

Киямова Марита Ринатовна

лаборант-исследователь

Антонова Елена Ивановна

д-р биол. наук, профессор

Ленгесова Наталья Анатольевна

канд. биол. наук, доцент, старший научный сотрудник

Научно-исследовательский центр фундаментальных
и прикладных проблем биоэкологии и биотехнологии

ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный
педагогический университет им. И.Н. Ульянова»

г. Ульяновск, Ульяновская область

Сихарулидзе Сергей Владимирович

пластический хирург, заведующий отделением

ГУЗ «Ульяновская областная клиническая больница»

г. Ульяновск, Ульяновская область

**СОВРЕМЕННЫЕ АСПЕКТЫ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ КЛЕТОК
В РАМКАХ РЕГЕНЕРАТИВНОЙ МЕДИЦИНЫ И ЗАКОНОДАТЕЛЬНАЯ
БАЗА, РЕГЛАМЕНТИРУЮЩАЯ ПРИМЕНЕНИЕ КЛЕТОЧНОГО
ПРОДУКТА (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)**

Аннотация: в статье приводится обзор литературы по развитию направления регенеративной медицины с использованием клеточных технологий (клеточные линии фибробластов) и законодательной базы, регламентирующей применение клеточного продукта в качестве терапии повреждений кожного покрова различной этиологии.

Ключевые слова: клеточные технологии, клеточный продукт, фибробласты, ожоги, трофические язвы.

Регенеративная биомедицина является областью, потенциал развития которой обеспечит решение ряда актуальных проблем медицины [1]. При исполь-

зовании стандартных методов лечения критические и сверхкритические ожоги, трофические язвы различной этиологии и др. долго не заживают при наличии структурных и функциональных нарушений кожного покрова организма. Клеточные продукты, являющиеся аналогами кожной ткани, приготовленные на основе культивируемых клеток, выделенных из здоровых тканей пациента или донора и трансплантированных на рану, способствуют регенерации поврежденного или утраченного кожного покрова, являются дополнительным источником для реализации механизмов репаративной регенерации, источником синтезируемых ими биологически активных веществ, стимулирующих регенеративный потенциал не поврежденных структур кожного покрова [3; 5]. По оценкам экспертов, в течение ближайших 30 лет с применением клеточного продукта предполагается решение таких проблем как лечение инсулин-зависимого диабета, нейродегенеративных заболеваний, появление принципиально новых подходов к лечению инфаркта миокарда, восстановлению функций печени, лечению мышечных дистрофий и других заболеваний.

Использование в области регенеративной медицины клеточного продукта, в качестве терапии регламентируется рядом законодательных документов среди которых: Федеральный закон РФ от 22.12.1992 г. №4180-1 (ред. 08.12.2020) «О трансплантации органов и тканей человека»; Методические Указания 4.1/4.2.588.96 от 31.10.1996 г. «Методы контроля медицинских иммунобиологических препаратов, вводимых людям»; «Временная инструкция о порядке исследования в области клеточных технологий и их использования в учреждениях здравоохранения» от 18.04.2002 г.; Приказ №325 МЗ РФ «О развитии клеточных технологий в Российской Федерации» от 25.07.2003 г.; Федеральный закон №323 «Об охране здоровья граждан в Российской Федерации» от 21.11.2011 г.; Федеральный закон №180 от 23.06.2016 г. «О биомедицинских клеточных продуктах» и др. [10–15]. Клеточные продукты (кровь донора, клеточные линии фибробластов) обследуются на наличие провирусной ДНК и вирусной РНК ВИЧ-1 и ВИЧ-2; РНК вируса гепатита С; ДНК вируса гепатита В; ДНК вирусов

простого герпеса 1 и 2-го типов; ДНК вируса Эпштейна – Барр; ДНК папилломавирусов 6-го и 11-го типов; ДНК микоплазмы; ДНК токсоплазмы методами твердофазного ИФА и ПЦР в соответствии с вышеперечисленными документами [2].

