

КЛЕТОЧНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ ТРОФИЧЕСКИХ ЯЗВ ПРИ ТЯЖЕЛОЙ ХРОНИЧЕСКОЙ ВЕНОЗНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

Кафедра хирургии с курсом эндоскопии ИПО Башкирского государственного медицинского
университета, г. Уфа, ул. Ленина, 3;
больница скорой медицинской помощи,
г. Уфа, ул. Бакалинская, 39/2. E-mail: rashitova@inbox.ru

Авторами представлен опыт комплексного лечения 55 больных с трофическими язвами нижних конечностей при декомпенсированной стадии варикозной болезни. Ими у 33 больных применены имплантации клеточных культур — фетальных аллофибробластов, при выполнении некрэктомии использовали радиочастотный скальпель. Внедрение в комплекс лечения радиочастотной некрэктомии и имплантации фетальных аллофибробластов позволило авторам сократить сроки заживления трофических язв и подготовить больных к радикальной операции, что доказывается сравнением с контрольной группой, состоявшей из 22 больных, которым данные технологии не применялись, и результаты лечения оказались менее эффективными. Выполненное исследование позволило заключить, что использование клеточных технологий при комплексном лечении венозных трофических язв возможно, эффективно и требует дальнейших научных изысканий с перспективой на широкое применение.

Ключевые слова: трофическая язва нижних конечностей, радиочастотная некрэктомия, аллофибробласты.

A. D. RASHITOVA, R. R. FAYAZOV, G. S. MUHAMEDYANOV, K. S. CHISTOSTUPOV

STEM CELL TECHNOLOGY IN THE COMPLEX TREATMENT OF TROPHIC ULCERS IN SEVERE CHRONIC VENOUS INSUFFICIENCY

Department of Surgery and Endoscopy, Bashkir State Medical University, Ufa,
Hospital of Emergency Medicine, Ufa. E-mail: rashitova@inbox.ru

The authors present their experience of the complex treatment of *trophic ulcers* of the lower extremities associated with *chronic* venous insufficiency (stage III b) due to *varicose vein* disease in 55 patients. They have applied **stem cell** implantations (fetal allogenic fibroblasts), and radiofrequency scalpel when conducting necrectomy in 33 patients. The implementation of radiofrequency necrectomy and fetal allogenic fibroblasts allowed the authors to reduce the healing time in the treatment of trophic ulcers and prepare the patients for radical surgery. When comparing the patients to the control subjects, consisting of 22 patients who have not applied these technologies, the authors found out that the results of the treatment proved less effective. The present study led to the conclusion that stem cell therapy as part of the complex treatment of venous trophic ulcers are possible and effective. Stem cell technology requires further research with the prospect for widespread use.

Key word: trophic ulcer of the lower extremities, radiofrequency necrectomy, *allogenic fibroblasts*.

Введение

Несостоятельностью перфорантных вен голени и наличием низкого горизонтального рефлюкса обусловлено развитие таких тяжелых проявлений хронической венозной недостаточности (ХВН), как трофические нарушения кожи и подкожной клетчатки, развитие трофических язв. В основе лечебной тактики при тяжелой ХВН одно из главных мест отводится адекватной коррекции патологического венозного рефлюкса. Вместе с тем наличие отека и трофических нарушений существенно ограничивает возможности хирургического лечения, затрудняет выполнение стандартных оперативных вмешательств и резко повышает риск осложнений. Трофическая язва становится противопоказанием к радикальной операции, которая могла бы избавить больного от развившегося осложнения ХВН. Поэтому лечение больных с тяжелыми трофическими расстройствами кожи и подкожной клетчатки редко бывает одномоментным, занимает продолжительный период времени и требует пожизненного соблюдения определенных ограничений и проведения консерва-

тивной терапии. Любые попытки ограничить лечение однократным, даже комбинированным, воздействием неизбежно сопровождаются немалой долей рецидивов трофических язв, сохранением склеротических и атрофических изменений тканей. Возможности консервативного лечения тяжелой ХВН, несмотря на длинный список обсуждаемых методов, весьма ограничены: постоянная компрессия, фармакотерапия, физиотерапия, мазевые повязки являются методами, препятствующими прогрессированию заболевания и его осложнений [1, 2, 9, 14, 15].

