

Клеточные технологии и тканевая инженерия в лечении длительно не заживающих ран

Ю.С.ВИННИК, А.Б.САЛМИНА, А.И.ДРОБУШЕВСКАЯ, О.В.ТЕПЛЯКОВА,
Е.А.ПОЖИЛЕНКОВА, Л.Д.ЗЫКОВА

The cell technologies and the tissue engineering are for healing chronic wounds

Yu.S.VINNIK, A.B.SALMINA, A.I.DROBUSHEVSKAYA, O.V.TEPLYAKOVA, E.A.POGILENKOVA,
L.D.ZICOVA

Красноярский государственный медицинский университет им. профессора В.Ф.Войно-Ясенецкого

Проблема восстановления утраченного кожного покрова при заболеваниях и повреждениях различной этиологии остается актуальной во всем мире [1, 19]. В большей степени это относится к лечению трофических язв и длительно незаживающих ран, являющихся серьезной медицинской проблемой [19, 38]. Высокая распространенность трофических язв приходится на экономически развитые страны, частота заболевания в России и Западной Европе составляет от 1% до 4% населения и остается неизменной многие годы [5, 6, 8, 11, 18, 21, 24, 32, 33, 42]. Среди российских граждан насчитывается более 2,5 миллионов больных с трофическими язвами нижних конечностей [6, 42], в США хроническими язвами различной этиологии страдают до 6,5 миллионов пациентов [31, 46, 54, 55, 58].

Термин «трофическая язва» носит собирательный характер и не имеет регистра в международной классификации болезней. Трофическая язва или длительно незаживающая рана, как правило, возникает у больных с нарушениями кровоснабжения и иннервации кожи, обусловленных различными патологическими процессами: хроническим венозным застоем у больных с варикозной болезнью, нарушением микроциркуляции при сахарном диабете. Длительно незаживающие раны возникают также в случаях глубокого повреждения кожи и подлежащих тканей при локальном воздействии низких и высоких температур [21, 33]. Острая рана может принять хроническое течение в результате неадекватной первичной хирургической обработки или при наличии персистирующей инфекции [21]. Характерной чертой этого патологического процесса является наличие хронического воспаления [21]. В нашей стране более 10% общего числа пациентов гнойных отделений составляют больные с трофическими язвами нижних конечностей, 70% которых имеет венозную этиологию [6, 9, 17, 18, 23, 25]. Облитерирующий атеросклероз является причиной возникновения трофических язв нижних конечностей в 8% случаев и может сопутствовать хронической венозной недостаточности. Диабетические микро-, макроангио-

патии и дистальная нейропатия лежат в основе патогенеза трофических язв у 3% больных. Частота образования язвенных дефектов стоп среди страдающих сахарным диабетом достигает 15%. В 1,6–3,5% случаев трофические язвы подвергаются малигнизации [19, 21].

В руководстве «Флебология» (2001) под редакцией академика В.С.Савельева приводится следующая примерная этиологическая частота трофических язв: варикозные – 52%, артериальные – 14%, смешанные – 13%, посттромбофлебитические – 7%, посттравматические – 6%, диабетические – 5%, нейротрофические – 1% и прочие – 2%. Несмотря на современные достижения хирургии и клинической фармакологии, частота выявления трофических язв остается постоянной, а в последнее десятилетие прослеживается явная тенденция к омоложению данного контингента больных [17, 53, 59]. Длительно незаживающая рана, ограничивая возможность передвигаться, создавая косметический дефект и сопровождаясь болевыми ощущениями, существенно нарушает качество жизни пациента [33]. Длительное, иногда годами продолжающееся лечение приводит к значительным финансовым затратам, которые превращают проблему трофической язвы в социально-экономическую [5, 9, 33, 47, 59, 61].

