Применение новых биомедицинских методов лечения, основанных на использовании клеточных технологий, в практике работы ожогового центра

А.К.Штукатуров , А.А. Бахарев , Г.З. Сайдгалин Н.А. Шмелева.
ДГКБ № 9, г. Екатеринбург
Екатеринбургский научно-исследовательский институт вирусных инфекций МЗ РФ

В последние годы в России первое место среди причин смерти трудоспособного населения, опередив сердечно-сосудистые и онкологические заболевания, заняли травмы и отравления (Н.В. Корнилов, 1977; В.Г. Мишиев с соавт., 1998).

Среди большой группы травм термические поражения составляют от 5,2% до 10,0% (О.Д. Дмитриенко, 1998). Летальность от ожогов существенно возросла – с 2,1% в 1990 г. до 3,3% в 1997-2000 гг., и связано это с ростом числа тяжелых термических травм. Характерной особенностью термических поражений является то, что каждый пятый пациент ожоговых отделений имеет критические и сверхкритические по площади глубокие ожоги (В.В. Азолов, В.А. Жегалов, С.П. Перетягин, 1999). Среди всех пострадавших от ожогов дети составляют около 40,0% (Д.Х. Паркс, Х.Ф. Карваял, 1990). Показатель летальности у обожженных детей, по данным разных авторов, колеблется от 1,45% до 59,5% (J. Kripner, K. Soltani, 1998).

Тяжесть течения и длительность лечения пострадавших от термических поражений ставит перед здравоохранением задачи разработки новых покрытий, заменяющих кожу либо ускоряющих эпителизацию аутотрансплантированных лоскутов. Перспективным направлением в решении этого вопроса является применение культивируемых in vitro клеток кожи. Первые сообщения о культивировании клеток кожи появились еще в 40-х годах (Медовар, 1948). В 70-х годах было предложено использовать культивируемые клетки кожи при лечении ожогов (Грин, Рейнвальд, 1975). С конца 80-х годов данный метод используется в ведущих ожоговых центрах России (Инсти-

тут хирургии им. Вишневского РАМН, Московский городской детский ожоговый центр, Военно-медицинская академия, г. С.-Петербург). В настоящее время сформировались два основных направления в области использования культивированных клеток для лечения тяжело обожженных. Первое заключается в использовании для закрытия ожоговых поверхностей пластов культивированных кератиноцитов (клеток покровного эпителия), полученных чаще всего из аутоклеток (В.П. Туманов, А.А. Пальцын, Д.С. Саркисов, 1989; Green, E. Bell, 1983; C.C. Compton, 1989), значительно реже – из аллокератиноцитов (De Luca M., 1989; Duinslaeger L.A.Y., 1994). 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, гликозаминогликанов и др. (Asselinean D., 1986; Nanohahal J., 1989). Уже на первых этапах клинического применения трансплантатов из культивированных кератиноцитов определился ряд недостатков, препятствующих их широкому клиническому использованию (М.И. Кузьмин, В.П. Туманов, Г.Г. Серов, 1985). К ним относятся следующие: использование аутокератиноцитов не дает возможности создать банк клеток; сроки, необходимые для изготовления достаточного по площади трансплантата, велики и составляют 3-4 недели; длительные сроки получения трансплантатов 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 креатиноцитов. Следует подчеркнуть, что результаты применения культивированных клеток в значительной степени зависят от подготовленности к трансплантации самой ожоговой раны. В случаях трансплантации культивированных кератиноцитов на раневую поверхность после хирургической некрэктомии приживается в среднем 55% от площади пересаженных клеток (Compton C.C., 1989; Rue I.W.,

1993; Teepe R., 1990). При гранулирующих ранах этот процент приживления снижается до 15% (De Luca M., 1989). Таким образом, современные методы местного лечения ожоговых ран, основанные на использовании культивированных кератиноцитов, имеют существенные недостатки, затрудняющие их широкое внедрение в клиническую практику, требуют дальнейшей разработки метода для создания полноценного эквивалента кожи.

