

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ АНГИОСТИМУЛИРУЮЩИХ ТЕХНОЛОГИЙ В ХИРУРГИИ

К.К. Токтомбаев – канд. мед. наук,

А.Х. Габитов – канд. мед. наук,

Томский военно-медицинский институт

Приведены данные морфологической оценки лечебного воздействия препарата «рек-ангиогенин» на модели экспериментальной кожной раны.

Любая хирургическая операция всегда должна предусматривать сохранность или восстановление полноценного кровоснабжения зоны поражения и чем быстрее это происходит, тем благоприятнее протекает послеоперационный период, снижается процент осложнений.

Как известно, образование кровеносных сосудов определяется васкулогенезом и ангиогенезом. Ангиогенез включает в себя пролиферацию и миграцию эндотелиальных клеток в первичных васкулярных структурах и способствует васкуляризации эктодермальных и мезенхимных органов, реконструкции капиллярной сети [1].

Молекула ангиогенина (АНГ) по своей структуре и функции уникальна. Это рибонуклеаза, по аминокислотной последовательности на 33% гомологичная последовательности бычьей панкреатической РНКазы А [2]. Каталитические характеристики АНГ и РНКазы близки. Однако рибонуклеазная активность АНГ по отношению к обычно используемым субстратам на несколько порядков ниже, чем активность РНКазы.

В последние годы активно разрабатывается принципиально новая концепция коррекции артериальной недостаточности при поражении различных сосудистых бассейнов – терапевтический ангиогенез (therapeutic angiogenesis) [1, 3, 4]. С точки зрения концепции “терапевтического ангиогенеза”, большой интерес представляет белок – ангиогенин [5]. Он относится к группе ангиогенных белков, которые стимулируют рост кровеносных сосудов, представляет собой основной белок, состоящий из 123 аминокислот, молекулярной массой 14 кД, и имеющий высо-

кую степень гомологии с рибонуклеазой А. Хотя в настоящее время биологическая роль ангиогенина окончательно не ясна, интерес к нему весьма значителен прежде всего из-за перспективы создания на его основе эффективных препаратов для лечения ран, язв и ожогов [6, 7]. В ЗАО “Саяны” разработана оригинальная биотехнология получения модифицированного ангиогенина человека – препарат “рек-ангиогенин”. Методы современной биотехнологии позволили ЗАО “Саяны” наработать рек-ангиогенин в препаративных количествах.

Цель исследования: дать экспериментальное обоснование эффективности препарата “рек-ангиогенин”. (Авторы выражают благодарность руководителю ЗАО “Саяны” Ю.А. Рамазанову за предоставление препарата рек-ангиогенин для проведения доклинических и клинических испытаний).

Материал и методы. В работе использовано 180 лабораторных крыс обоего пола. Все манипуляции на животных проводили под эфирным наркозом. Животных содержали в клетках при температуре 18–22°C и 24-часовом световом режиме (12 ч – свет, 12 ч – темнота). Крысы получали ad libitum, сбалансированный по белкам и углеводам, витаминизированный стандартный кормовой рацион. Доступ к воде и пище был свободным.

Материалом для исследования послужили мягкие ткани в норме и после создания модели асептической раны кожи с подкожной жировой клетчаткой до 5 см, в последующем рана ушивалась только по краю разреза кожи. В первой группе опытов (контроль) происходило спонтанное приживление. Во второй группе (основная)

перед ушиванием хирургической раны межфасциальное пространство обрабатывалось препаратом рек-ангионенин. Оценка состояния процессов заживления раны и эффективности лечения проводилась до 45 суток.

С целью оценки репаративного процесса и для объективного контроля за процессами заживления ран мягкие ткани области хирургической раны исследовались общепринятыми макро-микроскопическими, гистологическими и морфометрическими методами.

Морфометрия тканевых структур проводилась при помощи окуляр-микрометра МОВ-1-15х на светооптических микроскопах "Люмам-1-2", МБИ-15 в соответствии с общепринятыми требованиями [8, 9].

Характеристика морфофункционального состояния прилежащих мягких тканей складывалась из суммарной оценки признаков, наблюдаемых при визуальном изучении гистологических препаратов и количественных методов исследования.

Результаты исследований. При инъекции кровеносного русла отмечено, что в процессе спонтанного заживления в зоне повреждения на 7-й день функционирующие сосуды еще отсутствуют, тогда как после применения рек-ангионенина у животных они начинают появляться уже через 24 ч, а к третьему дню хорошо видна формирующаяся сосудистая сеть.

Морфометрический анализ показал (см. таблицу), что у животных при спонтанном заживлении и применении рек-ангионенина сравнительная морфологическая характеристика регенераторного процесса однонаправленная, но с существенным клеточным различием.

Это проявляется в увеличении пролиферативной активности фибробластов, ускоряется посттравматическое развитие лейкоцитарной и макрофагической реакции, а также формирование грануляционной ткани. Начиная с трех суток, объем коллагеновых волокон в опыте превышает таковой в контроле. На 7-е сутки наблюдения отмечается лучший гистоархитектурный порядок, лучшая васкуляризация и отсутствие клеток воспаления на уровне прилежащих мышц. Это приводит к ускорению новообразования грануляционной ткани и, в первую очередь, микрососудов, а также образованию регенерата, по морфологии приближающегося к нормальной картине.