Выбор того или иного варианта местного лечения определяется, прежде всего, стадией раневого процесса, характером осложнений (дерматит, целлюлит), индивидуальными особенностями пациента, в т.ч. наличием поливалентной аллергии [9, 10, 14, 19, 22, 33]. Современные методы системной интенсивной терапии и местные перевязочные средства позволяют ликвидировать нарушения кровотока, добиться очищения раны, но раневой дефект при этом сохраняется [19, 20, 21]. Оперативные вмешательства не всегда способствуют его устранению и могут вызывать функциональные или анатомические изменения. В таких случаях хирургическая тактика направлена на скорейшую подготовку раны к пластическому закрытию [7, 37, 47].

Несмотря на техническую простоту метода аутодермопластики расщепленным кожным лоскутом, результаты его применения в хирургии далеки от удовлетворительных [7, 37]. Риск отторжения трансплантата по данным различных авторов составляет 10-30%. Лизис пересаженного кожного лоскута приводит не только к обнажению закрытой раны и потере трансплантата, но и к увеличению раневой поверхности за счет донорского участка. В целом, по данным различных авторов, эпителизация донорских участков осложняется нагноением и длительным заживлением в 5-70% случаев [7, 12, 37]. Оценивая эффективность различных методов лечения донорских ран, Н.И.Атясов (1989) установил, что самый короткий срок неосложнённого заживления составляет 10 суток, а самый длительный – 26. При этом длительное заживление донорских ран ведёт к образованию гипертрофических и келоидных рубцов [4, 16]. Серьезной причиной неудач трансплантации аутологичной кожи является отсутствие объективных методов адекватной оценки готовности раны к аутодермопластике, которая в настоящее время осуществляется лишь на основании клинической оценки состояния больного и визуальных признаков гранулирующей раны [12, 16].

Исследования последних лет в области биохимии, патофизиологии, иммунологии объясняют некоторые, до сих пор неизвестные, молекулярно-клеточные механизмы хронизации раневого процесса и являются стимулом в поисках новых, более эффективных методов решения проблемы. Одним из перспективных направлений является применение клеточных биотехнологий: ауто- и аллогенных культур клеток кожи, живого кожного эквивалента [1, 2, 3, 33, 43, 44, 56, 61]. Это связано с возможностью нарабатывать достаточное количество аутоклеток и аллоклеток *in vitro* [2].

В 1941 году работой Р.В.Медавар впервые была показана принципиальная возможность выращивания клеток кожи, в частности, кератиноцитов *in vitro*, что положило начало новому направлению в создании биологических покрытий [1, 6, 35, 48]. Работы в этом направлении продвигались медленно в связи с трудностями, связанными с выращиванием клеток в больших масштабах. В 1977 году Г.Грин с коллегами разработали метод культивирования клеток кожи и получения эпителиальных пластов большой площади, что позволило использовать их в практике [1, 35]. Обязательным элементом получения значительных объемов кератиноцитов является использование многочисленных дорогостоящих биологических стимуляторов роста эпидермальных клеток, что значительно увеличивает цену получаемого материала и ограничивает сроки его хранения [1, 52]. При трансплантации культивированных кератиноцитов на раневую поверхность после ее хирургической обработки приживаются от 30 до 80% пересаженных клеточных трансплантатов, а при трансплантации на гранулирующие раны этот

процент снижается до 15% [1, 16, 26, 35]. Вместе с тем, донорские клетки служат стимулом для инициации собственных регенеративных процессов, со временем элиминируются и замещаются аутокератиноцитами [6, 61]. На конференции Европейского сообщества по эквивалентам кожи в Лионе в 1989 году была принята общая концепция, согласно которой аллокератиноциты рассматривают как временную биологическую повязку, производящую экстрацеллюлярный матрикс и стимулирующую пролиферацию собственного эпителия [1].

