

*А. М. Савинцев, О. Г. Хурцилава, А. Б. Смолянинов,
А. Т. Берозашвили, А. В. Малько, Ш. Ф. Адылов*

ТРАНСПЛАНТАЦИЯ МОНОНУКЛЕАРНОЙ ФРАКЦИИ КЛЕТОК АУТОЛОГИЧНОГО КОСТНОГО МОЗГА В КОМПЛЕКСНОМ ХИРУРГИЧЕСКОМ ЛЕЧЕНИИ ПЕРЕЛОМОВ ДЛИННЫХ ТРУБЧАТЫХ КОСТЕЙ

Изыскание новых, актуальных путей воздействия на течение репаративной регенерации костной ткани является необходимой основой для дальнейшего прогресса наших потенциальных возможностей в лечении повреждений и заболеваний опорно-двигательной системы человека [1].

Клетки, участвующие в остеогенезе, свое происхождение берут из мезенхимальных (стромальных) клеток костного мозга и находятся в эндосте и периосте (надкостнице) [2]. Количество этих клеток регулируется биохимическими сигнальными молекулами в процессе ремоделирования костной ткани и восстановления костных дефектов, местное клеточное микроокружение обуславливает дифференцировку остеогенных клеток в остеобласты или хондробласты [3, 4]. Высокая васкуляризация костной ткани обусловлена необходимостью поступления нутриентов и кислорода, требующихся в большом количестве для нормального роста и развития кости.

Бесспорна положительная, двоякая роль сосудов в остеогенезе — транспортная (доставка питательных веществ) и генез остеобластов и остеоцитов из эндотелиальных клеток. Сосуды возникают первично и стремятся к некробиотической зоне. Их ориентация в этом направлении происходит благодаря энзимам. Первичные костные пластинки возникают уже по ходу сосудов, они соединены друг с другом и с эндотелиальными клетками цитоплазматическими связями (отростками). Воистину справедливо звучит выражение известного российского ортопеда В. Д. Чаклина (1935): «Без васкуляризации — нет регенерации». Рост костной ткани, по мнению автора, зависит от питания и формообразования — непонятного, генетически обусловленного свойства кости восстанавливать форму при потере ее части.

Савинцев Александр Михайлович — доктор медицинских наук, профессор, заведующий отделением травматологии и ортопедии «Городской Покровской больницы», ведущий научный сотрудник НИЛ клеточных технологий Северо-Западного государственного медицинского университета им. И. И. Мечникова; e-mail: almisav@yandex.ru

Хурцилава Отари Гивиевич — доктор медицинских наук, ректор Северо-Западного государственного медицинского университета им. И. И. Мечникова

Смолянинов Александр Борисович — доктор медицинских наук, заведующий НИЛ клеточных технологий Северо-Западного государственного медицинского университета им. И. И. Мечникова, генеральный директор ООО «Покровский банк стволовых клеток»; e-mail: doctorsmolvm@inbox.ru

Берозашвили Артур Тогович — проректор Северо-Западного государственного медицинского университета им. И. И. Мечникова

Малько Андрей Вадимович — врач травматолог-ортопед СПб ГБУЗ «Городская Покровская больница»

Адылов Шерзод Фархадович — врач хирург-трансфузиолог, заместитель генерального директора ООО «Покровский банк стволовых клеток»

© А. М. Савинцев, О. Г. Хурцилава, А. Б. Смолянинов, А. Т. Берозашвили, А. В. Малько, Ш. Ф. Адылов, 2013

За последнее время травматологи-ортопеды достигли значительных успехов в хирургическом лечении переломов костей, особенно с использованием малоинвазивных технологий интрамедуллярного остеосинтеза с блокирующими винтами [5].

Однако даже при использовании современных технологий хирургического лечения имеют место несращения переломов длинных трубчатых костей и неудовлетворительные исходы длительного лечения ложных суставов.

Для профилактики этих осложнений традиционно применяются различные методы, позволяющие оптимизировать процессы репаративной регенерации поврежденных опорно-двигательной системы человека — это ауто- и аллотрансплантаты, а также различные биоккомпозитные материалы.

Однако использование костных аутотрансплантатов — «золотого стандарта» — сопряжено в первую очередь с дефицитом пластического материала, а также с возможными негативными моментами, такими как болевой синдром, связанный с дополнительной травматизацией и осложнениями в виде образования послеоперационной гематомы и присоединения инфекции.

Не лишено ряда проблем, а также трудностей, применение и аллогенных тканей, к ним относятся: заготовка трансплантатов, взятых от трупа, необходимость консервации или надежной стерилизации и хранения препаратов в определенных условиях. Известны и негативные моменты применения аллотрансплантатов — аллергические реакции, инфекционные осложнения, медленная перестройка трансплантата.

