

## ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ДЕРМАЛЬНЫХ ЭКВИВАЛЕНТОВ В КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

Храмова Н.В., Чарышникова О.С., Амануллаев Р.А., Хусанова Ю.Б.

### АННОТАЦИЯ

В статье представлены современные направления биотехнологий и перспективы клеточной терапии. Представлены основные методы получения дермальных эквивалентов для оптимизации регенерации поверхностных и глубоких дефектов кожи, мягких тканей. При анализе имеющихся литературных данных было определено, что на сегодняшний день нет «идеального» дермального эквивалента. Однако огромный коммерческий интерес к биоинженерным конструкциям и большие инвестиции в подобные проекты поможет получить в ближайшее время оптимальные эквиваленты кожи.

*Ключевые слова:* регенерация, фибробласты, эквиваленты кожи.

## POSSIBILITIES OF USING DERMAL EQUIVALENTS IN CLINICAL PRACTICE

Khramova N.V., Chayshnikova O.S., Amanullaev R.A., Khusanova Yu.B.

### ABSTRACT

The article presents the current trends in biotechnology and the prospects for cell therapy. The main methods for obtaining dermal equivalents to optimize the regeneration of superficial and deep skin and soft tissue defects are presented. When analyzing the available literature data, it was determined that today there is no “perfect” dermal equivalent. However, huge commercial interest in bioengineering designs and large investments in such projects will help to obtain optimal skin equivalents in the near future.

*Key words:* regeneration, fibroblasts, skin equivalents.

**Актуальность.** В последнее время, достаточно успешно развивается регенеративная медицина, которая решает вопрос восстановления утраченных тканей с помощью клеточной терапии (Mahjour SB, Fu X, Yang X, et al., Lloyd C, Besse J, Boyce S.Lloyd C, Besse J, Boyce S.,2015). В Концепции развития здравоохранения в Республике Узбекистан на 2020-2025 гг., одним из приоритетных направлений является развитие регенеративной медицины, основанной на клеточных технологиях. В Узбекистане, на данный момент имеется большое количество пациентов с дефектами и деформациями челюстно-лицевой области по причине транспортного и бытового травматизма (Бобамуратова Д.Т., Боймурадов Ш.А., Юсупов Ш.Ш.,2017). Часто это приводит, к появлению дефектов и деформаций челюстно-лицевой области, которые влекут за собой психологические и социальные проблемы у пациентов (Боймурадов Ш.А., Юсупов Ш.Ш., Шухратова М.Ш.,2019). Гнойно-воспалительные процессы челюстно-лицевой области и шеи также могут привести к появлению дефектов «минус ткань». Достаточно распространенным методом лечения считается сочетанное применение дермальных фибробластов и компонентов межклеточного матрикса. Именно дермальные фибробласты человека обеспечивают долгосрочный эффект данной группы препаратов (Мелешина А.В., Быстрова А.С., Роговая О.С., 2017). Пересадка культивированных аутологичных фибробластов дает возможность получить трансплантат, при этом травматичность для тканей донора минимальна. В мире имеется ряд производителей, выпускающих раневые покрытия на основе фибробластов промышленным путем, например, «TransCyte», «Dermagraft» (Sánchez-Muñoz I, Granados R, Holguín Holgado P, et al.,2015). Объем продаж раневых клеточных покрытий составляет около 1 млрд. долларов. Актуальна проблема выбора подложки клеток, так как на сегодняшний день нет идеально подобранной структуры носителя (подложки) для клеток, научные изыскания в этом направлении являются обоснованными [7]. Подбор «идеального носителя», который будет поддерживать рост, самообновление и направленную дифференциацию фибробластов для получения раневого покрытия позволит в дальнейшем получить конкурентоспособный клеточный продукт для реализации. Тканеинженерные конструкции на основе фибробластов и резорбируемых и нерезорбируемых носителях для оптимизации регенерации поверхностных и глубоких дефектов лица, является актуальным, и поможет получить значительные медицинские и социально-экономические результаты, что на существующем этапе развития здравоохранения, в частности челюстно-лицевой хирургии, в Республике Узбекистан является приоритетным. (Развитие регенеративной медицины, в том числе основанной на клеточных технологиях, согласно разделу III.4.9 «Концепции развития системы здравоохранения Республики Узбекистан на 2019-2025 годы», №УП-5590 07.12.2018).

**Клеточные технологии в медицинской практике.** На сегодняшний день имеется огромное количество препаратов, применяемых в клинической практике, на основе клеточных технологий. Целью таких препаратов прежде всего является то есть регенерация ткани, что предполагает создание новой ткани [12,13,17]. Для этой цели существует три способа: стимулирование собственных возможностей организма для восстановления функции поврежденных органов и тканей; выращивание ткани человека *in vitro* с последующей ее помещением в организм; имплантация стволовых клеток с факторами роста [1,3,14]. Тип

стволовых клеток определяет характер и механизм регенерации [5].

