

## КЛЕТОЧНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В ВОЕННОЙ МЕДИЦИНЕ

ПРЕДСЕДАТЕЛЬ ВНК ГЛАВНОГО  
ВОЕННО-МЕДИЦИНСКОГО  
УПРАВЛЕНИЯ  
МИНОБОРОНЫ РОССИИ  
ДОКТОР МЕДИЦИНСКИХ  
НАУК, ПРОФЕССОР,  
ПОЛКОВНИК МЕДИЦИНСКОЙ  
СЛУЖБЫ

Валерий Владимирович  
Бояринцев



В настоящее время развитие клеточных и тканеинженерных технологий позволяет на качественно новом уровне оказывать медицинскую помощь раненым и пораженным в мирное и военное время. В военно-медицинской службе функционирует ряд подразделений, деятельность которых связана с исследованиями в области клеточных технологий. Так, в Главном военно-клиническом госпитале им. Н.Н. Бурденко, в Государственном научно-исследовательском испытательном институте военной медицины Министерства обороны Российской Федерации существуют лаборатории клеточной пролиферации и банка клеток, в Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова в г. Санкт-Петербурге создана лаборатория клеточных и генных технологий.

Исследования в области использования клеточных технологий охватывают различные направления профилактики, лечения и реабилитации военнослужащих.

Одной из важных проблем, в решении которой необходимо применение клеточных и нанотехнологий, является лечение ранений (повреждений) роговицы глаза у военнослужащих.

В связи с проведением боевых действий, несением воинской службы, использованием современной техники и вооружений повышается опасность повреждений органов зрения. Наиболее распространены механические повреждения и ожоги роговицы, которые могут привести к потере зрительных функций, а при неблагопри-

ятном течении даже к потере органа зрения. Ожоги глаз составляют 38,4% случаев всех травм и более 40% пострадавших становятся инвалидами. Учитывая особые свойства роговой оболочки глаза, медикаментозное лечение ее заболеваний малоэффективно и не всегда приводит к положительным результатам. В связи с этим основным методом, восстанавливающим функциональные свойства роговицы, остается оперативный – различные виды кератопластики с использованием донорской (аллогенной) роговицы.

Наиболее предпочтительным является использование свежей донорской роговицы. Длительное время трансплантация роговицы оставалась эксклюзивным, носящим эпизодический характер вмешательством, осуществляемым сразу же после изъятия аллотрансплантата у донора. Однако этого было явно недостаточно в связи с большим количеством больных, ожидавших кератопластику. Кроме того, опасность переноса бактериальной и вирусной инфекции, рост инфицирования доноров ВИЧ-инфекцией и гепатитом В и С обусловили необходимость в хранении трансплантатов с целью их тестирования. Офтальмологи остро нуждались в более доступном доноре, разработке различных методов консервации роговицы и в создании запаса роговичного материала. Решить данную проблему позволяет создание специализированных структур по хранению роговицы – глазных банков – медицинских учреждений, занимающихся поиском, забором, хранением и выдачей высококачественных тканей для трансплантации. Ограничения на законодательном уровне возможностей забора трансплантационного материала (включая ткани и органы), отсутствие действующей национальной системы консервации и хранения роговичных и других глазных трансплантатов, а также небывалый рост инфицирования доноров ВИЧ-инфекцией и гепатитом В и С резко ограничили возможности использования кератопластик, даже в urgentных случаях. Проблема отсутствия качественного пластического материала в мирное время в случаях массового поступления пострадавших при ка-

1



ЩЕЛОЧНОЙ ОЖОГ РОГОВИЦЫ  
ТЯЖЕЛОЙ СТЕПЕНИ



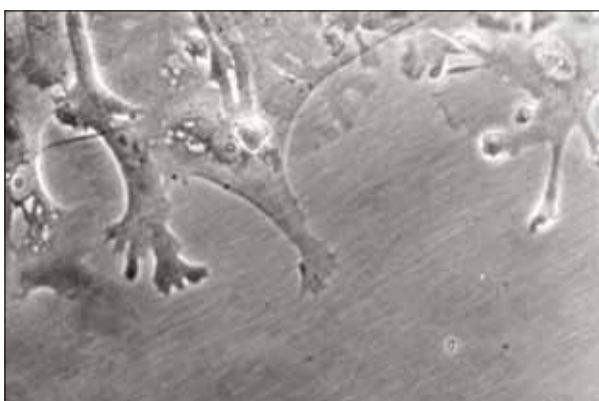
ОБРАЗОВАНИЕ ГРУБОГО РУБЦА  
С ПОМУТНЕНИЕМ ПРИ ЛЕЧЕНИИ БЕЗ  
ПРИМЕНЕНИЯ БИОИНЖЕНЕРНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ



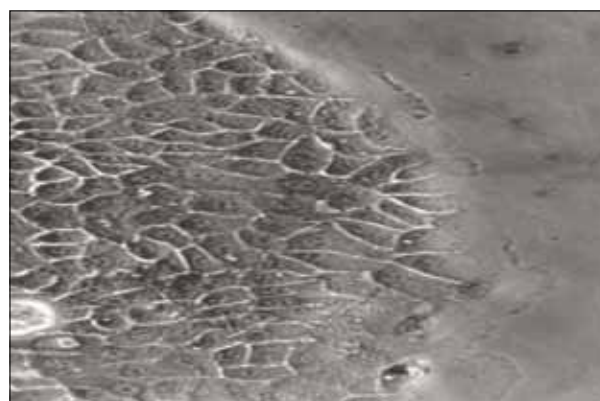
РЕЗУЛЬТАТ ПРИМЕНЕНИЯ  
БИОИНЖЕНЕРНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ.  
СЛАБО ВАСКУЛЯРИЗИРОВАННОЕ БЕЛЬМО

РЕЗУЛЬТАТЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ДОНОРСКОЙ РОГОВИЦЫ

2



ПЕРВИЧНАЯ КУЛЬТУРА КЛЕТОК ЛИМБАЛЬНОЙ ЧАСТИ РОГОВИЦЫ  
(8-Е СУТКИ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ). УВ. 10 X 40



ПЕРВИЧНАЯ КУЛЬТУРА КЛЕТОК ЛИМБАЛЬНОЙ ЧАСТИ РОГОВИЦЫ  
К 20-М СУТКАМ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ. УВ. 20 X 10

тастрофах и боевых действиях может оказаться непреодолимым препятствием для эффективного лечения пациентов с травматическими и ожоговыми дефектами оболочек глаза.

Традиционно исследования в области передовых медицинских технологий в развитых странах связаны с военной медициной. Так, в США для целей реконструктивной и пластической хирургии в 1950 году был организован Военно-морской банк органов и тканей. В 1979 году при Национальном институте стандартов и технологии США создан National Biomonitoring Specimen Bank, в котором накапливаются все образцы тканей, клеток, органов человека и млекопитающих. Банки клеток и тканей концентрируют усилия на разработке высших критериев качества заготавливаемого материала (контроль за отсутствием вирусного и бактериального загрязнения, иммунологическая характеристика материала, цитология, генетическая маркировка).

В рамках выполняемых в Министерстве обороны РФ научно-исследовательских работ проведены исследования по созданию технологии хранения и трансплантации жизнеспособной роговицы человека для лечения военнослужащих.

Проведенные исследования позволили разработать оптимальную методику хранения, трансплантации и технику фиксации трансплантируемой роговицы. Ре-

зультаты доклинического экспериментального исследования подтверждают положительное воздействие трансплантации длительно хранившейся криоконсервированной роговицы на проявления ожоговой болезни. Обращает внимание значительное ускорение регенерации эпителия, стромы (сокращение сроков заживления эпителиальных и стромальных дефектов роговицы), что значительно снижает частоту случаев перфорации роговицы, уменьшает интенсивность и площадь бельма, васкуляризацию. Степень интенсивности и размеров помутнения после трансплантации криоконсервированной роговицы значительно снижена. Особенно демонстративна роль трансплантации в предупреждении развития изъязвления и перфорации роговицы (рис. 1).

Другим альтернативным направлением в лечении ожоговой травмы роговицы, разрабатываемым в рамках научно-исследовательских работ в Министерстве обороны Российской Федерации, является метод трансплантации аллогенных культивированных клеток (рис. 2).

