

УДК 616.5-001.17-03

СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ В ЛЕЧЕНИИ ОЖОГОВЫХ РАН

Е.В. Самаева, И.В. Пак

Рассматривается комплекс патологических изменений в организме пострадавшего. Отмечено, что без окончательного закрытия ожоговой раны, даже при самом адекватном общем лечении, невозможно надеяться на излечение пациента.

Ключевые слова: ожоговая рана; биотехнологический метод лечения; фибробласты.

MODERN DIRECTIONS IN THE TREATMENT OF BURN WOUNDS

E. V. Samaeva, I. V. Pak

The paper considers the complex of pathological changes in the patient's body. It is noted that without the final closure of the burn wound, even with the most adequate general treatment, it is impossible to hope for a cure of the patient.

Keywords: burn wound; biotechnological method of treatment; fibroblasts

Большинство отечественных и зарубежных специалистов отводит важнейшую роль в комплексной терапии обожженных пациентов местному лечению ожоговой раны [1]. Конечной целью лечения пострадавших с термической травмой является восстановление целостности кожного покрова в максимально короткие сроки с достижением оптимальных результатов в отношении функциональных и косметических параметров к моменту завершения периода реабилитации [2]. Это связано с выключением больших площадей кожи как органа. Токсичность продуктов распада тканей, инфицирование ожоговых ран, водно-электролитные, белковые, энергетические потери через раневую поверхность обуславливают ведущую роль ожоговой раны в патогенезе ожоговой болезни и ее осложнений [3].

Вместе с тем известно, что ускорить сроки заживления ожоговых ран невозможно, так как скорость деления клеток строго лимитирована, реально только создать оптимальные условия для заживления в оптимальные сроки. Задержка процесса заживления ран и его искажение могут быть обусловлены множеством эндогенных и экзогенных факторов, в том числе нерациональным местным лечением. В связи с этим при лечении ран должны быть соблюдены следующие условия: удержание раневого процесса в естественно-биологическом русле и устранение отрицательного влияния различных факторов на их заживление (большая

площадь глубоких ран, некроз, инфекция, аутоиммунный компонент, гематомы, травмирование, избыточное раневое отделяемое, дегидратация и т. д.) [4].

Условно методы лечения ожоговых ран можно разделить на открытые (без повязок) и закрытые (повязочные). Между этими двумя методами не существует противоречий, они имеют свои достоинства и недостатки и нередко применяются у одного и того же больного одновременно (на разных участках тела) или последовательно.

Повязка традиционно является основным элементом местного лечения ран. Однако данный метод лечения имеет недостатки. В первую очередь, это дополнительная травматизация ожоговой поверхности, возникающая при смене повязок. В связи с этим актуальным является поиск перевязочных средств, обладающих атравматичностью и сокращающих срок эпителизации ран [1, 2, 5].

Ускорение эпителизации раневых поверхностей может быть достигнуто трансплантацией культивируемых *in vitro* клеток кожи. Задача этого направления – обеспечение замещения, восстановления поврежденных тканей за счет имплантации или трансплантации выращенных *in vitro* клеток из здоровых тканей и органов [6].

В настоящее время для лечения ожоговых ран применяются пласты культивированных кератиноцитов (клеток покровного эпителия), полученных чаще всего из аутоклеток, значительно реже – из

аллокератиноцитов; фибробласты (ауто-, аллофибробласты). Кроме того, для закрытия раневых поверхностей используют так называемые клеточные композиции, которые включают различные варианты “живого эквивалента кожи”, состоящие из так называемого “дермального эквивалента” (коллагенового геля с инокулированными в его состав живыми фибробластами), на поверхности которого культивируются клетки эпидермиса, “культивируемые заместители кожи”. Структура таких повязок может быть как бесклеточной, так и содержать клетки кожи и факторы роста [6–8].

