

УДК 616. 003.93-31:617.52-089

СОВРЕМЕННЫЕ РАНЕВЫЕ ПОКРЫТИЯ**Стабаева Г.С., Мусаев А.Т., Угланов Ж.Ш., Алдабергенев Е.Н., Кани А.Н., Курбатов А.В., Восканян Э.А., Абдиманап А.Д., Мергенбаев Ж.Е., Тажиев Т.С.***Казахский Национальный Медицинский университет им. С.Д. Асфендиярова, Алматы, e-mail: musaev.dr@mail.ru*

В Казахстане достаточно высок уровень пострадавших после дорожно-транспортных происшествий, механических и комбинированных травм на производстве и в быту. Необходимо определить единую тактику лечения таких пострадавших с точки зрения раннего восстановления утраченных кожных покровов. В настоящее время переход на качественно новый уровень регенеративной медицины связывается с привлечением клеточных технологий и тканевой инженерии. В статье приводится обзорный анализ литературы по обоснованию разработки отечественного биотехнологического раневого покрытия для восстановительного лечения ран различной этиологии. Создание тканевого эквивалента кожи на основе клеточной культуры аллогенных и аутологичных фибробластов и кератиноцитов, иммобилизованных на коллагеново-гиалуроновой матрице, научное обоснование применения данных технологий будет являться одним из перспективных направлений при лечении ран различного генеза в практике хирургической стоматологии.

Ключевые слова: ожоговая рана, длительно незаживающая рана, фибробласты, кератиноциты, тканевой эквивалент кожи

MODERN WOUND COVERAGES**Stabaeva G.S., Musaev A.T., Uglanov Zh.Sh., Aldabergenov E.N., Kani A.N., Kurbatov A.V., Voskanyan E.A., Abdimanap A.D., Mergenbayev Zh.Y., Tazhiev T.S.***Kazakh National Medical university after S.D. Asfendiarov, Almaty, e-mail: musaev.dr@mail.ru*

Kazakhstan is rather high level after the victims of traffic accidents, mechanical and combined injuries at work and at home. It is necessary to define a common strategy of treating such victims in terms of early recovery of lost skin. The ongoing transition to a qualitatively new level of regenerative medicine associated with the involvement of cell technology and tissue engineering. The article provides an overview of the literature on the justification of the development of the domestic biotech wound coverage for rehabilitation treatment of wounds of various etiologies. Creating a skin tissue equivalent, based on a cell culture of allogenic and autologous fibroblasts and keratinocytes, immobilized on a collagen-hyaluronic matrix, the scientific rationale for the use of these technologies will be one of the most promising directions in the treatment of wounds of various origins in the practice of surgical stomatology.

Keywords: burn wound, nonhealing wound, fibroblasts, keratinocytes, skin tissue equivalent

Актуальность. Восстановительное лечение ран является одним из актуальных медицинских и социальных проблем науки и практики, значение которого еще более возрастает с увеличением количества стихийных бедствий, производственных и бытовых травм, военных конфликтов. Мотивацией для развития отечественной индустрии биоматериалов –кожных трансплантатов является их высокая востребованность при лечении поврежденной кожи при ожогах, травмах, хронических длительно незаживающих ранах, в терапевтической косметологии с целью *anti-age* терапии (1).

В Казахстане достаточно высок уровень пострадавших после дорожно-транспортных происшествий, механических и комбинированных травм на производстве и в быту. Необходимо определить единую тактику лечения таких пострадавших с точки зрения раннего восстановления утраченных кожных покровов. Одним из ключевых направлений стратегии развития медицинской науки и инноваций в здравоохранении

Республики Казахстан до 2020 года является внедрение современных медицинских технологий, основанных на международных стандартах GMP, GLP, GCP, для улучшения здоровья и качества жизни казахстанцев и повышение доступности современных лечебных технологий для всего населения страны. В настоящее время переход на качественно новый уровень регенеративной медицины связывается с привлечением клеточных технологий и тканевой инженерии (2). Немаловажное значение будет иметь своевременность оказания данной технологии лечения и её доступность.

