клеток. На срок 3 суток эпидермис, находящийся в непосредственном контакте с волосяным сосочком, не имел отличительных признаков при сравнении с эпидермисом, расположенным рядом, и контактирующем лишь с поверхностью рецептивного ложа. Однако через 5 суток после трансплантации начиналось, а на 7-е сутки нередко уже полностью завершалось, обрастание сосочков кератиноцитами, сопровождавшееся усилением их митотической активности. При этом сосочек, как бы вращал в толщу эпидермиса и сильно уплощался, сохраняя кровеносные сосуды. Спустя 10-14 суток сосочки по-прежнему находились в окружении кератиноцитов эпидермотрансплантата. Однако у последних как на данные сроки, так и на последующие, гистологически нельзя было обнаружить никаких признаков специфической трансдифференцировки (в трихоциты или себоциты). Основное изменение образовавшейся структуры через 20 суток после трансплантации, свидетельствовавшее о начале процесса обратного развития, заключалось в появлении в составе врастаний кроме фибробластов сосочка клеточных и волокнистых компонентов подлежащей грануляционной ткани. Описанную картину нарушали случаи нахождения сосочков непосредственно под эпидермисом без

проявления какой-либо видимой реакции с его стороны (10-14 суток). Подобный диссонанс скорее всего можно объяснить неактивным функциональным состоянием данных сосочков.

Таким образом, несмотря на обнаружение формирования своеобразной структуры (листовидный инвагинат сосочка в толщу эпидермиса), которая могла образоваться только в условиях, когда фибробласты сосочка секретировали специфические факторы, а междоликулярный эпидермис сохранял по крайней мере часть компетенции, свойственной эмбриональному эпидермису, факт отсутствия формирования полноценных волосных фолликулов позволяет утверждать, что для образования последних недостаточно наличия контакта между междоликулярным эпидермисом и волосным сосочком. Если учесть известные из литературы сведения о том, что при аутооттрансплантации волосного сосочка под эпидермис на участках кожи, не имеющих волос, образуются полноценные волосные фолликулы (Oliver R.F., 1971), то с большей определенностью можно предположить, что недостающие в нашем случае факторы присутствуют в дермальном слое кожи.

ПРЕОБРАЗОВАНИЯ КОМПОНЕНТОВ КОЖНО-ВАКУУМНЫХ ПУЗЫРЕЙ ЧЕЛОВЕКА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Для отделения эпидермиса от дермы у здоровых юншей использовали вакуумную камеру, имевшую в основании, вступающем в контакт с кожей, 4 отверстия диаметром по 5,5 мм каждое. Ее использование позволяло получать через 40-75 минут воздействия вакуума пузыри диаметром 4,5-5,5 мм. Для переноса их крыш на рецептивное ложе были разработаны проволоочная петля с изменяющейся конфигурацией (А.с. N.1718864) и разомкнутая петля (Р.п. N.278). Развитие крыш кожно-вакуумных пузырей человека, перенесенных непосредственно после образования на раневую поверхность лабораторных крыс (готовилась как описано ранее), изучали гистологически через 1, 2, 3, 4, 5, 6 и 7 суток после трансплантации, автордиографически - через 6 часовые интервалы. Структуру эпидермиса в составе крыш кожно-вакуумных пузырей изучали гистологически либо непосредственно после прекращения воздействия отрицательного давления, либо спустя 1, 3, 6, 12, 24, 48 и 72 часа. В эти же сроки из пузырей забирали жидкость и использовали для цитологического исследования. На сроки 0, 1, 2 и 3 суток

крыши пузырей изучали электронно-микроскопически. Для оценки изменения состояния крыш пузырей, как трансплантатов, их переносили лабораторным крысам через 1, 2 и 3 суток после отслойки, а затем (через 2 и 3 суток после трансплантации) их структуру исследовали гистологически.

