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

Штукатуров А.К., Саидгалин Г.З.
Детское ожоговое отделение ДГКБ № 9 г.Екатеринбург

В последние годы в России первое место среди причин смерти трудоспособного населения занимают травмы, опередив сордечно-сосудистые и онкологические заболевания. В общей структуре травматизма одно из лидирующих мест заниают термические, химические и другие виды ожогов. В совеменных условиях задачей, требующей решения, является достижение полной эпителизации в ранние сроки тяжело обожженных с дефицитом донорских кожных ресурсов. Раннее закрытие ожоговой поверхности защищает организм от факторов внешней агрессии, снижает патологические потери, тем самым ускоряя выздоровление пациента. Достижение быстрой эпителизации ожоговой раны тяжело обожженного возможно при использовании культивированных клеток. Преимущества клеточной терапии, несомненно, играют решающую роль в современных условиях, способствуя все большему распространению метода для лечения глубоких и пограничных ожогов.

При апробации и дальнейшем использовании метода применяли препарат "Культуры клеток диплоидных человека для заместительной терапии", (далее – препарат).

В ожоговом отделении ДГКБ № 9 отработаны оптимальные схемы применения препарата «Диплоидные клетки человека для заместительной терапии» (штамм ЛЭЧ 4/81) при лечении обширных ожогов III А степени, для ускорения спонтанной эпителизации ран; при выполнении аутодермопластики расщепленными сетчатыми лоскутами с различными коэффициентами перфорации у детей с обширными ожогами III Б степени и дефицитом донорских ресурсов собственной кожи; при длительно существующих гранулирующих ранах и трофических язвах (после перенесенных ожогов и травм). В исследуемую группу вошли 22 пациента.

Критерии включения:

Возраст – от 10 месяцев до 14 лет;
Площадь ожога от 10 до 60 % поверхности тела;
Дефицит донорских ресурсов у пациентов с обширными ожогами;
Длительность существования гранулирующих ран – свыше 3 недель;
Трофические язвы, не поддающиеся традиционному лечению.

Критерии исключения:

Онкологические и онкогематологические заболевания;
Больные в терминальной стадии хронических заболеваний;
Декомпенсированный сахарный диабет;
Териотоксикоз, надпочечниковая недостаточность;
Психические заболевания;
Тяжелые заболевания нервной системы (эпилепсия, миастения, рассеянный склероз и др.);
Аутоиммунные заболевания (бронхиальная астма, НЯК, болезнь Крона, аутоиммунный гепатит и др.);
Наличие острой вирусной и бактериальной инфекции, обострение очагов хронической инфекции;
Туберкулез, сифилис, ВИЧ инфекция;
Осложненное течение ожоговой болезни – декомпенсированное септическое состояние (полиорганная недостаточность более чем по 5 системам).

Критерии выбытия из исследования:

Острые осложнения (аллергические, пирогенные, токсические реакции) в послеоперационном периоде;
Развитие гнойно-септических осложнений ожоговой болезни с полиорганной недостаточностью более чем по 3 системам;
Отказ родителей (опекунов).
Пациентов, выбывших из исследования согласно представленным критериям, не было.
Испытания проведены в двух группах пациентов:
Первую (1) составили 15 детей в возрасте от 2 до 14 лет с ожогами площадью от 10 до 56 % поверхности тела глубиной III АБ степени (средняя площадь ожога – 36,8%). Средняя площадь глубокого поражения в этой группе 20,6% поверхности тела, средний индекс тяжести поражения – 88,5. Из них в ранние сроки от момента травмы (первые трое суток) в ожоговый центр были доставлены 14 детей (93,3%), что позволило в 11 случаях выполнить раннюю некрэктомию с последующей трансплантацией клеток и аутодермопластикой. Показаниями к трансплантации в данной группе были обширность поражения и дефицит донорских ресурсов собственной кожи. Летальных исходов в представленной группе не было.
Вторую (2) группу составили 7 детей с гранулирующими, длительно незаживающими ранами и трофическими язвами (срок существования ран от 2 до 6 месяцев). Площадь ран в этой группе была от 1 до 30% поверхности тела (в среднем – 8,9%). Показанием к трансплантации культивированных аллофибробластов в этой группе был вялый репаративный процесс, истощение. Все дети выжили. Распределение детей по возрасту и полу в группах представлено в таблице 1:

Таблица 1

Распределение пациентов в группах по возрасту и полу

Возраст	1 группа		2 группа		Всего
	девочки	мальчики	девочки	мальчики	
0-1 год			1	1	2 (9,1%)
1-3 года	1	2	-	1	4 (18,1%)
3-7 лет	2	2	-	2	6 (27,3%)
7-14 лет	2	6	-	2	10(45,5%)
Итого	5 (33,3%)	10 (66,7%)	1 (14,3%)	6 (85,7%)	22 (100%)

В таблице 2 представлено распределение пациентов исследуемых групп по площади поражения.

Таблица 2

Распределение пациентов в группах по площади поражения

Площадь ран	1 группа	2 группа	Всего
1-10%	1(6,7%)	5(71,4%)	6 (27,3%)
11-20%	1(6,7%)	1(14,3%)	2 (9,1%)
21-30%	2(13,3%)	1(14,3%)	3(13,6%)
31-40%	5(33,3%)	-	5(22,7%)
41-50%	4(26,7%)	-	4(18,2%)
Более 50%	2(13,3%)	-	2(9,1%)
Итого	15	7	22 (100%)

Результаты испытания специфической активности препарата.