В России в 1993 году в Институте хирургии им. А.В.Вишневского РАМН Д.С.Саркисовым и сотрудниками отдела патологической анатомии был разработан оригинальный и эффективный способ лечения ожоговых ран на основе применения культивированных клеток [26]. В предшествующих фундаментальных исследованиях, в том числе и с применением электронно-автордиографических методов изучения грануляционной ткани, было установлено, что перипиты, окружающие мелкие сосуды, являются полипотентными мезенхимальными клетками, трансформирующимися в фибробласты. Они обладают сильным стимулирующим воздействием на пролиферацию и адгезию кератиноцитов [29, 30]. Этот метод принципиально отличается от всех известных в мировой практике тем, что в качестве основного компонента культивируемого пласта клеток впервые использованы не кератиноциты, а фибробласты [26, 27, 35]. Результаты исследований Д.С.Саркисова предопределили возможность использования фибробластов как основного элемента клеточного трансплантата в лечении ран различной этиологии [14, 28].

Перспективы использования фетальных фибробластов человека при лечении длительно незаживающих ран различной этиологии представлены в работах Т.Д.Колокольцовой и соавторов (1998). Монослой фибробластов легкого эмбриона человека, выращенный на подложке, переносили на раны после ожога, отморожения, нагноения донорских участков и при флегмоне голени. Донорская рана, длительно незаживающая и периодически нагнаивающаяся, на третьи сутки после трансплантации клеток очистилась от гноя, в ней усилилась краевая эпителизация, на восьмые сутки дефект полностью закрывался [14]. Аналогичный результат достигнут и в других наблюдениях: раны эпителизировались на восьмые сутки [56, 57].

Эффективность клеточной терапии в лечении больных с трофическими язвами нижних конечностей венозной этиологии показали В.М.Седов и его коллеги. Они применяли культуру фибробластов штамма 1100/14, выращенных на раневом покрытии «Фолидерм», в комплексном лечении трофических язв, обусловленных варикозной болезнью и посттромбофлебитическим синдромом. Сроки эпителизации составили в среднем 1,5 недели для варикозных и 3,2 недели для посттромбофлебитических язв, в то время как в кон-

трольной группе, несмотря на использование всего арсенала хирургических и консервативных способов коррекции венозной недостаточности, заживление язв наблюдалось только у 82% пациентов в сроки от 3,6 до 3,9 месяцев [32].

Исследования по применению аллогенных фибробластоподобных мезенхимальных стволовых клеток для лечения глубоких ожогов были проведены под руководством академика В.И.Шумакова (2003). Они показали, что использование аллогенных фибробластоподобных мезенхимальных стволовых клеток позволяет достичь более высокой скорости заживления ран по сравнению с трансплантацией эмбриональных фибробластов [36].

По современным представлениям, эффективность использования культуры аллогенных фибробластов при закрытии раневого дефекта связана со следующими механизмами: защитой раны от высыхания и созданием оптимальных условий для роста грануляций, стимулирующим эффектом продуцируемых фибробластами биологически активных веществ и факторов роста, активной миграцией эмбриональных клеток в зоны механического повреждения, утратой поверхностных антигенов совместимости при субкультивировании *in vitro*, что уменьшает риск отторжения трансплантата [2, 3, 14, 32, 51]. Вместе с тем, проблема использования эмбрионального материала остается спорной в морально-этическом и юридическом отношении. До настоящего времени работа с эмбриональными клетками и тканями человека в нашей стране остается вне сферы правового регулирования, что создает препятствия как в изучении гистосовместимости, мутагенности и стандартизации эмбриональных препаратов, так и в клинической апробации метода [4, 13, 15].

Другим направлением развития тканевой инженерии кожи явилось использование аутофибробластов. Для создания 1,5 см² аутооткани необходим кожный биоптат площадью 3 мм², при этом сроки культивации максимально малого количества донорского материала составляют в среднем три недели [43, 44]. На первом этапе путем фрагментирования и ферментативной обработки дермы раствором трипсина получают первичную культуру фибробластов. Культивирование клеток осуществляют в питательной среде Игла (DMEM) с добавлением 10% телячьей эмбриональной сыворотки. В последующем первичную культуру пассируют, подвергая четырех-семикратному субкультивированию [44]. Последнее ведут на мембране, с помощью которой культура трансплантируется в рану. Контроль контаминации бактериями, микоплазмами и вирусами осуществляют на первых пассажах и при создании банков культур клеток микробиологическими и цитогенетическими методами. Аттестацию штаммов культур клеток на стабильность кариотипа, туморогенность проводят в соответствии с современными требованиями ВОЗ [44, 60].

