

УДК 616-001.17-085.361.018.46:616.419-089.843

М.Ф. Расулов, А.В. Васильченко,

М.Е. Крашенинников, В.А. Сибиркин, В.И. Кравченко,

Т.Л. Горшенин, Р.Е. Пидцан, Н.А. Онищенко

ТРАНСПЛАНТАЦИЯ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА В ЛЕЧЕНИИ ОЖОГОВЫХ РАН

НИИ трансплантологии и искусственных органов
(г. Москва),
Охинская центральная районная больница
(Сахалинская обл.)

Ключевые слова: костный мозг, мезенхимальные
стволовые клетки, ожог.

Клеточная терапия в настоящее время стала частью комплексного лечения ожоговых больных [1, 3, 5, 6]. Для трансплантации на ожоговую поверхность наносятся культивированные аллофибробласты взрослого человека, ауто- или аллогенные кератиноциты в составе или вне биоинженерных конструкций [3-6, 11, 12]. Использование кератиноцитов, а также фибробластов является хотя и эффективным, но дорогостоящим методом лечения, что ограничивает возможности его широкого применения. Кроме того, быстрый переход фибробластов в фиброциты, которые обладают менее выраженными ростостимулирующими и пролиферативными свойствами, заставило перейти к использованию эмбриональных фибробластов. Использование фетального материала показало не только возможность ускоренной регенерации ран и реконвалесценции, но и снизило смертность ожоговых больных [2]. Однако применение последнего метода столкнулось с рядом этических и юридических проблем. В настоящее время во многих экономически развитых странах применение эмбриональных клеток в терапевтических целях запрещено. В России законодательная база по забору и использованию эмбрионального донорского материала отсутствует.

В последние годы во всем мире получили развитие работы по использованию стволовых клеток для восстановительного лечения органов и тканей. Оказалось, что стволовые клетки костного мозга при определенных условиях культивирования способны не только размножаться, но и дифференцироваться в клетки других тканей, в том числе — в фибробластоподобные [10, 13, 14, 15]. Ранее в экспериментах на животных нами была показана целесообразность применения алло- и аутологичных фибробластоподобных мезенхимальных стволовых клеток (ФМСК) при обширных ожогах [7-9]. Целью настоящей работы явился анализ результатов использования аллогенных ФМСК для стимуляции неоангиогенеза в ожоговой ране и ускоренного приживления аутологоскутов кожи.

Наблюдали двух больных с ожогами III ст. Забор клеток костного мозга для получения мезенхималь-

ных стволовых клеток и затем ФМСК проводили у взрослых доноров под внутривенным наркозом. Материал получали из подвздошной кости с использованием иглы Кассирского. Доноры были проверены на отсутствие гепатита В и С, СПИДа, сифилиса, хламидиоза и ряда других инфекций.

Клетки костного мозга предварительно культивировали на чашках Петри при 37°C в инкубаторе в атмосфере 5% CO₂ и с 95% влажностью в среде Iskov's (Gibco, Grand Island), содержащей 10% бычьей эмбриональной сыворотки (HyClone, USA). Среду заменяли каждые 3-4 суток. Для получения монослоя стволовых клеток требовалось 14-17 дней. В дальнейшем эти клетки сохраняли методом криоконсервации. Для получения ФМСК их размораживали и затем вновь культивировали в течение 7 суток. Визуальный контроль культивации проводили ежедневно с использованием фазово-контрастной микроскопии. Из прикрепившихся к поверхности пластика клеток готовили суспензию ФМСК и наносили на поверхность ожоговой раны с помощью пипетки, отступая от края раны 0,5 см, 30-40×10³ клеток на 1 см². После трансплантации ожоговую поверхность покрывали марлевой салфеткой, смоченной физиологическим раствором с гентамицином. Контроль эффективности клеточной терапии осуществляли визуально во время перевязок на 1-е, 3-е, 6-е, 8-е и 10-е сутки.