Таким образом, необходимость определения возможности и эффективности методов очищения и заживления трофических язв с использованием достижений технической и биомедицинской науки диктуется актуальностью существующей проблемы — отсутствием существенного прогресса в лечении больных с трофическими язвами нижних конечностей при ХВН. Предложенные методы хирургического и комплексного лечения трофических язв нижних конечностей в ряде случаев являются весьма эффективными, но в целом

проблема все еще не решена [1, 2, 8, 9, 14, 15]. Поэтому использование современных направлений, таких как клеточные технологии и радиочастотная хирургия, в решении данной проблемы можно считать своевременным и оправданным процессом.

Клеточная терапия в комплексном лечении трофических язв нижних конечностей при ХВН является новым направлением в медицине и считается весьма перспективной [3, 4, 5, 6, 10, 13]. Известно, что фибробласты могут продуцировать коллагены 1-го и 2-го типов и компоненты внеклеточного матрикса: ламинин, нидоген, тинасцин, хондроитин-4-сульфат, протеогликан, фибронектин. В заживлении раны участвуют не только клеточные элементы соединительной ткани, но и многочисленные факторы иммунной системы, в том числе цитокины, продуцируемые различными клетками: эндоцелиоцитами, кератиноцитами, фибробластами, макрофагами, нейтрофилами, лимфоцитами, тромбоцитами, стромальными и другими клетками. Культивированные аллофибробласты постоянно выделяют основной фактор роста (b FGF), формируют экстрацеллюлярный матрикс, фибронектин и другие вещества, которые способствуют активации процессов ангиогенеза [4, 5, 6, 10, 13]. Изученные свойства фибробластов позволяют использовать их при лечении больных с трофическими нарушениями при ХВН.

В последние годы в медицинской литературе появилось много сообщений об успешном применении электрохирургических технологий в хирургической практике [7, 9, 11, 12]. Наиболее широко применяется радиохирургия, которая стала универсальной технологией для врачей в дерматологической, хирургической и гинекологической практике и представляет собой эффективный метод лечения многих образований, использование которого значительно сокращает время операции [11, 12]. В научной литературе публикаций, посвященных применению радиоволн в хирургическом лечении больных с трофическими язвами нижних конечностей при ХВН, практически нет, поэтому данный вопрос нуждается в изучении и научной интерпретации.

Целью настоящего исследования явилась оценка эффективности комбинированного метода лечения трофических нарушений при декомпенсированных стадиях варикозной болезни нижних конечностей, включающего проведение стандартной консервативной терапии, клеточной терапии с использованием фетальных аллофибробластов, при необходимости некрэктомии радиочастотным скальпелем, что, в свою очередь, явилось бы у ряда больных подготовкой к радикальному оперативному вмешательству.

Материалы и методы

Клинический материал составили 55 больных с тяжелыми венозными трофическими язвами нижних конечностей, которым проводилось комплексное лечение в отделениях общей хирургии клиники БГМУ, городских клинических больниц № 8, № 21 и № 22. Возраст больных колебался от 42 до 74 лет, средний возраст больных составил $57,5 \pm 11,1$ года. Старше 60 лет было 28 (50,9%) больных, которые составили гериатрическую группу. Мужчин было 18 (32,7%), женщин — 37 (67,3%), пролечено 65 нижних конечностей. Средняя давность заболевания составила $5,6 \pm 3,1$ г. Распределение по клиническим классам CEAP: C4 — 20 (36,4%) больных, C5 — 22 (40,0%), C6 — 13 (23,6%). Причинами отказов от радикального оперативного лечения в условиях от-

деления сосудистой хирургии были наличие хронической трофической язвы с явлениями присоединившейся инфекции (24 случая), тяжелая сопутствующая патология (28 больных) и отказ (3 случая) больных от операции. У 48 (87,3%) больных имелись выписные эпикризы из сосудистого отделения, где они прошли курс обследования. В 7 (12,7%) случаях больные поступили первично, обследование выполнено в условиях отделений общей хирургии с консультацией ангиохирурга.

Трофические язвы во всех случаях располагались в нижней трети голени, размеры варьировали от 2,0 до 8,5 см, площадь язв составляла от 5 до 60 см², также имелись признаки инфицирования и хронизации процесса. В основной группе у 10 (18,2%) больных венозные трофические язвы имелись на обеих нижних конечностях.

Для сравнения результатов лечения клинический материал был разделен на 2 группы. Основную группу составили 33 (60,0%) больных, которым в комплексном лечении использовались клеточные культуры (аллофибробласты) и радиохирургическая некрэктомия. Контрольную группу составили 22 (40,0%) больных, которым проводилось традиционное стандартное лечение.