Получаемая клеточная популяция гетерогенна, так как выделенные фибробласты находятся на разных стадиях развития (небольшие веретеновидные активно делящиеся клетки-предшественники; более крупные веретеновидные созревающие клетки; крупные плащевидные зрелые фиброциты) [40, 43].

Получение фибробластов в культуре не требует использования дорогостоящих питательных средств и стимуляторов роста, что снижает себестоимость изготовления культивированных фибробластов более чем в 10-15 раз по сравнению с культивированными кератиноцитами [28, 34]. Фибробласты в культуре легко подвергаются пассированию, при этом практически полностью утрачивают поверхностные антигены гистосовместимости, что расширяет возможности их клинического применения [4]. Фибробласты активно пролиферируют и синтезируют коллаген, гликозаминогликаны, которые входят в состав формируемого клетками экстрацеллюлярного матрикса [38, 52]. Компоненты экстрацеллюлярного матрикса: коллаген и фибронектин стимулируют как адгезию кератиноцитов, так и пролиферацию клеток. Фибробласты являются необходимым фактором для дифференцировки и формирования кератиноцитами межклеточных связей [28].

При использовании аутоклеток исключен риск заражения пациента инфекционными агентами (HIV, RW, HCV и др.), а также риск развития аллергических реакций, не возникает трудностей с поиском подходящих доноров. Так, после однократного применения аутофибробластов для лечения длительно незаживающих ран (диабетических, трофических и др.) площадью 1-10 см², полное восстановление кожи наблюдается в течение 8 недель [4, 44]. При необходимости, биопсию кожи для получения аутогенных клеток можно проводить неоднократно, фибробласты используют на ранних пассажах или замораживают для последующих процедур. В среднем, для получения достаточного количества аутооттрансплантата необходимо от трех дней до трех-шести недель [2, 30].

Новым этапом биоинженерных технологий в лечении длительно незаживающих ран явилось создание и использование «живого эквивалента кожи», который представляет собой коллагеновый гель, содержащий микроносители алло- или аутофибробластов и покрытый культурой аллокератиноцитов [3, 6, 39, 41, 57]. Создание данного материала представляет собой трудоемкий процесс, требующий создания специальных лабораторий, разработки технологии забора и культивирования клеток, создания банка хранения, а также системы контроля качества [3, 4]. В США, Канаде, Японии, Германии, Великобритании, Испании опыт производства и использования подобных коммерческих клеточных продуктов насчитывает уже более 20 лет [3, 4, 46].

Кожные эквиваленты подразделяются на дермальные, эпидермальные и двойные [4]. Наибо-

лее известные клеточные продукты: «Apligraf», «Dermagraft», «CellActiveSkin», «Cyzact (ICO-PRO)», «Vavelta (ICX-TRC)», «Alloderm», «TransCyte», «Eribase» широко применяются в клиниках Европы и США для лечения длительно незаживающих ран [2, 45, 57, 61].

Наиболее часто в лечении трофических язв на фоне венозной недостаточности или сахарного диабета применяют клеточные продукты «Apligraf», «Dermagraft», которые представляют собой коллагеновую мембрану с аллогенными фибробластами и кератиноцитами [49]. Приживаемость покрытий составляет 30-71% для «Dermagraft» и 13-80% – для «Apligraf», средняя длительность заживления хронических дефектов кожи составляет от трех недель до двух месяцев [39, 49, 57]. Недостатки вышеуказанных покрытий связаны с их высокой стоимостью и малым сроком хранения.