В эпидермисе человека, ксенотрансплантированной крысе непосредственно после отслойки, через сутки после переноса на рецептивное ложе более 9% объема шиповатого слоя и около 25% площади базального составляли участки с признаками некроза. На данный срок митозы не встречались. Зернистый слой был представлен единичными клетками. Поверхностные слои клетчатки были инфильтрированы клеточными элементами, участвующими в развитии посттравматического асептического воспаления. В последующем, также как у крыс, наблюдался закономерный процесс превращения клетчатки в грануляционную ткань. Спустя еще сутки в толще эпидермиса втрое сократилась объемная доля некротических участков, в ростковом слое нередко обнаруживались фигуры митотического деления ядер, в клетках шиповатого, чаще на вершинах складок, выявлялись мелкие кератогиалиновые гранулы. Рост признаков, свидетельствующих о развитии эпидермиса, продолжался и на 3-е сутки. Однако затем происходила стабилизация основных морфометрических показателей (митотического индекса, относительного числа клеток с кератогиалиновыми гранулами), а начиная с 5-х суток и вплоть до конца исследования в ростковом слое постепенно уменьшалась доля митотически делящихся клеток, а в шиповатом количество клеток с кератогиалиновыми гранулами, также как число и размер последних, наблюдался лизис ядер, нарастала оксифилия цитоплазмы. В толщу эпидермиса проникали лимфоциты. Через 7 суток после ксенотрансплантации многие участки эпидермиса человека были полностью нежизнеспособны.

Более подробное изучение развития процесса пролиферации кератиноцитов человека в этих условиях позволило установить, что так же как и в опыте с ауто трансплантацией крысиного эпидермиса, первые меченые клетки появились сначала в развивающейся грануляционной ткани (срок - 20 часов), а первые меченые кератиноциты спустя еще 6 часов в базальном слое эпидермотрансплантата (рис. 2). После появления первых меченых клеток их доля уже к концу вторых суток достигала 12-16%, оставаясь в пределах

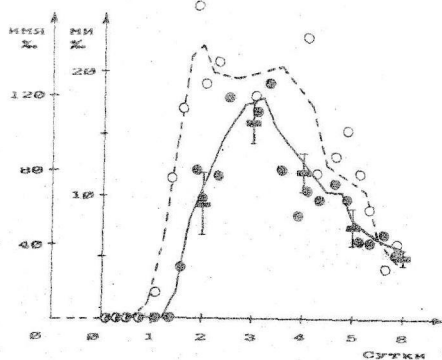


Рис. 2. Динамика митотического индекса (МИ) и индекса меченых ядер (ИМЯ) в базальном слое ксенотрансплантированного эпидермиса человека. Обозначения как на рис. 1.

этих значений до начала 4-х. Затем вплоть до конца исследования доля меченых клеток в базальном слое эпидермотрансплантата постепенно снижалась до около 4%. В отличие от крысиного аутоэпидермотрансплантата, меченые клетки в супрабазальных слоях полностью исчезли в середине 6-х суток. Первые делящиеся митозом кератиноциты также, как и в случае аутоэпидермотрансплантата крысиного эпидермиса, были обнаружены через 12 часов после нахождения первых меченых клеток этого же типа. Это позволяет предположить, что также как в трансплантированном крысином эпидермисе, в ксенотрансплантированном эпидермисе человека суммарная длительность S и G2 периодов первых возобновленных митотических циклов кератиноцитов была больше 6 и менее 12 часов. Совпадение начала процессов пролиферации в трансплантированном эпидермисе человека и крыс дает основание для предположения, что сигналы, воспринимаемые ими, в обоих случаях были одинаковы и исходили, скорее всего, из развивающейся грануляционной ткани рецептивного ложа. С другой стороны, средняя интенсивность метки кератиноцитов человека была несколько ниже, чем кератиноцитов крыс (для сравнения использовались клетки рецептивного ложа). Это, а также в среднем несколько меньшая доля меченых клеток объясняют меньшие величины митотических индексов в эпидермотрансплантате человека в сравнении с таковым крыс.

