

3. Гущин И.С. Экспериментальная модель для разработки и оценки способов контроля немедленной аллергии / И.С. Гущин, А.И. Зебрева, Н.Л. Богуш // Патол. физиол. и эксперимент. Терапия. – 1986; – С.18-23.
4. Жуков Е.К. Очерки по нервно-мышечной физиологии. Л: Наука; – 1969; – 288 с.
5. Наследов Г.А. Тоническая мышечная система позвоночных. Л: Наука; –1981; – 187 с.
6. Dulhunty A.F. Slow potassium contractures in mouse limb muscles. J.Physiol. – 1981. – №314. – P. 91-105.
7. Fahim M.A. Topographic comparison of neuromuscular junctions in mouse slow and fast twitch muscles / M.A. Fahim, J.A. Holley, N. Robbins // Neuroscience. – 1984. Sep; 13(1). – P. 227-35.
8. Florendo J.A. Electrophysiologic differences between mouse extensor digitorum longus and soleus / J.A. Florendo, J.F. Reger, P.K. Law // Exp Neurol. – 1983; №82. – P. 404-12.
9. Lawler J.M. Effect of reactive oxygen species on K⁺- contractures in the rat diaphragm. J. Appl / J.M. Lawler, Z. Hu, W.S. Barnes // Physiol. – 1998. – V.84. – P. 948-953.
10. Lorcovich H Potassium contractures in mouse limb muscles. J. Physiol. – 1983. – 343. – P. 569-576.
11. Teplov A.Y. Ovalbumin-induced sensitization affects non-quantal acetylcholine release from motor nerve terminals and alters contractility of skeletal muscles in mice / A.Y. Teplov, S.N. Grishin, M.A. Mukhamedyarov, A.U. Ziganshin, A.L. Zefirov, A. Palotas // Experimental Physiology. – 2009. – №94. – P. 264-268.

УДК 576.54

А.Н. Маркова, М.В. Попугайло, Н.А. Цап
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ФИБРОБЛАСТОВ В КОМБУСТИОЛОГИИ И
КОСМЕТОЛОГИИ

Кафедра фармакологии и клинической фармакологии
Кафедра патологической физиологии
Уральский государственный медицинский университет
Екатеринбург, Российская Федерация

A.N. Markova, M.V. Popugailo, N.A. Tsap
THE USE OF FIBROBLASTS IN COMBUSTIOLOGY AND
COSMETOLOGY

Department of pharmacology and clinical pharmacology
Department of pathological physiology
Ural state medical university

Ekaterinburg, Russian Federation

Контактный e-mail: pathophis@mail.ru

Аннотация. На основании ретроспективного анализа историй данных двух групп детей, которые подверглись аутоотрансплантации с аллофибробластами и без применения аллофибробластов можно сделать вывод о том, что время заживления ран с применением аллофибробластов сокращается вдвое, и эпителизация ожоговых ран является хорошим косметическим эффектом. Также при применении аллофибробластов происходит снижение смертности и затрат на лечение, что является экономически выгодным для государства.

Annotation. Based on a retrospective analysis of the data histories of the two groups of children who underwent autografting with allofibroblasts and without allopapillary it can be concluded that the healing time of wounds with application allopapillary be cut in half, and the outcome of epithelialization of burn wounds is a good cosmetic effect. Also when applying allopapillary reduced mortality and treatment costs, which is economically beneficial for the state.

Ключевые слова: фибробласты, аутоотрансплантация, трансплантация, выращивание.

Keywords: fibroblasts, autografting, transplantation, cultivation.

В поисках возможностей совершенствования терапии и повышения ее клинической эффективности в комбустиологии, на сегодняшний день на первое место выходят методы трансплантации культивированных аллогенных фибробластов (КАФБ) на ожоговые раны, используемая как самостоятельный метод, так и как способ подготовки ран к аутодермопластике.