Основываясь на данных об успешном применении трансплантации культивированных аллогенных фибробластов и эпидермальных кератиноцитов в разных областях медицины и учитывая особенности строения, репаративных и обменных процессов рого-



3



ВНЕШНИЙ ВИД ТРАНСПЛАНТАТА.  
КОЛЛАГЕНОВЫЙ ГЕЛЬ, ЗАСЕЛЕННЫЙ  
ФИБРОБЛАСТАМИ ЧЕЛОВЕКА

4



РЕЗУЛЬТАТЫ ПРАКТИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ ТРАНСПЛАНТАЦИИ

5



ПЕРЕД ПЛАСТИКОЙ КРИОКОНСЕРВИРОВАННЫХ ЖИЗНЕСПОСОБНЫХ АЛЛОДЕРМОТРАНСПЛАНТАТОВ



НА 10-Е СУТКИ ПОСЛЕ ПЛАСТИКИ



НА 28-Е СУТКИ ПОСЛЕ ПЛАСТИКИ. НАСТУПИЛО ПОЛНОЕ ЗАКРЫТИЕ РАНЕВОГО ДЕФЕКТА

КЛИНИЧЕСКИЙ ПРИМЕР ИСПОЛЬЗОВАНИЯ АЛЛОДЕРМОТРАНСПЛАНТАЦИИ ПРИ ЛЕЧЕНИИ ДЛИТЕЛЬНО НЕЗАЖИВАЮЩЕЙ РАНЫ КУЛЬТЫ БОЛЬНОЙ Ш., СОСТОЯНИЕ РАНЫ

вицы и глазного яблока в целом, исследована возможность применения выращенных в культуре аллогенных фибробластов, включенных в трехмерный коллагеновый гель, представляющий собой стромальный эквивалент, и культивированных аллогенных или ксеногенных эпителиальных клеток (рис. 3).

В результате выполненных исследований выяснено, что трансплантация аллогенных культивированных клеток при ожоговых поражениях оказывает стимулирующее воздействие на регенераторно-репаративные процессы в роговице. Проведенные исследования продемонстрировали целесообразность применения тканевых эквивалентов, в частности стромального эквивалента и эпидермиса, для лечения повреждений роговицы (рис. 4).

Другой важной проблемой, требующей использования клеточных технологий в военной медицине, безусловно является улучшение эффективности лечения ран.

Боевые действия сопровождаются появлением большого количества раненых и пострадавших. Выражение Н.И. Пирогова: «Война – это травматическая эпидемия» не потеряло актуальности и в настоящее время. После начала боевых действий и в последующем неизбежно возрастает количество раненых с длительно незаживающими ранами и трофическими язвами. В ходе военных конфликтов увеличивается количество пострадавших от термических поражений. Довольно значи-

тельная их часть становится инвалидами в связи с длительными сроками эпителизации ран.

Не менее актуальна проблема лечения больных с обширными и длительно незаживающими ранами и в мирное время, в том числе в Вооруженных Силах РФ. Число больных, имеющих осложненное течение раневого процесса, непрерывно растет. Данное обстоятельство связано с рядом биологических (увеличение числа больных с иммунной недостаточностью, антибиотикорезистентность микроорганизмов и т.п.) и социальных причин (увеличение числа пожилых больных, изменение режима питания и т.п.), и это также определяет актуальность проблемы лечения ран.

Подбор наиболее подходящего перевязочного средства для раны является одной из важных составляющих комплексного лечения. В настоящее время нет биологического материала, который мог бы выполнять все функции человеческой кожи. При этом использование собственной кожи для закрытия раневого дефекта в некоторых случаях может быть ограничено. С целью временного протезирования функций кожи предложены разнообразные раневые покрытия (повязки). До сих пор не существует искусственного раневого покрытия, которое по своим характеристикам соответствовало бы всем требованиям, предъявляемым к идеальному раневому покрытию. Таким образом, альтернатив использованию аллогенной кожи для закрытия ран в настоящее время нет.



В рамках Министерства обороны Российской Федерации с целью разработки новых методик восстановления целостности кожных покровов при глубоких ожогах разработана методика трансплантации культивированных клеток *in vitro*. Данный метод заключается в том, что на подготовленную раневую поверхность переносят выращенный в культуре пласт дермального эквивалента (эпидермальные кератиноциты, фибробласты). Однако практика показала, что применение аутологичных клеточных колоний для лечения имеет ряд недостатков, главным из которых является длительное культивирование, что неприемлемо при лечении больных в критических состояниях. В связи с этим для лечения ожоговых ран стали применять выращенные аллогенные кератиноциты и аллогенные фибробласты. Эти методы применяются для лечения ожогов, в особенности обширных, что позволило снизить летальность, уменьшить сроки лечения больных с дефицитом ауто-трансплантационных донорских зон.