После отслойки эпидермиса человека и оставления его в неподнятом состоянии наиболее выраженные изменения травматического характера можно было наблюдать в базальном и шиповатом слоях. Однако вначале ни на основе светооптических, ни электронно-микроскопических данных еще нельзя было с достаточной уверенностью сказать сохранит ли отдельно взятая клетка жизнеспособность в дальнейшем. В то же время в базальном слое можно было найти клетки, имевшие практически нормальный вид. Они располагались, как правило группами. Возможно, что разная степень травмирования клеток базального слоя и в результате различная судьба их в последующем (гибель или восстановление) объясняется разной степенью развития полудесмосом (Lavker R.M. et al., 1982). Важно отметить, что единичные клетки в состоянии митотического деления встречались в базальном слое лишь на данный срок. В 89,2% клеток шиповатого слоя были видны крупные, круглые, расположенные центрально вакуоли. Они, также как и в аналогичных исследованиях других авторов (Hunter J.A. et al., 1974; Veerenz E.G. et al., 1975), представляли собой резко увеличенные в объеме и в результате этого слившиеся цистерны эндоплазматического ретикулума. При этом даже самая большая вакуоль, оттеснявшая ядро, была отделена от перинуклеарного пространства узким промежутком цитоплазмы. Зернистый и роговой слои существенно не отличались от таковых в интактном эпидермисе. В них не удалось обнаружить в дальнейшем существенных структурных преобразований. С 3 часов экспозиции у базального слоя эпидермиса появлялись нити фибрина и единичные лейкоциты. Во временном интервале до 24 часов за счет распластывания жизнеспособных кератиноцитов и вытеснения погибших клеток в полость пузыря происходило полное восстановление базального слоя. О процессах восстановления структуры шиповатого слоя в период 1-48 часов экспозиции свидетельствовало уменьшение доли клеток, в которых выявлялись вакуоли, приобретение ядрами округлой формы, занятие ими центрального положения, появление ядрышек, максимальное количество которых обнаруживалось через 6-12 часов. В кератиноцитах перестраивалась сеть тонофибрилл, структура десмосом. Формировались специфические гранулы Одланда и кератоглилиновые гранулы. Однако с 48 часов экспозиции в отслоенном эпидермисе вновь появились участки с признаками гибели клеток, и в

дальнейшем (к 72 часам), несмотря на достаточно пеструю картину, изменения структуры отслоенного эпидермиса имели явно деструктивную направленность.

Объяснению причин иивших место преобразований способствовало параллельное изучение изменения клеточного состава пузырной жидкости. Оказалось, что концентрация лейкоцитов в ней возрастала лишь в течение первых 12 часов экспозиции. Начиная с 3 часов наблюдалось непрерывное уменьшение относительного содержания нейтрофильных лейкоцитов, тогда как доля макрофагов в лейкоцывеси непрерывно возрастала. Перекрест между количеством указанных клеточных форм наблюдался между 24 и 48 часами экспозиции. Эти данные со всей определенностью свидетельствуют, что у человека, в отличие от крыс, по крайней мере в течение 2 суток после образования вакуумных пузырей, посттравматическое воспаление развивалось по асептическому типу, что давало возможность отслоенному эпидермису, находясь в необычных, но неагрессивных условиях, своеобразно регенерировать (отсутствие пролиферации).

Если эпидермис человека, ксенотрансплантировали после 24-часовой экспозиции в составе крыши пузыря, то через 2-3 суток после этого его структура сильно варьировала как на различных препаратах, так и на различных участках одного и того же препарата. Но все же, чаще встречались участки, в составе которых кератиноциты были разбухшими, с резко просветленной цитоплазмой. Их ядра были либо мелкими, круглыми, плотными, подобными на таковые у зрелых лимфоцитов, либо достаточно крупными, но гипохромными. В таких кератиноцитах часто содержались очень мелкие, разбросанные по всей цитоплазме кератогаминовые гранулы. На территории описанных участков после 48-72 часовой экспозиции увеличивалась доля пикнотически измененных ядер, подвергавшихся позже карioreксису, возрастала интенсивность фагоцитарной реакции. В то же время в 25-45% площади эпидермотрансплантата (резко изменчивый показатель) занимали участки, на территории которых обнаруживался жизнеспособный, митотически активный ростковый слой. Во всех случаях количество делящихся митозом кератиноцитов было здесь примерно одинаковым (от 2,8 до 2,56 в расчете на 1 мм длины среза). Таким образом, при оценке эпидермиса, находившегося в течение 24 часов в приподнятом со-

стоянии в составе крыш кожно-вакуумных пузырей, с точки зрения морфолога очевидно, что его структурная полноценность на много выше, чем у только что отделенного эпидермиса. На самом деле его полноценность как кожного трансплантата, существенно снижалась за счет того, что в большинстве кератиноцитов блокировалась митотическая активность, они вступали на путь необратимой дифференцировки и после трансплантации подвергались своеобразному некробиозу. В то же время, в этих условиях часть клеток сохраняла способность к пролиферации, которая реализовывалась при получении соответствующих митогенных стимулов (после трансплантации).