Наблюдение 1. Больная С., 45 лет, поступила в травматологическое отделение ЦРБ г. Оха Сахалинской области 09.05.2003 г. с диагнозом: «Термический ожог I-IIIАБ ст. шеи, левой половины лица, левой верхней конечности, левой половины грудной клетки, нижней трети левого бедра и обеих голеней общей площадью 40% поверхности тела (IIIБ — 30%). Ожоговый шок II-III ст. Индекс Франка 70 ед.». В приемном покое произведена санация ожоговой поверхности и начаты противошоковые мероприятия. В клинике после выведения из шока проводили комплексное лечение и подготовку ран к трансплантации ФМСК для последующей аутодермопластики. В течение 20 дней лечения традиционными методами у больной появились безбелковые отеки, нарастала дыхательная, сердечно-сосудистая и печеночная недостаточность. В результате проведенной терапии, включавшей неоднократные переливания крови, плазмы и эритроцитарной массы, общее состояние стабилизировалось.

В последующие две недели в условиях операционной больной была произведена поэтапная шестикратная некрэктомия. Однако на отдельных участках из-за плохого кровоснабжения и наличия инфекции вновь происходил некроз тканей. При бактериологическом анализе мазков с поверхности ожоговых ран выделена синегнойная палочка. В связи с этим проводилась обработка детергентами и антисептическими растворами, накладывали мазь «Левомеколь». Несмотря на проводимые мероприятия, грануляционная ткань в ранах туловища оставалась рыхлой, бледной, с обедненным сосудистым рисунком. Местами она выглядела глянцевой, была покрыта фибрином и островками гнойного налета. Раны имели тенденцию к углублению. На ожоговых ранах передней поверхности голеней развились гипергрануляции.

Смена повязок проводилась ежедневно. В результате местного лечения в отдельных участках у краев ран начался слабый рост эпителия. Последняя некрэктомия (в области левой лопатки) была выполнена 07.06.2003 г., и в этот же

день на всю поверхность ожоговых ран была нанесена суспензия ФМСК аллогенного костного мозга. Через трое суток большая часть поверхности ожоговых ран покрылась сочными грануляциями. Визуально выявлялось множество мелких ярко-красных сосудов, и даже при осторожном снятии повязок эти вновь образованные капилляры начинали обильно кровоточить. По истечении 4 суток (11.06.2003 г.) была выполнена первая аутодермопластика с покрытием до 60% раневой поверхности. Кожные лоскуты были взяты с передней и наружной поверхности бедер. На донорские раны и в промежутки между пересаженными лоскутами кожи произведена повторная трансплантация аллогенных ФМСК. Из-за образования пересаженными клетками коллагеновой пленки по всей ожоговой поверхности резко уменьшилась плазморея. Повязки не прилипали к донорским зонам, однако оставались слегка влажными. Для предотвращения отслоения трансплантата при переувлажнении бинтов эти участки периодически осушали струей теплого воздуха. Больная стала отмечать уменьшение болей, снизилась чувствительность ожоговых ран. На донорских участках активизировался неоангиогенез, и на 7-8-е сутки они эпителизовались. Грануляционная ткань на непокрытых участках ожоговых ран оставалась чистой. 25.06.2003 г. выполнена вторая аутодермопластика, причем кожные лоскуты были взяты с участков первого забора. Через 10 дней кожные лоскуты прижились полностью, на 14 сутки произошла почти полная эпителизация донорских ран. 09.07.2003 г., т.е. через 28 дней после первой аутодермопластики больная в удовлетворительном состоянии была выписана на амбулаторное лечение. Длительность пребывания в стационаре — 21 койко-день.

Наблюдение 2. Больной Т., 8 лет, поступил в травматологическое отделение ЦРБ г. Оха 01.06.2003 г. с диагнозом: «Циркулярный термический ожог паром II-III ст. нижней трети правого бедра, подколенной области, голени и передней поверхности левой голени площадью до 10% поверхности тела». В приемном отделении проведены противошоковые мероприятия и санация ожоговой раны. На следующий день повязка обильно пропиталась плазмой, конечности отекали, рана покрылась налетом фибрина. После ежедневной замены повязок на 6-е сутки удалось очистить раны и уменьшить отечность конечностей. Однако плазморея продолжалась. Маленькие островки эпителизации сформировались только по краю ран. 08.06.2003 г. была нанесена суспензия ФМСК. Через 20 мин. раны покрылись блестящей тонкой пленкой. На следующие сутки повязка осталась чистой, плазморея отсутствовала. В последующем раны вели традиционным способом с использованием мази «Левомеколь», перевязки проводились через 2-3 суток. Уже на 3-й день на ожоговой поверхности образовалась сосудистая сеть, а на 8-й день имела место равномерная эпителизация всей раневой поверхности. 16.06.2003 г., на 8-е сутки после трансплантации аллогенных ФМСК, в состоянии полной реабилитации больной был выписан домой.