Результаты аппликационного применения фирменных живых клеточных продуктов рекомендовано оценивать в соответствии с двумя классификациями. Первая оценивает ранний клинический эффект биоинженерной кожи по следующим параметрам: А – полная эпителизация, В – краевой эффект, С – стимуляция только грануляций дна раны, D – нет эффекта. Вторая шкала предусматривает характеристику ранних конструкционных проявлений: 1 – неповрежденное покрытие, 2 – изменения покрытия, 3 – остаток покрытия, 4 – покрытие отсутствует [57].

Список литературы

1. Алексеев А.А., Попов С.В. Современные методы трансплантации культивированных клеток кожи и её эквивалентов при лечении ожогов. Комбустиология (электронный журнал) 1999; 1.
2. Алексеев А.А., Фисталь Н.Н., Подурец Д.П. Влияние трансплантации аллофибробластов на раневой процесс и его исходы у обожженных. Клеточные технологии в биологии и медицине 2010; 1: 36-39.
3. Зорин В.Л., Зорина А.И., Черкасов В.Р. Анализ зарубежного рынка регенеративной медицины. Клеточная трансплантология и тканевая инженерия 2009; 3: 68-78.
4. Зорин В.Л., Зорина А.И., Петракова О.С. и др. Дермальные фибробласты для лечения дефектов кожи. Клеточная трансплантология и тканевая инженерия 2009; 4: 26-40.
5. Гавриленко А.В., Иванов А.А., Павлова О.В. Комплексное лечение варикозной болезни СЕАР-6 степени с использованием клеточных культур. Сборник научных работ «Традиционные и новые направления сосудистой хирургии и ангиологии», Выпуск пятый. Челябинск 2009; 27-29.
6. Гавриленко А.В., Павлова О.В., Вахратьян П.Е. Использование фибробластов и кератиноцитов в комплексном лечении венозных трофических язв. Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова 2008; 10: 80-83.
7. Гостищев В.К., Липатов К.В., Комарова Е.А. и др. Дифференцированный подход к выбору кожной пластики операций у больных с хирургической инфекцией. Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова 2009; 19: 19-24.
8. Кириенко А.И., Богачев В.Ю., Каралкин А.В. и др. Лечение тяжелых форм хронической венозной недостаточности препаратом гинкор-форт. Ангиология и сосудистая хирургия 1999; 2: 52-56.
9. Кириенко А.И. Лечение трофических язв венозной этиологии. Пособие для врачей М.: Изд-во НЦССХ РАМН 2000; 22.
10. Кириенко А.И., Григорян Р.А., Золотухин И.А. Современные принципы лечения хронической венозной недостаточности. Consilium medicum. Флебология 2003; 6: 363-366.
11. Кириенко А.И., Золотухин И.А., Каралкин А.В. и др. Современная компрессионная терапия заболеваний вен. Consilium medicum 2005; 6: 33-38.
12. Киселев С.И. Значение донорских ресурсов кожи в выборе рациональной хирургической тактики у больных с глубокими ожогами: Автореф. дис. канд.мед.наук. Рязань 1971; 17.
13. Колокольцова Т.Д., Юрченко Н.Д., Нечаева Е.А. и др. Получение аттестованных фибробластов человека, пригодных для научных и медицинских исследований. Биотехнология 2007; 1: 58-64.
14. Колокольцова Т. Д., Юрченко Н. Д., Колосов Н.Г. и др. Перспективы использования фетальных фибробластов человека при лечении ран различной этиологии. Вестник РАМН 1998; 3: 32-35.
15. Колокольцова Т.Д., Шалунова Н.В., Петручук Е.М. К вопросу о контроле безопасности культур клеток, пригодных для заместительной терапии. Биопрепараты 2006; 2: 8-12.

N.Morigoto и соавторы (2005) сравнили эффективность применения алло- и аутофибробластосодержащих коллагеновых покрытий на ранах морских свинок. Они пришли к выводу, что использование покрытий с аллофибробластами сопровождается увеличением сроков эпителизации, более высокой частотой раневой констрикции и образования контрактур, по сравнению с применением аутофибробластных аналогов [50].

