

Регенеративні та клітинні технології в лікуванні ушкоджень опорно-рухового апарату у військовослужбовців

АКТУАЛЬНІСТЬ

Ушкодження опорно-рухового апарату у військовослужбовців в наслідок російської військової агресії займає перше місце та складає 80,2% від всіх отриманих ушкоджень. У зв'язку з цим надзвичайно актуальним є залучення новітніх регенеративних та клітинних технологій в лікуванні ушкоджень опорно-рухового апарату, що забезпечує покращення лікування та прискорює повернення військовослужбовців до їх професійної діяльності, тим самим зміцнюючи обороноспроможність нашої держави.



МЕТА РОБОТИ

Покращити результати лікування ушкоджень опорно-рухового апарату у військовослужбовців за допомогою клітинних регенеративних технологій, як самих по собі, так і в комбінації з хірургічним лікуванням.



Об'єкт дослідження

483 військових та в рамках експериментальної частини дослідження – 48 кролів і 219 щурів.



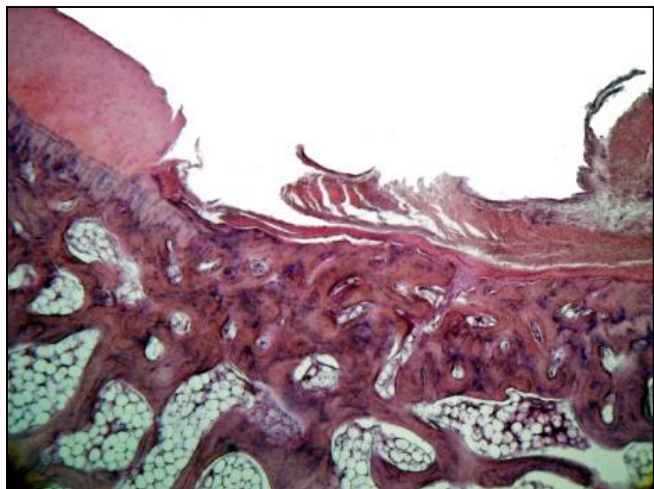
МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

1. Клінічний
2. Рентгенологічний
3. Сонографічний
4. Артроскопічний
5. Лабораторний
6. Гістоморфологічний
7. Флуоресцентної мікроскопії та аналітико-статистичний методи.



Результати роботи

- Робота, вирішує актуальну наукову та медичну проблему сьогодення – лікування ушкоджень опорно-рухового апарату, зокрема ушкоджень суглобового хряща, сухожиль, кісток, а також ішемізованих м'язів у військовослужбовців із використанням регенеративних та клітинних технологій. У результаті експериментального дослідження поглиблено знання та продемонстровано позитивний лікувальний ефект мезенхімальних стовбурових клітин, аутологічних фібробластів і аутологічної плазми багатьох факторами росту на перебіг регенеративних процесів при ушкодженнях опорно-рухового апарату в дослідних тварин, з подальшим впровадженням отриманих результатів в лікуванні військовослужбовців.
- У роботі також експериментально доведено, що аутологічні мезенхімальні стовбурові клітини (АМСК) кісткового мозку безпосередньо беруть участь у процесах хондрорепації при їх внутрішньосуглобовому введенні, що призводить до формування в ділянці дефекту суглобового хряща гіаліноподібної тканини, причому достовірно кращий результат при застосуванні недиференційованої культури АМСК у порівнянні з культурою із спрямованим хондрогенним диференціюванням.



Відшарування фіброзної тканини від підхрящової кісткової пластини. Надколінкова поверхня стегнової кістки через 45 днів після механічного нанесення дефекту СХ в умовах плацебо. Гематоксилін та еозин, x 20.