При изучении цитологической картины во второй и третьей фазах раневого процесса у животных, которым проводилось лечение рек-ангионенином, начиная с 7 суток отмечено более раннее появление коллагеновых волокон только в зоне повреждения. В центре раны просматривалась продольная ориентация коллагеновых пучков, чем регенерат напоминал рубец. Воспалительная инфильтрация несколько снизилась по сравнению с аналогичной группой без применения препарата. К 14-м суткам отмечалась выраженная пролиферация фибробластов и формирование сосудистой сети. После применения рек-ангионенина значительно быстрее, чем при спонтанном заживлении, происходит эпителизация поверхности раны. В глубоких слоях зоны повреждения визуально наблюдалась различная гистологическая картина в двух группах с четким нарастанием разницы к концу первого месяца.

Динамика структуры после моделирования хирургической раны и применения рек-ангионенина, сутки (M±m) (абс. число в станд. поле зрения)

Показатель	1	3	7
Площадь интерстиция, мкм ² × 10 ³	313±19*	220±14*+	192±11+
Емкость кровеносного русла, мкм ³ ×10 ³	—*	0,37*+	0,77±0,03*+
Общая клеточность	1064±41*+	1070±80*+	1010±80*+
Фибробласты	197±12*+	394±23*	450±31*
Макрофаги	45±3*+	57±6*+	58±5*+
Тучные клетки	33±2*+	46±5*+	50±4*+
Внесосудистые эритроциты	180±10*	107±8*	48±4*+
Лимфоциты	41±2*+	74±7*	74±7*
Полиморфно-ядерные лейкоциты	189±13*+	133±10*+	93±8*+

* Достоверное отличие от нормы; + Достоверное отличие от группы без лечения.

Как показали результаты исследования, применение биостимулирующего геля рек-ангионенин способствует раннему стиханию воспаления, более раннему развитию грануляционной ткани и полному заживлению ран в 1,5 раза быстрее, чем при спонтанном их заживлении, что проявляется максимальным эффектом его биостимулирующих свойств, направленных на стимуляцию раннего ангиогенеза в регенерирующих поврежденных тканях. Следует также отметить, что в условиях применения космогениума в зоне хирургической раны уже на первые сутки наблюдения выявлялось большое количество тучных клеток.

Таким образом, применение ангиостимулирующих технологий только сокращает период рубцевания ран почти на неделю и способствует раннему стиханию воспаления.

Следовательно, внедрение интраоперационного применения ангиостимуляторов в клиническую практику поможет оптимизировать результаты лечения больных в пластической хирургии и косметологии.

Следует также отметить, что наши данные по применению рек-ангионенина (модифицированный ангиогенин) вполне согласуются с результатами при лечении экспериментальной ишемии конечности [5, 10], при закрытии остаточных полостей в хирургии печени и [10] при пластике паховых грыж в условиях применения ангиостимулирующих технологий [11].

Литература

1. Автандилов Г.Г. Основы количественной патологической анатомии: Учебное пособие для слушателей последипломного образования. – М.: Медицина, 2002. – 238 с.
2. Акрамов Э.Х., Кулбачаев Б.К. Возможности применения ангиогенина для закрытия остаточных полостей в хирургии печени // Хирургия, морфология, лимфология. – 2004. – Т. 1. – №2. – С. 24–27.
3. Акрамов Э.Х., Войтенко А.В., Габитов В.Х., Токтомбаев К.К., Кулбачаев Б.К. Сравнительная характеристика регенераторного процесса при применении фармагена и куриозина в возрастном аспекте // Хирургия, морфология, лимфология. – 2005. – Т. 2. – №4. – С. 59–62.
4. Ансатаров Э.К. Морфофункциональные преобразования в асептической и гнойной ране при применении хитозанового геля и ангиогенина: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Новосибирск, 2003. – 21 с.
5. Бурлева Е.П., Крохина Н.Б., Мертвецов Н.П. Морфологическая оценка эффективности лечения экспериментальной ишемии конечности рек-ангиогенином // Патология кровообращения и кардиохирургия. – 2002. – №2. – С. 46–50.
6. Камчибеков Ш.Т. Возможности применения ангиогенина при пластике паховых грыж: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. – Новосибирск, 2005. – 21 с.
7. Катинас Г.С., Полонский Ю.З. К методике анализа количественных показателей в цитологии // Цитология. – 1970. – Т. 12. – №3. – С. 399–403.
8. Кислых В.И., Рамазанов Ю.А., Майстренко В.Ф., Мертвецов Н.П. // Биотехнология. – 2000. – №4. – С. 72–79.
9. Мертвецов Н.П., Стефанович Л.Е. Ангиогенин и механизмы ангиогенеза. – Новосибирск: Наука, 1997. – 78 с.
10. Мертвецов Н.П., Тарантул В.З., Дударев А.Н., Кислых В.И., Рамазанов Ю.А., Гуткина Н.И., Хайдарова Н.В., Галахарь Н.Л., Уфимцева Е.Г., Гавриленко А.В., Константинов Б.А. // Биотехнология. – 2000. – №5. – С. 62–70.
11. Шестенко О.П., Никонова С.Д., Мертвецов Н.П. Ангиогенин и его роль в ангиогенезе // Молекулярная биология. – 2001. – Т. 35. – №3. – С. 349–371.