Ожоговые раны. По данным Всемирной организации здравоохранения ожоги занимают третье место среди прочих травм (3). Обширная раневая поверхность ведет к массивной плазмопотере, раневому истощению, служит причиной нарушения гомеостаза, развития гнойных и септических осложнений, увеличению сроков госпитализации, ухудшению функциональных результатов лечения и инвалидизации.

При отсутствии морфологического субстрата кожи эпителиальных клеток – кератиноцитов в ране происходит медленное неполноценное соединительно-тканное замещение дефекта грануляциями с последующим развитием рубцово-язвенного дефекта. Одной из основных проблем лечения пострадавших от ожогов на протяжении всей истории развития комбустиологии является своевременность и полнота восстановления кожных покровов, утраченных в результате ожоговой травмы. От этого во многом зависят характер течения и исход периода реконвалесценции, а, значит, и качество жизни пострадавших. Не менее важной проблемой является профилактика послеожоговых рубцов. Используемые в этой связи наиболее распространенные в Казахстане консервативные методы оказываются зачастую недостаточно эффективными.

Ожоги челюстно-лицевой области составляют 27–50% от всех поражений других участков тела и могут вызвать очень серьезные изменения организма: нарушения функции жевания, речи, слуха, зрения, обезображивание лица, тяжелый стресс. Лечение таких больных представляет собой серьезную медико-социальную проблему, значение которой с каждым годом возрастает. Эти ожоги, особенно если они располагаются в области лица, шеи, кистей, стоп, крупных суставов, нередко приводят к тяжелым функциональным и/или эстетическим дефектам вплоть до инвалидизации пациентов (4). Хирургическая реабилитация пострадавших с обширными дефектами мягких тканей и костей лицевого скелета в результате термических и электрических ожогов является одним из самых сложных разделов восстановительной хирургии термических поражений. Начиная со стадии шока и до стадии реконвалесценции, больной нуждается в интенсивном комплексном лечении, включающем инфузионно-трансфузионную терапию, коррекцию катаболических процессов и иммунодепрессии, профилактику инфекционных осложнений и генерализации инфекции. Эти проблемы тесно связаны с вопросами местного лечения ожоговых ран, являющихся важнейшим источником инфекционных осложнений, прежде всего пневмонии и сепсиса, которые наиболее часто приводят к летальным исходам. При поверхностных ожогах II степени (эпидермальных), IIIA степени (субдермальных) и IIIB степени (дермальных) восстановление кожных покровов и хороший функциональный результат в первую очередь зависят от своевременно начатого и патогенетически обоснованного

лечения. Конечной целью хирургических вмешательств является восстановление функции, формы, достижение наилучшего эстетического результата. Операции связаны с переносом на область дефекта большого количества пластического материала схожего по своим свойствам (эластичности, окраске, текстуре) со свойствами естественной кожи лица.

Длительно незаживающие раны. Статистика встречаемости различных видов ран кожи и мягких тканей, в том числе долго незаживающих и осложненных вторичной инфекцией, высокая – от 4% до 10%. Сроки заживления трофических язв могут составлять 9–12 мес и более. Причиной возникновения трофических язв нижних конечностей могут быть хроническая венозная недостаточность, посттромбофлебитический синдром, механическая травма, глубокие ожоги, хроническая артериальная недостаточность, сахарный диабет, а также последствия гнойно-некротических заболеваний и перенесенных операций. В области длительно незаживающих раневых и язвенных дефектов может начаться процесс злокачественного перерождения. Длительно существующие раневые и язвенные дефекты требуют продолжительного использования регенерирующих, противовоспалительных, антибактериальных, обезболивающих препаратов и неоднократных хирургических вмешательств. И, несмотря на это, все может оказаться неэффективным или же результат заживления может быть неудовлетворительным из-за формирования грубой обезображивающей рубцовой ткани (5).

В связи с вышеизложенным разработка новых и совершенствование существующих методов лечения, направленных на профилактику образования грубых обезображивающих рубцов при глубоких ожогах кожных покровов, является весьма актуальным. В настоящее время перспективные возможности для регенеративной медицины связаны с применением технологий клеточной терапии и тканевой инженерии. Тканевая инженерия является сегодня активно развиваемой инновационной областью регенеративной медицины. В основе тканевой инженерии лежит три компонента:

1. Репаративные клетки, которые смогут сформировать функциональный матрикс;
2. Подходящий каркас для трансплантации и основы;
3. Биоактивные молекулы, такие как цитокины и факторы роста, которые будут поддерживать желаемую ткань и управлять ее формированием (Sharma и Elisseeff, 2004).