Цель исследования – клиническое и экспериментальное обоснование целесообразности трансплантации аллофибробластов для лечения ожогов 3а-4 степени и исследование механизмов их действия, сравнение сроков заживления ран при использовании аутодермопластики в лечении пограничных и глубоких ожогов (3а-4 ст) с КАФБ и аутодермопластики без КАФБ.

Материалы и методы исследования

Ожоги являются одним из самых распространенных травматических поражений кожи: воздействие высокой температуры приводит к местной денатурации белков и, как следствие, к гибели клеток. Продолжительная воспалительная реакция и колонизация раны бактериями препятствуют ее заживлению и могут сопровождаться развитием ожоговой болезни. Кроме того, заживление глубоких ожогов обычно носит длительный характер и сопровождается формированием рубцов.

В связи с успехами в области клеточных технологий и началом их применения в клинической практике получило активное развитие новое направление в медицине – клеточная терапия. Среди наиболее перспективных и

успешных областей использования культивированных клеток можно особо выделить лечение повреждений кожи посредством дермальных фибробластов.

Они играют ключевую роль в формировании грануляционной ткани, являющейся первичным покровным слоем на раневой поверхности. Продуцируемые фибробластами факторы роста стимулируют пролиферацию кератиноцитов, которые, в свою очередь, синтезируют факторы роста, влияющие на активность фибробластов. Таким образом, фибробласты и кератиноциты формируют друг с другом циклические паракринные связи. В экспериментах по совместному культивированию фибробластов и кератиноцитов была подтверждена их способность к взаимной стимуляции роста и деления.

Значительный прогресс в этом направлении был достигнут, когда научились культивировать, то есть поддерживать жизнеспособность фибробластов вне организма (*in vitro*).

Для получения культур фибробластов и кератиноцитов источником клеточного материала являются биоптаты кожи. Образцы кожи разделяют по линии базальной, мембраны. Верхний, эпидермальный слой, является источником кератиноцитов; нижний слой (дерма) используется для выделения фибробластов. В настоящее время разработано большое количество методик получения культур фибробластов и кератиноцитов, однако большая часть этих методик сводится к единому принципу. Кожный материал механически измельчается, после чего подвергается ферментативной обработке трипсином и/или коллагеназой, что приводит к дезинтеграции межклеточных связей. Полученная клеточная масса отмывается от межклеточного матрикса и остатков ферментов, после чего суспендируется в питательной среде. Культивирование клеток обычно осуществляется в виде монослоя в среде Игла с добавлением 5-10% телячьей эмбриональной сыворотки при 37°C в пластиковых культуральных флаконах.

Трансплантация клеточного материала может осуществляться различными способами:

I. Клеточные суспензии. Обычно используются для трансплантации культур аллогенных или аутогенных дермальных фибробластов, фетальных фибробластов, а также аутогенных кератиноцитов. Известны несколько вариантов использования клеточных суспензий: аппликация на раневую поверхность салфеток, пропитанных клеточной суспензией; подкожное введение суспензии аллогенных или аутологичных фибробластов;

II. Использование заменителей кожи, которые состоят из 2 основных элементов: бесклеточного носителя и живых клеток. Дермальный эквивалент состоит из коллагенового геля с заключенными в него дермальными фибробластами, сетчатым эндопротезом (выполняет роль каркаса, предотвращающего контракцию геля) и выращенными на его поверхности эпидермальными кератиноцитами;

III. Покрытие «Фолидерм» состоит из аллофибробластов на подложке.

Его накладывают на ожоговые раны и фиксируют марлевым бинтом до полной эпителизации раны;

IV. КАФБ наносят на раны в соотношении 30- 50 тыс. клеток на 1 см², выдерживая 20 минут для фиксации к подлежащим тканям, затем на рану накладывались сетчатые аутоотрансплантаты перфорированные 1: 2.