Заключение

Современные мировые достижения молекулярно-клеточной биологии, понимание механизмов, необходимых для успешной клеточной трансплантации, позволяют надеяться на эффективное решение социально-значимой проблемы закрытия обширных раневых дефектов. В будущем перспективы тканевой инженерии связаны с созданием оптимальных питательных сред, поиском средств влияния на дифференцировку, пролиферацию и взаимодействие клеток с целью получения жизнеспособных культур, способных полностью заменить утраченную ткань. Решение юридических и организационных проблем, разработка новых и внедрение в клинику существующих экспериментальных методик трансплантации клеток уже сегодня позволит приблизить реализацию актуальной задачи улучшения качества жизни, скорейшей физической и социальной реабилитации значительной части населения России.

16. Крутиков М.Г., Рахаев А.М. Современные методы лечения пограничных ожогов IIIА степени и донорских ран. Комбустиология (электронный журнал) 1999; 3.
17. Кузнецов Н.А., Родоман Г.В., Никитин В.Г. и др. Клинико-экономические аспекты применения современных перевязочных средств при лечении пациентов с венозными трофическими язвами голени. Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова 2009; 11: 63-69.
18. Магомедов М.М. Эндометрическая лекарственная терапия в лечении трофических язв нижних конечностей III конференция ассоциации флебологов России. Ростов н/Д 2001; 91-92.
19. Новикова Н.Ф., Мордовцев В.Н., Паренькова Т.В. Новые возможности лечения трофических язв, ран кожи и мягких тканей, пролежней и свищей. Consilium medicum. Хирургия 2000; 4: 6-8.
20. Новожилов А.А., Родивилов Б.Б. Применение биологических покрытий для стимуляции II и III фаз раневого процесса при лечении обширных ран различной этиологии. Инфекции в хирургии 2007; 3: 29-32.
21. Оболенский В.Н., Родоман Г.В., Никитин В.Г. и др. Трофические язвы нижних конечностей – обзор проблемы. Русский медицинский журнал 2009; 25: 1647-1663.
22. Савельев В.С. Современные направления в хирургическом лечении хронической венозной недостаточности. Флебологическая 1996; 1: 5-8.
23. Савельев В.С., Кириенко А.И., Богачев В.Ю. Венозные трофические язвы. Мифы и реальность. Consilium medicum. Флебологическая 2000; 11: 3-10.
24. Савельев В.С., Гологорский В.А., Кириенко А.И. и др. Флебология. Руководство для врачей. М: Медицина 2001; 664.
25. Савельев В.С., Кириенко А.И., Богачев В.Ю. и др. Хроническая венозная недостаточность нижних конечностей как общемедицинская проблема. Consilium medicum: Журнал доказательной медицины для практикующих врачей 2004; 6 :433-436.
26. Саркисов Д.С., Туманов В.П., Глуценко Е.В. и др. Использование культивированных фибробластов при лечении обожженных. Бюл. эксперим. биологии и медицины 1990; 3: 400-402.
27. Саркисов Д.С., Глуценко Е.В., Туманов В.П. и др. Опыт применения культуры фибробластов при лечении обожженных. Воен.-мед. журнал 1991; 10: 62-63.
28. Саркисов Д.С., Алексеев А.А. и др. Теоретические и практические аспекты использования культивированных фибробластов при восстановлении целостности кожного покрова. Вестн. РАМН 1994; 7: 6-11.
29. Саркисов Д.С. Теоретическое обоснование современных методов лечения обожженных с применением культивированных клеток кожи человека. Новые методы лечения ожогов с использованием культивированных клеток кожи. Международный симпозиум. Тула 1996; 9.