Формування гіаліноподібної тканини з явищами гіперплазії в зоні дефекту. Надколінкова поверхня через 45 днів після механічного нанесення дефекту СХ та введення культури аутологічних МСК кісткового мозку з попередньо спрямованим хондрогенним диференціюванням. Гематоксилін та еозин. x 20

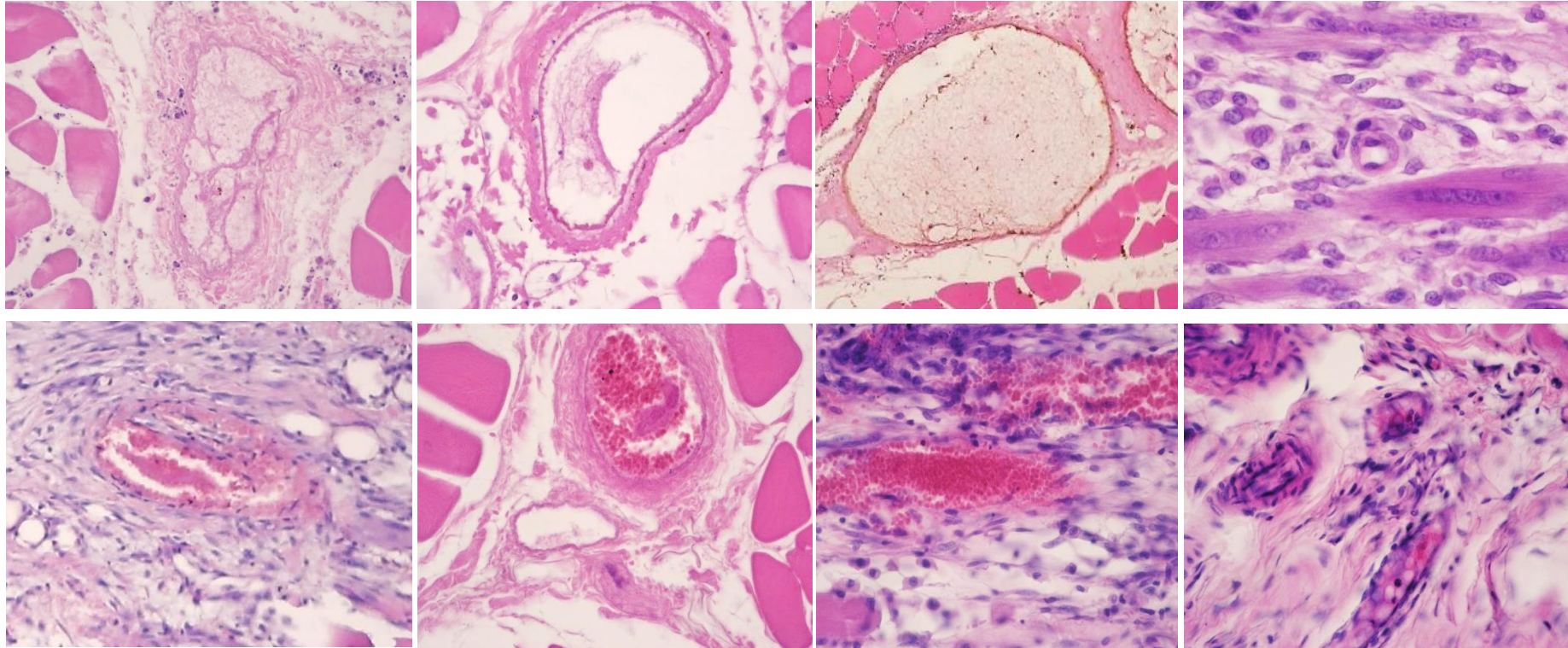
Результати роботи

- Експериментально встановлено, що внутрішньосухожильне введення АПБФР позитивно впливає на відновлення структурно-функціонального стану тканини сухожилля та його міцнісні характеристики, при цьому процес дозрівання сухожильних регенератів відбувається більш швидкими темпами при застосуванні АПБФР, отриманої шляхом подвійного центрифугування, у порівнянні з менш інтенсивними режимами центрифугування.
- Гістологічно ж доведено, що локальне введення культури КрАМСК найефективніше сприяє репаративному відновленню структурної організації тканини сухожилля на 7 та 21 добу з практично повним відновленням її структури та міцності на 45 добу спостереження, а також сприяє нормалізації вмісту колагену I типу в тканині сухожилля, причому локальне введення КрАМСК характеризується значно вираженішим регенеративним ефектом за генералізоване.
- Отримані дані можуть бути використані для обґрунтування та розробки нових методик застосування у клінічній практиці з метою лікування дегенеративних ушкоджень сухожиль та суглобового хряща.
- Доведено підвищення ефективності від консервативного та хірургічного лікування тендинопатій, позасуглобової та інгвінальної форм синдрому пахвинного болю у військових, ARS-синдрому та ушкоджень суглобового хряща при введенні АПБФР в зону ушкодження, визначені оптимальні режими та способи їх застосування.
- На основі отриманих даних розроблено та впроваджено в клінічну практику технологію введення суміші аспірату кісткового мозку та жирової тканини в ішемізовані ділянки скелетних м'язів в реактивно-відновлювальному періоді ішемічної контрактури.



Гістологічні дослідження впливу локального та генералізованого введення КрАММСК кісткового мозку на регенерацію Ахіллових сухожиль щурів з тендопатією

РЕЗУЛЬТАТИ



гематоксилін-еозин, x400

5 доба - некроз стінки судини, фібрин у судинах.

15 доба - відновлення перфузії у судинах середнього калібру. Розвиток сполучної тканини. Збільшення щільності новоутворених судин після введення BMAC та SVF

30 доба – відновлення судинної сітки, гіпертрофією м'язових елементів у стінці артерій. Щільність новоутворених судин збільшена після введення BMAC та SVF

BMAC та SVF стимулюють васкуляризацію ділянок некрозу м'язів!