Наконец, может возникать и деонтологическая проблема — материал изымается из тела мертвого человека. Это может вызвать у пациентов чувство брезгливости и недоверия из-за необычности материала, боязнь осложнений и даже психические стрессы [6].

В последнее время в нашей стране и за рубежом все больше внимания уделяется инновационным клеточным технологиям.

Нужно отметить, что основы учения об остеогенных клетках костного мозга — производных его стромы — заложены еще в начале XX в. А. А. Максимовым — основоположником учения о крови и соединительной ткани, открывшим «стволовые» клетки.

Вопрос о возможности применения культуры аутогенных мезенхимальных стволовых клеток костного мозга при нарушении целостности длинных трубчатых костей изучался в эксперименте на животных [7–11]. Установлено, что пересаженная культура мезенхимальных стволовых клеток костного мозга обладает отчетливым индуцирующим и оптимизирующим влиянием на течение остеорепаративных процессов [10]. Более того, изыскания по оптимизации остеогенеза при дефектах длинной трубчатой кости, по мнению авторов, демонстрируют тенденцию на усиление репаративного остеогенеза, даже при инъекционном введении взвеси культивированных стволовых клеток [7].

В настоящий момент это инновационное направление научных исследований проходит начальную стадию. Несмотря на полученные многообещающие результаты экспериментальных исследований, многие аспекты клеточных технологий остаются малоизученными.

Цель исследования — оценить эффективность трансплантации мононуклеарной фракции клеток аутологичного костного мозга, содержащей мезенхимальные стволовые клетки и клетки предшественницы гемопоэза, в качестве дополнитель-

ной процедуры к хирургическому лечению больных с повреждениями опорно-двигательной системы.

Материал и методы. Основу работы составили 9 больных, которые находились на лечении на отделении травматологии и ортопедии Покровской больницы Санкт-Петербурга (Россия) в 2007–2012 гг. Характер повреждений опорно-двигательной системы был следующий: 2 — с открытыми длительно не срастающимися переломами костей голени, 1 — с закрытым оскольчатый переломом бедренной кости на границе верхней и средней третей, 4 — с закрытыми медиальными переломами шейки бедренной кости и 2 — с подкожными разрывами ахиллова сухожилия. Мужчин было 5, женщин — 4. Возраст больных варьировал от 21 до 66 лет, средний возраст составил 47,7 лет.

Среди причин травм можно отметить следующие: высокоэнергетичная травма (3): ДТП — 1, кататравма (падение с высоты) — 2; падение на горизонтальной плоскости (с высоты роста) — 4; перенапряжение мышц голени — 2. Сроки введения клеточного материала — от 1 до 3-х недель после травмы.

Процедура забора аутологичного костного мозга с последующей трансплантацией моноклеарной фракции клеток, как и хирургическое лечение повреждений, выполнялись на основании информированного согласия пациентов. Применяемая методика защищена патентом на изобретение № 2382614 [12].

Результаты исследования и обсуждение. Нами были предприняты попытки оптимизации процессов сращения при переломах костей и повреждениях ахиллова сухожилия посредством применения моноклеарной фракции аутологичного костного мозга. Во всех случаях были получены положительные результаты, заключающиеся в гарантированном сращении переломов и сухожилий в минимальные для данной локализации сроки, которые составляют для переломов длинных трубчатых костей до 4–6 месяцев, медиальных переломов бедренной кости — 7–8 месяцев, для ахиллова сухожилия — 8 недель [13], что, по нашему мнению, обусловлено местным оптимизирующим воздействием введенного аутологичного клеточного материала.

У 4 пациентов с закрытыми переломами шейки бедренной кости мы наблюдали консолидацию переломов в сроки до 5 месяцев от момента операции (обычно на это уходит 7–8 месяцев). У двух больных с подкожными разрывами ахиллова сухожилия мы отмечали сращение уже через 4 недели, что было верифицировано при помощи МРТ. Нужно отметить, что после введения моноклеарной фракции аутологичного костного мозга уже через 6 недель гистологически отмечалось восстановление структуры коллагеновых волокон поврежденного сухожилия. У 3 пациентов с диафизарными переломами длинных трубчатых костей рентгенологически мы отмечали консолидацию переломов: хорошо дифференцированные элементы периостальной и эндостальной костной мозоли видны уже через 6 недель после операции.

В качестве иллюстрации приводим анализ следующих клинических наблюдений с использованием моноклеарной фракции аутологичного костного мозга и без нее.