Использование культивированных фибробластов для закрытия раневых поверхностей сразу же показало ряд существенных преимуществ этого метода по сравнению с применением кератиноцитов: получение фибробластов не требует дорогостоящих питательных сред, стимуляторов роста, что снижает стоимость более чем в 20 раз; фибробласты легко поддаются пассированию, при котором они частично утрачивают поверхностные антигены гистосовместимости; применение культуры фибробластов открывает возможность использования для изготовления трансплантатов аллоклеток и создания клеточных банков; сокращаются сроки получения трансплантатов, готовых к использованию в клинике с 3 недель до 2-3 суток и т.д.

Наряду с использованием клеточных культур в системе лечения ожоговых больных представляется возможным создание комплексного подхода к внедрению принципов заместительной терапии больных с травмами опорно-двигательного аппарата, при восстановлении и коррекции функции поврежденных тканей или органов.

Разработка и внедрение новых биомедицинских технологий, основанных на принципе заместительной клеточной терапии для восстановления и коррекции функции поврежденных органов и тканей, для работы ожоговых отделений, может быть реальна только на базе созданного сертифицированного "банка" клеточных систем и тканей.

Задачей такого банка является обеспечение внедрения новых биомедицинских технологий в работу травматологических отделений города и области. Предусматривается использование культивированных клеток для лечения тяжело обожжен-

ных с целью предупреждения высокой летальности среди пострадавших и сокращения длительности реабилитационного периода.

Перспективно первоочередное внедрение следующих основных технологий:

- закрытие ожоговых поверхностей взвесью ауто- и аллогенных фибробластов для симуляции эпителизации (Д.С. Саркисов с соавт., 1984-1988 гг.);
- использование "упрощенных эквивалентов кожи" за счет сочетания ауто- и аллогенных фибробластов и элементов внеклеточного матрикса (Д.С. Саркисов, 1990; В.В. Федоров, 1993; Б.А. Парамонов, 1997 и др.);
- осуществление разработки "живого эквивалента кожи".

Результаты использования аллофибробластов для лечения ожоговых больных в ДГКБ № 9.

В детском ожоговом центре при ДГКБ № 9 ежегодно проходит лечение 370-420 детей, пострадавших от ожогов. Из них у 130-150 детей определяются глубокие и распространенные ожоги, у 35-40% которых для ускорения эпителизации возможно применение клеточных культур. Общая площадь глубокого поражения, требующего оперативного лечения, у них составляет до 35-40 тысяч кв. см в год. При принятой нами методике предоперационной трансплантации аллофибробластов, в соотношении 30-60 тыс. клеток на $см^2$ пораженной кожи, потребность в культуре фибробластов составит 1,2-2 млрд. клеток в год.

При успешной разработке метода с использованием эпителиальных клеточных пластов их потребность может составить до 45-50 тыс. кв. см в год. В 1998 году начато экспериментальное использование культуры аллофибробластов при лечении глубоких термических поражений на базе детского ожогового отделения ДГКБ № 9 г. Екатеринбурга. В своей работе мы исходили из необходимости использования аллофибробластов, с одной стороны имеющих полную паспортную ха-

рактеристику, а с другой – из возможности обеспечения ими полного курса лечения больных. Исходя из этого, выбор был сделан в пользу диплоидного штамма фибробластов человека, охарактеризованного согласно требованиям ВСКК, зарегистрированного в качестве оригинального и сохраняемого в низкотемпературном банке-музее ЕНИИВИ.

Аллофибробласты выращены в лаборатории клеточных культур ЕНИИВИ. Пролечено 27 больных с термическими поражениями 3-4 степени общей площадью поражения от 4 до 56%. Применение культуры аллофибробластов для предоперационной трансплантации на рану с целью ускорения эпителизации раны у больных с глубокими ожогами оказалось оправданным. Культура аллофибробластов применялась либо в виде взвеси, либо на подложке на основе биосинтетического покрытия "Фолидерм".

Показаниями к использованию метода для лечения глубоких ожогов у детей является наличие ожогов 3а, 3б- 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 100 000 микробных тел на 1 гр. ткани, наличие грибковой флоры.

Данные литературы и результаты внедрения метода в ДГКБ № 9 показали высокую эффективность и экономическую целесообразность внедрения данной технологии для лечения тяжелых больных с термическими травмами. Перспективным является внедрение данной технологии в Свердловской области и Уральском регионе в целом.