В научных исследованиях, посвященных заживлению ран в качестве клеточного компонента для ТИК используют кератиноциты, фибробласты. Также для восстановления кожи часто используют коллаген вследствие высокого содержания его в внеклеточном матриксе кожи [2,3, 5,7,10].

Разработки тканеинженерных конструкций применяют и в дерматологии, например для лечения больных с псориазом была разработана 3D-модель эквивалента кожи человека на основе фибринового геля. В данной модели ТИК идет совместное культивирование клеток кожи - кератиноцитов и фибробластов, лимфоидных клеток - лимфоцитов периферической крови и дендритных клеток, индуцированных из моноцитов периферической крови [8,19].

Имеется два способа получения тканеинженерных конструкций. Первый метод подразумевает использование - биореактора, который обеспечивает для дифференцировку и пролиферацию клеток с получением тканевых структур. Второе направление в качестве механизма используется организм реципиента [7,15,20].

Клеточный ферментер (биореактор) имеет резервуар с мешалкой, используется для культивирования клеток или клеток, нанесенных на микроносители. Этапы получения тканеинженерных конструкций включают в себя: отбор и культивирование клеток, подбор носителя(матрикса) [7,16,18]. После нанесения культуры клеток на матрикс, происходит размножение клеток в биореакторе, где созданы условия для их культивирования. Далее тканеинженерную конструкцию помещают в место дефекта, по возможности с хорошим кровоснабжением [7]. В регенеративной медицине наиболее часто применяют желатин, хитозан, фиброин, альгинаты, коллаген [6,11].

Матрикс должен рассасываться, быть удобен в использовании, обладать низкой антигенностью, не вызывать воспалительных реакций и не выделять при разрушении токсических продуктов. Полимеры молочной и гликолевой кислот, применяемые для создания матриксов, среди синтетических материалов, во многом соответствует вышеуказанным свойствам [9,11]. Полученные пленки из фиброина и хитозан являются отличными носителями для фибробластов, обеспечивают их адгезию и пролиферацию, при этом наблюдается секреция коллагена I типа и экспрессия -актина, что характерно для дермы кожи [6,11].

Имеющихся данных достаточно для обоснования целесообразности продолжения экспериментальных работ в области создания тканеинженерных конструкций. Однако имеются проблемы, такие как малое финансирование, дороговизна оборудования, имеются этические и законодательные аспекты, требующие решения.

**Применение тканеинженерных конструкций при повреждениях кожи различного генеза.** На сегодняшний день существуют два вида биотехнологических раневых покрытий это бесклеточные состоят из биологически активных макромолекул и клеточные- живые клетки различных видов (кератиноциты, фибробласты) [7,12].

Также различают «культивируемые заместители кожи», в них используются аллогенные фибробласты («Фибродермис», «Фибропор»). Они сочетают в себе качества обеих групп. Процесс получения такого типа заместителей кожи сложен. Он состоит из получения и культивирования клеток, разработки банка клеточных культур с внедрением

системы контроля качества [2]. Различают кожные эквиваленты (заменители) эпидермальные, дермальные и дермоэпидермальные [10]. Все они сравниваются с «золотым стандартом» -это аллогенная кожа человека. Она бывает получена от трупа или живого донора. Если трупная, то сроки должны быть не более 6 часов после биологической смерти. Однако аллогенная кожа вызывает сенсibilизацию организма и может дать аллергическую реакцию. Кроме того, во многих странах мира имеются законодательные ограничения использования аллокожи. В таких случаях хорошей альтернативой является ксенокожа (торговые названия - (Ксидерм, Ксенодерм, Свидерм, Аллоаск Д, и т.п.), чаще всего донором выступает свиная кожа. Срок хранения составляет до 3 лет. Несмотря на низкую себестоимость изготовления ксенокожи, у некоторых пациентов может наблюдаться выраженная аллергическая реакция [10].

Применение культивируемых фибробластов для медицинской практики обусловлены ограниченной продолжительностью их жизни и отсутствием онкогенного потенциала. Аллогенные фибробласты способствуют благоприятному заживлению ран, они вырабатывают основной фактор роста (FGF), фибронектин и другие вещества, которые стимулируют ангиогенез (Ross, 1968, Coulomb et al, 1989) [3,4,9].

**Заключение.** Обобщая вышесказанное, можно сделать вывод, что на сегодняшний день не существует идеального дермального эквивалента. Однако огромный коммерческий интерес к биоинженерным конструкциям и большие инвестиции в подобные проекты поможет получить в ближайшее время оптимальные эквиваленты кожи.