Больной К., 30 лет, 27.08.07 г. — высокоэнергетичная травма (кататравма), поступил на отделение травматологии и ортопедии СПб ГУЗ «Городская Покровская больница» с диагнозом: закрытый оскольчатый перелом правой бедренной кости на границе верхней и средней третей со смещением (рис. 1а). Повреждение по классификации АО 32-B2. После проведенного обследования больного 30.08.07 г. под спин-

номозговой анестезией путем пункции крыльев подвздошных костей таза иглами для миелотрансплантации с мандреном взят аутологичный костный мозг, объемом 100 мл. Затем под контролем ЭОП выполнен интрамедуллярный остеосинтез гвоздем с блокирующими винтами (рис. 1б, в). Место перелома бедренной кости при этом не обнажалось. Параллельно с этим полученный аутологичный костный мозг помещен в стерильный пластиковый контейнер, после чего при помощи системы клеточной сепарации «Serax S-100» выделена моноклеарная фракция в количестве 12 мл, содержащая мезенхимальные стволовые клетки ($9,2 \times 10^7$ моноклеарных клеток/мл). Под ЭОП-контролем она путем инъекции введена в место перелома бедренной кости. Внешнюю иммобилизацию не применяли.

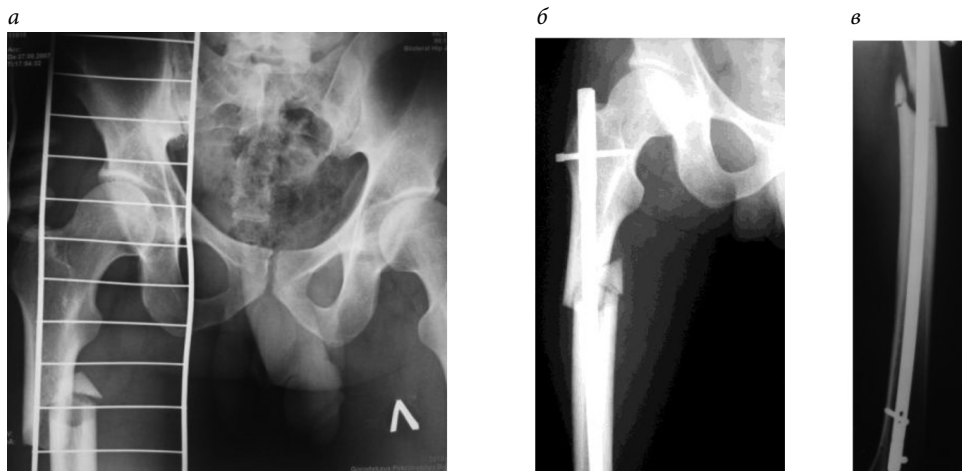


Рис. 1. Рентгенограммы 6-го К.:

а — до операции; б, в — сразу после операции интрамедуллярного шинирования стержнем с блокирующими винтами.

Процесс репаративной регенерации костной ткани оценивали в динамике по результатам рентгенологического обследования через 6, 12 и 24 недели. В качестве контроля использовано клиническое наблюдение со схожим по механизму повреждением, при идентичном характере и локализации перелома, аналогичной методике оперативного лечения с использованием идентичного имплантата для металлоостеосинтеза, но без дополнительного применения моноклеарной фракции аутологичного костного мозга. Послеоперационное ведение больных было аналогично.

Приводим выписку контрольного клинического наблюдения: больная Ш., 18 лет, 17.10.07 г. — высокоэнергетичная травма (ДТП), поступила на отделение травматологии и ортопедии СПб ГУЗ «Городская Покровская больница» с диагнозом: закрытый оскольчатый перелом правой бедренной кости на границе верхней и средней третей со смещением (рис. 2а). Повреждение по классификации АО 32-B2. После проведенного обследования больной 25.10.07 г. под спинномозговой анестезией под контролем ЭОП выполнен интрамедуллярный остеосинтез гвоздем с блокирующими винтами (рис. 2б, в). Место перелома бедренной кости при этом также не обнажалось. Внешнюю иммобилизацию не применяли.

