

ПРИМЕНЕНИЕ КОЛЛАГЕНА И ФИБРОБЛАСТОВ В СОВРЕМЕННОЙ МЕДИЦИНЕ

G'afurov Behzod Tohirovich

*Ассистент кафедры общей хирургия № 2
Ташкентский Государственный Медицинский Университет*

Аннотация: Работа посвящена обзору возможностей применения коллагена и материалов на основе коллагена в медицине и фармацевтической промышленности. Несмотря на появление различных лекарственных средств и методик, проблема эффективного воздействия на локальные проявления раневого процесса на современном этапе развития медицины остаётся нерешённой.

Среди множества типов клеток, способных оказывать клинический эффект, особый интерес представляют дермальные фибробласты, являющиеся гетерогенной популяцией мезенхимальных клеток и играющие ключевую роль в регуляции клеточных взаимодействий и поддержании гомеостаза кожи.

В настоящее время существует более 60 современных клеточных и тканевых препаратов для лечения ран, что существенно затрудняет выбор оптимальной, безопасной и эффективной адъювантной терапии. В работе представлен обзор мировой литературы, посвящённой роли коллагена в процессе заживления ран.

Рассматриваются проблемы эпидемиологии хронических ран и язв различного происхождения, а также физиология и патофизиология фаз раневого процесса. Обсуждается патогенетическая роль различных типов коллагенов, а также механизмы функционирования коллагена, макрофагов, фибробластов, матриксных металлопротеиназ и других цитокинов в процессе заживления язвенных дефектов.

Ключевые слова: коллаген, «Коллост», биоматериал, аллогенные фибробласты, фибробласты человека как заменитель кожи, репарация повреждённых тканей, хронические раны.

ВВЕДЕНИЕ

Коллаген — это фибриллярный белок, который образует основу соединительной ткани организма и обеспечивает её прочность и эластичность. Соединительная ткань содержит от 1 до 9 % коллагена. Коллаген относится к классу белков, называемых склеропротеинами. Особенностью белков данного класса является их филогенетическое родство у различных видов животных и у человека.

Термин «коллаген» обозначает как отдельные мономерные белковые молекулы, так и агрегаты этих молекул, формирующие фибриллярные

структуры во внеклеточном матриксе соединительной ткани (рис. 1). В молекуле коллагена каждая третья аминокислота представлена глицином. Для коллагена также характерно наличие аминокислот, не встречающихся в других белках, таких как гидроксипролин и оксипролин, содержание которых составляет около 23 % от общего аминокислотного состава молекулы коллагена [1].

В фармацевтической и медицинской промышленности коллаген нашёл широкое применение. На его основе разработаны различные лекарственные формы (мягкие и жидкие), специальные пластыри и губки (гемостатическая коллагеновая губка, коллагеновая губка с метилурацилом, коллагеновая губка с сангвиритрином и др.), а также разнообразные средства для быстрого остановки кровотечений (средства местного гемостаза) и медицинские изделия для лечения ран, ожогов, трофических язв, пролежней и других дефектов мягких тканей различного происхождения [2].

Сложная трёхспиральная молекула коллагена организована таким образом, что свободные боковые цепи глицина каждой полипептидной цепи располагаются внутри общей спирали, а пролин, гидроксипролин и боковые группы других аминокислот выступают наружу (рис. 2).

Уникальные физико-химические, физико-механические и биологические свойства коллагена позволяют широко использовать его в качестве вспомогательного вещества при производстве пролонгированных лекарственных форм, в качестве гемостатического средства и матрикса для направленной регенерации тканей в виде мембран, губок и покрытий, а также как компонент сложных комбинированных лекарственных систем, включающих коллагеновую депо-матрицу, лекарственное вещество (или их комбинацию) и модулятор высвобождения. Кроме того, сам коллаген, благодаря своей «типичной» специфичности как макромолекулярного соединения, обладает высоким потенциалом для фармацевтической разработки [2, 3].

К настоящему времени учёными идентифицировано более 40 генов, которые в совокупности кодируют 28 типов коллагена. Они обозначаются римскими цифрами от I до XXVIII. Такое выраженное разнообразие типов коллагена необходимо для обеспечения различных физиологических функций в разных тканях и органах организма [9].