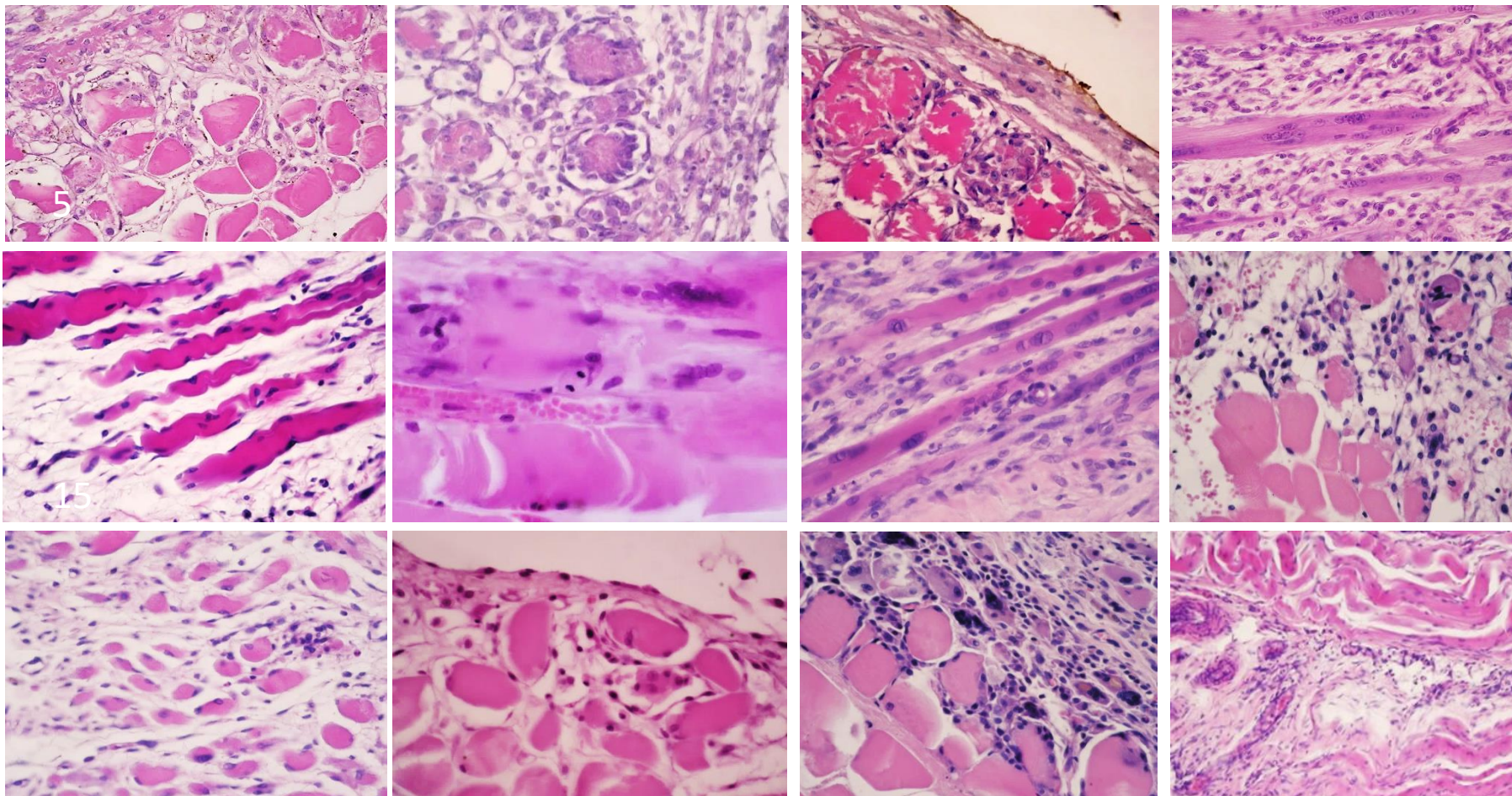
ішемія

rpr

BMAC

SVF

РЕЗУЛЬТАТИ



PRP та BMAC стимулювали регенеративні процеси у м'язових волокнах. SVF у рівній мірі з позитивним ефектом мала негативні наслідки – некроз та запалення (недоліки підготовки SVF до застосування).

