

Поддубный И.В., Файзулин А.К., Исаев А.А., Теновская Т.А., Тимофеев И.В., Исаев Я.А., Евстафьева И.И.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КЛЕТОЧНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ У РЕБЕНКА С ОБШИРНЫМ НЕКРОЗОМ КОЖИ НА ФОНЕ ФУЛЬМИНАНТНОЙ ПУРПУРЫ*

Московский государственный медико-стоматологический университет;
Московская детская городская клиническая больница

Poddubnyi I.V., Fayzulin A.K., Isaev A.A., Tenovskaya T.A., Timofeev I.V., Isaev J.A., Evstafieva I.I.

USING CELL TECHNOLOGIES IN A CHILD WITH EXTENSIVE SKIN NECROSIS AMID FULMINANT PURPURA

Moscow State University of Medicine and Dentistry; Moscow City Children's Hospital

Резюме

Лечение обширных кожных дефектов – актуальная и сложная проблема детской хирургии. Одним из перспективных направлений является применение мезенхимальных стволовых клеток (МСК). Это мультипотентные стволовые клетки, обладающие значительным пролиферативным потенциалом и способные дифференцироваться в клетки различных клеточных типов, в том числе кожи и ее производных. Механизм их действия складывается из способности к дифференцировке, трансдифференцировке, а также выраженной паракринной и иммуномодулирующей активности.

Представлен клинический случай ребенка 2,5 лет с диагнозом фульминантная пурпура, обширный некроз кожи (~20% площади) и мягких тканей. После проведенной некрэктомии и образования значительных по площади дефектов кожи было принято решение об использовании аллогенных МСК жировой ткани. После двух подсадов МСК на раневые поверхности наблюдалось сокращение площади последних, рост грануляций и краевая эпителизация. Впоследствии была проведена двухэтапная кожная пластика расщепленными лоскутами.

Лечение детей с обширными дефектами кожных покровов требует индивидуального подхода с целью выбора оптимальной тактики. Использование клеточных технологий в комбинации с традиционными видами кожной пластики следует признать перспективной методикой, позволяющей сократить необходимость оперативного лечения и улучшить конечный результат.

Ключевые слова: фульминантная пурпура, некроз кожи, мезенхимальные стволовые клетки

Abstract

Healing the large skin defects is a relevant and very complicated problem in pediatric surgery. Applying of mesenchymal stem cells (MSCs) is a promising solution. MSCs are multipotent stem cells that have proliferative and self-renewal potential and that can differentiate into multi-lineage cell types including all dermal components. The mechanisms of MSCs effect arise from their ability to differentiate, transdifferentiate and exert paracrine or immunomodulatory effects.

We present a case of a 2,5 year old boy developed a fulminant purpura followed by an extensive skin and soft tissues necrosis (~20% of skin surface). Necrectomy led to large skin defects and the question of further tactics. The decision to transplant allogenic adipose derived MSCs was made. After two transplantations we observed reduction of wound surface, granulation tissue growth and peripheral epithelization. Subsequently two stages of split thickness skin grafting were performed.

Children with large skin defects require an individual approach. Transplantation of allogenic MSCs allows to reduce wound surface and improve outcome and should be considered as a promising in combination with traditional methods.

Key words: fulminant purpura, skin necrosis, mesenchymal stem cells

* Использование мезенхимальных стволовых клеток проводилось с разрешения больничного локального этического комитета и информированного согласия родственников ребенка. – *Прим. редакции.*

В настоящее время с целью закрытия кожных дефектов в мире широко используются клеточные технологии.

Одним из перспективных направлений является использование мезенхимальных стволовых клеток (МСК), представляющих гетерогенную популяцию клеток, находящихся в костном мозге, жировой ткани, пуповине, а также во многих других тканях. Это мультипотентные стволовые клетки с высоким пролиферативным потенциалом, которые могут дифференцироваться в клетки различных клеточных линий экто-, энто- и мезодермального направлений [1–4].

Их терапевтический эффект связан со способностью к дифференцировке, трансдифференцировке, слиянию с клетками тканей реципиента и способностью секретировать широкий спектр биологически активных веществ [1, 6–7, 9–10].

Отмечена их способность *in vivo* и *in vitro* принимать черты, характерные для клеток окружающей ткани, выполняя их функции. В экспериментах с кожными ранами на животных, а также в клинических исследованиях была продемонстрирована способность МСК приобретать фенотип, схожий с фибробластами и эндотелиальными клетками, клетками волосяных фолликулов, сальных и потовых желез, а в эпидермисе – с кератиноцитами [1–2, 10]. Таким образом, МСК принимают участие в заживлении ран и восстановлении кожи и ее придатков.