Биоматериал «Коллост» имплантировали, начиная со второй фазы раневого процесса. «Коллост» представляет собой биопластический материал на основе нативного нереконструированного бычьего коллагена с полностью сохранённой структурой. Для закрытия плоскостных ран и язвенных дефектов биоматериал «Коллост» применяли в виде мембран.

Мембрану предварительно замачивали в тёплом (38 °C) стерильном физиологическом растворе в течение 15 минут, после чего накладывали на рану, обработанную ультразвуком. При локализации раневого дефекта на подошвенной поверхности мембрану фиксировали 3–4 лигатурами Tisorb 00.

После завершения манипуляции накладывали гелевую повязку (Hydrosorb, Gelepran) [4].

«Коллост» — стерильный биопластический коллагеновый материал с полностью сохранённой волокнистой структурой, обеспечивающей регенерацию тканей. Механизм действия «Коллоста» обусловлен тем, что его основой является коллаген I типа, который выполняет роль внеклеточного матрикса и обеспечивает направленный контакт между эпителиальными клетками и фибробластами, создавая оптимальные условия для их миграции и ориентации, а также связывания клеток с формированием новой ткани.

Применение ультразвуковой кавитации в сочетании с биопластическим материалом «Коллост» ускоряет процессы очищения ран от девитализированных тканей и микробной контаминации, а также предотвращает развитие вторичной инфекции. Использование ультразвука и биопластического материала «Коллост» значительно улучшает цитологическую картину ран, что способствует ускорению репаративных процессов и сроков эпителизации [5].

Фибробласты являются одними из основных секреторных клеток организма, участвующих в формировании внеклеточного матрикса, репарации кожных повреждений, а также стимуляции роста кератиноцитов и кровеносных сосудов. В зависимости от локализации в тканях и выполняемых функций фибробласты способны продуцировать проколлаген, фибронектин, гликозаминогликаны, проэластин, нидоген, ламинин, хондроитин-4-сульфат, тенасцин [6].

Трансплантация культивированных аллогенных фибробластов улучшает клинические показатели течения раневого процесса, достоверно сокращая сроки заживления ран в среднем на 7–8 дней по сравнению с традиционными методами лечения, что существенно снижает продолжительность терапии, летальность и экономические затраты. На современном этапе оказания помощи тяжёлым больным наиболее приемлемым методом является трансплантация аллогенных фибробластов, культивированных *in vitro*.

Дермальные фибробласты представляют собой гетерогенную популяцию мезенхимальных клеток и играют ключевую роль в регуляции межклеточных взаимодействий и поддержании гомеостаза кожи [7, 10]. Соединительнотканый каркас сердца, лёгких, желудочно-кишечного тракта, мышц и других органов содержит фибробласты, выполняющие специализированные функции. Показаны различия в экспрессии генов между фибробластами дермы и её производных; фибробласты, полученные из различных анатомических зон, обладают тканеспецифическими цитофизиологическими различиями [19].

В регенерации тканей пародонта участвуют трансформирующий фактор роста альфа (влияющий на ангиогенез), фактор роста бета (стимулирующий

синтез коллагена I типа, фибронектина и остеоонектина), а также основной фактор роста фибробластов, который влияет на рост всех типов клеток тканей. В экспериментальных исследованиях также установлен выраженный эффект общего фактора роста фибробластов (GFGF) на ускорение процессов ангиогенеза: он усиливает пролиферацию эндотелиоцитов капилляров, гладкомышечных клеток и перицитов, играющих важную роль в формировании кровеносных сосудов. GFGF также является мощным митогенным фактором для клеток мезенхимального происхождения и значительно сокращает время их удвоения [8].

Экспериментальная модель раневого процесса была сформирована у самцов крыс линии Wistar на фоне аллоксанового диабета. Исследование клеточных структур ран показало положительную динамику репаративных процессов у экспериментальных животных с аллоксановым диабетом при местном применении сорбента Beta-Beta. Это проявлялось улучшением процессов ангиогенеза, развитием грануляционной ткани и эпителизацией раневых поверхностей. Модель аллоксанового диабета была создана для изучения терапевтических репаративных эффектов Beta-Beta при его местном применении на гнойно-некротические раны мягких тканей у крыс [12].

