

УДК 616.833.35/.36-089

**А.Р. ГАЛЛЯМОВ<sup>1-3</sup>, Р.Ф. МАСГУТОВ<sup>1-3</sup>, И.Г. ХАННАНОВА<sup>1</sup>, Р.И. МУЛЛИН<sup>1</sup>, А.А. ШУЛЬМАН<sup>1</sup>, И.Ф. АХТЯМОВ<sup>1,3</sup>, А.П. КИЯСОВ<sup>2</sup>, А.А. БОГОВ<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Республиканская клиническая больница МЗ РТ, 420064, г. Казань, Оренбургский тракт, д. 138

<sup>2</sup>Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, г. Казань, ул. Кремлевская, д. 18

<sup>3</sup>Казанский государственный медицинский университет, 420012, г. Казань, ул. Бутлерова, д. 49

## Хирургическое лечение периферических нервов верхней конечности с использованием аутоклеток стромальной васкулярной фракции

**Галлямов Алмаз Рафаэлевич** — врач отделения травматологии № 2, аспирант кафедры травматологии, ортопедии и хирургии экстремальных ситуаций, тел. (843) 237-34-25, e-mail: almaz.gallyamov@gmail.com

**Масгутов Руслан Фаридович** — кандидат медицинских наук, врач отделения травматологии № 2, тел. (843) 237-34-25, e-mail: masgut@gmail.com

**Ханнанова Илюса Гаделевна** — кандидат медицинских наук, врач отделения травматологии № 2, тел. (843) 237-34-25, e-mail: hannanovaig@gmail.com

**Муллин Руслан Ильдусович** — кандидат медицинских наук, врач отделения травматологии № 2, тел. (843) 237-34-25, e-mail: mullinri@gmail.com

**Шульман Анна Алексеевна** — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, тел. (843) 237-34-25, e-mail: ani\_07@mail.ru

**Ахтямов Ильдар Фуатович** — доктор медицинских наук, заведующий кафедрой травматологии, ортопедии и хирургии экстремальных ситуаций, тел. (843) 237-91-78, e-mail: yalta60@mail.ru

**Киясов Антон Павлович** — доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник, тел. (843) 236-78-92, e-mail: APKiyasov@kpfu.ru

**Богов Андрей Алексеевич** — доктор медицинских наук, заведующий отделением травматологии № 2, тел. (843) 237-34-25, e-mail: bogov\_a@mail.ru

*В обзорной статье представлены основные принципы лечения поврежденных периферических нервов. Описаны эффекты введения аутоклеток стромальной васкулярной фракции на нервные ткани в эксперименте. Рассмотрены клинические случаи и результаты лечения поврежденных периферических нервов с использованием аутоклеток стромальной васкулярной фракции.*

**Ключевые слова:** повреждение периферических нервов, стволовые клетки стромальной васкулярной фракции.

**A.R. GALLYAMOV<sup>1-3</sup>, R.F. MASGUTOV<sup>1-3</sup>, I.G. KHANNANOVA<sup>1</sup>, R.I. MULLIN<sup>1</sup>, A.A. SHULMAN<sup>1</sup>, I.F. AKHTYAMOV<sup>1,3</sup>, A.P. KIYASOV<sup>2</sup>, A.A. BOGOV<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Republic Clinical Hospital of the MH of RT, 138 Orenburgskiy Trakt, Kazan, Russian Federation, 420064

<sup>2</sup>Kazan (Volga region) Federal University, 18 Kremlevskaya St., Kazan, Russian Federation, 420008

<sup>3</sup>Kazan State Medical University, 49 Butlerov St., Kazan, Russian Federation. 420012

## Surgical treatment of peripheral nerves of the upper extremity with autologous cells of stromal vascular fraction

**Gallyamov A.R.** — doctor of Traumatology Department № 2, postgraduate student of Traumatology, Orthopedics and Emergency Surgery Department, tel. (843) 237-34-25, e-mail: almaz.gallyamov@gmail.com

**Masgutov R.F.** — Cand. Med. Sc., doctor of Traumatology Department № 2, tel. (843) 237-34-25, e-mail: masgut@gmail.com

**Khannanova I.G.** — Cand. Med. Sc., doctor of Traumatology Department № 2, tel. (843) 237-34-25, e-mail: hannanovaig@gmail.com

**Mullin R.I.** — Cand. Med. Sc., doctor of Traumatology Department № 2, tel. (843) 237-34-25, e-mail: mullinri@gmail.com