Еще одним любопытным явлением было обнаружение клеток, расположенных супрабазально над территориями с жизнеспособным ростковым слоем, с явно некротической разбухшей цитоплазмой, внутри которых находились хромосомы. Все эти клетки были синхронизированы в состоянии прометафазы. Появление подобных клеток могло быть вызвано параллельным прохождением в течение какого-то времени двух разнонаправленных процессов в цитоплазме и ядре (соответственно некробиоз и подготовка к митозу), что могло возникнуть в том случае, если данные клетки попадали в такой градиент интенсивности сигнала, который мог запускать один процесс (некробиоз цитоплазмы) и еще не остановить другой (подготовка к делению). В любом случае обнаружение подобных клеток в серии с отсроченной трансплантацией вакуумно отделенного эпидермиса человека наводит на мысль об относительной автономности в целостной клетке, по крайней мере в одном из интервалов митотического цикла, таких ее компартментов, как ядро и цитоплазма.

РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ АУТОЭПИДЕРМОПЛАСТИКИ ДЛЯ КЛИНИЧЕСКИХ ЦЕЛЕЙ

В отличие от известных камер, используемых для отслойки эпидермиса перед его трансплантацией в условиях клиники (Fala-bella R., 1984; Koga M., 1988), вакуумная камера, разработанная нами, имела принципиально такое же строение, как камера, использовавшаяся в опытах на животных. Она позволяла в 3-4 раза быстрее, чем при применении зарубежных аналогов, получать на донорском участке кожи заданной площади, не один большой пузырь диаметром 2-3 см, а практически сплошной слой пузырей, сравни-

тельно небольшого размера. Для выяснения какие именно особенности ее устройства и применения могут способствовать уменьшению неприятных ощущений, было выполнено исследование на 24 здоровых студентах и 50 больных узловой клинической больницы на ст. Гродно.

В ходе исследований было установлено, что все пороги ощущений у лиц женского пола были ниже, чем у мужского, у студентов ниже, чем у больных. Уменьшение толщины нитей и увеличение размеров ячеек в отверстиях вкладыша, более глубокое его вхождение в корпус камеры вне зависимости от возраста, пола и от того, какая половина тела выбиралась в качестве контрольной приводило к достоверному увеличению болезненности, тогда как уменьшение площади отверстия и увеличение толщины нитей вкладыша приводило к существенному уменьшению неблагоприятных ощущений. В группе студентов не были установлены различия в восприятии силы жжения, вызываемой одинаковыми вариантами вакуумных камер, устанавливаемых на разные участки тела (плечо относительно предплечья, живот относительно предплечья). Однако воздействие вакуума на кожу живота и на поверхность бедра больными воспринимались, как более болезненные.

С учетом всех указанных обстоятельств клинические варианты вакуумных камер использовали следующим образом. Кожу донорского участка (чаще внутренняя поверхность плеча, реже передняя поверхность живота) обрабатывали 70%-м спиртом. Сверху укладывали одну или более пластинок-вкладышей, с отверстием площадью до 14 кв. см. Перегораживавшие отверстие нити толщиной 0,6 мм образовывали ячейки размером 6х6-7х7 мм. Сверху устанавливали корпус камеры. Первые 15-20 минут давление постепенно понижали до рабочего уровня ($-0,5-0,7$ кг/кв. см), конкретная величина которого зависела от индивидуальной чувствительности больных. Отрицательное давление поддерживали до тех пор, пока не образовывались пузыри нужного размера, что происходило через 45-80 минут. Крышки образовавшихся пузырей в зависимости от конкретных клинических условий переносили больным с относительно небольшими (от 4 до 38 кв. см) полнослойными кожными дефектами, требовавшими их пластического закрытия, либо индивидуально с помощью проволочной петли с изменяющейся конфигурацией (А.с. Н.1718864) или разомкнутой петли (Р.п. Н.276), если кожные дефекты имели площадь

Т а б л и ц а 3.

НЕПОСРЕДСТВЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ЛЕЧЕНИЯ ПОЛНОСЛОЙНЫХ КОЖНЫХ ДЕФЕКТОВ МЕТОДОМ АУТОЭПИДЕРМОПЛАСТИКИ

Доля приживления эпидермотрансплантата	Аутоэпидермопластика островковым методом			Аутоэпидермопластика с помощью подложки			В
	Характер дефекта			Характер дефекта			С
	Без нарушения гемодинамики	Трофические язвы	Все-го	Без нарушения гемодинамики	Трофические язвы	Все-го	Е Г О
100 - 70%	5	9	14	2	9	11	25
70 - 30%	-	5	5	-	3	3	8
менее 30%	-	3	3	-	3	3	6

менее 12 кв.см или сложную конфигурацию, либо разом с помощью клеевой частично растворимой подложки (А.с. N.1627152). Донорский участок обрабатывали аэрозолем "Оксициклозоль" и оставляли в открытом виде. Отдаленные результаты изучали методом анкетирования.