гематоксилін-еозин, x400

ішемія

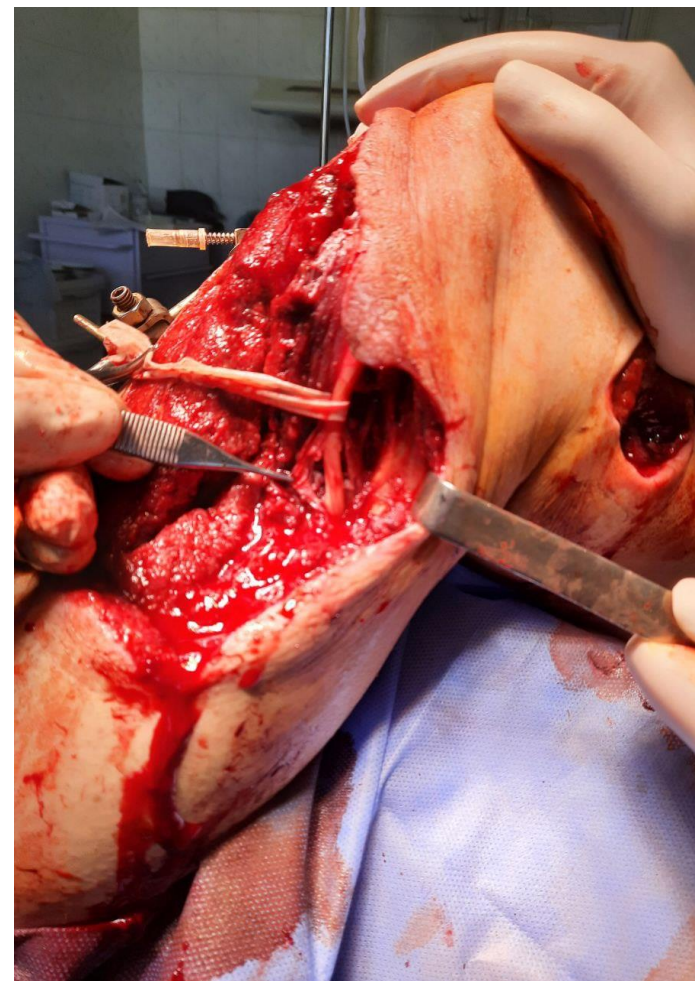
prp

BMAC

SVF

Клінічний приклад 1

У пацієнта К. - Множинні вогнепальні осколкові наскрізні поранення правого плеча та передпліччя, правого стегна (10.07.22). Вогнепальний багатотламковий внутрішньосуглобовий черезнадвиростковий перелом правої плечової кістки зі зміщенням уламків. Дефект м'яких тканин н/З правого плеча. Стан після ПХО, ПВЧКО в АЗФ закриття дефекту тканин VAC пов'язкою. Пошкодження ліктьового нерва правої верхньої кінцівки. Вогнепальні рани правого стегна, після ПХО. Стан після МОС дистальної третини правої плечової кістки.



Клінічний приклад 1

Виконано: Декомпресію, невроліз або ендоневроліз периферичного нерва або плечового сплетення; Ревізія правого

серединного та ліктьового нерва на рівні передпліччя та дистальної третини плеча, невроліз правого серединного та ліктьового нерва на рівні проксимальної третини передпліччя, ліпофілінг зони невролізу та використання регенераторних технологій в цільову групу м'язів;

Забір аспірату жирової тканини передньої черевної стінки.; Забір аспірату кісткового мозку крила правої клубової кістки.