**Shaulman A.A.** — Cand. Biol. Sc., Senior Researcher, tel. (843) 237-34-25, e-mail: ani\_07@mail.ru

**Akhtyamov I.F.** — D. Med. Sc., Head of Traumatology, Orthopedics and Emergency Surgery Department, tel. (843) 237-91-78, e-mail: yalta60@mail.ru

**Kiyasov A.P.** — D. Med. Sc., Leading Researcher, tel. (843) 236-78-92, e-mail: APKiyasov@kpfu.ru

**Bogov A.A.** — D. Med. Sc., Head of Traumatology Department № 2, tel. (843) 237-34-25, e-mail: bogov\_a@mail.ru



*The article reviews the basic principles of treatment of peripheral nerve injuries. The effects are described of injecting the autologous cells of stromal vascular fraction into the nervous tissues. The clinical cases and treatment results of curing the peripheral nerve injuries with autologous cells of stromal vascular fraction are described.*

**Key words:** peripheral nerve injury, stem cells of stromal vascular fraction.

Повреждения периферических нервов остаются одной из значимых, трудно излечимых травм и составляют от 1,64 до 2,8% при повреждениях конечностей [1]. Повреждения срединного нерва достигают 24%, локтевого — 15,9% [2].

Успехи последних десятилетий в лечении повреждений периферических нервов связаны с введением микрохирургических техник и оборудования в лечении. Восстановление анатомии нерва заключается в точном сближении поврежденных концов нерва с минимальным количеством швов и без натяжения. Karol и соавт. отмечают, что при шве должны быть сопоставлены моторные и чувствительные волокна относительно друг к другу [3].

Возможны следующие методы восстановления нерва: прямой шов, невротизация, аутонервная пластика, транспозиция нерва, применение различных проводников для замещения дефекта [4]. С середины 1970-х годов Millesi и соавт. рекомендуют проведение аутонервной пластики срединного, локтевого, лучевого нервов при дефектах между концами нервов более 2 см, отмечая при этом удовлетворительные результаты [5]. Однако при значительных дефектах нервов аутонервные вставки, не имеющие питания с донорскими участками, подвергаются некрозу. Millesi и др. авторы, отмечают, что при длине аутонервного трансплантата свыше 7 см результаты резко ухудшаются [5, 6]. Учитывая вышеописанное, для улучшения выживаемости аутонервной вставки нами была предложена гипотеза, определяющая введение клеток стромальной васкулярной фракции (СВФ) клеток в аутонервные вставки. Жировая ткань, содержащая клетки СВФ, находится в избытке в организме человека, она доступна и часто является побочным продуктом некоторых операций, например липосакции.

В опубликованных экспериментально-исследовательских работах были показаны различные положительные эффекты от применения клеток СВФ: улучшение регенерации тканей головного мозга [7], эффективность при лечении рассеянного склероза [8], эффективность при ишемии конечностей [9], регенерации мышц и периферических нервов [10]. Wang D и соавт. отмечают: применение клеток СВФ увеличивает скорость проведения импульса, количество двигательных единиц, ускорение роста и миелинизации аксонов в сравнении с группой без применения СВФ [11]. Отмечено положительное действие клеток СВФ на выживаемость мотонейронов в спинном мозге при спинномозговой травме L4, L5, L6 позвонков [12]. Возможный эффект клеток СВФ на молекулярном уровне может быть связан с увеличением ферментативной активности антиапоптотических и уменьшением активности проапоптотических ферментов, а также увеличение продукции нейропротекторных и нейрорегенераторных факторов (инсулиноподобный ростовый фактор-1, BDNF, BFGF, GDNF) [13, 14].

Для подтверждения гипотезы были проведены экспериментальные опыты на крысах линии Vistar, мужского пола, массой 150-200 г, возрастом 6-7 недель. В асептических условиях под общей анестезией были прооперированы две группы животных по 40 животных в каждой (в первой группе про-

извонилось введение ксеноклеток СВФ полученных от человека при липосакции, во второй группе животным вводился физиологический раствор). Создавался дефект седалищного нерва 10 мм, который замещался аутонервной вставкой. Операция проводилась под операционным микроскопом, с использованием нити пролен 10-0. Далее на различных сроках проводилась оценка двигательной и чувствительной функций. Двигательная функция оценивалась по следующим методам: функциональному индексу седалищного нерва (SFI), электронноймиографии. Чувствительная функция оценивалась при помощи щипкового теста лапок крыс.

