

© Наку В.Е.

УДК 611.018.4

ОПТИМИЗАЦИЯ КОСТНОЙ РЕГЕНЕРАЦИИ ПРИ НАРУШЕНИИ РЕПАРАТИВНОГО ОСТЕОГЕНЕЗА ДЛИННЫХ КОСТЕЙ

В.Е.Наку

Кафедра оперативной хирургии и топографической анатомии, лаборатория тканевой инженерии и клеточной трансплантации (зав. – проф. Б.М.Топор) Государственного университета медицины и фармации им. Н.А.Тестемицану, г. Кишинев (Молдова)

Резюме. Оптимізація кісткової регенерації при порушенні репаративного остеогенезу довгих кісток. У статті наведені результати дії фетальної ксеногенної ліофілізованої клітинної культури і аутологічних кістковомозкових клітин, застосованих окремо та в комбінації з демінералізованим кістковим матриксом, на процес регенерації кісткової тканини в довгих кістках. Дані морфоіндуктивні біологічні препарати використані для лікування асептичних сповільнених консолидацій та несправжніх суглобів довгих кісток у 68 хворих із задовільними результатами.

Ключові слова: кістковомозкові клітини, регенерація кістки.

В настоящее время во всем мире растет количество техногенных травм опорно-двигательного аппарата. Согласно данным Charles Taylor (1996), в США ежегодно подвергаются лечению около 2 млн. переломов длинных костей. Из них у 5 % процесс консолидации заканчивается псевдартрозом.

Хирургический метод лечения с использованием аутогубчатой кости из крыла подвздошной кости травмирует донорскую область, сопровождается послеоперационными болями и эстетическими дефектами и не всегда приводит к ожидаемому результату [1].

Использование морфоиндуктивных препаратов для стимуляции костной регенерации сопровождается попытками найти новые методы и материалы (В.Торор 1992; Р.Сіобану, 1994). В то же время лечение состояний, связанных с замедлением или остановкой процесса регенерации, остается трудной клинической проблемой [2].

В настоящее время основополагающим инструментом в регенерационной медицине является трансплантация клеток. Клеточная терапия может быть использована самостоятельно (вводятся только взвесь клеток) или в сочетании с 3D конструкциями (тканевая инженерия).

Цель исследования. Изучить воздействие ксеногенной лиофилизированной клеточной

культуры и аутологических костномозговых клеток отдельно и в комбинации с деминерализованным костным матриксом на костную регенерацию длинных костей.

Материал и методы. Фетальная ксеногенная лиофилизированная клеточная культура представляет собой первичную культуру, полученную из 8-12-дневных перепелиных эмбрионов, культивируемую в течение двух недель на питательных средах по специальной методике. Суспензия клеток с концентрацией в 15 млн. клеток в 1 мл распределяется по флакончикам и подвергается лиофилизации. Непосредственно перед употреблением растворяется физиологическим раствором и в зависимости от размеров кости вводится от 2 до 8 мл культуры. Аутологичные костномозговые клетки получены из крыла подвздошной кости путем пунктирования иглами для пункции костного мозга. Полученный биоптат обрабатывается и взвесь клеток культивируется на питательных средах с использованием стимулирующих рост факторов. Используются культуральные среды Eagle с 15 % эмбриональной бычьей сывороткой. Культивирование происходило при 5 % концентрации CO₂ в инкубаторе фирмы BINDER. Комбинированный трансплантат состоит из аутологичных костномозговых клеток в комбинации с аллогенным деминерализованным костным матриксом. Перед использованием взвесь клеток перемешивается с деминерализованным матриксом и специальным шприцом вводится в зону несращенного перелома. Количество деминерализованного матрикса

зависит от объема дефекта кости или от размеров кости. Для длинных костей объем введенной смеси может составить от 2 до 20 мл. Для целенаправленного введения в область нарушенного сращения кости процедура производится под рентгенологическим контролем или с использованием электронно-оптического преобразователя (ЭОП).

Исследования произведены на 68 больных с посттравматическими осложнениями в виде замедленного сращения или псевдартрозов длинных костей верхней (24) и нижней (44) конечностей. По локализации патологического процесса пациенты распределились следующим образом: с несращенным переломом ключицы – 1, на уровне плечевой кости – 9, лучевая кость – 5, локтевая – 4, обе кости предплечья – 5, шейка бедренной кости – 3, бедренная кость в средней и дистальной трети – 12, замедленные сращения и псевдартрозы большеберцовой кости – 38. Для стимуляции остеогенеза лиофилизированный ксеногенный трансплантат использован в 36 случаях, аутологические костномозговые клетки – в 32 случаях, в 7 из которых использован комбинированный трансплантат. Морфоиндуктивный препарат администрирован путем инъекции в патологический очаг в большинстве случаев один раз. В 12 случаях необходима была повторная инъекция. Для иммобилизации конечностей использованы ортопедические и хирургические методы, адекватные уровню перелома и поврежденного сегмента. Для определения результатов лечения использованы следующие методы исследований: клинические, рентгенологические и сцинтиграфия с радионуклидами (^{99}Tc).