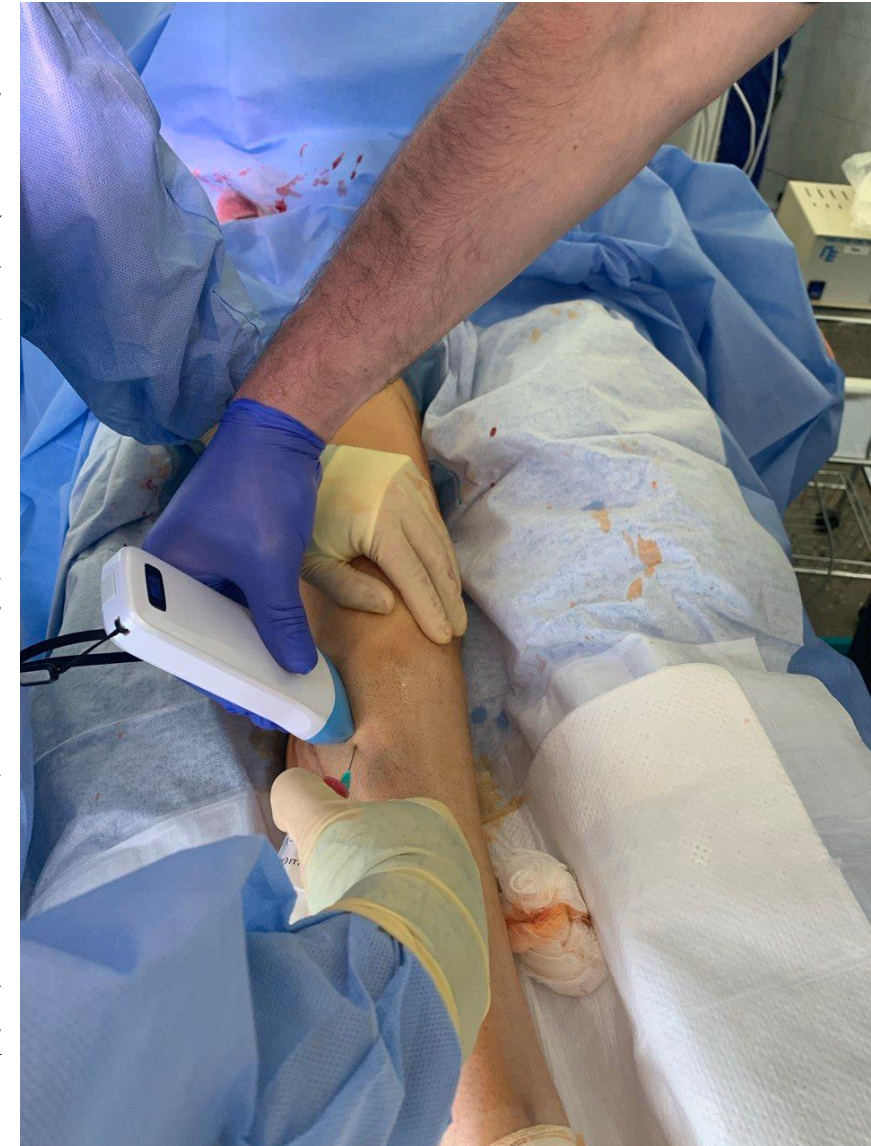
Клінічний приклад 2

Пацієнт М.Стан після використання клітинних регенеративних технологій, МОС КДАЗФ дистального метаепіфізу лівої стегнової кістки. Стан після аутодермопластики дефекту шкіри правої стопи.



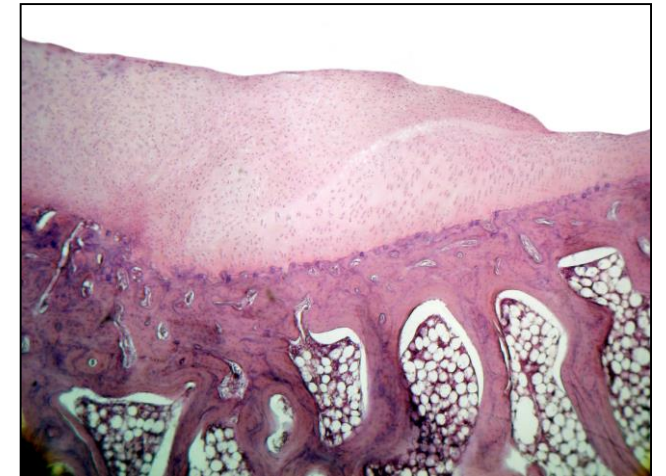
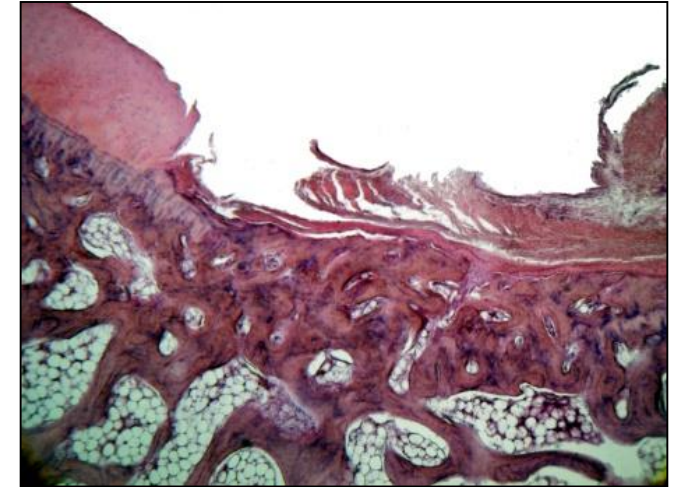
Наукова новизна одержаних результатів на світовому рівні

- доведено в експерименті, що внутрішньосуглобове введення недиференційованої культури АМСК кісткового мозку позитивно впливає на перебіг репаративного хондрогенезу при механічному травматичному ушкодженні суглобового хряща, а саме призводить до формування в ділянці дефекту гіаліноподібної тканини, яка повністю заповнює травматичний дефект при обмежених або відсутніх дистрофічних і некротичних змінах у суглобовому хрящі;
- доведено в експерименті, що попередньо спрямоване хондрогенне диференціювання культури АМСК кісткового мозку у порівнянні із недиференційованою культурою не сприяє оптимізації перебігу репаративного хондрогенезу, адже в ділянці дефекту суглобового хряща формується гіаліноподібна тканинина з явищами її гіперплазії на фоні явищ дистрофії, некрозу та осередкової проліферації хондроцитів по краях дефекту;
- встановлено експериментально, що внутрішньосуглобове введення АМСК при травматичному пошкодженні суглобового хряща на початкових етапах розвитку патологічного процесу стабілізує метаболічні процеси в хрящовій тканині, а в подальшому нормалізує їх, досягаючи фізіологічних норм, які характерні для інтактних тварин;
- доведено, що безпосередню участь у репаративному хондрогенезі при механічному травматичному ушкодженні суглобового хряща беруть саме імплантовані АМСК кісткового мозку;