Полученные результаты показали снижение количества функционирующих двигательных единиц в исследуемых мышцах в группе №1 в меньшей степени, чем в группе животных №2, причем интенсивность мышечного сокращения была выше в группе №1, что свидетельствует об ускоренном увеличении регенерирующих двигательных единиц [15]. Таким образом, результаты показали: улучшение данных ЭНМГ в экспериментальной группе, улучшение данных SFI, сокращение сроков реиннервации в чувствительной сфере более чем в два раза.

Авторами получен патент на «Способ замещения дефекта периферического нерва» (патент РФ №2499565). Способ включает: забор аутологичной жировой ткани методом липосакции (на операционном столе под местной анестезией, в положении пациента лежа, через разрез 5 мм на передней брюшной стенке живота, производится забор подкожной жировой ткани пациента в объеме 150 и более мл). Такое количество жира содержит приблизительно 7,5 млн клеток СВФ и более (20 мл жира содержат 1 млн клеток СВФ). Полученный жир упаковывается в асептических условиях в стерильную емкость и доставляется из операционной в сертифицированную лабораторию. В лабораторных условиях из жира получают клетки стромальной васкулярной фракции (многократное использование коллаген-назы, центрифугирование для отделения клеток СВФ от жировых клеток, культивирование клеток). После получения клеток СВФ производится доступ к оперируемому периферическому нерву верхней конечности, производится иссечение невром. Подсчитывается дефект нерва, который не может быть преодолен путем сгибания конечности в суставе. Производится забор нерва для аутонервной трансплантации (n. Suralis, например). Под операционным микроскопом производится шов нитью 10-0 аутонервных вставок к нерву, причем длина аутонервных вставок должна быть на 5-10% выше длины дефекта. Клетки СВФ растворяются в 3 мл физиологического раствора. После шва нерва полученные клетки СВФ интраневрально равномерно трансплантируют в периферический, центральный отрезки нерва и в каждую вставку. Концы нерва, а также сами вставки покрывают фибриновым клеем для ограничения шва нерва от гематом. Далее производится послойное ушивание ран.

Используя вышеописанную методику, были прооперированы две группы пациентов. Отбор пациентов осуществлялся по следующим критериям:

застарелое повреждение нервов (более 3-6 мес.), возраст выше 18 лет, отсутствие онкологических патологий, беременности у женщин, вирусных гепатитов, ВИЧ-инфекции. Первая группа была экспериментальной и включала пациентов с аутонервной пластикой срединного, локтевого или обоих нервов с введением клеток СВФ. Вторая группа являлась группой контроля — включала пациентов с аутонервной пластикой тех же нервов без введения клеток СВФ. Дефект нервов в обеих группах составлял от 6 до 12 см.

При оценке результатов проводились исследования в двигательной, чувствительной сферах до операции, сразу после операции и на различных сроках. За основу использовалась международная классификация по Seddon (1972) M0-M5, S0-S4. Методы оценки включали: обследование чувствительности, электрофизиологические исследования.

Было выявлено, что сроки реиннервации при использовании клеточных технологий в чувствительной сфере возрастают в несколько раз, в двигательной сфере на 30-40%.

Отдаленные результаты — через 1,5 года и свыше после восстановления периферических нервов верхней конечности: количество пациентов с результатами M4/S4 в экспериментальной группе превышало количество пациентов в контрольной группе на 45%.

Таким образом, применение аутологических клеток СВФ благоприятно влияет на регенерацию периферических нервов путем активации естественных возможностей организма. При этом сокращаются сроки лечения.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Noble J., Munro C.A., Prasad V.S., Midha R. Analysis of upper and lower extremity peripheral nerve injuries in a population of patients with multiple injuries. *Am J Phys Med Rehabil // J Trauma*. — 1998 Jul. — Vol. 45(1). — P. 116-22.
2. McAllister R., Gilbert S., Calder J., Smith P. The epidemiology and management of upper limb peripheral nerve injuries in modern practice // *J Hand Surg [Br]*. — 1996. — Vol. 21(1). — P. 4-13.
3. Karol A.G. Peripheral nerves and Tendon Transfers // *Selected Reading in Plastic Surgery*. — 2003. — Vol. 9. — P. 23.
4. Manders E.K., Siggers G.C., Diaz-Alonso P., Finn L., Sipio J.C., Glumac T., Au V.K., Wong R.K., Mottaleb M. *Clin Plast Surg*. Elongation of peripheral nerve and viscera containing smooth muscle. — 1987 Jul. — Vol. 14(3). — P. 551-62.