Лечение хронических ран является постоянно развивающейся областью медицины. Избыточные механические нагрузки, инфекция, воспаление, сниженная продукция факторов роста и, безусловно, дефицит коллагена существенно влияют на результаты лечения. Многочисленные исследования показали, что препараты коллагена являются биоактиваторами и способствуют собственной тканевой регенерации, интегрируясь в окружающие естественные ткани. Их основными преимуществами являются регуляция биохимической среды раны, стимуляция хемотаксиса и ангиогенеза. Они обладают свойствами тонкого слоя естественной кожи, но лишены недостатков, присущих чужеродным клеточным элементам, способствующим отторжению кожного трансплантата [9].

Язвы стопы у больных сахарным диабетом встречаются чаще и нередко приводят к ампутации нижних конечностей при отсутствии своевременного, рационального и мультидисциплинарного подхода к терапии. Основными компонентами лечения, обеспечивающими успешное и быстрое заживление диабетических язв стопы, являются обучение пациентов, контроль уровня глюкозы крови, хирургическая обработка ран, длительное перевязочное лечение, разгрузка конечности, хирургические вмешательства и современные методы терапии, применяемые в клинической практике. Эти подходы должны использоваться при любой возможности для снижения высокой заболеваемости и риска тяжёлых осложнений, связанных с язвами стопы [18].

Повреждение тканей сопровождается травмой микрососудов и активацией каскада коагуляции, направленного на остановку кровотечения и

формирование тромбоцитарного сгустка. Последний содержит фибрин, фибронектин, витронектин, фактор фон Виллебранда, тромбоспондин, которые образуют матрикс для клеточной миграции. Непосредственно после повреждения коллаген начинает контактировать с поверхностью раны и кровью, что способствует агрегации тромбоцитов и активации ряда химических факторов [17].

Проблема лечения длительно незаживающих ран является одной из наиболее актуальных в медицине в связи с большим разнообразием возможных причин их возникновения и сложностями выбора эффективной терапии. В статье представлены результаты исследования возможных причин нарушения процессов заживления ран, среди которых одной из наиболее значимых является нарушение синтетической функции фибробластов. В этих условиях происходит изменение спектра экспрессируемых цитокинов и факторов роста, включая повышение экспрессии провоспалительных цитокинов.

Указанные изменения приводят к невозможности формирования полноценного внеклеточного матрикса и, как следствие, к нарушению миграции фибробластов, расстройству дифференцировки клеток и замедлению заживления ран. Таким образом, длительно незаживающие раны характеризуются стереотипными изменениями независимо от их этиологии и локализации [13].

В настоящее время быстро развивающимся направлением медицины является регенеративная медицина, в которой используются клеточные технологии с применением культивированных клеток человека. Предлагаемый инновационный метод лечения заключается в полном закрытии язвенного дефекта после имплантации клеточного продукта. В результате значительно сокращаются частота и продолжительность медицинских осмотров, повышается качество жизни и социальная активность пациента. По данным клинических исследований, по меньшей мере 100 пациентов, получивших данное лечение в период с 2000 по 2015 годы, не нуждались в повторных контрольных осмотрах.

Использование данного метода также имеет особое значение для категории пациентов, у которых наличие открытой язвы небольшой площади не позволяет выполнить хирургическое вмешательство по поводу основного заболевания. Согласно ряду сообщений, не менее 2000 пациентов в год в Санкт-Петербурге нуждаются в лечении трофических язв [11].

Кроме того, высокая активность протеолитических ферментов, преимущественно сериновых протеаз и матриксных металлопротеиназ, в длительно незаживающих ранах в сочетании с дефицитом их ингибиторов может приводить к усиленному разрушению различных цитокинов и факторов роста, вызывая их недостаточность и, в совокупности с другими факторами,

способствовать формированию длительного патологического процесса, функционирующего по принципу «порочного круга».

На основании проведённых морфологических и иммуногистохимических исследований можно утверждать, что длительно незаживающие раны характеризуются наличием хронического воспаления, особенностью которого является преобладание моноцитарно-макрофагальных клеток в инфильтрате в сочетании с повышенной экспрессией провоспалительных цитокинов и нарушением их нормального соотношения. Кроме того, отмечается повышение протеолитической активности в области раны, сочетающееся со снижением активности ингибиторов протеаз, а также уменьшение экспрессии фиброгенных факторов роста.