Результаты исследования и их обсуждение. У 5 больных (75,7 %) получены удовлетворительные результаты, 7 пациентов (10,6 %) находятся в процессе наблюдения, у 2 (3,1 %) пациентов результат неизвестен, в 7 (10,6 %) случаев метод оказался неэффективным. Пластические и биостимулирующие свойства морфоиндуктивных материалов, а также разработанная техника его применения позволяют использовать его как в больничных, так и в амбулаторных условиях при остеогенно-дефицитных состояниях (ложные суставы и небольшие дефекты трубчатых костей). Осложнений при применении биопрепарата в клинике не отмечено. Приводим клиническое наблюдение.

Больная Н., 29 лет, 21 месяц после открытого перелома правого бедра и центроремедилярного остеосинтеза. Сращение отломков отсутствует. В соответствии с рентгенологической картиной установлен диагноз – псевдартроз средней трети бедренной кости (рис. 1). Под ин-

фильтративной анестезией 2 % раствором лидокаина в область псевдартроза введены около 120 млн. клеток в суспензии. Рентгенологические исследования произведены через 2, 6 и 12 мес. К 12 мес. установлено полное сращение отломков, фиксаторы удалены (рис. 2).

В некоторых случаях, несмотря на хорошее сопоставление отломков и использование адекватного метода фиксации, сращение отломков не наступает. Для активизации процессов регенерации костной ткани предложены различные методы и препараты (гормональные, витамины,



Рис. 1. Псевдартроз в средней трети бедренной кости. Больная Н., 29 лет. 21 месяц после травмы и центроремедилярного остеосинтеза.

ферменты, иммуномодуляторы, адаптогены, органические и неорганические микромолекулы). Из механических методов лечения чаще используются аппараты внешней фиксации, которые позволяют произвести компрессию и дисстракцию отломков. В большинстве случаев этот метод эффективен. В то же время необходимо длительное время держать аппарат для внешней фиксации (в некоторых случаях больше года), что делает этот метод мучительным для больного. Другим недостатком аппаратов для внеочагового остеосинтеза являются то, что спицы пробивают ткани и могут развиваться различные осложнения.

Аутоотранспланты, особенно губчатая кость,

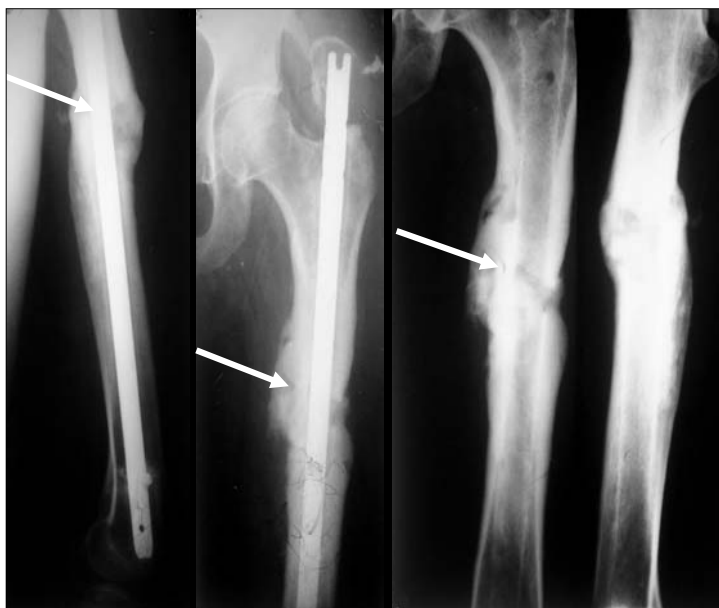


Рис. 2. Полное сращение костных отломков через 12 месяцев после введения клеточной культуры (металлические фиксаторы удалены).

считается золотым стандартом среди костных трансплантатов и обычно берется из крыла подвздошной кости. Используются и трансплантаты на сосудистой ножке которые берутся из малоберцовой и лучевой кости, лопатки. Использование сосудистого анастомоза, наложенного с помощью микрохирургической техники, имеет преимущества, поскольку сразу начинается активный процесс регенерации. Но возрастает продолжительность операции и этот метод прямо зависит от наличия дорогостоящих микрохирургической техники и инструментария. Размеры трансплантата ограничены, имеется дополнительная травма донорской области. Костный трансплантат на сосудистой ножке тоже нуждается в определенном времени, необходимом для интеграции в область пересадки.