Указанные же выше авторы крими пузырей переносили на поверхность неполнослойных кожных дефектов с помощью зажимов, пинцетов и игл, а донорский участок и раневую поверхность били под марлевыми повязками.

Непосредственные результаты использовавшегося нами лечения в обобщенном виде представлены в таблице 3. Из нее видно, что островки эпидермиса в большинстве случаев приживались и разрастались на поверхности кожных дефектов, способствуя их ускоренному заживлению. Дополнительно следует отметить, что первые признаки разрастания эпидермотрансплантатов были видны на слегка подсохшей поверхности раны в виде тончайших пленочек эпителия, появляющегося между участками транспантированного эпидермиса или между ними и краем раны. Эти признаки появлялись на ожоговой поверхности, как правило, через 6-7 суток после трансплантации, тогда как в случае язвенного дефекта - через 7-12 суток. Прижившие эпидермальные островки, особенно на ожоговой поверхности, часто оказывались как бы во вдавлениях, что скор. всего обусловлено торможением развития грануляционной ткани

Т а б л и ц а 4.

**ОТДАЛЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ЛЕЧЕНИЯ ПОЛНОСЛОЙНЫХ КОЖНЫХ
ДЕФЕКТОВ МЕТОДОМ АУТОЭПИДЕРМОПЛАСТИКИ**

Вариант кожного дефекта	Ко- ли- че- ст- во	Нали- чие реци- ди-	Локализация рецидива кож- ного дефекта: прежнее новое место место	Изменения на донорском участке
Без нару- шения гемо- циркуляции	3	-	-	Сле- дов
Варикоз- ного ге- неза	24	6	4 2	нет
Всего	27	6	4 2	22 5

жизнеспособным эпидермисом (Bettex-Galland M. et al., 1988; Regnier M. et al., 1988). Клинические испытания подтвердили, что среди причин, приводящих к успеху аутоэпидермопластики, ведущее значение принадлежит готовности рецептивного ложа к восприятию трансплантата, сохранению участков эпидермиса в неподвижном состоянии как во время, так и между перевязками. Большое значение принадлежит адекватности проводимых антибактериальных мероприятий. Положительной стороной предлагаемого метода лечения явилось то, что вся операция получения и переноса трансплантата не требовала обезболивания и что донорский участок полностью заживал в течение не более одной недели (у указанных выше авторов - до 2 недель),

Из анализа отдаленных результатов (табл. 4), видно, что рецидивирование ран имело место лишь в случае трофических язв с некоррегированным кровотоком. При этом частота рецидивов не превышала таковую после трансплантации расщепленного кожного лоскута (Gangolphe M. et al., 1987; Гаврилик Б.А., 1988). На месте взятия эпидермиса через 1,5 года отсутствовали какие бы то ни было косметические дефекты.

Совокупность преимуществ и недостатков разрабатываемого метода аутоэпидермопластики позволяет надеяться, что после соответствующего усовершенствования, предложенная технология сможет стать предметом выбора среди всего арсенала методов кожной пластики.

1. Получено морфо-функциональное обоснование возможности использования вакуумно отслоенного эпидермиса в качестве полноценного трансплантата для экспериментальных и клинических целей.
2. Разработан новый метод отслойки и трансплантации мезофолликулярного эпидермиса у лабораторных животных, основанный на использовании специальных вакуумных камер и клеевой, частично растворимой подложки.
3. Донорский участок перед отслойкой эпидермиса подлежит обработке 70%-м спиртом или спиртовым раствором хлоргексидина, применение расворов йодоната нецелесообразно. Время переноса эпидермиса с донорского участка на рецептивное ложе не должно превышать одну минуту. Для сохранения жизнеспособности трансплантата в течение большего времени его необходимо поместить в изотонический раствор хлорида натрия.
4. Условиями успешной экспериментальной аутоэпидермопластики является размещение трансплантата на поверхности стерильной клетчатки, максимальное обеспечение его неподвижности, постоянное удаление экссудата. Предварительное удаление фибриновых наложений повышает эффективность трансплантации на поверхность гранулирующей раны.
5. Вакуолизация большинства кератиноцитов эпидермиса крыс, наблюдающаяся под воздействием вакуума, предшествует отслойке эпидермиса. Образовавшиеся пузыри отличаются у данных животных мелкими размерами и обладают тенденцией к спадению в результате реабсорбции жидкости. В составе крыш пузырей в течение 1-2 суток происходит зависящая от интенсивности нейтрофильной лейкоинфильтрации гибель кератиноцитов. За это время дно неспавшихся пузырей полностью покрывается новым многослойным эпидермисом.
6. Повторное приведение отслоенного эпидермиса крыс в контакт с сосочковым слоем дермы обеспечивает его быстрое приживание на прежнем месте и быстрое приобретение эпидермисом черт интактного состояния. Удаление крыш пузырей существенно замедляет заживание поверхности кожи.
7. Вакуумно отслоенный эпидермис крыс, аутотрансплантированный на поверхность клетчатки, перестраивающейся в грануляционную ткань, быстро приживается и развивается на новом месте. Керати-