Биоинженерные заменители кожи не только должны обеспечить быстрое и на-

дежное покрытие кожного дефекта, но и должны быть легко применимы в обычных условиях использования и уменьшить боль и дискомфорт для пациента. Кроме того, они должны вызвать процесс регенерации раны, не вызывая воспаление или отторжения. Заменители кожи должны быть доступны сразу, быть нетоксичными и не иммуногенными (6,7). Такие конструкции, приготовленные с нормальными клетками из здоровых тканей, либо заменяют поврежденные клетки пациента, либо стимулируют их функционирование.

Биоматериалы на основе гиалуроновой кислоты. Общие свойства: гидрофильность, обуславливающая высокую адсорбирующую способность, хорошая адгезия к ране, отсутствие токсичности и раздражающего действия, а также гемостатические свойства (8). Присутствие гиалуроновой кислоты благоприятно сказывается на репаративных процессах на всех стадиях лечения раны (9). *Основной проблемой* является недостаточная механическая прочность покрытия и устойчивости на ране.

Биосовместимые материалы на основе коллагена. К ценным свойствам коллагена относятся его способность стимулировать фибрилlogenез, рассасываться и замещаться живой тканью (10). В тканях человека коллаген тесно связан с гиалуроновой кислотой и другими макромолекулами. Коллагеновые покрытия на раны и ожоги плотно прилегают к ране и впоследствии рассасываются. Скорость рассасывания можно регулировать, изменяя степень сшивки макромолекул (11). Доказано, что в коллагеновые покрытия мигрируют эндотелиальные фибробласты и другие клетки, в результате чего материал рассасывается под действием коллагеназы и замещается грануляционной тканью (12).

Биотехнологические раневые покрытия являются самыми современными и самыми перспективными (13). Их можно разделить на следующие основные типы:

- бесклеточные (содержащие в своем составе только биологически активные макромолекулы);
- имеющие в своем составе живые клетки разного типа (фибробласты, кератиноциты и др.).

По способу получения окончательной лечебной формы их можно разделить на готовые к применению и на формирующиеся непосредственно в ране. Готовые к употреблению биотехнологические раневые покрытия окончательно формируются в лаборатории и далее доставляются в клинику, где их переносят на раневые поверхности (14). В настоящее время сформировались два ос-

новных направления в области использования культивированных клеток для лечения обширных ожоговых и хронических ран.

Первое направление заключается в использовании для закрытия ожоговых поверхностей пластов культивированных кератиноцитов (клеток покровного эпителия), полученных чаще всего из аутоклеток. Хотя аллотрансплантат не приживается, он обеспечивает закрытие раневой поверхности и модулирует пролиферацию и дифференцировку клеток эпителия реципиента, тем самым стимулируя регенерацию (15). *Недостатки*, препятствующие их широкому клиническому применению: использование аутокератиноцитов не дает возможности создать банк клеток; сроки, необходимые для изготовления достаточного по площади трансплантата, велики и составляют 3-4 недели; длительные сроки увеличивают риск развития инфекционных осложнений ожоговой болезни и удлиняют время пребывания пациентов в стационаре; аутокератиноциты практически не приживаются при трансплантации на гранулирующие ожоговые раны; высока стоимость специальных ростовых сред и биологически активных стимуляторов роста кератиноцитов (16).

Второе направление предусматривает использование для закрытия раневых поверхностей так называемых эквивалентов кожи, которые включают не только культивированные кератиноциты, но и дермальный эквивалент, состоящий из коллагена, гликозамин-гликанов и др. Современные «живые эквиваленты кожи» представляют собой тканеинженерные конструкции на основе кератиноцитов, фибробластов и коллагеновой матрицы. Преимуществом «живых эквивалентов кожи» является то, что клетки в нем находятся в активном функциональном состоянии, близком к таковому в коже (17). Трансплантация тканевых эквивалентов с использованием клеточных культур на матрикс-носителе приводит к нормализации течения раневого процесса (18). Восстановление тканей при этом протекает через стимуляцию регенерации за счет продукции цитокинов и факторов роста, модификации раневой поверхности, обеспечивающей условия миграции и пролиферации собственных эпителиальных клеток, стимуляции контракции и синтеза коллагена.