Перспективно при лечении обширных ожогов применять трансплантацию аллогенной кожи. Аллогенная кожа стимулирует рост грануляций, предупреждает образование избыточных грануляций, по этой причине после отторжения аллодермотрансплантата пластика аутокожей оказывается более удачной. Считается, что эта стимуляция обусловлена действием физиологически активных веществ (цитокины, в том числе интерлейкины, трансформирующий фактор  $\alpha$  и  $\delta$ , факторы роста фибробластов), выделяемых клетками кожи. После трансплантации аллогенного эпидермиса происходит модификация раневой поверхности, обеспечивающая условия миграции и пролиферации собственных эпителиальных клеток. Такая модификация происходит за счет синтеза белков внеклеточного матрикса, прежде всего базальной мембраны (рис. 5).

Использование аллогенной кожи ограничивается, с одной стороны, сроками ее хранения, а с другой – необходимостью обследования донора на предмет инфекционной безопасности. По этой причине использование жизнеспособной кожи возможно либо при наличии метода длительного хранения аллодермотрансплантата, либо в сроки, исключающие полноценное обследование донора и забранного материала. Поэтому был выполнен ряд работ, посвященных разработке способа забора, сохранения жизнеспособных запасов донорской кожи и ее тестирования (на предмет биоло-

гической безопасности), в результате которых разработаны технологии производства эпидермальных факторов роста и стимулирующих раневых покрытий с их включением; создан криоконсервант, обеспечивающий долговременное хранение жизнеспособной кожи человека; разработаны требования к биологической безопасности производства и использования тканевых трансплантатов человека в условиях банка кожных клеточных трансплантатов. На базе станции переливания крови Главного военно-клинического госпиталя им. Н.Н. Бурденко оборудованы помещения для банка кожи согласно стандартам GMP.

Еще одной проблемой, безусловно актуальной для военно-полевой хирургии, является улучшение процессов репарации при огнестрельных переломах костей конечностей, а также остеоинтеграции при лечении последствий переломов и травм.

В последние годы происходит интенсивное развитие тканевой инженерии в ортопедии. Разрабатываются методики забора и трансплантации ткань-формирующих клеток, экспандируемые каркасы из биоактивных матриксных материалов, локальные и системные способы доставки факторов роста и пептидных гормонов и другие методы, которые могут химически или биофизически поддерживать благоприятную среду для формирования новой ткани. Эти методики подчеркивают современную тенденцию перехода от исторически сформированного тканевого подхода с использованием биоинертных или биосовместимых материалов к микрооригенированной концепции, которая фокусируется на клетках и биоактивных материалах и факторах. Это становится возможным благодаря расширяющимся знаниям о функции клеток и роли материалов, имплантатов и биофизических факторов модуляции клеток.

В настоящее время ведутся работы по исследованию возможности применения клеточных технологий с целью повышения стабильности имплантатов в травматологии и ортопедии.

Таким образом, в военной медицине рассматриваются следующие основные направления применения клеточных технологий. Это использование стволовых клеток, тканевых эквивалентов и тканеинженерных конструкций. Для успешного функционирования данного направления необходимо создание банков клеток и тканей, позволяющих заготавливать, хранить и применять биоинженерные конструкции.

СТАТЬЯ ПОДГОТОВЛЕНА ПРИ УЧАСТИИ  
ЗАМЕСТИТЕЛЯ НАЧАЛЬНИКА ВОЕННО-НАУЧНОГО ОТДЕЛА  
ВОЕННО-НАУЧНОГО КОМИТЕТА ГЛАВНОГО ВОЕННО-МЕДИЦИНСКОГО  
УПРАВЛЕНИЯ МИНИСТЕРСТВА ОБОРОНЫ РФ  
КАНДИДАТА МЕДИЦИНСКИХ НАУК,  
КАПИТАНА МЕДИЦИНСКОЙ СЛУЖБЫ  
А.С. Самойлова