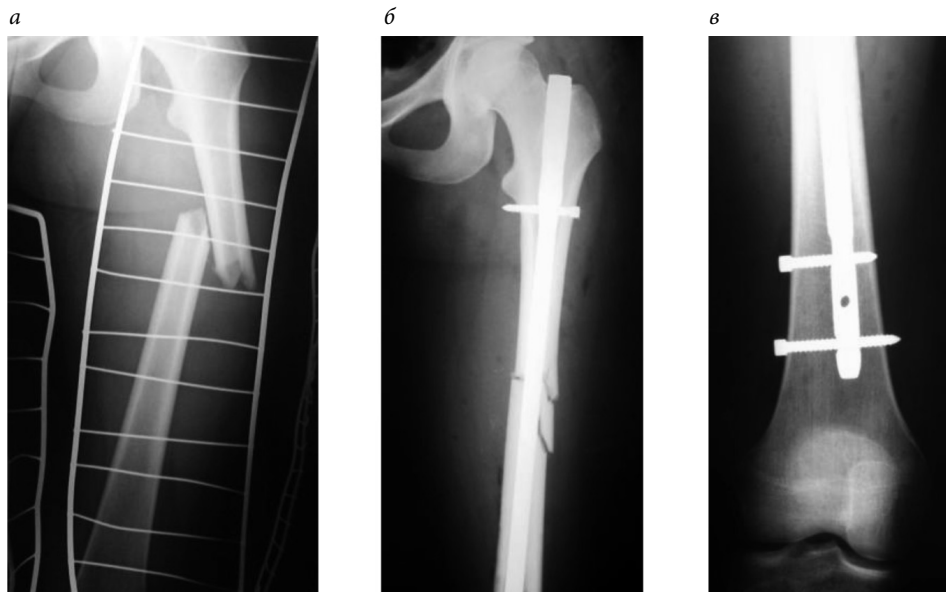


Рис. 2. Рентгенограммы 6-ной Ш.:

а — до операции; *б, в* — сразу после операции интрамедуллярного шинирования стержнем с блокирующими винтами.

Рентгенологический контроль через 6 недель после операции выявил следующие результаты: у пациента К., которому была введена моноклеарная фракция аутологичного костного мозга, отмечаются хорошо дифференцируемые элементы периостальной и эндостальной костной мозоли (рис. 3*а*). При этом обращает на себя внимание отсутствие (лизис) костного кортикального осколка, имевшегося ранее в месте перелома бедренной кости (рис. 1). У больной Ш. (без введения моноклеарной фракции аутологичного костного мозга) имеют место лишь слабо дифференцируемые элементы только периостальной костной мозоли (рис. 3*б*).

Сравнительный рентгенологический контроль через 12 недель после операции выявил, что у пациента К. элементы костной мозоли хорошо дифференцируются, линия перелома прослеживается лишь частично по наружной поверхности бедренной кости. Также обращают на себя внимание выраженные участки оссификации по внутренней поверхности бедренной кости (рис. 4*а*). На рентгенограмме больной Ш. дифференцируются лишь элементы периостальной и эндостальной костной мозоли, при этом линии перелома четко прослеживаются на всем протяжении, явно визуализируется и костный осколок по наружной поверхности бедренной кости (рис. 4*б*).

Анализ рентгенограмм через 24 недели после хирургического вмешательства показал полную консолидацию перелома бедренной кости у больного К. (рис. 5*а*). У больной Ш. прослеживается линия перелома. Дифференцируются элементы периостальной и эндостальной костной мозоли (рис. 5*б*).

Таким образом, результаты клинического применения моноклеарной фракции аутологичного костного мозга свидетельствуют о том, что при трансплантации

Рис. 3. Сравнительные рентгенограммы через 6 недель после операций:

а — рентгенограмма 6-го К.: хорошо дифференцируются элементы периостальной и эндостальной костной мозоли; *б* — рентгенограмма 6-ной Ш.: слабо дифференцируются элементы периостальной костной мозоли.

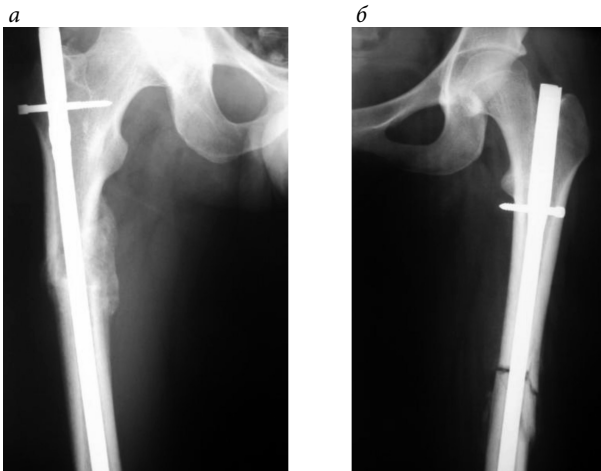


Рис. 4. Сравнительные рентгенограммы через 12 недель после операций:

а — рентгенограмма 6-ного К.: элементы костной мозоли хорошо дифференцируются, линии перелома прослеживаются частично; *б* — рентгенограмма 6-ной Ш.: дифференцируются элементы периостальной и эндостальной костной мозоли. Линии перелома четко прослеживаются.