ноциты в его составе активно делятся и типично дифференцируются. В течение недели формируется базальная мембрана. Но даже через месяц эпидермотрансплантат отличается от интактного эпидермиса большим числом рядов клеток, выраженным зернистым слоем и тем, что в его толще накапливается значительное число лимфоцитов.

6. Эпидермис, перенесенный на коллагеновый каркас аллодермы, развивается на его поверхности и активно заполняет пустующие волосяные сумки. Однако в дальнейшем органогенеза волосяных фолликулов не происходит. Эпидермис, трансплантированный на волосяные сосочки, обрастает их, его кератиноциты приобретают мелкие размеры, другие признаки органогенеза волосяного фолликула не развиваются.

8. После вакуумной отслойки эпидермиса человека большинство кератиноцитов росткового слоя несмотря на вакуолизацию сохраняет жизнеспособность. На поверхности полнослойного кожного дефекта такой эпидермис приживается, его клетки пролиферируют и типично дифференцируются. В условиях ксенотрансплантации крысы эпидермис человека с 7-х суток подвергается деструкции.

10. Репаративные процессы в крышках кожно-вакуумных пузырей человека, оставленных в интактном состоянии на месте отслойки, протекают в отсутствии пролиферации, в основном по типу внутриклеточной регенерации. В кератиноцитах идут процессы дифференцировки. В последующем в отслоенном эпидермисе нарастают деструктивные явления. Часть кератиноцитов более 3 суток сохраняет пролиферативные потенции, проявляющиеся в условиях трансплантации.

11. Разработано два варианта метода лечения кожных дефектов человека путем трансплантации вакуумно отделенного эпидермиса, обеспечивающих существенное ускорение реэпидермизации: островковая аутоэпидермопластика и одномоментный перенос группы крышек кожно-вакуумных пузырей на клеевой подложке.

12. Процесс получения эпидермотрансплантата человека не связан с кровопотерей, сопровождается жжением, интенсивность которого не требует обезболивающих мероприятий и зависит от глубины неполного вакуума, конструкции используемых устройств, места воздействия отрицательного давления и пола больных. Донорский участок заживает через 5-6 дней, пигментация на нем полностью исчезает в течение 1,5 лет.

РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ВНЕДРЕНИЮ

1. При формировании кожно-вакуумных пузырей у человека с целью использования их крыя для лечения кожных дефектов желательно соблюдать следующие параметры: отрицательное давление до -0,6 кг/кв.см; размеры ячеек вкладыша вакуумной камеры 6х6-7х7 см; толщина нитей, перегородивающих отверстие вкладыша, 0,6 мм; при возможности выбора донорского участка предпочтительнее использовать внутреннюю поверхность плеча.

2. Для обработки донорского участка перед получением эпидермотрансплантатов следует применять спирт или спиртовой раствор хлоргексидина.

3. После образования кожно-вакуумных пузырей нежелательна длительная задержка с трансплантацией.

4. Перенос крыш эпидермальных пузырей при температуре 21-24 град. и относительной влажности 52-62% необходимо обеспечить (в воздушной среде) не более, чем за 1 минуту. Для сохранения жизнеспособности трансплантируемый эпидермис может быть помещен в изотонический раствор хлорида натрия при комнатной температуре на 15-30 минут.

