

УДК 616.5-001.17-089.8 (575.2) (04)

ПРИМЕНЕНИЕМ КУЛЬТИВИРОВАННЫХ ФИБРОБЛАСТОВ В КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ ОЖОГОВЫХ БОЛЬНЫХ

Х.С. Бебезов – докт. мед. наук, профессор,
К.С. Сарбанова – канд. мед. наук, доцент,
Е.В. Самаева – аспирант

The use of cultured fibroblasts represents an essentially new method for treating burn wounds, which turns out to be effective even in case of extensive burns that have been considered as fatal so far.

Проблема ожогов на современном этапе является очень актуальной. Термические поражения представляют собой серьезную медицинскую, социальную и экономическую проблему.

Важнейшее значение в комплексной терапии обожженных имеет местное лечение ожоговых ран. 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. В этих условиях главной хирургической задачей в лечении больных становится хирургическая обработка ран и ее адекватное пластическое закрытие.

Восстановление целостности кожного покрова у пациентов с обширными и глубокими ожогами, даже при благоприятном течении ожоговой болезни, занимает не менее 1,5–2 месяцев. При этом применение активной хирургической тактики, направленной на удаление ожогового струпа с последующей аутодермопластикой ран, бывает значительно затруднено из-за дефицита неповрежденной кожи, которую можно использовать для трансплантации [1].

В таком случае возможно использование сетчатых аутооттрансплантатов с большими ко-

эффициентами растяжения (1:6; 1:9) на фоне мощной инфузионно-трансфузионной терапии и общего медикаментозного лечения с применением антибиотиков [2]. Но часто этого бывает недостаточно, так как связано с медленной эпителизацией ячеек, через ячейки в сетке происходит дальнейшая потеря жидкости, белка, электролитов, энергии, происходит инфицирование ран. Отмечается высыхание раневой поверхности в ячейках перфорированного лоскута кожи с образованием участков вторичного некроза. Применение временных раневых покрытий – синтетических материалов, трупных алло- и ксенотрансплантатов, амниотических оболочек не исключает использование аутооттрансплантатов [1].

Целью данной работы является отражение принципиально нового метода лечения ожоговых ран с использованием культивированных фибробластов. При этом использовали исследования ведущих специалистов в области комбустиологии, биохимии, биологии, цитологии, гистологии. Анализ всех этих многочисленных материалов позволил доказать, что лечение обожженных с помощью трансплантации культивированных аллофибробластов в ряде случаев оказывается эффективным даже при обширных ожогах на площади более 60% поверхности тела, т.е. таких, которые до настоящего времени считались несовместимыми с жизнью [1].

В настоящее время ведется разработка способов восстановления целостности кожного покрова у больных с обширными ожогами, которые основаны на использовании культивированных *in vitro* клеток кожи человека. Имеется два направления. Первое – использование для закрытия ожоговых поверхностей пластов культивированных кератиноцитов, полученных как из аутоклеток, так и из аллокератиноцитов. Второе применение – закрытие раневых дефектов культивированных аллогенных клеток – фибробластов.

Однако широкое внедрение кератиноцитов в комбустиологию ограничивается рядом причин. Так, выращивание пластов этих клеток затягивается до 3 недель. Методика дорогостоящая, не всегда эффективная. В отдаленный период наблюдалась нестойкость эпителиального покрова у больных [3].

Фибробласты – основные клетки соединительной ткани. Они имеют мезенхимальное происхождение и морфологически характеризуются как клетки круглой или удлинённой, веретенообразной плоской формы с отростками и плоским овальным ядром. Фибробласты синтезируют тропоколлаген, предшественник коллагена, межклеточный матрикс и основное вещество соединительной ткани, аморфное желеподобное вещество, заполняющее пространство между клетками и волокнами соединительной ткани. Участвуют в заживлении ран. В результате дифференцирования фибробласты превращаются в менее активные зрелые клетки – фиброциты. Нормальные фибробласты в культуре сохраняют диплоидный кариотип и имеют низкую экспрессию антигенов гистосовместимости, отсутствие онкогенных потенциалов, ограниченную продолжительность жизни [4].

Идея использовать культивированные аллофибробласты принадлежит академику РАМН Д.С. Саркисову.

Патогенетический механизм действия предложенного метода заключается в синтезе аллогенными фибробластами экстрацеллюлярного матрикса, факторов роста: основной фактор роста фибробластов (bFGF), трансформирующий ростовой фактор (TGF-альфа, TGF-бета), эпидермальный фактор роста (EGF), фактор роста кератиноцитов (KGF), транс-

формирующий фактор роста (a-NGF), стимуляции пролиферации собственного эпителия, направленных на восстановление как эпидермального, так и дермального компонента кожи. Пересаженные аллогенные фибробласты стимулируют адгезию кератиноцитов и пролиферацию этих клеток [5]. Наряду с этим, фибробласты являются фактором дифференцировки кератиноцитов и формирования их межклеточных связей. Фибробласты могут продуцировать коллагены I и II типов и компоненты внеклеточного матрикса: ламинин, нидоген, тинасцин, хондроитин-4-сульфат, протеогликан, фибронектин, а также другие вещества [4].