В диагностике использовали клинические, лабораторные, бактериологические и инструментальные методы исследования. Рутинным скрининг-тестом являлись ультразвуковая доплерография и ультразвуковое дуплексное ангиосканирование, которые позволяли определить наличие и характер венозной патологии, состояние клапанного аппарата поверхностных, глубоких и перфорантных вен, оценить состояние магистральных артерий и параметры кровотока. Для определения резистентности к антибактериальной терапии проводились посевы отделяемого язвенного дефекта. Размеры трофической язвы измерялись при поступлении, в дальнейшем измерение проводилось во время перевязок, и производился математический подсчет скорости и размеров заживления.

Комплексная терапия включала лечение сопутствующих заболеваний, общеукрепляющее, иммуномодулирующее лечение, назначение флеботропных и улучшающих микроциркуляцию препаратов, антибиотиков, круглосуточной (1-я неделя) и в последующем дневной компрессии, местно — мажевые повязки, физиотерапию, имплантацию фетальных фибробластов, при необходимости некрэктомии радиочастотным скальпелем.

При наличии некротических тканей в трофической язве, что наблюдалось у 16 больных основной группы, производили некрэктомию с использованием радиохирургического аппарата «Surgitron» (США) в режиме резания и коагуляции. Достоинством техники радиохирургии являются такие особенности, как быстрота лечения, практически бескровное операционное поле, минимальная послеоперационная боль и ускоренное заживление. Практически всегда достаточна местная анестезия 2%-ным раствором новокаина. Поскольку частота очень высокая (3,8 МГц), ток, производимый прибором, проходит через тело, не вызывая болезненных сокращений мышц или стимуляции нервных окончаний. Радиохирургический разрез производится без давления на ткань, легким движением, сводя к минимуму повреждение ткани, при этом отсутствует ожог тканей. Иссечение некротических тканей выполнялось однократно перед процедурой имплантации клеточных культур.

С целью ускорения заживления трофической язвы у всех больных основной клинической группы использо-

вали клеточный материал — фетальные фибробласты, культивированные в условиях Проблемной научно-исследовательской лаборатории трансплантологии Башкирского государственного медицинского университета. Клеточный материал для культивирования получали из небольших биоптатов кожи плодов человека 18—22 недель гестации. После фрагментации и ферментативной обработки дермы 0,25%-ным трипсином в течение 15 минут получали первичную культуру фибробластов. Первичную культуру под микробиологическим и морфологическим контролем пассировали. В качестве культуральной среды использовали среду Игла в модификации Дюльбеко или среду Игла с двойным набором аминокислот с добавлением антибиотиков, 2% глутамина и 5% телячьей эмбриональной сыворотки. Культивирование проводили в условиях абсолютной влажности, при температуре 37° С, 5—6% CO₂. Для трансплантации использовали культуры 4—17 пассажей.

До имплантации клеточных культур язва тщательно обрабатывалась детергентными и антисептическими растворами, при необходимости под местной анестезией выполнялась некрэктомия радиочастотным скальпелем. Аллофибробласты пересаживали двояко: вначале интродермально (от 1—7 млн. клеток, в зависимости от поверхности трофической язвы), отступая от края раны на 0,5 см, при помощи тонкой иглы, соблюдая все положения асептики и антисептики, затем поверхность язвы орошалась взвесью из клеточной культуры (от 1 до 3 млн. клеток) и закрывалась пленчатым перфорированным (сетчатым) препаратом «Ихтиопласт», изготовленным на основе коллагена в условиях НИИ «Иммунопрепарат-Биомед» (г. Уфа). Данный препарат служит основой (подложкой) для удержания клеточных культур в язвенном дефекте. Контроль за восстановлением целостности кожного покрова осуществляли во время перевязок.

С целью объективной оценки применяемого комплекса лечения применяли метод лазерной доплеровской флоуметрии. Метод основан на зондировании изучаемой ткани лазерным излучением с длиной волны 0,63 и 1,15 мкм и расчетом доплеровского смещения от подвижных элементов крови. Для этого использовали аппарат ЛАКК-02 производства НПП «Лазма» (г. Москва). Исследовали исходное состояние микроциркуляции вокруг язвы до и после введения аллофибробластов.

Результаты и их обсуждение

Полученные результаты комплексного лечения больных с трофическими язвами при декомпенсированных стадиях варикозной болезни нижних конечностей с использованием имплантации аллофибробластов и радиохирургической некрэктомии сравнивали с данными, полученными при традиционном стандартном способе лечения.