Кожа – полифункциональный, пограничный, много тканевый сложный орган, оказывает влияние на функционирование всех внутренних органов и систем, является мощным биологическим барьером и фактором взаимосвязи между наружной и внутренней средой организма. Быстрой регенерации кожи способствует наличие многочисленных нервных окончаний, кровеносных и лимфатических сосудов [4]. Одним из основных типов секреторных клеток кожи, играющих важную роль в процессах эпителизации и заживлении ран, являются фибробласты, участвующие в стимуляции роста кератиноцитов и сосудов и обеспечивающие более быстрое закрытие тканевого дефекта, формировании внеклеточного матрикса, репарации повреждений кожи [1; 7]. Кроме того, эти клетки способны продуцировать и выделять в межклеточное пространство цитокины и факторы роста, оказывающие аутокринный и паракринный эффекты.

Секреция ряда ростовых факторов таких как рост соединительной ткани, стимулирующий трансформирующий ростовой фактор TGF-бета, обеспечивает необходимый аутокринный эффект. Кроме того, TGF-бета стимулирует хемотаксис фибробластов и выработку ими коллагена и фибронектина [3]. Синтез коллагена и пролиферацию фибробластов стимулирует рост соединительной ткани.

Паракринный эффект обеспечивается секрецией фактора роста кератиноцитов (KGF), эпидермального фактора роста (EGF), фактора роста колоний гранулоцитов-макрофагов, интерлейкина (IL)-6, фактора роста фибробластов (FGF)-10.

Паракринная активность выражается путем секреции семейства факторов роста эндотелия сосудов (VEGF), что способствует стимуляции образования кровеносных и лимфатических сосудов. Воздействие ростового фактора TGF-

бетта-1 оказывает воздействие на ангиогенез посредством стимуляции синтеза VEGF-B, -C, -D. Рост и миграция эндотелиоцитов ускоряется за счет основного фактора роста фибробластов bFGF, предположительно это связано с его способностью контролировать синтез компонентов межклеточного матрикса, которые воздействуют на экспрессию генов.

Заживление ран кожного покрова включает в себя несколько фаз, среди которых можно выделить: воспаление, грануляция, эпителизация и, в случае неполной эпителизации, образование рубца. Каскад реакций взаимодействия кератиноцитов с фибробластами начинается с первой фазы, в результате чего происходит пролиферация клеток края раны или вблизи него, пролиферация новообразованного эпителия и миграция клеток по раневому ложу перпендикулярно ему. В итоге, формируется эпителий с характерными признаками, свойственными нормальному эпителию данного участка кожи.

Для второй фазы заживления раны характерна не только пролиферация клеток, но и коллагеногенез. В этом процессе ведущая роль принадлежит фибробластам. Механические воздействия и активность TGF-бетта способствуют дифференцировке фибробластов в миофибробласты (начиная с фазы грануляции) в результате крупных повреждений ткани. Миофибробласты характеризуются измененным синтезом фибронектина и гликозаминогликанов, повышенным синтезом TGF-бетта 1, TGF-бетта 2, коллагена I типа и рецептора IGF-II/манноза 6-фосфата [5].

Применение фибробластов для лечения ожогов. Ожоговый травматизм представляет собой серьезную медицинскую и социальную проблему. Ежегодно в Российской Федерации регистрируют более 600 тыс. случаев ожогов, общая летальность от которых колеблется от 2 до 4%. При этом число пострадавших в промышленных странах постоянно растет в связи с увеличением числа техногенных катастроф, террористических актов и стихийных бедствий [5]. Первый опыт по применению лечения ран с помощью культивированных аллогенных фибробластов был зарегистрирован в 1993 году в Институте хирургии

им. А.В. Вишневого РАМН [6]. Ряд перевязочных средств, разработанных в настоящее время, снижает риск инфекционного контаминирования, потерю тургора и белка. Перевязочные средства представляют собой: биологические повязки (аллогенная консервированная кожа, в том числе и кадаверная), синтетические покрытия и препараты на основе коллагена. Использование биологических повязок возможно в случае пограничных ожогов, однако при ожогах большей степени тяжести требуется пересадка кожи.

Стимуляция пролиферации аллогенных фибробластов и миграция кератиноцитов способствует трансформации фибробластов [6].

Лечение ожогов, как правило, проводят в две стадии, при этом кожная матрица с искусственным эпидермисом создает условия для аутогенной васкуляризации и миграции фибробластов реципиента в искусственный кожный каркас. Клеточный продукт имеет ряд неоспоримых преимуществ: клетки, находясь в активном функциональном состоянии, имитируют ткани организма, а коллагеновая матрица выполняет функцию внеклеточного матрикса до ее замещения тканями реципиента [7].