Преимуществами данного метода являются: небольшие сроки культивирования аллофибробластами (3 суток), хорошее приживление трансплантатов (в среднем 97%), фибробласты в культуре легко подвергаются пассированию; при пассировании фибробласты частично утрачивают поверхностные антигены гистосовместимости, что открывает возможность создания банка аллогенных клеток, относительно небольшая себестоимость (не требует дорогостоящих питательных средств, стимуляторов роста) [5–7].

Показаниями к использованию метода является наличие ожогов 3А, 3В, и 4 степени более 10% площади тела, дефицит донорских ресурсов, длительно незаживающие гранулирующие раны. Абсолютных противопоказаний к использованию метода нет. Относительными противопоказаниями являются: общее крайне тяжелое состояние больного, недостаточно подготовленная рана с обсемененностью раны более 100 тыс. микробных тел на 1 г ткани, наличие грибковой флоры [5, 6].

При ожогах 3А степени и длительно незаживающих ранах трансплантацию 3-дневной культуры аллофибробластов осуществляют непосредственно на подготовленные в результате комплексного лечения раны. При глубоких ожогах 3В, 4 степени трансплантацию аллофибробластов сочетают с аутодермопластикой с коэффициентом расширения 1:6 и более [1].

Как показали иммунологические исследования, обладая сниженными антигенными свойствами, клеточная культура фибробластов не вызывает сенсibilизирующего эффекта, а ее положительный иммуномодулирующий

эффект объясняется высокими регенеративными способностями, обеспечивающими более быструю эпителизацию ожоговых ран. Это приводит не только к клиническому улучшению, но и к сдвигам показателей гуморального и клеточного иммунитета. На 2–6-е сутки после аутопластики происходит достоверное увеличение Т-активных лимфоцитов и В-лимфоцитов, резкое снижение нулевых лимфоцитов. На 7–15-е сутки после аутопластики наблюдается повышение иммуноглобулинов М, что связано с реакцией антиген – антитело [8].

При использовании комбинированной пластики с клеточной культурой фибробластов степень эндогенной интоксикации (ВНСММ и олигопептиды в плазме, индекс токсемии в плазме и общий индекс интоксикации) снижается [9].

Существовало мнение, что культивирование *in vitro* и фабрикация конструкта может структурно и/или функционально изменить ДНК или вызвать экспрессию нехарактерных для исходной клетки генов, например, онкогенов. Но было доказано, что процесс выделения и культивирования клеточного материала для тканеинженерных конструкций не вызывает повреждения ДНК.

Выводы

1. Пересадка аллофибробластов на термически поврежденную кожу является неинвазивным и безопасным методом лечения.

2. Обуславливая быструю эпителизацию ожоговых ран даже при критических ожогах, значительно уменьшается вероятность развития опасных для жизни осложнений ожоговой болезни.

3. Уменьшается травматичность оперативных вмешательств, в короткие сроки стабилизируется общее состояние пострадавших, сокращается длительность стационарного лечения, а также снижается летальность у больных с обширными поражениями кожного покрова.

4. Применение аллофибробластов позволяет значительно сократить расходы на лечение.

5. Метод восстановления кожного покрова с использованием культуры фибробластов улучшает функциональные и косметические результаты пластики. Кожный покров, восстановленный сетчатыми аутотрансплантатами с использованием культивированных фибробластов, в отдаленные сроки в значительной степени утрачивает сетчатый рисунок.

Литература

1. Алексеев А.А., Попов С.В. Комбустиология. – М., 1999.
2. Вихриев Б.С. Перспективы дальнейшего улучшения помощи обожженным // Вестник хирургии. – 1986. – №5. – С. 89–91.
3. Келлер Г., Себастиан Дж., Лакомбе Ю., Тофт К., Ласк Г., Ревазова Е. Сохранность инъекцируемых аутологичных человеческих фибробластов // Бюлл. экспериментальной биологии и медицины. – 2000. – Т. 130. – №8. – С. 203–206.
4. Терехов С.М. Цитология. – М., 1981.
5. Саркисов Д.С., Алексеев А.А., Глуценко Е.В., Морозов С.С., Серов Г.Г., Туманов В.П., Федоров В.Д. Теоретические и практические аспекты использования культивированных фибробластов при восстановлении целостности кожных покровов // Вестник Российской академии медицинских наук. – 1996. – №6. – С. 6–11.
6. Саркисов Д.С. с соавт. Аллотрансплантация культивированных фибробластов на незаживающие раны после аутодермопластики // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1991. – №5. – С. 77–81.
7. Глуценко Е.В., Алексеев А.А., Морозов С.С. Использование клеточных культур при местном лечении ожоговых ран // Хирургия. – 1993. – №11. – С. 26–28.
8. Лебедев К.А., Понякина И.Д. Иммунограмма в клинической практике. – М., 1990. – 224 с.
9. Кальф-Калиф Я.Я. О лейкоцитарном индексе интоксикации и его практическом значении // Врачебное дело. – 1941. – №1. – С. 31–35.