30. Саркисов Д.С., Алексеев А.А., Туманов В.П. и др. Пятнадцатилетний опыт использования культивированных фибробластов для лечения тяжелообожженных. В кн. Новые методы лечения ожогов с использованием культивированных клеток кожи. Саратов 1998; 31-35.
31. Сащикова В.Г. Профилактика и лечение трофических язв нижних конечностей. СПб.: Гиппократ 1995; 96.
32. Седов В.М., Андреев Д.Ю., Смирнова Т.Д. и др. Эффективность клеточной терапии в лечение больных с трофическими язвами нижних конечностей венозной этиологии. Ангиология и сосудистая хирургия 2007; 13: 65-75.
33. Тимофеева С.И. Лечение трофических язв: проблемы и перспективы. Комбустиология (электронный журнал) 2002; 12-13.
34. Федоров В.Д., Саркисов Д.С., Туманов В.П. и др. Применение культивированных фибробластов при ожогах кожи. Врач 1993; 11: 26-28.
35. Федоров В.Д., Саркисов Д.С., Алексеев А.А., и др. Пластическое восстановление кожных покровов с использованием культивированных аллофибробластов. Анналы хирургии 1996; 4: 16-19.
36. Шумаков В.И., Расулов М.Ф., Крашенинников М.Е. и др. Сравнительная оценка эффективности применения аллогенных эмбриональных фибробластов и мезенхимальных стволовых клеток костного мозга для терапии глубоких ожоговых ран. Вест. трансплант. и искусственных органов 2002; 4: 7-11.
37. Ярец Ю.И., Новикова И.А. Лабораторный прогноз риска отторжения аутодермотрансплантата. Вестник хирургии 2010; 2: 34-38.
38. Ali-Bahar M., Bauer B., Tredget E.E et al. Dermal fibroblasts from different layers of human skin are heterogeneous in expression of collagenase and types I and III procollagen mRNA. Wound Repair Regen. 2004; 12(2): 175-82.
39. Bello Y.M., Falabella A.F., Eaglstein W.H. Tissue-Engineered skin in wound healing. Am.J.Dermatol. 2000; 2 (5):305-315.
40. Boyce S. Design principles for composition and of cultured skin substitutes. Burns 2001; 5: 523-533.
41. Burke J.F. Observation on the development of an artificial skin: Presidential address 1982. J.Trauma 1983; 6: 543-551.
42. Bush A.K. Designing bioengineered skin substitutes containing microfabricated basal lamina analogs to enhance skin regeneration. Degree of doctorate of Philosophy in Biomedical Engineering and Medical Physics. Massachusetts 2009. – 164 p.
43. Chakrabarty K.H., Dawson R.A., Harris P. et al. Development of autologous human dermal-epidermal composites based on sterilized human allografts for clinical use. Br.J of Dermatology 1999 ; 141: 811-823.
44. Gibbs S., H. M. van den Hoogenband, G. Kirtschig et al. Autologous full-thickness skin substitutes for healing chronic wounds. Br. J. of Dermatology.2006; 155: 267-274.
45. Gohari S., Gambla C., Healey M. Evaluation of Tissue-Engineered Skin (Human Skin Substitute) and Secondary Intention Healing in the Treatment of Full Thickness Wounds after Mohs Micrographic or Excisional Surgery. Dermatol Surg 2002; 28: 1107-1114.
46. Hirt-Burri N., Scaletta C., Gerber S. et al. Wound-healing gene family expression differences between fetal and foreskin cells used for bioengineered skin substitutes. Artif. Organs 2008; 32(7): 509-18.
47. Lonnie L. Whiddon The treatment of venous ulcers of the lower extremities. Proc (Bayl Univ Med Cent) 2007; 20(4): 363-366.
48. Medawar P.R. The cultivation of adult mammalian skin epithelium in vitro. Quart.J.Microsc.Sci. 1948; 89: 187-196.
49. Monique C.P., Plosker G.L. Bilayered bioengineered skin substitute ("Apligraf"). Biodrugs 2002; 16(6): 439-455.
50. Morimoto N., Saso Y., Tomihata K. et al. Viability and function of autologous and allogeneic fibroblasts seeded in