Однако широкое внедрение кератиноцитов в комбустиологию ограничивается рядом причин:

- сроки получения достаточного по площади трансплантата: технология выращивания пластов эпидермальных кератиноцитов человека чрезвычайно сложная и многоэтапная. Культивирование клеток до состояния, пригодного для трансплантации, занимает три недели и более, что увеличивает риск развития инфекционных осложнений ожоговой болезни и удлиняет время пребывания пациентов в стационаре [6];
- поиск методов, предотвращающих констрикцию полученного культивированного лоскута;
- в случаях трансплантации культивированных кератиноцитов на раневую поверхность после ее хирургической обработки приживаются от 20 до 80 % пересаженных клеточных трансплантатов [6], а в некоторых публикациях отмечается от 0 до 85 % [7]. При трансплантации на гранулирующие раны этот процент снижается до 15 % [8];
- обязательным элементом получения значительных объемов кератиноцитов является использование многочисленных дорогостоящих биологических стимуляторов роста эпидермальных клеток. В результате стоимость изготовления подложки с культивированными аутокератиноцитами кампании Biosurface Technology (США) для одного больного колеблется примерно от 10 до 160 тыс. \$ в зависимости от площади ран [9];
- в отдаленный период у больных наблюдалась нестойкость эпителиального покрова. Легкая повреждаемость приживших культивированных кератиноцитов, дискератоз, отслоение эпидермиса в виде пузырей [8];
- большое влияние на приживление клеточных пластов оказывает микрофлора ран. Пласты кератиноцитов в гораздо большей степени подвержены действию микроорганизмов по сравнению с расщепленными лоскутами кожи. Кроме того, многие антисептики, тради-

ционно применяемые в практике лечения ожоговых ран, оказывают токсическое действие на клетки [9].

В последнее время появилось еще одно интересное направление – трансплантация аутологичных некультивированных клеток кожи человека, так называемая технология ReCell. Однако использование данной технологии в комбустиологии также ограничено, в основном, локальными глубокими ожогами, а также высокой стоимостью специального одноразового набора инструментов для сбора аутогенных клеток [10].

В 1993 году в Институте хирургии им. А.В. Вишневского РАМН разработан и внедрен в клиническую практику новый метод лечения обширных ожоговых ран, принципиально отличающийся от ранее предложенных, основанный на использовании культуры фибробластов. Предпосылкой к его разработке стали предшествовавшие фундаментальные исследования регенераторного процесса, показавшие ключевую роль в нем фибробластов [1, 11]. Идея использовать культивированные аллофибробласты принадлежит академику РАМН Д.С. Саркисову.

Патогенетический механизм действия предложенного метода заключается в синтезе фибробластами экстрацеллюлярного матрикса, факторов роста, стимуляции пролиферации собственного эпителия, сохранившихся дериватов кожи, выделяемых аутокинами (факторами роста, цитокинами, окисью азота и др.), направленных на восстановление как эпидермального, так и дермального компонента кожи. Дермальные фибробласты стимулируют пролиферацию и дифференцировку периваскулоцитов реципиента, которые, трансформируясь в фибробласты, способствуют пролиферации и миграции кератиноцитов [12].

При глубоких ожогах IIIБ–IV степени трансплантацию фибробластов сочетают с аутодермопластикой с коэффициентом расширения 1:6 и более. В последнем случае фибробласты стимулируют пролиферацию эпидермоцитов сетчатых лоскутов аутокожи. Такое влияние обуславливает ускорение процессов приживания аутодермотрансплантатов с большим коэффициентом перфорации за счет стимуляции процесса эпителизации ячеек [13].

Фибробласты получают из биоптатов кожи посредством ферментативной обработки или механической дезагрегации образцов. В настоящее время наиболее часто используют ферментативный способ получения первичной культуры. Однако инкубация с протеазами животного происхождения является травматичной для клеток процедурой, снижающей общее количество жизнеспособных клеток в получаемой суспензии дермальных

фибробластов. Он также является причиной нарушений адгезивной и рецепторной систем у части сохранивших жизнеспособность клеток, что приводит к увеличению доли апоптотических клеток, снижению пролиферативной активности клеток, нарушению митотического деления, утрате основных функций или жировому перерождению клеток, что существенно повышает вероятность гибели клеток и появление клеток с измененным генотипом, а также с морфологическими и функциональными нарушениями. Это недопустимо применительно к материалу, который предназначается для последующей трансплантации [14].

После посева клеток во флакон они входят в лаг – период продолжительностью 2–24 часа, сменяющийся периодом экспоненциального роста (логарифмическая фаза). В конце этого периода клетки достигают плотного монослоя и входят в период медленного роста или покоя (фаза плато) (рисунок 1). Эти фазы характерны для всех клеточных линий [15].