Собственные и аллогенные клеточные культуры имеют выраженный остеоиндуктивный эффект. Многими авторами показана возможность этих клеток индуцировать остеогенез при их расположении вне скелета, включительно в диффузионных камерах. При введении в область нарушенного нормального остеогенеза эти клетки и факторы роста, которые вырабатываются ими, стимулируют клетки тканей реципиента. Но из-за жидкостной формы клеточная суспензия не удерживается непосредственно в месте введения. Комбинированные трансплан-

таты различаются как по структуре составляющей основы (служат каркасом для роста новых тканей), так и по активным веществам, которые содержатся в нем. Основа, которая имеет пористую структуру, может быть биологического происхождения (костный деминерализованный матрикс животного происхождения, гидроксиапатит) или синтетической природы [3-5].

Активными веществами могут быть экстракты из фетальных тканей, различные факторы роста, клеточные культуры, которые действуют как индуктор, стимулируя образование новых тканей из клеток реципиента. И деминерализованный матрикс, и клеточные культуры имеют высокие остеоиндуктивные свойства и их комбинация позволяет получить трансплантат необходимой формы, с хорошими физическими и механическими качествами. Этот трансплантат благодаря вязкости костного матрикса удерживается в месте введения и активизирует целенаправленно замедленный или остановленный процесс регенерации.

Независимо от трансплантата и методов использованных для стимуляции остеогенеза, успех может быть только в случае соблюдения следующих условий: 1) стабильная иммобилизация (остеосинтез) костных отломков, а также трансплантатов по отношению к ним; 2) обеспечение адекватного питания тканей и васкуляризации трансплантов (толщина трансплантата не должна превышать 2 см); 3) костный мозг обладает выраженными антигенными свойствами и может провоцировать реакцию "хозяин против трансплантата", поэтому при аллотрансплантации эти элементы нужно удалить.

Считаем обязательным условием наличие в трансплантатах биоактивных, морфоиндуктивных веществ – факторов, которые значительно влияют на процесс регенерации тканей. Клеточные трансплантаты, рассмотренные в данной работе, обладают данными свойствами, не провоцируют физиологические изменения и не нарушают метаболизм в зоне введения, биологически совместимы и интегрируются в ткани организма человека.

Выводы. 1. Лиофилизированные ксеногенные и аутологичные костномозговые клетки являются эффективным средством для миниинвазивного лечения замедленных консолидаций и псевдартрозоз длинных костей. 2. Исходя из этических соображений, иммунного ответа и

исключения возможности передачи инфекций, использование аутологичных клеточных культур является приоритетными. 3. Морфоиндуктивные препараты обеспечивают васкуляризацию, регенерацию и ремоделирование костной ткани.

Литература

1. Ababii I., Ciobanu P., Esanu N. et al. Actualitati si perspective in transplantarea celulara // Curierul Medical. – 2005. – № 3 (285). – P. 42-47. 2. Urist M.R. Bone: Formation by Autoinduction // Clinical Orthopedics and Related Research. – 2002. – № 395. – P. 4-116. 3. Chailakhyan R.K., Gerasimov Yu.V., Chailakhyan M.R. Cell technologies: from fundamental investigations to practice // Materials of XIV international conference and debating scientific club "New information technologies in medicine, biology, pharmacology and ecology" (Ukraine, Krim, 31 mai – 9 june 2006). – 2006. – P. 92-93. 4. Seiya J., Chen W., Iwamoto Y. Delivery of BMPs for Bone Formation // The 5th International Conference on Bone Morphogenetic Proteins: Abstract book. – NAGOVA, 2004. – P. 69. 5. Reyes M., Lund T., Lenvik T. et al. Purification and ex vivo expansion of postnatal human marrow mesodermal progenitor cells // Blood. – 2001. – V. 98. – P. 2615-2625.

ОПТИМИЗАЦИЯ КОСТНОЙ РЕГЕНЕРАЦИИ ПРИ НАРУШЕНИИ РЕПАРАТИВНОГО ОСТЕОГЕНЕЗА ДЛИННЫХ КОСТЕЙ

В.Е.Наку

Резюме. Представлены результаты воздействия фетальной ксеногенной лиофилизированной клеточной культуры и аутологичных костномозговых клеток, использованных отдельно и в комбинации с деминерализованным костным матриксом, на процесс регенерации костной ткани. Морфоиндуктивные биологические препараты использованы для лечения асептических замедленных консолидаций и ложных суставов у 68 больных с удовлетворительными результатами.

Ключевые слова: костномозговые клетки, регенерация кости.

OPTIMIZATION OF BONE REGENERATION WITH REPARATIVE OSTEOGENESIS OF THE LONG BONES

V.Ye.Naku

Abstract. The paper submits the results of the action of a fetal xenogenic lyophilized cell culture and autologous bone marrow cells used separately and in combination with demineralized bone material on the process of regeneration of the osseous tissue in the long bones. These morphoinductive biological agents have been used for the treatment of aseptic delayed unions and false joints of the long bones in 68 patients with satisfactory results.

Key words: bone marrow-derived cells, bone regeneration.

N.A.Testemitsanu State University of Medicine and Pharmacy (City of Kishinyov, Moldova)

Надійшла 07.02.2007 р.
Рецензент – проф. І.М.Рубленік (Чернівці)