Положительный результат получен в 90,9% случаев и определялся значительным, по сравнению с традиционными технологиями, ускорением эпителизации. Средние сроки начала эпителизации в ячейках трансплантатов, полной эпителизации ран представлены в Таблице 3. Критериями сравнения были выбраны сроки начальной и полной эпителизации ран у одного и того же пациента. В качестве контроля взяты сроки эпителизации участков ран, аналогичные по площади и глубине ожога у тех же пациентов, лечение которых отличалось только отсутствием трансплантации препарата при аутодермопластике. Выборка контрольной группы пациентов с аналогичными ожогами, лечение которых проводилось «традиционным способом» менее объективно отражала бы состояние местного раневого процесса, поскольку процессы регенерации сугубо индивидуальны.

Таблица 3

Сравнительные сроки заживления ран

Показатель	Участки трансплантации	Контроль
Среднее время начала эпителизации в ячейках сетчатого трансплантата, (сутки)	2,77+/-0,45	3,92+/-1,25*
Среднее время полной эпителизации, (сутки)	10,23+/-1,86	16,08+/-2,35 *

* - достоверность различий, p <0,01

Представленные в таблице данные свидетельствуют о сокращении сроков начальной эпителизации, в среднем, на 1,1 сутки (29,3 %), полного заживления ран в среднем на 36,4 %.

Продолжительность пребывания в стационаре пациентов с обширными, перенесших трансплантацию препарата, составила в первой группе 48,6 дня, во второй – 26,3 дня.

В двух случаях отмечен частичный лизис лоскутов, что нами расценено как неудовлетворительный результат (при традиционной технологии лизис лоскутов составляет до 50%).

К несомненным преимуществам метода относится тот факт, что в группе пациентов с обширными глубокими ожогами не было летальных исходов. Этот факт мы связываем не только с отсутствием побочных реакций, но и сокращением сроков существования ран, и, как следствие этого, сокращения потерь с раневым отделяемым, уменьшения угрозы генерализации инфекции.

Кроме того, в ходе проспективного наблюдения (все пациенты находятся в отделении на диспансерном учете) отмечено, что участки, подвергнувшиеся трансплантации препарата, в меньшей степени перерождаются в патологические рубцы.

Результаты испытания реактогенности и безопасности.

Перед применением и, в дальнейшем, регулярно, культуру клеток дополнительно исследовали на наличие микоплазменной инфекции с использованием люминесцентной микроскопии в лаборатории клеточных культур и на носительство вирусов группы герпеса, гепатита и СПИД в имуноферентном тесте в лаборатории Центра профилактики и борьбы со СПИД и СПИД-ассоциированных заболеваний при Екатеринбургском НИИВИ. Отсутствие полиовирусов 1,2,3 типов, Коксаки В3, ECHO 3, 6, 11, 13, 19, 20, 24, 28, РС-вирусов, показано культуральными методами. Неспецифическая

дегенерация монослоя начиналась не ранее 10 суток, что указывает на отсутствие контаминации культуры посторонними агентами.

В процессе применения препарата специфических реакций не отмечено. Аллергических и пирогенных реакций не было. Отсутствовали субъективные жалобы – зуд, жжение в области трансплантации. Цитологические и морфологические исследования показали отсутствие каких-либо иммунологических реакций, связанных с использованием аллоклеток, что объясняется потерей антигенов гистосовместимости в процессе субкультивирования клеток (Д.С.Саркисов, В.П.Туманов1997). В двух случаях (6,9%) отмечен частичный лизис аутотрансплантатов, что нами было расценено как неудовлетворительный результат и потребовало повторного хирургического вмешательства (аутодермопластики). В обоих случаях повторной трансплантации препарата не производилось.

Однако при традиционной технологии аутодермопластики на некротомную или гранулирующую рану лизис лоскутов может составлять до 50%.

Литература:

1. Адамс Р.Г. // Методы культур клеток для биохимиков. – М- Мир –1983
2. Блинова М.И., Пинаев Г.П. // Клеточная заместительная терапия . Инновация. СПб., 2000г. 1-2, - с.94-96.
3. Глинских Н.П., и др. Паспорт – каталог стабильных клеточных линий и штаммов низкотемпературного банка-музея // Свердловск – 1979.
4. Глинских Н.П. и др. Методические рекомендации по стандартизации работы с клеточными культурами для вирусологических исследований. Свердловск 1990.
5 Леннет Э., Шмидт Н. Лабораторная диагностика вирусных и риккетсиозных заболеваний. М- Медицина- 1974.
6 Методические указания по получению, аттестации и контролю линий диплоидных клеток, используемых в качестве субстрата для производства медицинских иммунобиологических препаратов. – Минздрав СССР,- Москва – 1986.
7. Туманов В.П., Глущенко Е.В., Морозов С.С., Саркисов Д.С. // Бюлл. экспер. биол. и мед., 1990, №4, с400-402.
8. Федоров В.Д., Саркисов Д.С., Туманов В.П.// Методические рекомендации «Метод хирургического лечения ожогов у детей с использование культивированных аллофибробластов человека» Москва 1997.
9. Фолдс Б., Найп Д. // Вирусология. – М. – Мир.- 1989 – т.2-3
10. Green H. Cell. –1985.- vol. 16. – P 801- 811.