При некрэктомии трофических язв радиочастотным скальпелем краевая эпителизация, единичные грануляции наблюдались уже на 2-е сутки. При применении клеточных культур из-за пленчатого препарата «Ихтиопласт» и образования аллофибробластами пленки на поверхности язвы резко уменьшилась плазморея. Повязки не прилипали к области язвенного дефекта, однако становились слегка влажными. На следующий день после трансплантации пленка значительно утолщалась. На 2—3-е сутки отмечалось бурное разрастание сосудистой сети. Наблюдались краевое подсыха-

ние, активная краевая эпителизация. По поверхности язвенного дефекта появлялись участки ярко-красной окраски. При небольших размерах язвы образовывался струп над всей площадью язвенной поверхности, что происходило на 4—10-е сутки после трансплантации клеточных культур. Если площадь язвы превышала 5 см², струп не покрывал всю поверхность, однако наблюдалась активная краевая эпителизация, появлялись участки разрастающегося эпидермиса. Над язвенным покрытием с фибробластами постоянно наблюдалось формирование (уже с 3-х суток после пересадки) толстой (1—2 мм) фибриновой пленки. Хорошая эпителизация выявлена на 7-е сутки после трансплантации культивированных клеток. Больные, которым производилась имплантация аллофибробластов, чувствовали себя значительно лучше, чем пациенты, у которых раневую поверхность лечили традиционными методами. Образованная аллофибробластами пленка в последующем частично рассасывалась или легко отделялась от тканей. Применение аллогенных фибробластов позволяло значительно сократить расход медикаментов, число перевязок и оперативных вмешательств. Следует отметить, что при трофических язвах повышенная потеря белковых компонентов крови, жидкости, боль и длительный спазм капилляров приводят к внутрисосудистой агрегации эритроцитов. Образующаяся после трансплантации фибробластов пленка способствует значительному уменьшению потери плазмы, снижению повышенной чувствительности кожи к воздействию воздуха, снижает опасность развития нозокомальной инфекции. При пересадке в кожу пациента культура клеток локально заселяет дерму и синтезирует компоненты внеклеточного матрикса и факторы роста, необходимые для поддержания всех слоев кожи пациента в лучшем состоянии. Это находит подтверждение в исследованиях, свидетельствующих о том, что трансплантированные фибробласты, стимулированные цитокинами, отвечают активным синтезом коллагена и неколлагеновых белков [6, 10, 13].

Метод флоуметрии показал уменьшение венозного застоя и улучшение показателей микроциркуляции, что явилось дополнительным подтверждением эффективности клеточной терапии.

Использование разработанных методов лечения привело к снижению сроков заживления язв и пребывания больных в стационаре. Средняя скорость заживления трофических язв составила в основной группе 2,5±0,21 кв. см/сут., в контрольной — 1,8±0,31 кв. см/сут. без достоверных значимых различий и возрастных групп. Средний срок полного заживления трофических язв в основной группе составил 26±8,6 дней, в контрольной — 37±9,5 дней.

Все больные основной группы выписаны из стационара с заживлением язвенного дефекта. Средняя продолжительность их пребывания в стационаре составила 28±7,2 койко/дня. В контрольной группе сроки заживления язвы составили 38±8,4 койко/дня, а в 11 (50,0%) случаях заживление не было полным, выписаны на амбулаторное долечивание. Из 27 (81,8%) больных основной группы, направленных на оперативное лечение в отделение сосудистой хирургии, успешно оперированы 15 (45,4%), им выполнено радикальное оперативное вмешательство, 12 (36,4%) больным в оперативном лечении отказано из-за наличия тяжелой сопутствующей соматической патологии. Из числа неоперированных больных у 6 (18,2%)

из основной группы и у 12 (54,5%) из контрольной группы в течение года наступил рецидив венозной трофической язвы.

Положительный клинический эффект применения фетальных аллофибробластов указывает на сохранение восстановительного потенциала аутофибробластов, что позволяет использовать их для лечения трофических язв нижних конечностей при ХВН.

Выводы

1. При декомпенсированных стадиях варикозной болезни нижних конечностей развивается порочный круг: трофические нарушения в виде язвенных поврежденных голени являются противопоказанием к радикальным оперативным вмешательствам из-за опасности развития гнойно-септических осложнений, и только излечение этих патологических состояний позволит выполнить радикальную операцию, что, в свою очередь, избавит больного от осложнений декомпенсированной хронической венозной недостаточности.