Полученные на сегодняшний день данные достоверно демонстрируют высокую клиническую эффективность и безопасность применения фибробластов для лечения длительно незаживающих ран и ожогов и для коррекции косметических дефектов (19, 20). Способность фибробластов формировать межклеточный ма-

трикс, синтезировать цитокины, вызывать миграцию и пролиферацию разных типов клеток при повреждениях кожи делает их перспективными для широкого клинического применения. Многочисленными исследованиями было доказано, что фибробласты имеют низкую экспрессию антигенов гистосовместимости и отсутствие онкогенных потенциалов, что пересаженные аллогенные фибробласты оказывают непосредственное влияние на заживление ран и на эпителизацию. Патогенетический механизм действия предложенного метода заключается в синтезе аллогенными фибробластами экстрацеллюлярного матрикса, факторов роста, стимуляции пролиферации собственного эпителия, направленных на восстановление как эпидермального, так и дермального компонента кожи. При ожогах 3А степени и длительно незаживающих ранах трансплантацию 3-х 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. В последнем случае аллофибробласты стимулируют эпителизацию ячеек аутодермального трансплантата. Поиск доступных источников фибробластов на сегодняшний день остается крайне актуальной задачей, от успешного решения которой во многом зависит дальнейшее развитие клеточной терапии.

В настоящее время имеется значительное число работ, свидетельствующих о большой роли факторов роста в эпителизации кожи. Факторы роста – это регуляторные пептиды (тканевые гормоны), вырабатываемые клетками различных типов, которые в значительной степени ускоряют регенераторный процесс. Многие факторы роста продуцируются фибробластами:

1. Основной фактор роста фибробластов (bFGF) положительно влияет на рост всех типов клеток кожи, стимулирует продукцию компонентов внеклеточного матрикса фибробластами (фибронектина и коллагена), стимулирует хемотаксис фибробластов и выработку ими новых волокон коллагена, эластина и фибронектина;

2. Трансформирующий ростовой фактор (TGF-бета) стимулирует хемотаксис фибробластов и продукцию ими коллагена и фибронектина.

3. Трансформирующий ростовой фактор (TGF-альфа) влияет на ангиогенез. Продуцируемые фибробластами факторы роста могут ускорять восстановление пораженной дермы, что во многом объясняет стиму-

лирующее воздействие аллогенных клеток на заживление ран.

4. Эпидермальный фактор роста (EGF)-усиливает пролиферацию и миграцию кератиноцитов;

5. Фактор роста кератиноцитов (KGF)-усиливает заживление и эпителизацию ран;

6. Трансформирующий фактор роста (a-NGF) активно влияет на ангиогенез.

Кроме того, фибробласты продуцируют компоненты внеклеточного матрикса: нидоген, ламинин, тинасцин, хондроитин-4-сульфат, протеогликан.

Таким образом, ввиду отсутствия клеточных и тканевых препаратов для регенеративной медицины на казахстанском рынке, а также основываясь на литературных данных и ранее проведенных нами экспериментальных исследованиях, разработка конкурентоспособного биотехнологического раневого покрытия будет весьма актуально и востребовано отечественной медициной. Создание тканевого эквивалента кожи на основе клеточной культуры аллогенных и аутологичных фибробластов и кератиноцитов, иммобилизованных на коллагеново-гиалуроновой матрице, научное обоснование применения данных технологий, является одним из перспективных направлений при лечении ран различного генеза. Перед нами стоят задачи проведения всех необходимых по законодательству испытаний – технических, токсикологических и клинических, составление соответствующих нормативных документов на изделия медицинского назначения и лечебные технологии, получение регистрации в МЗСР РК и разрешения на производство и клиническое применение.