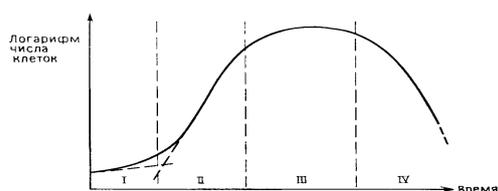


Рисунок 1 – Фазы роста культуры: I лаг – фаза; II – фаза логарифмического роста; III – стационарная фаза; IV – фаза снижения количества клеток и их гибель [15]

Источником получения фибробластов, помимо дермы кожи, может служить послеродовая плацента. Считается, что наилучшие результаты клеточной терапии получают при использовании культур эмбриональных фибробластов, которые имеют больший пролиферативный потенциал по сравнению с культурами от взрослых доноров. Однако применение клеток, полученных из эмбрионов, имеет ряд ограничений, в том числе этического характера [12].

Получаемая клеточная популяция гетерогенна, так как выделенные фибробласты находятся на разных стадиях развития. Кроме того, различают фибробласты сосочкового, сетчатого слоев дермы и фибробласты, ассоциированные с волосяным фолликулом. Каждый тип фибробластов имеет свои особенности: фибробласты сосочкового слоя, по сравнению с фибробластами сетчатого, делятся с большей скоростью, их рост ингибируется контактным торможением не полностью. Фибробласты сетчатого слоя быстрее растут на подложке из коллагена I типа. Фибробласты сосочкового слоя

синтезируют протеогликан декорин, в то время как для сетчатых фибробластов характерен синтез версикана. По синтезу коллагена I и III типов дермальные фибробласты значительных различий не имеют [10].

На скорость роста и свойства фибробластов в культуре оказывают влияние следующие факторы: количество пассажей, способ культивирования, тип используемых сред и сывороток, возраст донора, область проведения биопсии [15].

Наиболее благоприятные сроки использования культур фибробластов для изготовления трансплантатов – 3-и сутки, так как в клетках культуры нарастает синтез гликозаминогликанов, фибронектина и коллагена, участвующих в формировании экстрацеллюлярного матрикса. Одновременно на значительном уровне сохраняется активность синтеза клетками ДНК. По своим структурно-функциональным признакам клетки культуры на этапе 1–3-х суток культивирования весьма близки к юным фибробластам соединительной ткани [1].

В настоящее время можно выделить два основных подхода к лечению кожи с помощью препаратов, содержащих интактные живые фибробласты – с помощью культур аллогенных фибробластов и использования собственных фибробластов человека (аутогенные). Однако очевидно, что применение аутологичного материала во всех ситуациях предпочтительнее. При использовании аутоклеток наблюдается длительный клинический эффект, исключен риск заражения пациента инфекционными агентами, а также риск развития аллергических реакций, клетки не вступают в конфликт с собственной иммунной системой, не возникает трудностей с поиском подходящих доноров [16].

Также возможно и применение аллогенных фибробластов. Аллотрансплантат, синтезируя цитокины и другие компоненты межклеточного матрикса, стимулирует пролиферацию и дифференцировку собственных клеток реципиента, обеспечивая, тем самым, быстрое заживление ран. Коллаген, продуцируемый аллогенными фибробластами, обнаруживаются в трансплантате уже через 2 недели [17]. Однако жизненный срок аллогенных фибробластов в трансплантате весьма ограничен. Так, при использовании кожного трансплантата Apligraf аллогенные фибробласты не обнаруживаются уже через 6 недель после нанесения препарата на свежие раны [9]. В случае обширных ожогов (более 60 % поверхности тела) возникает дефицит собственной кожи пациента. По этой причине наиболее перспективным является комплексный подход к лечению ожоговых ран, который включает первоначальную трансплантацию аллогенных

кожных заменителей с последующей заменой их на аутогенные клеточные трансплантаты [13].

Использование фибробластов имеет ряд преимуществ:

- получение фибробластов в культуре не требует дорогостоящих питательных средств, стимуляторов роста [11];
- фибробласты в культуре легко подвергаются пассированию, при этом они частично утрачивают поверхностные антигены гистосовместимости, что открывает возможность использовать для изготовления трансплантатов алло-клеток и создания банков клеток [12];
- хорошее приживление трансплантатов (в среднем 97 %) [14].