Благодаря способности синтезировать широкий спектр цитокинов и факторов роста, а также моделировать уровни концентрации провоспалительных цитокинов, мезенхимальные стволовые клетки обладают способностью ускорять процессы заживления раны, стимулируя пролиферацию клеток, ангиогенез, вызывая увеличение количества островков эпителизации и синтезируя компоненты межклеточного вещества. Помимо этого, действие МСК распространяется и на ремоделирование ткани, снижая вероятность образования рубца [1, 3, 5, 8, 10].

Пациент Н., 2,5 года, находился на стационарном лечении в Измайловской ДГКБ с диагнозом фульминантная пурпура, обширный некроз кожи туловища, ягодиц, нижних конечностей, гангрена пальцев правой стопы. Из анамнеза известно, что в ноябре 2012 г. ребенок перенес ангину. В конце декабря 2012 г. появились жалобы на боли в ногах. 21 декабря 2012 г. отмечались подъем температу-

ры до 38 °С, рвота. 22 декабря 2012 г. родители отметили появление высыпаний багрово-синюшного цвета сливного типа на коже нижних конечностей, ягодиц, поясничной области, на месте которых впоследствии стали появляться очаги некроза. С 22 декабря 2012 г. по 2 января 2013 г. ребенок находился на стационарном лечении в отделении реанимации Детской республиканской больницы г. Махачкалы с диагнозом инфекционно-токсический васкулит, тромбгеморрагический синдром, ДВС 2 ст. 3 января 2013 г. ребенок госпитализирован в отделение реанимации Измайловской ДГКБ.

При поступлении: состояние ребенка тяжелое, на боковых поверхностях туловища с переходом на поясничные области имеются очаги сухого некроза овальной формы: 3×5 см справа, 6×7 см слева. Практически на всей поверхности ягодичных областей слева и справа с переходом на бедра, промежность и гребни подвздошных костей, а также на передних с переходом на боковые поверхности обоих бедер, коленных суставах и голених имеются очаги сухого с участками влажного некроза. Правая стопа холодная на ощупь, черного цвета, кончики пальцев мумифицированы. Суммарная площадь очагов некроза составила более 20% поверхности тела.

После проведения интенсивной, в том числе комбинированной антибактериальной терапии и стабилизации состояния больного были проведены некрэктомия, экзартикуляция 1–5-х пальцев правой стопы, в проекции правой ягодичной складки наложены наводящие швы.

После операции образовались обширные дефекты кожи, в связи с чем встал вопрос о выборе дальнейшей тактики лечения. Согласно данным мировой литературы, применение кератиноцитов при лечении полнослойных дефектов малоэффективно, использование аутогенного клеточного материала требует значительных сроков изготовления трансплантата, поэтому было принято решение о трансплантации аллогенных МСК на коллагеновом геле.

В послеоперационном периоде выполняли перевязки с использованием атравматичных материалов, регулярно оценивали состояние раневых поверхностей. С началом формирования грануляций, на 11-е сутки, было проведено повторное удаление некротизированных тканей, резекция 2–5-й пястных костей, пластика дефектов местными тканями, а также подсадка аллогенного клеточного материала на готовые участки.



Рис. 1. Обширные некрозы нижних конечностей



Рис. 2. Некроз кожи правой ягодичной области, бедра, боковой поверхности туловища



Рис. 3, 4. 9-е сутки после некрэктомии



Рис. 5, 6. 7-е сутки после подсадки мезенхимальных стволовых клеток на раневые поверхности



Рис. 7, 8. Состояние раневых поверхностей при выписке

При последующих перевязках было отмечено формирование грануляционной ткани, а также появление эпителизации (преимущественно краевой), в связи с чем была выполнена повторная подсадка МСК.

На 10-е сутки оценено состояние раневых поверхностей, для которых не требовалось дальнейшего хирургического лечения, а также определены участки, требующие проведения кожной пластики. Проведена аутодермопластика расщепленным кожным трансплантатом в области левого и правого коленных суставов, правой голени, стопы, ягодичной области. В дальнейшем проведения повторной пластики потребовали лишь раневые дефекты в области правой стопы. Состояние раневых поверхностей при выписке представлено на снимках.

Обсуждение результатов исследования

Фульминантная пурпура – редкое заболевание, связанное с дефицитом антикоагулянтов (протромбинов С, S, антитромбина III). Формирование обширных очагов некроза с развитием инфекционного процесса обуславливает высокую летальность даже в условиях современных многопрофильных стационаров (более 13%), часто приводит к необходимости ампутации конечностей [11].

В приведенном клиническом случае после проведения интенсивной терапии и первичной некрэктомии перед нами встала задача закрытия раневых поверхностей значительной площади, что представляло бы большие трудности при использовании классических методик.

После аппликации МСК наблюдался достаточно выраженный эффект, заключавшийся в равномерном формировании грануляционной ткани и стимуляции краевой эпителизации.