Результаты исследования и их обсуждение

Ретроспективному анализу были подвержены данные историй болезней детей различных возрастов (от 1 года до 12 лет), которые находились на лечении в детском ожоговом отделении ГДМБ №9 г. Екатеринбурга в период с 2004 по 2006 года. Клиническая часть основана на анализе результатов обследования и лечения 20 больных. В зависимости от метода местного лечения ран больные были разделены на 2 группы – основную и контрольную. В основную группу вошли 10 больных, которым местное лечение ран проводилось при помощи аутодермопластики с КАФБ. В контрольную 10 больных с аутодермопластикой без КАФБ.

Для трансплантации на раны клетки подготавливали в лаборатории клеточных культур ЕНИИВИ. Применяли аллофибробласты, имеющие полную паспортную характеристику.

Взвесь КАФБ в среде доставлялась из лаборатории в отделение, где проводилась подготовка к трансплантации. КАФБ наносились на раны в соотношении 30-50 тыс. клеток на 1 см², выдерживались 20 минут для фиксации к подлежащим тканям, затем на рану накладывались сетчатые аутоотрансплантаты перфорированные 1: 2. Не допускалось присутствие на ранах струпа, плотно спаянного с подлежащими тканями фибрина, гнойного раневого отделяемого. Аутодермопластика выполнялась на гранулирующих ранах на 17-20 сутки с момента ожога. Данным методом оперировано 8 детей из основной группы. В других случаях КАФБ, культивированные на подложке из пленки "Фолидерм", накладывались на рану после операции некрэктомии с одномоментной аутодермопластикой. Данным методом оперировано 2 детей из основной группы.

В группе сравнения 10 больным лечение ожоговых ран проводили традиционным способом, а оценку результатов лечения проводили на основе ретроспективного анализа историй болезней.

В обеих группах больные были сопоставимы по возрасту, площади и глубине ожогов, сроков полной эпителизации, исходам заживления ран, а также количеству дней, проведенных в больнице.

В результате усовершенствования тактики применения трансплантации аллофибробластов на поверхность ожоговой раны с ожогами Заб-4 ст степени значительно сократились сроки эпителизации раны. В основной группе происходило заживление в среднем на 7-8 сутки (33%). В контрольной группе с традиционными методами местного лечения заживление раны при неосложненном раневом процессе происходило дольше (в среднем на 12-14 сутки – 67%) (рис.1).



Рис.1. Процентное соотношение сроков при аутодермопластике с КАФБ и без КАФБ

Заживление ожоговой раны ожогами Заб-4 ст после трансплантации аллофибробластов происходило с хорошим косметическим эффектом, без образования гипертрофического рубца. В основной группе было полное заживление ран. Лишь в одном случае при использовании аллофибробластов в послеоперационном периоде отмечался частичный лизис аутолоскутов, достигнуто восстановление кожных покровов посредством спонтанной вторичной эпителизации. В контрольной группе часто образовавшийся эпителий был неравномерным по толщине и неоформившимся – 80% случаев заживление раны сопровождалось образованием гипертрофического рубца. Также использование фибробластов значительно сокращает койко дни и сроки заживления ран в среднем на 8 дней. Становится понятным, что сокращение сроков заживления ран влияет на сокращения пребывания пациентов в стационаре, что является экономически выгодным (рис.2).