Нарушение формирования нормальной соединительной ткани проявляется снижением содержания коллагена III типа, накоплением тенасцина и плазменной формы фибронектина в строме, перераспределением ламинина и уменьшением количества миофибробластов в ране.

Указанные изменения являются стереотипными для большинства длительно незаживающих ран независимо от их этиологии и локализации [13–15].

У пациентов с трофическими язвами венозной этиологии кожные фибробласты сохраняют способность к синтезу коллагена под стимулирующим воздействием биологических факторов роста.

Аутологичная богатая тромбоцитами плазма стимулирует синтез коллагенов культурой кожных фибробластов у пациентов с трофическими язвами венозного происхождения, что может служить экспериментальным обоснованием применения тромбоцитарных концентратов в клинической практике [16].

Таким образом, за последние десятилетия достигнут значительный прогресс в понимании молекулярных механизмов основных фаз нормального и осложнённого раневого процесса.

Фибробласты представляют собой универсальную биологическую модель для *in vitro*-изучения динамических молекулярных регуляторных процессов, лежащих в основе клеточного роста и пролиферации, метаболизма и трансдукции внутри- и внеклеточных сигналов.

Новый этап в решении социально значимой проблемы закрытия обширных раневых дефектов может быть связан с дальнейшим изучением процессов прямого межклеточного взаимодействия и выбором коннексиновых белков в качестве индикаторов состояния процесса заживления и мишеней патогенетического воздействия.

Учитывая изложенные данные, лечение хронических язв и других язвенных поражений, осложнённых сахарным диабетом, остаётся нерешённой задачей и требует дальнейших исследований.

ЛИТЕРАТУРА :

1. Бегма А.Н., Бегма И.В. Оценка эффективности применения коллагеновых губок в лечении хронических ран различной этиологии // Главная медицинская сестра. 2014. №3. С. 56-64.
2. Применение биопластического материала Коллост для лечения раневых дефектов у пациентов с осложненными формами синдрома диабетической стопы // Под ред. проф. Б.С. Брискина / МЗСР РФ ГОУ ВПО «Московский государственный медико-стоматологический университет». –М., 2014.
3. Нестеренко В.Г., Сафоян А.А., Суслов А.П. Коллост –биологическая коллагеновая матрица для репарации поврежденной кожи // Тез. 2 Всерос. конгр. дерматовенерологов. –СПб., 2007.
4. М.Д. Дибиров, Р.У. Гаджимурадов, Ф.Ф. Хамитов, М.В. Полянский, С.А. Терещенко, М.Р. Какубава, К.А. Корейба. Применение современных технологий в лечении гнойно некротических осложнений синдрома диабетической стопы. // Журнал имени академика Б.В. Петровского №2/2016 60-68 ст.
5. А.В. Прошин, Р.А. Сулиманов, И.П. Завалий, А.В. Ребинок. Процессы репаративной регенерации в гнойных ранах при местном сочетанном лечении физическими методами и биологически активными материалами. // Вестник новгородского государственного университета №3(101) 2018 61 ст.
6. В.Л. Зорин, А.И. Зорина, О.С. Петракова, В.Р. Черкасов. Дermalные фибробласты для лечения дефектов кожи. // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. Том IV, No 4, 2014.
7. А.Н. Маркова, А.В. Лизунов, Т.Э. Хамидулин. Использование фибробластов в комбустиологии. Вестник совета молодых учёных специалистов Челябинской области №3 (14) Т. 3 2016 87-88 ст.
8. Кяримова Р.Р., Лахонина К.А., Фаркашди Ш. Применение фибробластов в стоматологии. Электронный научно-образовательный вестник "Здоровье и образование в XXI веке" No 12, 2008 г. (Т. 10).
9. Силина Е.В., Ступин В.А., Габитов Р.Б. Роль коллагена в механизмах заживления хронических ран при синдроме диабетической стопы. Клиническая медицина. 2018; 96(2).
10. А.В. Мелешина, А.С. Быстрова, О.С. Роговая, А.В. Васильев, Е.В. Загайнова. Тканеинженерные конструкторы кожи и использование стволовых клеток для создания кожных эквивалентов. // СТМ ∫ 2017 — том 9, No 1198-219.
11. Мирзахмедов, М. М., Холов, Х. А., & Матбердиев, Ы. Б. (2022). Современные тактики хирургического лечения хронического колостазы. Евразийский журнал медицинских и естественных наук, (2), 6.