Проанализировав свой опыт, а также данные мировой литературы, мы пришли к выводу, что более равномерная эпителизация (и, соответственно, полное закрытие раневых дефектов) возможна лишь при дополнительном использовании культуры кератиноцитов, помещенных на грануляционную ткань либо использованных в составе комбинированных клеточных трансплантатов, что должно быть учтено в будущем.

Выводы

Больные с обширными дефектами кожи требуют индивидуального подхода и сочетания имеющихся методик для достижения оптимального результата.

Использование МСК позволило:

- добиться оптимального для последующего лечения состояния раневых поверхностей,
- привело к укорочению сроков эпителизации; при этом нужно отметить, что на значительной площади в дальнейшем не потребовалось проведения кожной пластики.

Применение клеточных технологий в закрытии полнослойных кожных дефектов является перспективным методом, позволяющим получить хороший косметический и функциональный результат, требующим, однако, дальнейшего совершенствования.

Список литературы

1. *HaiHong Li., Xiaobing Fu.* Mechanisms of action of mesenchymal stem cells in cutaneous wound repair and regeneration // *Cell Tissue Res.* 2012. Vol. 348. P. 371–377.
2. *Falanga V., Iwamoto S., Chartier M., Yufit T., Butmarc J., Kouttab N., Shayer D., Carson P.* Autologous bone marrow-derived cultured mesenchymal stem cells delivered in a fibrin spray accelerate healing in murine and human cutaneous wounds // *Tissue Eng.* 2007. Vol. 13. P. 1299.
3. *Burk J., Ribitsch I., Gittel C., Jucke H., Kasper C., Staszyc C., Brehm W.* Growth and differentiation characteristics of equine mesenchymal stromal cells derived from different sources // *Stem. Cell Rev.* 2013, Feb. Vol. 9, № 1. P. 65–79.
4. *Kim W.S., Park B.S., Sung J.H.* The wound – healing and antioxidant effects of adipose-derived stem cells // *Cytherapy.* 2008. Vol. 10, № 6. P. 543–550.
5. *Wu Y., Chen L., Scott P.G., Tredget E.E.* Mesenchymal Stem Cells Enhance wound healing through differentiation and angiogenesis // *Stem Cells* 2007. Vol. 25. P. 2648–2659.
6. *Mishra P.J., Banerjee D.* Cell-free derivatives from mesenchymal stem cells are effective in wound therapy // *World J. Stem. Cells.* 2012, May 26. Vol. 4, № 5. P. 35–43.

7. Lee S.H., Jin S.Y., Song J.S., Seo K.K., Cho K.H. Paracrine effects of Adipose-Derived Stem Cells on Keratinocytes and Dermal Fibroblasts // *Ann. Dermatol.* 2012. Vol. 24, № 2. P. 136–143.
8. Shamis Y., Silva E.A., Hewitt K.J., Brudno Y., Levenberg S., Mooney D.J., Garlick J.A. Fibroblasts Derived from Human Pluripotent Stem Cells Activate Angiogen Responses *in vitro* and *in vivo* // *Plos one* Dec. 2013. Vol. 8, Is. 12.
9. Knaan-Shanzer S. Concise Review: The Immune Status of Mesenchymal Stem Cells and its relevance for therapeutic application // *Stem. Cells.* 2014. Vol.32. P. 603–608.
10. Li H., Fu X., Ouyang Y., Cai C., Wang J., Sun T. Adult bonemarrow-derived mesenchymal stem cells contribute to wound healing of skin appendages // *Cell Tissue Res.* 2006. Vol. 326. P. 725–736.
11. Warner P.M., Kagan R.J., Yakuboff K.P., Kemalyan N., Palmieri T.L., Greenhalgh D.G. *et al.* Current management of purpura fulminans: a multicenter study // *J. Burn Care Rehabil.* 2003, May-Jun. Vol. 24, № 3. P. 119–126.

Авторы

Контактное лицо: ПОДДУБНЫЙ Игорь Витальевич	Доктор медицинских наук, профессор, зав. кафедрой детской хирургии МГМСУ. Для связи: Тел.: +7 (968) 923-33-55. E-mail: doctorisaev@gmail.com.
ФАЙЗУЛИН Айвар Кабирович	Доктор медицинских наук, профессор кафедры детской хирургии МГМСУ.
ИСАЕВ Андрей Александрович	Заведующий операционным блоком МДГКБ, филиал № 2.
ТЕНОВСКАЯ Татьяна Александровна	И.о. главного врача МДГКБ, филиал № 2.
ТИМОФЕЕВ Игорь Викторович	Кандидат медицинских наук, детский хирург-травматолог МДГКБ, филиал № 2.
ИСАЕВ Ярослав Андреевич	Врач, детский хирург МДГКБ, филиал № 2.
ЕВСТАФЬЕВА Ирина Ивановна	Кандидат медицинских наук, детский хирург МДГКБ, филиал № 2.