5. Непосредственно перед трансплантацией эпидермиса необходимо удалить фибринозные наложения с раневой поверхности, в послеоперационном периоде создать условия для минимальной травматизации эпидермотрансплантатов и обеспечения оттока экссудата.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. ОСТРОВСКИЙ А.А., НАУМОВ И.А., ЦЫРКУНОВ В.М. Клеточный состав хидкости пузырей насаживания // Материалы 4-й Гродненской областной научно-практической конференции молодых ученых и специалистов "Наука-практике". - Гродно, 1987. - С.82.
2. МЕЛАМЕД В.Д., ОСТРОВСКИЙ А.А. Первый клинический опыт ауто-эпидермопластики // Материалы 5-й гродненской областной конференции молодых ученых и специалистов "Молодежь в ускорении научно-технического прогресса". - Гродно, 1988. - С.91.
3. ОСТРОВСКИЙ А.А. Камера для экспериментальных исследований на поверхности полнослойного кожного дефекта у животных // Ред. журн. "Здравоохран. Белоруссии". - Минск, 1988. - 6 с. - Деп. в ВИНТИ 17.01.89, N.372 - В 69.

4. ОСТРОВСКИЙ А.А. Вторичное формирование кожи в эксперименте // Медико-биологические аспекты повреждения и компенсации : Тез. докл. 3-й республиканской конференции молодых ученых и специалистов. - Гродно, 1989. - С.44.
5. ОСТРОВСКИЙ А.А. Изменение структуры эпидермиса человека в составе крыш кожно-вакуумных пузырей // Медико-биологические аспекты повреждения и компенсации : Тез. докл. 3-й республиканской конференции молодых ученых и специалистов. - Гродно, 1989. - С.45.
6. ОСТРОВСКИЙ А.А. Способ получения эпидермального трансплантата / А.с. СССР N.1521463 по заявке N.4230287/28-14 с приоритетом от 14.04.87 г. // Бюлл. "Изобретения" N.40 от 15.11.89 г.
7. ОСТРОВСКИЙ А.А., НИКИТИН В.С. Экспериментальная модель трансплантации эпидермиса // Ин-т Биохимии АН БССР. - Гродно, 1989. - 11 с. - Деп. в ВИНТИ 05.07.89, N.4462 - В 89.
8. ОСТРОВСКИЙ А.А. Эпидермис как трансплантат // Бюлл. эксперим. биол. медицины. - 1989. - N.5. - С.807-809.
8. ОСТРОВСКИЙ А.А., МЕЛАМЕД В.Д., ПАТРОВА В.О. Оптимизация подготовки рецетивного ложа и условий послеоперационного периода при экспериментальной аутоэпидермопластике // Гродненский гос. мед. ин-т. - Гродно, 1989. - 23 с. - Деп. в ВИНТИ 03.01.90, N.22 - В 90.
10. ОСТРОВСКИЙ А.А., ЮПАТОВ С.И., МЕЛАМЕД В.Д., НИКИТИН В.С. Получение и трансплантация эпидермиса в лечении поднослонных кожных дефектов // Вестн. хирургии. - 1990. - N.3. - С.84-98.
11. ОСТРОВСКИЙ А.А., ЮПАТОВ С.И., МЕЛАМЕД В.Д., ЛЕВЭ О.И. Пластика кожных дефектов отслоенным с помощью отрицательного давления эпидермисом // Кожная пластика в гнойной хирургии : Материалы всесоюзного симпозиума. - М., 1990. - С.57.
12. ОСТРОВСКИЙ А.А., МЕЛАМЕД В.Д., СМОТРИН С.М. Аутоэпидермопластика при ожоге // Вестн. хирургии. - 1990. - N.6. - С.66-68.
13. ОСТРОВСКИЙ А.А., МЕЛАМЕД В.Д., БАРДИН А.Р. Оптимизация обработки донорского участка и условий переноса трансплантата в процессе экспериментальной аутоэпидермопластики // Гродненский гос. мед. ин-т. - Гродно, 1990. - 12 с. - Деп. в ВИНТИ

03.07.90, N.3723 - В 90.