12. Наврузов, С. Н., Мирзахмедов, М. М., Ахмедов, М. А., & Наврузов, Б. С. (2010). Особенности диагностики и лечения болезни Гиршпрунга у взрослых. Вестник хирургии Казахстана, (Спецвыпуск), 15-16.

13. Е.М. Фоминых. Межклеточные и клеточно-матриксные взаимодействия при репарации длительно незаживающих ран. //Вестник медицинского института непрерывного образования / Выпуск No 1, 2022 66-70 ст.

14. Суханов Ю.В., Воротеляк Е.А., Лядова И.В., Васильев А.В. Терапия мезенхимальными стволовыми клетками-сосуд наполовину полон или наполовину пуст? Онтогенез. 2020; 51 (4): 316-320ст.

15. Mirzaxmedov, M., Axmedov, M., & Ortiqboyev, F. (2023). KATTALARDA HIRSHPRUNG KASALLIGINI OPTIMAL JARRURIK TAKTIKASI. Евразийский журнал медицинских и естественных наук, 3(8), 77-81.

16. Богдан В.Г., Толстов Д.А., Зафранская М.М. Оценка стимулирующего влияния обогащенной тромбоцитами плазмы в экспериментальной модели культур фибробластов пациентов с трофическими язвами венозной этиологии. //Медицинские новости No9• 2014 87-89 ст.

17. Ю.С. Винник, А.Б. Салмина, А.И. Дробушевская, О.В. Теплякова, Е.А. Пожиленкова, А.Р. Котиков. Особенности патогенеза длительно незаживающих ран. //Лекции, обзоры 2011.

18. Yusufjanovich E. U. et al. ASSESMENT THE EFFECTIVENESS OF MINIMALLY INVASIVE SURGICAL METHODS IN ACUTE CHOLECYSTITIS //International Journal of Scientific Trends. – 2023. – Т. 2. – №. 2. – С. 14-23.

19. Paquet-Fifield S, Schlüter H, Li A, et al. A role for pericytes as microenvironmental regulators of human skin tissue regeneration. Journal of Clinical Investigation. March 2009. doi: 10.1172/jci38535.

20. ЭРГАШЕВ, У., МОМИНОВ, А., ГАФУРОВ, Б., МАЛИКОВ, Н., & МИНАВАРХУЖАЕВ, Р. (2023). ПРИМЕНЕНИЕ СОВРЕМЕННЫХ РАНОЗАЖИВЛЯЮЩИХ МЕТОДОВ В ЛЕЧЕНИИ ХРОНИЧЕСКИХ ЯЗВ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ). European Journal of Interdisciplinary Research and Development, 11, 181-187.

21. Ulugbek, E., Alisher, M., Nodirbek, M., Adkhamjon, Z., & Bekhzod, G. (2023). DIFFICULTIES OF LOWER LIMB AMPUTATION IN PURULENT SURGERY (LITERATURE REVIEW). Journal of Academic Research and Trends in Educational Sciences, 2(2), 7-14.

22. Teshayev, O. R., Madaminov, R. M., Gafurov, B. T., Khudoyberganova, N. S., & Ismoilov, M. U. (2020). Surgical treatment of acute calculous cholecystitis in patients with type 2 diabetes mellitus. European Journal of Molecular and Clinical Medicine, 7(8), 1296-1309.

23. Tohirovich G. B. Prospects And Disadvantages the Use of Collagen and Other Biotechnologies in The Treatment of Burn Wounds (Literature Review) //Texas Journal of Medical Science. – 2023. – Т. 26. – С. 124-131.

24. Mustafakulov, G. I., & Ortiqboyev, F. D. (2023). Comprehensive approach to improving autoimmune thrombocytopenic purpura treatment results. CAJM.