## Литература/References

1. Агапова, О. И. Сравнительный анализ трехмерной наноструктуры пористых биодegradируемых матриц из рекомбинантного спидроина и фиброина шелка для регенеративной медицины / О. И. Агапова, А. Е. Ефимов, М. М. Мойсенович и др. // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2015. – Том XVII № 2. – С. 37–44.
2. Агапова, О. И. Биоинженерные конструкции на основе фиброина шелка и спидроина для регенеративной медицины и тканевой инженерии (обзор) / О. И. Агапова // СТМ. – 2017. – Том 9, №2. – С. 190–206.
3. Зорина А.И., Бозо И.Я., Зорин В.Л., Черкасов В.Р., Деев Р.В. Фибробласты дермы: особенности цитогенеза, цитофизиологии и возможности клинического применения Клеточная трансплантология и тканевая инженерия Том VI, № 2, 2011 С.15-26
4. Макеев О.Г., Улыбин А.И., Зубанов П.С. и др. Использование аутологичных дермальных фибробластов для коррекции дефектов кожи. Вест. Эстет. Мед. 2008; 7(2): 72–8.
5. Роговая О. С. Реконструкция эпителиальных дефектов уретры и трахеи кролика с помощью живого эквивалента кожи. Автореф. дис. . канд. биол. наук.-Москва.-2013.- 19 с.
6. Сафонова Л.А., Боброва М.М., Агапова О.И., Архипова А.Ю., Гончаренко А.В., Агапов И.И. Пленки на основе фиброина шелка для заживления полнослойной раны кожи у крыс. Вестник трансплантологии и искусственных органов / Том: 18, № 3, 2016 С. 74-84.
7. Севастьянов В.И. Технологии тканевой инженерии и регенеративной медицины //Регенеративная медицина и клеточные технологии–2014.- том XVI, № 3.-С 93-108
8. Сысоева В.Ю., Рубина К.А., Калинина Н.И. и др. Аутологичные фибробласты дермы: перспективы применения в медицине. В кн.: Ткачук В.А., редактор. Аутологичные

- стволовые клетки: экспериментальные исследования и перспективы клинического применения. Руководство для врачей. Москва: Литтерра; 2009. с. 222–33.
9. Туманов В.П. Исследование эффективности использования культивированных аутофибробластов в системе anti-age. *Нов. Клин. Цит. России.* 2008; 3: 4.
  10. Храмова Н.В., Холматова М.А., Мунгиев М.З. К вопросу использования раневых покрытий и клеточных технологий для оптимизации регенерации кожи. *«Stomatologia»,* Ташкент, №4, (73), 2018 год, С.57-59, DOI: 10.26739/2091-5845-2018-1-29.
  11. Asti A., Gioglio L. Natural and synthetic biodegradable polymers: different scaffolds for cell expansion and tissue formation // *Int J Artif Organs.* –2014. – Vol. 37, N 3. – С. 187-205
  12. [Isabel Sánchez-Muñoz](#), [Rosario Granados](#), [Purificación Holguín Holgado](#), [José Antonio García-Vela](#), [Celia Casares](#), [Miguel Casares](#). The use of adipose mesenchymal stem cells and human umbilical vascular endothelial cells on a fibrin matrix for endothelialized skin substitute. 2015 Jan;21(1-2):214-23.
  13. Liu H., Xia X., Li B. Mesenchymal stem cell aging: Mechanisms and influences on skeletal and nonskeletal tissues // *Exp Biol Med (Maywood).* –2015. – Vol. 240, N 8. – С. 1099-1106.
  14. Luangbudnark W, Viyoch J, Laupattarakasem W, Surakunprapha P, Laupattarakasem P. Properties and Biocompatibility of Chitosan and Silk Fibroin Blend Films for Application in Skin Tissue Engineering. *The Sci World J.* 2012; 2012: 1–10
  15. MacNeil S. Progress and opportunities for tissue-engineered skin. *Nature* 2007; 445(7130): 874–880, <https://doi.org/10.1038/nature05664>.
  16. McAllister T.N., Maruszewski M., Garrido S.A. et al. Effectiveness of haemodialysis access with an autologous tissue-engineered vascular graft: a multicentre cohort study. *Lancet* 2009; 373: 1440–6
  17. Nuti N., Corallo C., Chan B.M., Ferrari M., Gerami-Naini B. Multipotent Differentiation of Human Dental Pulp Stem Cells: a Literature Review // *Stem Cell Rev.* – 2016. – Vol. 12, N 5. – С. 511-523.
  18. Sailaja G.S., Ramesh P., Vellappally S., Anil S., Varma H.K. Biomimetic approaches with smart interfaces for bone regeneration // *J Biomed Sci.* –2016. – Vol. 23, N 1. – С. 77.
  19. Zhen Y., Xu K., Chen X.S. et al. Embolization of aneurysm by chitosan-glycerophosphate-fibroblast tissue hydrogel, a tissue engineering material: experiment with rabbits. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi.* 2009; 89(11): 727–31.
  20. Zhong S.P., Zhang Y.Z., Lim C.T. Tissue scaffolds for skin wound healing and dermal reconstruction. *Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol* 2010; 2(5): 510–525, <https://doi.org/10.1002/wnan.100>