Список литературы

1. Dieckmann C., Renner R., Milkova L., Simon J.C. Regenerative medicine in dermatology: biomaterials, tissue engineering, stem cells, gene transfer and beyond. *Experimental Dermatology* 2010; 19: 697–706.
2. Fa-Ming Chen, Yi-Min Zhao, Yan Jin, Songtao Shi. Prospects for translational regenerative medicine. *Biotechnology Advances* 30 (2012) 658–672.
3. ВОЗ. Шестидесят пятая сессия. 26 апреля 2012 г.
4. Сарыгин П.В., Попов С.В. Хирургическая реабилитация больных с последствиями ожогов шеи и лица. *Комбустиология*. – 2010. – № 38.
5. Clark R.A., Ghosh K., Tonnesen M.G. Tissue engineering for cutaneous wounds. *J Invest Dermatol* 2007; 127: 1018–1029.
6. Ikada Y. Challenges in tissue engineering. *J R Soc Interface* 2006; 3: 589–601.
7. Metcalfe A.D., Ferguson M.W. Tissue engineering of replacement skin: the crossroads of biomaterials, wound healing, embryonic development, stem cells and regeneration. *J R Soc Interface* 2007; 4: 413–437.
8. Costello B.J., Shah G., Kumta P., Sfeir C.S. Regenerative medicine for craniomaxillofacial surgery. *Oral Maxillofac Surg Clin North Am* 2010; 22:33–42.

9. Nolte S.V., Xu W., Rennekampff H.O., Rodemann H.P. Diversity of fibroblasts – a review on implications for skin tissue engineering. *Cells Tissues Organs* 2008; 187(3): 165-76.
10. George J., Onodera J., Miyata T. Biodegradable honeycomb collagen scaffold for dermal tissue engineering. *J. Biomed. Mater. Res.* 2008; 87 (4): 1103-11.
11. Кирик В.М., Бутенко Г.М. Стволовые клетки из жировой ткани: основные характеристики и перспективы клинического применения в регенеративной медицине (обзор литературы). *Журн. АМН України.* – 2010. – Т. 16, № 4. – С. 576–604.
12. Huang YS. Strengthen researches on translational medicine and regenerative medicine in burns. *Zhonghua Shao Shang Za Zhi* 2010; 26:167-9.
13. Lee K., Silva E.A., Mooney D.J. Growth factor delivery-based tissue engineering: general approaches and a review of recent developments. *J R Soc Interface* 2011; 8:153-70.
14. Смирнов С.В. и др. Восстановление кожного покрова путем трансплантации выращенных кератиноцитов. *БЭБМ* 2003; 135; 6: 11.
15. Badiavas E.V., Mehrdad Abedi, Janet Butmarc, Vincent Falanga, Peter Quesenberry. Participation of bone marrow derived cells in cutaneous wound healing. *J Cell Physiol* 2003; 196; 2: 245-250.
16. Pham C., Greenwood J., Cleland H., Woodruff P., Madder G. Bioengineered skin substitutes for the management of burns: a systematic review. *Burns* 2007; 33: 946–957.
17. Badiavas E.V. The potential of bone marrow cells to orchestrate homeostasis and healing in skin. *Blood Cells Mol Dis.* 2004 Jan-Feb; 32(1):21-3.
18. Шумаков В.И., Расулов М.Ф., Крашенинников М.Е., Зайденов В.А., Онищенко Н.А. Сравнительная оценка эффективности применения аллогенных эмбриональных фибробластов и мезенхимальных стволовых клеток костного мозга для терапии глубоких ожоговых ран. *Вестник трансплантологии и искусственных органов* 2002; 4: 7-11.
19. Oshima H., Inoue H., Matsuzaki K., Tanabe M. Permanent restoration of human skin treated with cultured epithelium grafting – wound healing by stem cell based tissue engineering. *Hum Cell.* 2002 Sep; 15(3):118-28.
20. Stepanovic V., Ola Awad, Chunhua Jiao, Martine Dunnwald, Gina C. Schatteman. Leprdb diabetic mouse bone marrow cells inhibit skin wound vascularization but promote wound healing. *Circ Res* 2003; 92 11;: 1247-1253.