5. Berger A., Millesi H. Nerve grafting // *Clin Orthop Relat Res*. — 1978. — Vol. 133. — P. 49-55.

6. Богов А.А. Хирургическое лечение повреждений верхней конечности с применением метода микрохирургии и аппарата Илизарова: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. — М., 1997. — 427 с.

7. Sandra A. Acosta, Naoki Tajiri, Kazutaka Shinozuka, Hiroto Ishikawa, Paul R. Sanberg, Juan Sanchez-Ramos, Shijie Song, Yuji Kaneko, Cesar V. Borlongan Combination Therapy of Human Umbilical Cord Blood Cells and Granulocyte Colony Stimulating Factor Reduces Histopathological and Motor Impairments in an Experimental Model of Chronic Traumatic Brain Injury. doi: 10.1371/journal.pone.0090953. Published: March 12, 2014.

8. Lu Chen, Ronald Coleman, Ronika Leang, Ha Tran, Alexandra Kopf, Craig M. Walsh, Ilse Sears-Kraxberger, Oswald Steward, Wendy Bcklin, Jeanne F. Loring, Thomas E. Lane. Human Neural Precursor Cells Promote Neurologic Recovery in a Viral Model of Multiple Sclerosis. *Stem Cell Research & Therapy* 2014. Published online 2014 May 15. doi: 10.1016/j.stemcr.2014.04.005.

9. Katare R., Stroemer P., Hicks C., Stevanato L., Patel S., Corteling R., Miljan E., Vishnubhatla I., Sinden J., Madeddu P. Clinical-grade human neural stem cells promote reparative neovascularization in mouse models of hindlimb ischemia // *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. — 2014 Feb. — Vol. 34(2). — P. 408-18. doi: 10.1161/ATVBAHA.113.302592. Epub 2013 Nov 7.

10. Yang D.Y., Sheu M.L., Su H.L., Cheng F.C., Chen Y.J., Chen C.J., Chiu W.T., Yiin J.J., Sheehan J., Pan H.C. *J Neurosurg*. 2012 Jun. — Vol. 116(6). — P. 1357-67. doi: 10.3171/2012.2.JNS.111360. Epub 2012 Apr 13.

11. Wang D., Liu X.L., Zhu J.K., Jiang L., Hu J., Zhang Y., Yang L.M., Wang H.G., Yi J.H. Bridging small-gap peripheral nerve defects using acellular nerve allograft implanted with autologous bone marrow stromal cells in primates // *Brain Res*. — 2008 Jan 10. — Vol. 1188. — P. 44-53. Epub 2007 Oct 18.

12. Spejo A.B., Carvalho J.L., Goes A.M., Oliveira A.L. Neuroprotective effects of mesenchymal stem cells on spinal motoneurons following ventral root axotomy: synapse stability and axonal regeneration // *Neuroscience*. — 2013 Oct 10. — Vol. 250. — P. 715-32. doi: 10.1016/j.neuroscience.2013.07.043. Epub 2013 Jul 27.

13. Reid A.J., Sun M., Wiberg M., Downes S., Terenghi G., Kingham P.J. Nerve repair with adipose-derived stem cells protects dorsal root ganglia neurons from apoptosis // *Neuroscience*. 2011 Dec 29. — Vol. 199. — P. 515-22. doi: 10.1016/j.neuroscience.2011.09.064. Epub 2011 Oct 6.

14. Marconi S., Castiglione G., Turano E., Bissolotti G., Angiari S., Farinazzo A., Constantini G., Bedogni G., Bedogni A., Bonetti B. Human adipose-derived mesenchymal stem cells systemically injected promote peripheral nerve regeneration in the mouse model of sciatic crush // *Tissue Eng Part A*. — 2012 Jun. — Vol. 18(11-12). — P. 1264-72. doi: 10.1089/ten.TEA.2011.0491. Epub 2012 Apr 3.

15. Масгутова Г.А., Масгутов Р.Ф., Салафутдинов И.И., Шульман А.А., Журавлева М.Н., Галлямов А.Р., Богов А.А. (млад.), Богов А.А., Ризванов А.А. Стимуляция посттравматической регенерации седалищного нерва крысы при ксенотрансплантации мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток жировой ткани человека // *Гены&Клетки*. — 2014. — Т. IX, №3.