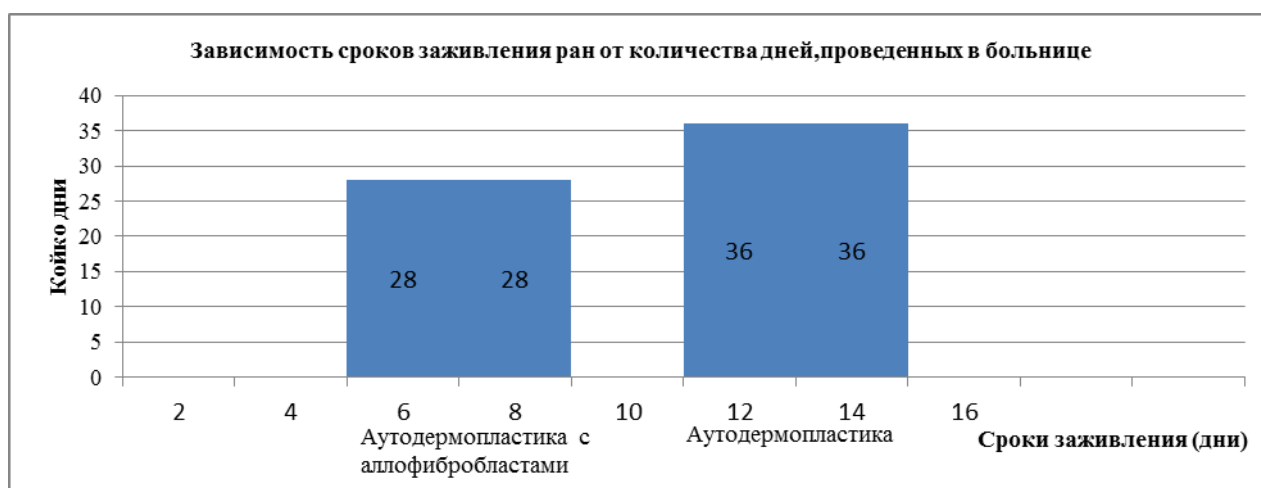


Рис.2. Зависимость сроков заживления ран от количества дней, проведенных в больнице

Выводы:

1. Биологически активные повязки с живыми аллофибробластами оказывают выраженный стимулирующий эффект на заживление ожоговых ран Заб-4 степени;
2. Трансплантация культивированных аллогенных фибробластов

улучшает клинические показатели течения раневого процесса, достоверно сокращая сроки заживления ран по сравнению с традиционными методами лечения в среднем на 7-8 дней, что значительно сокращает сроки лечения, летальность, а также затраты на пострадавших;

3. Для современного уровня оказания помощи тяжелообольных наиболее приемлемым является трансплантация культивированных *in vitro* аллогенных фибробластов.

Литература:

1. Анисимов С.В. Клеточные технологии в разработке заменителей кожи / С.В. Анисимов // Цитология. – 2012. – Т. 54(3). – С. 193-199.

2. Бурунова В.В. Подходы к паспортизации и обеспечение безопасности при работе с клеточными материалами / В.В. Бурунова, Ю.Г. Суздальцева, И.Б. Чеглаков, И.В. Холоденко, Р.В. Холоденко, И.В. Вахрушев, А.В. Воронов, К.Н. Ярыгин // Тезисы доклада на конференции «Стволовые клетки: законодательство, исследования и инновации. Международные перспективы сотрудничества». – 2007.

3. Зорина А. Аутологичные дермальные фибробласты в коррекции возрастных и рубцовых дефектов кожи / А. Зорина, В. Зорин, В. Черкасов // Эстетическая медицина. – 2011. – Т. X (2).

4. Ледовской С.Н. Анализ клинической эффективности применения фетальных и зрелых аллогенных диплоидных фибробластов в лечении пограничных ожогов / С.Н. Ледовской, Ю.Е. Бурда, В.А. Лазаренко // Успехи современного естествознания. – 2008. – №9.

5. Ф.А. Фадеев, А.Г. Сергеев. Клеточные технологии в терапии ожогов кожи // актуальные вопросы современной медицинской науки и здравоохранения: материалы 62-й всероссийской научно-практической конференции молодых учёных и студентов с международным участием (Екатеринбург, 24-26 апреля 2007 г.). – Екатеринбург: изд-во УГМА, 2007. – 296 с.

6. Фёдоров В.Д. Применение культивированных фибробластов при ожогах кожи / В.Д. Фёдоров, Д.С. Саркисов, А.А. Алексеев, В.П. Туманов, Г.Г. Серов // Врач. – 1993. – №11. – С. 26-28.

УДК 61:001.89

С.А. Мартынова, Т.В. Сафина
ВЛИЯНИЕ ЦИРКАДНЫХ БИОРИТМОВ НА УСПЕВАЕМОСТЬ
СТУДЕНТОВ

Кафедра нормальной физиологии
Уральский государственный медицинский университет
Екатеринбург, Российская федерация