14. ЛЕВЭ О.И., ШАТРОВА В.О., ОСТРОВСКИЙ А.А. Преобразования структуры эпидермального аутотрансплантата у лабораторных крыс // Материалы 6-й Гродненской областной конференции молодых ученых и специалистов "Наука-практика". - Гродно, 1990. - С.69.
15. ОСТРОВСКИЙ А.А., НАУМОВ И.А., ЛЯЛИКОВ С.А., ЗАВЬЯЛОВА Г.И. Клеточный состав хидкости кожно-вакуумных пузырей // Ред.з. "Лаб. дело". - 10 с. - Деп. в ВНИИТИ 07.09.90, N.4918-В.
16. ОСТРОВСКИЙ А.А., НИКИТИН В.С., СМОТРИН С.М. Подложка для трансплантации эпидермиса / А.с. СССР N.1827152 по заявке N.4478458/14 с приоритетом от 11.07.88 г. // Бюлл. "Изобретения" N.6 от 15.02.91 г.
17. ОСТРОВСКИЙ А.А., ЛЕВЭ О.И., ШАТРОВА В.О. Развитие аутоэпидермотрансплантата на поверхности некоторых видов рецептивного ложа в эксперименте // 2-й съезд анатомов, гистологов и эмбриологов БССР. - Мн., 1991. - С.134.
18. МЕЛАМЕД В.Д., ОСТРОВСКИЙ А.А. Островковая аутоэпидермопластика полнослойных кожных дефектов // Здравоохр. Белоруссии. - 1991. - N.3. - С.84-86.
19. МЕЛАМЕД В.Д., ЮПАТОВ С.И., ОСТРОВСКИЙ А.А. Метод аутоэпидермопластики кожных дефектов // Тез.докл. 10-го съезда хирургов Белоруссии. - Мн., 1991. - С.220-221.
20. ОСТРОВСКИЙ А.А., НАУМОВ И.А., НОВИЦКИЙ Г.К. Способ подготовки пробы лейкоцитов для цитологических исследований / А.с. N.1859847 по заявке N.4482852/14 с приоритетом от 15.09.88г. // Бюлл. "Изобретения" N.24 от 30.06.91 г.
21. МЕЛАМЕД У.Д., АСТРОЎСКІ А.А., ПАЎЛЮКЕВІЧ Г.А. Ададлення вынікі лячэння поўнаслойных скуруных дэфектаў з дапамогай вакуумна аддзеленага эпідэрмісу // Матэрыялы 7-й гродзенскай канферэнцыі маладых вучоных і спецыялістаў, прысвечанай 250-годдзю з дня нараджэння Я.Э.Калібара. - Гродна, 1991. - С.108.
22. ОСТРОВСКИЙ А.А., ЛЕВЭ О.И. Развитие эпидермиса человека, ксенотрансплантированного лабораторным крысам // Морфология. - 1992. - N.1. - С.78-84.
23. ЛЕВЭ О.И., ОСТРОВСКИЙ А.А., ШАТРОВА В.О. Восстановительные процессы на коже крыс после отслоения эпидермиса с помощью

- отрицательного давления, удаления жидкости из образовавшихся пузырей или их крыш // Гродненский гос. мед. ин-т. - Гродно, 1982. - 40 с. - Деп. в ВНИИТИ 06.05.82, N.1485-B92.
24. ОСТРОВСКИЙ А.А., ШАТРОВА В.О. Развитие мекхолодикулярного эпидермиса на поверхности коллагенового каркаса дермы в эксперименте // Бюлл. эксперим. биол. медицины. - 1982. - N. 5. - С.542-545.
25. ОСТРОВСКИЙ А.А., МЕЛАНЕД В.Д., ЛЕВЭ О.И. Устройство для трансплантации кожно-вакуумных пузырей / А.с. N.1718884 по заявке N.4804795/14 с приоритетом от 20.03.80 г. // Бюлл. "Изобретения" N.10 от 15.03.82 г.
26. ОСТРОВСКИЙ А.А., МЕЛАНЕД В.Д. Оптимизация конструкции вакуумной камеры для отслойки эпидермиса // Гродненский гос. мед. ин-т. - Гродно, 1982. - 14 с. - Деп. в ВНИИТИ 06.05.82, N.1484-B92.
27. ШАТРОВА В.А., АСТРОУСКИ А.А. Розвиток аутоепідерматрансплантату дорослих пацюків у присутності валасаних сасочкаў // Матеріали 8-й Гродзенскай канферэнцыі маладых вучоных і спецыялістаў, прысвечанай 35-годдзю заснавання медыцынскага інстытута. - Гродна, 1993. - С.18.
28. АСТРОУСКИ А.А. Асаблівасці развіцця эпідермісу чалавека, ксенатрансплантаванага пасля экспазіцыі ў складзе дахаў пазрыоў // Матеріалы 8-й Гродзенскай канферэнцыі маладых вучоных і спецыялістаў, прысвечанай 35-годдзю заснавання медыцынскага інстытута. - Гродна, 1993. - С.4.

Подписано в печать 12.04.93. Формат 60x84/16.

Печать офсетная. Тираж 100 экз. Зак. 32

Отпечатано на ротатринтере Гродненского государственного университета имени Я.Купалы

230023, г. Гродно, ул. Ожешко, 22