Использование фибробластов для лечения длительно незаживающих ран (трофических, диабетических, лучевых). Хронические плохо заживающие раны возникают под действием нарушений эластичности сосудов, вредных воздействий окружающей среды, аномальных физиологических условий (пролежни). При механических воздействиях с нарушением микроциркуляции крови и лимфы в сосудах результатом является деструкция ткани. В работах, проведенных по оценке действия культивированных аллогенных фибробластов в сочетании с матриксом из коллагена или гиалуроновой кислоты для лечения длительно незаживающих ран у 13 пациентов, заживление ран наблюдалось в 92% случаев после повторного применения клеток [2]. При сравнении клинического эффекта традиционного лечения заживление наблюдалось в 67% случаев, тогда как при использовании клеточных технологий – в 99% случаев.

Применение фибробластов в косметологии. SPRS-терапия (Service for Personal Regeneration of Skin – персонифицированный комплекс лечебно-диагностических процедур для восстановления кожи) позволяет восполнить уменьшающуюся с возрастом популяцию дермальных фибробластов (аутофибробластов) за счёт введенных в кожу молодых и функционально активных клеток пациента. Терапия обладает длительным клиническим эффектом, не вызывая аллергических реакций и отторжения компонентов [5]. Явным преимуществом данного метода является простота использования, минимальная травмированность ткани, быстрый визуальный результат и безопасность применения аутогенного клеточного материала. Выраженный клинический эффект применения суспензии аутофибробластов выявил положительную динамику через месяц у 57%, а через 6 месяцев – у 82% пациентов [9].

Список литературы

1. Блинова М.И. Роль фибробластов в регенерации кожной ткани при заживлении ран / М.И. Блинова, М.Г. Хотин, Н.А. Михайлова // Гены и клетки. – 2017. – Т. XII, вып. №3.
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 др.]. – М., 2007.
3. Винник Ю.С. Клеточные технологии и тканевая инженерия в лечении длительно не заживающих ран / Ю.С. Винник, А.Б. Салмина, А.И. Дробушевская [и др.] // Вестник экспериментальной и клинической хирургии. – 2011. – Т. IV, вып. №2.
4. Гаврилюк Б.К. Культура клеток и реконструкция тканей (на примере кожи) / Б.К. Гаврилюк. – Пущино, 1988.
5. Дермальные фибробласты для лечения дефектов кожи / В.Л. Зорин, А.И. Зорина, О.С. Петракова, В.Р. Черкасов // Гены & Клетки. – 2009. – Т. №4.

6. Культуры клеток в заместительной терапии / Е.М. Петрчук, Н.В. Шалунова, Ю.В. Олефир [и др.] // Биопрепараты. Профилактика, диагностика, лечение. – 2017. – Т. №4.
7. Саркисов Д.С. Опыт применения культуры фибробластов при лечении обожженных / Д.С. Саркисов, Е.В. Глущенко, В.П. Туманов и др. // Военно-медицинский журнал. – 1991.
8. Черкасова Е.И. Работы с культурами клеток / Е.И. Черкасова, А.А. Брилкина. – Н. Новгород, 2015.
9. Родионов А.Н. Клиническая дерматология / А.Н. Родионов, Д.В. Заславский, А.А. Сыдилов. – М.: Издательская группа «Гэотар-Медиа», 2019.
10. Федеральный закон «О биомедицинских клеточных продуктах» от 23 июня 2016 г. №180-ФЗ (с изменениями и дополнениями от 3 августа 2018 г., 27 декабря 2019 г.).
11. Закон РФ от 22.12.1992 №4180-1 (ред. от 08.12.2020) «О трансплантации органов и (или) тканей человека».
12. Методические указания МУК 4.1/4.2.588-96 «Методы контроля медицинских иммунобиологических препаратов, вводимых людям» (утв. заместителем Главного государственного санитарного врача РФ 31 октября 1996 г.).
13. Приказ Минздрава РФ от 25.07.2003 №325 «О развитии клеточных технологий в Российской Федерации».
14. Федеральный закон от 21.11.2011 №323-ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации».
15. Федеральный закон от 23.06.2016 №180-ФЗ «О биомедицинских клеточных продуктах».