2. Применяемое в настоящее время комплексное консервативное лечение в большинстве случаев не приводит к полному заживлению язвы, что не позволяет подготовить больного к радикальной операции.

3. В лечении венозной трофической язвы в половине случаев возникает необходимость выполнения некрэктомии. Иссечение некротических тканей традиционным скальпелем или же электроножом приводит к усугублению трофических расстройств. Использование мини-инвазивного радиочастотного скальпеля для некрэктомии позволяет иссечь некротические ткани в более щадящем режиме и не усугубляет трофические нарушения кожи и подкожной клетчатки.

4. Использование имплантации фетальных аллофибробластов в комплексном лечении трофических язв является возможным эффективным методом и позволяет сократить сроки заживления язвы, сроки пребывания больных на стационарном лечении и подготовить больного к радикальному оперативному вмешательству.

Поступила 04.09.2008

ЛИТЕРАТУРА

1. Бауэрзакс Ж., Флеминг И., Буссе Р. Патофизиология хронической венозной недостаточности // Флебологическая. 1998. № 7. С. 1—7.
2. Бородин И. А., Лебедев Н. Н., Шихметов А. Н., Фидаров Э. Э. и др. Хирургическая коррекция декомпенсированных стадий при варикозной болезни вен нижних конечностей в амбулаторных условиях // Амбулаторная хирургия. 2008. № 1 (29). С. 17—19.

3. Волков А. В. Тканевая инженерия: новые перспективы развития медицины // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. 2005. № 1. С. 57—66.
4. Глущенко Е. В., Заец Т. Л., Серов Г. Г. Выбор оптимальных сроков трансплантации культивированных фибробластов на ожоговую рану // Пластическая хирургия при ожогах и ранах: Материалы международного симпозиума. М., 1994. С. 21—22.
5. Келлер Г., Себастьян Дж., Лакомбе Ю., Тофт К., Ласк Г., Ревазова Е. Сохранность инъецируемых аутологичных человеческих фибробластов // Бюл. экп. биол. мед., 2000, № 130 (8). С. 203—206.
6. Колсанов А. В., Иванова В. Д., Волова Л. Т. Культуры фибробластов в местном лечении трофических язв и ожогов // Материалы Всероссийской конференции с международным участием «Инновационные технологии в трансплантации органов, тканей, клеток». Самара, 2008. С. 187—189.
7. Кутявин Л. И., Баранова Т. С., Белов А. В., Лекомцев Б. А. Применение гелий-неонового лазера в комплексном лечении гнойных ран // Применение низкочастотных лазеров в экспериментальной и клинической медицине: Тезисы, доклады научно-практической конференции. М., 1994. С. 65—66.
8. Орловский П. И., Гриценко В. В., Мельцова А. Ж., Балакова С. П. Трофические язвы нижних конечностей. СПб: изд-во СПб-ГМУ, 2004. 77 с.
9. Соколов А. Л., Лядов К. В., Луценко М. М., Лавренко С. В. Лазерная коагуляция перфорантных вен — новая стационарная мешающая технология в лечении больных варикозной болезнью // Амбулаторная хирургия. 2008. № 1 (29). С. 408.
10. Терехов С. М. Усовершенствованный метод клонирования диплоидных фибробластов человека // Цитология, 1981, № 23 (6). С. 717—718.
11. Тиммербулатов В. М., Плечев В. В., Хасанов А. Г., Фаязов Р. Р. и др. Современные методы рассечения и коагуляции тканей в хирургии органов брюшной полости. М.: «МЕДпресс-информ». 2007. 174 с.
12. Углов Ф. Г., Гриценко В. В. Применение прибора «Сургитрон» в общехирургической практике // Передовые медицинские технологии. Применение радиоволновой хирургии в стационаре и амбулатории: Матер. науч.-практич. конф. М., 1996. С. 116—117.
13. Федоров В. Д., Саркисов Д. С., Алексеев А. А., Туманов В. П. и др. Пластическое восстановление кожных покровов с использованием культивированных фибробластов // Анналы хирургии. 1996. № 4. С. 16—19.
14. Morison M., Moffatt Ch. A Color Guide to the Assessment and Management of Leg Ulcers (second edition). Mosby, 1995. 130 p.
15. Weiss R., Feided Q., Weiss M. Vein Diagnosis and Treatment (a comprehensive approach). McGraw-Hill Medical Publishing Division, 2001. 304 p.