Таким образом, разработка методов лечения с использованием культивированных клеток кожи и ее эквивалентов уже привела к значительному прогрессу и расширению возможностей оказания помощи обожженным, однако, несмотря на это, имеется ряд проблем, таких как:

- разработка методологических вопросов получения трансплантата из собственных клеток кожи пациента;
- сокращение периода времени для получения ауто-трансплантата и пересадки до 3-х суток (наиболее приемлемые сроки для трансплантации);
- стимулирование пролиферации аутофибробластов экономически доступными способами.

В связи с вышесказанным продолжается поиск оптимальных методов восстановления эпидермиса и дермы, разработка методов лечения с использованием культивированных дермальных аутофибробластов. Также требуется их совершенствование на всех этапах, начиная от формирования трансплантата и до его применения.

Литература

1. Алексеев А.А. Принципы организации и оказания медицинской помощи пострадавшим от ожогов / А.А. Алексеев, С.В. Попов // Электронная версия журнала "Комбустиология". 2015. № 55.
2. Афаунова О.Н. Оптимизация местного лечения поверхностных дермальных ожогов у детей / О.Н. Афаунова, С.Б. Богданов, А.А. Завражных // Электронная версия журнала "Комбустиология". 2013. № 49–50.
3. Ямскова В.П. К вопросу о механизмах, лежащих в основе процессов восстановления и репарации в тканях / В.П. Ямскова, М.С. Краснов, И.А. Ямсков // Клеточные технологии в биологии и медицине. 2010. № 1. С. 32–35.
4. Алексеев А.А. Регенеративная медицина в комбустиологии: состояние, проблемы и перспективы / А.А. Алексеев, А.Э. Бобровников // Электронная версия журнала "Комбустиология". 2013. № 49–50.
5. Алексеев А.А. Местное применение стимуляторов регенерации для лечения ожоговых ран / А.А. Алексеев, А.Э. Бобровников // Электронная версия журнала "Комбустиология". 2010. № 40.
6. Böttcher-Haberzeth S Tissue engineering of skin / S. Böttcher-Haberzeth, T. Biedermann, E. Reichmann // Burns. 2010. № 36. P. 450–460.
7. Wood F.M. The use of cultured epithelial autograft in the treatment of major burn injuries: A critical review of the literature / F.M. Wood, M.L. Kolybaba, P. Allen // Burns. 2006. Vol. 32, Iss. 4. P. 395–401.
8. Valencia I.C. Skin grafting / I.C. Valencia, A.F. Falabella, W.H. Eaglstein // Dermatol Clin. 2000. Vol. 18. № 3. P. 521–532.
9. Griffiths M. Survival of Apligraf in acute human wounds / M. Griffiths, N. Ojeh, R. Livingstone // Tissue Eng. 2004. Vol. 10. № 7. P. 1180–1195.
10. Пармонов Б.А. Ожоги: руководство для врачей / Б.А. Пармонов, Я.О. Порембский, В.Г. Яблонский. СПб.: СпецЛит, 2000. 480 с.
11. Богданов С.Б. Доступность инновационных технологий лечения ран / С.Б. Богданов, А.А. Завражных, А.В. Поляков и др. // Электронная версия журнала "Комбустиология". 2013. № 49–50.
12. Зорин В.Л. Дермальные фибробласты для лечения дефектов кожи / В.Л. Зорин, А.И. Зорина, О.С. Петракова и др. // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. 2009. Т. IV. № 4. С. 26–40.
13. Фаязов А.Д. Современные аспекты хирургического лечения глубоких ожогов у тяжелообожженных / А.Д. Фаязов // Медицинский журнал Узбекистана. 2003. № 5. С. 29–30.
14. Парфенова Е.В. Способ культивирования фибробластов для заместительной терапии / Е.В. Парфенова, В.А. Ткачук // Патент на изобретение RU2320720, 2008.
15. Фрешни Р. Культура животных клеток / Р. Фрешни; пер. с англ. канд. биол. наук М.А. Панова. М.: Мир, 1989. 333 с.
16. Алейник Д.Я. Разработка и экспериментальное обоснование использования клеточно-тканевых комплексов для лечения дефектов кожи / Д.Я. Алейник, К.В. Кулакова, С.Н. Бугров и др. // Электронная версия журнала "Комбустиология". 2015. № 55.
17. Данлыбаева Г.А. Ксенографты брюшины крыс с культивируемыми фибробластами для лечения ожогов / Г.А. Данлыбаева, К.Р. Абуғалиев, Л.В. Кнауб, Г.М. Шаймарданова // Электронная версия журнала "Комбустиология". 2013. № 49–50.