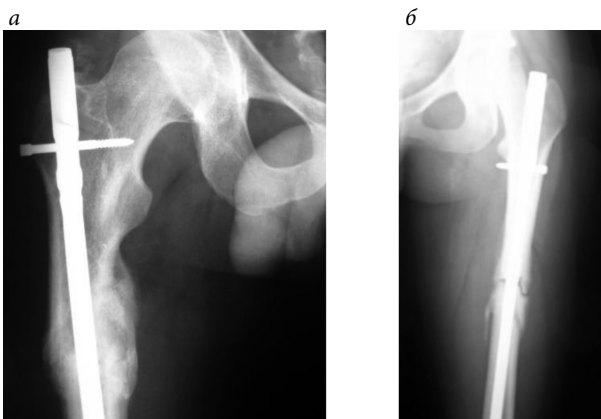


Рис. 5. Сравнительные рентгенограммы через 24 недели после операций:

а — рентгенограмма 6-ного К.: перелом полностью консолидирован; *б* — рентгенограмма 6-ной Ш.: частично прослеживаются линии перелома. Дифференцируются элементы периостальной и эндостальной костной мозоли.



в место перелома она обладает выраженным остеоиндуцирующим и оптимизирующим действием на течение процессов репаративной регенерации костной ткани и может быть использована в клинической практике в качестве дополнительной технологии к хирургическому лечению больных с повреждениями опорно-двигательной системы.

Литература

1. Савинцев А. М., Смолянинов А. Б., Булгин Д. В. и др. Перспективы применения клеточных технологий в травматологии и ортопедии // Травматология и ортопедия России. 2007. № 4 (46). С. 58–60.
2. Bourne G. H. The Biochemistry and Physiology of Bone. 2nd ed. London; New York: Academic Press, 1972. P. 2–77.
3. Owen M. Histogenesis of bone cells // Calcif. Tissue Res. 1978. Vol. 18, N 25. P. 205–207.
4. Shatteman G. C., Drunwald M., Jiao C. Biology of bone marrow-derived endothelial cell precursors // Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. 2007. Vol. 292, N 1. P. 1–18.
5. Kristek D., Lovrić I., Kristek J. et al. Kata Sakić Radiographic and functional results of osteosynthesis using the proximal femoral nail antirotation (PFNA) in the treatment of unstable intertrochanteric femoral fractures // Collegium Antropologicum. 2010. Vol. 44, Issue 3. P. 937–940.
6. Никитин Г. Д., Корнилов Н. В., Линник С. А., Ефимов В. Н. Аллотендопластика при лечении повреждений мышц, сухожилий и связок. СПб.: ППМИ, 1994. 256 с.
7. Деев Р. В., Цупкина Н. В., Иванов Д. Е. и др. Результаты трансплантации культуры аутогенных стромальных клеток костного мозга в область краевого дефекта длинных трубчатых костей // Травматология и ортопедия России. 2007. № 2 (44). С. 57–63.
8. Денисов-Никольский Ю. И., Миронов С. П., Омеляненко Н. П., Матвейчук И. В. Актуальные проблемы теоретической и клинической остеопатологии. М.: Новости, 2005. 336 с.
9. Bertoldi C., Pinti M., Zaffe D. et al. Morphological, histochemical and functional analysis of platelet-rich plasma activity on skeletal cultures cells // Transfusion. 2009. Vol. 49 (8). P. 1728–1737.
10. Вольперт У. В., Янушевич О. О., Григорьян А. С. и др. Заживление костных дефектов ветви нижней челюсти кроликов под биоинженерными конструкциями из титана и золотого сплава с ксенотенными мезенхимальными стволовыми клетками // Стоматология. 2009. С. 4–8.
11. Чиссов В. И., Свиридова И. К., Сергеева Н. С. и др. Изучение in vivo биосовместимости и динамики замещения дефекта голени у крыс пористыми гранулированными биокерамическими материалами // Клеточные технологии в биологии и медицине. 2008. № 3. С. 151–156.
12. Патент на изобретение № RU 2382614 от 27.02.2010. «Способ лечения переломов длинных трубчатых костей». Авторы: Савинцев А. М., Хурцилава О. Г., Смолянинов А. Б., Булгин Д. В.
13. Юмашев Г. С., Горшков С. З., Силин Л. Л. и др. Травматология и ортопедия // Медицина. 1990.

Статья поступила в редакцию 15 августа 2013 г.