- dermal substitutes after implantation. *Journal of Surgical Research* 2005;125; 1: 56-67.
51. Nanchahal J., Dover R., Otto W.R., Dhital S.K. Cultured composite skin grafts: biological skin equivalents permitting massive expansion. *Lancet* 1989; 191-193.
 52. Palaiologou A.A., Yukna R.A., Moses R, Lallier T.E. Gingival, dermal, and periodontal ligament fibroblasts express different extracellular matrix receptors. *J. Periodontol* 2001; 72(6): 798-807.
 53. Ruckley C.V. Socioeconomic impact of chronic venous insufficiency and leg ulcer. *Angiology*. 1997; 48: 67- 69.
 54. Ruckley C., Fowkes F., Bradbury A. Venous disease. Epidemiology, management and delivery of care. Springer. 1999; 278.
 55. Ruckley C, Evans C.J., Allan P.L., et al. Chronic venous insufficiency, clinical and Duplex correlations. The Edinburgh Vein Study. *J.Vase Surg.* 2002; 36: 520-525.
 56. Ruszczak Z., Schwartz R.A. Modern aspects of wound healing: an update. *Dermatol. Surg.* 2000; 26: 219-229.
 57. Saap L.J., Donohue K., Falanfa V. Clinical classification of bioengineered skin use and its correlation with healing of diabetic and venous ulcers. *Dermatol. Surg.* 2004; 30; 8: 1095-1100.
 58. Singer A. J., Richard A.F. Clark. Cutaneous wound healing. *N. Engl. J. Med.* 1999; 341: 738-746.
 59. Torre J.I., Chambers J. A. Wound Healing, Chronic Wounds. 2008; <http://emedicine.medscape.com/article/1298452-overview>.
 60. Vriens A.P., Waaijman T., Gibbs S. et al. Comparison of autologous full-thickness gingiva and skin substitutes for wound healing. *Cell Transplantation* 2008; 17: 1199-1209.
 61. Wai-sun Ho. Skin substitutes: An overview. *Ann. Coll. Surg. H. K.* 2002; 6: 102-108.

Поступила 05.12.2010 г.

Информация об авторах

1. Винник Юрий Семенович – д.м.н., профессор, заведующий кафедрой общей хирургии Красноярского государственного медицинского университета им. профессора В.Ф.Войно-Ясенецкого, заслуженный деятель науки Российской Федерации, заслуженный врач Российской Федерации; e-mail: yuvinnik@yandex.ru
2. Салмина Алла Борисовна – д.м.н., профессор, руководитель НИИ молекулярной медицины и патобиохимии, заведующая кафедрой биологической химии с курсом медицинской, фармацевтической и токсикологической химии Красноярского государственного медицинского университета им. профессора В.Ф.Войно-Ясенецкого; e-mail: yuvinnik@yandex.ru
3. Дробушевская Анна Ивановна – клинический ординатор кафедры общей хирургии Красноярского государственного медицинского университета им. профессора В.Ф.Войно-Ясенецкого; e-mail: yuvinnik@yandex.ru
4. Теплякова Ольга Валериевна – к.м.н., доцент кафедры общей хирургии Красноярского государственного медицинского университета им. профессора В.Ф.Войно-Ясенецкого; e-mail: yuvinnik@yandex.ru
5. Пожиленкова Елена Анатольевна – к.б.н., исполнительный директор НИИ молекулярной медицины и патобиохимии, доцент кафедры биологической химии с курсом медицинской, фармацевтической и токсикологической химии Красноярского государственного медицинского университета им. профессора В.Ф.Войно-Ясенецкого; e-mail: yuvinnik@yandex.ru
6. Зыкова Лариса Дмитриевна – д.м.н., профессор кафедры патологической анатомии им. проф. П.Г. Подзолкова Красноярского государственного медицинского университета им. профессора В.Ф.Войно-Ясенецкого; e-mail: yuvinnik@yandex.ru