Таким образом, трансплантация аллогенных ФМСК позволяет нормализовать гомеостаз и ускорить процесс заживления термических ожогов и общий процесс реабилитации ожоговых больных. Ранее проведенное изучение особенностей течения раневого процесса при моделировании ожогов на животных [7-9], а также результаты первых клинических наблюдений позволяют сделать следующие выводы:

1. Пересадка аллогенных ФМСК на ожоговую рану является неинвазивным и безопасным методом лечения термических повреждений кожи IIIA ст.;
2. Пересадка аллогенных ФМСК активирует новообразование сосудов, в результате чего при IIIA ст.

ожогового поражения активизируется эпителизация ран и снижается риск развития рубцовых осложнений;

3. При ШБ ст. ожогового поражения трансплантация аллогенных ФМСК позволяет осуществить ускоренную аутодермопластику с хорошим приживлением костных лоскутов.

Литература

1. Колокольчикова Е.Г., Будкевич Л.И., Бобровникова А.Э. и др. // Бюллетень экспериментальной биологии. — 2001. — №1. — С. 107-111.
2. Расулов М.Ф., Хаджибаев А.М., Уразметова М.Д. // Медицинский журнал Узбекистана. — 2001. — №5-6. — С. 87-88.
3. Саркисов Д.С., Алексеев А.А., Глущенко Е.В. и др. // Вестник Российской академии медицинских наук. — 1996. — №6. — С. 6-11.
4. Туманов В.П., Пальцин А.А., Саркисов Д.С. // Acta Chir. Plast. — 1989. — Vol. 31. — P. 14-20.
5. Туманов В.П., Глущенко Е.В., Морозов С.С., Саркисов Д.С. // Бюл. exper. биол. — 1990. — №4. — С. 400-403.
6. Федоров В.Д., Саркисов Д.С., Алексеев А.А. и др. // Анналы хирургии. — 1996. — №4. — С. 16.
7. Шумаков В.И., Онищенко Н.А., Расулов М.Ф. и др. // Вестн. хирургии им. И.И. Грекова. — 2003. — №4. — С. 38-41.
8. Шумаков В.И., Онищенко Н.А., Расулов М.Ф. и др. // Бюл. exper. биол. — 2003. — №8. — С. 220-223.
9. Шумаков В.И., Расулов М.Ф., Крашенинников М.Е. и др. // Вестн. трансплантологии и искусственных органов. — 2002. — №4. — С. 7-11.
10. Asahara T., Murohara T., Sullivan A. // Science. — 1997. — Vol. 275. — P. 964-967.
11. Dedovic Z., Koupilovia I., Suchanek I. // Ann. Burns and Fire Disasters. — 1998. — Vol. 11, No. 1. — P. 37-40.
12. DeLapp, Dieckman D.K. // J. Invest. Dermat. — 1990. — Vol. 94, No. 6. — P. 817-822.
13. Gruber R., Mayer C., Schults W. et al. // Cytokine. — 2000. — Vol. 12, No. 11, P. 1630-1638.
14. Majumdar M.K., Banks V., Peluso D.P. et al. // J. Cell. Physiol. — 2000. — Vol. 185, No. 1. — P. 98-106.
15. Seshi B., Kumar S., Sellers D. // Blood Cells, Molecules and Diseases. — 2000. — Vol. 26, No. 3. — P. 234-246.

Поступила в редакцию 17.11.03.

BONE MARROW STEM CELL TRANSPLANTATION IN THE THERAPY OF BURN WOUNDS

M.F. Rasulov, A.V. Vasilchenkov, M.E. Krasheninnikov, V.A. Sibirkin, V.I. Kravchenko, T.L. Gorshenin, R.E. Pidtsan, N.A. Onischenko

Research Institute of Transplantology and Bioartificial Organs (Moscow), Okhinsky Central Regional Hospital (Sakhalin Oblast) Summary — The paper describes two clinical cases of transplantation of allogenic fibroblast-like mesenchymal stem cells under third-degree burns. Wound healing features studied by the authors point to a high regeneration rate due to marked angiogenesis. Prior pilot researches and clinical observations point out a high effectiveness of cellular transplantation applied in the course of severe burns treatment.

Pacific Medical Journal, 2004, No. 4, p. 32-33.