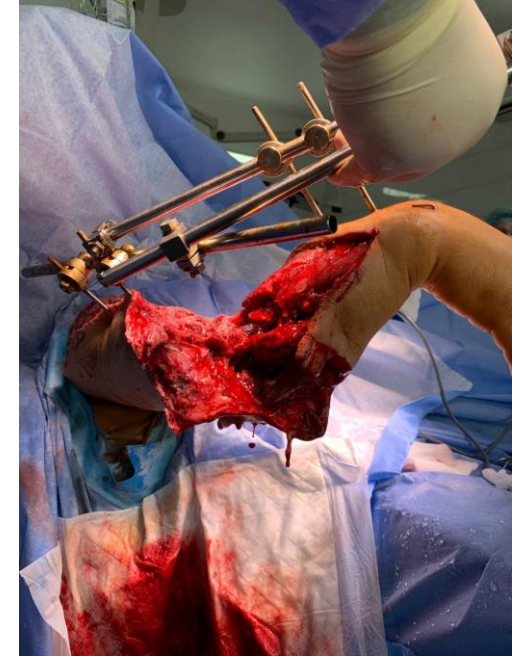
Наукова новизна одержаних результатів на світовому рівні

- вперше експериментально доведено, що наявність мічених за допомогою люмінесцентної мітки РКН-26 КрАМСК або їх дочірніх клітин у зоні ушкодження дегенеративно зміненого сухожилля на 7 та 21 добу після їх введення (трансплантації);
- вперше експериментально гістологічно встановлено, що локальне введення культури КрАМСК найефективніше сприяє репаративному відновленню структурної організації тканини сухожилля, що проявлялось змінами вже на 7 та 21 добу з практично повним відновленням її структури та міцності на 45 добу спостереження, а також сприяло нормалізації вмісту колагену I типу в тканині сухожилля; у той же час генералізоване введення КрАМСК характеризувалося менш вираженим регенеративним ефектом, а у контрольній групі тварин, патологічний процес мав тенденцію до прогресування. Отримані при цьому дані можуть бути використані для обґрунтування та розробки нових методик застосування КрАМСК у клінічній практиці з метою лікування дегенеративних ушкоджень сухожиль.
- вперше на підставі даних гістоморфологічного дослідження у хворих з позасуглобовими формами синдрому пахвинного болю військових встановлено стадії перебігу тендинопатій, що відповідають клініко-сонографічним даним;
- вперше за допомогою клінічного та сонографічного дослідження встановлено достовірно високу ефективність локального введення 2,0 мл АПБФР тричі ($p < 0,05$) у хворих з тендинопатією *m. iliopsoas* (psoas-синдром), *m. tensor fascia lata*; ARS-синдромом; визначено ефективність лікування в залежності від стадії захворювання;
- доведено переваги одночасного застосування локального введення 2,0 мл АПБФР тричі в комбінації з двократним локальним введенням 1,2 мл препарату 1 % гіалуронату натрію у фосфатно-сольовому буферному розчині при лікуванні хронічної стадії ARS-синдрому;
- вперше клінічно та ультрасонографічно встановлено достовірно високу ($p < 0,05$) ефективність обох видів оперативного лікування (із застосуванням АПБФР та без застосування АПБФР) навколосуглобової форми синдрому пахвинного болю військових (синдромів внутрішнього та зовнішнього клацаючого стегна) на всіх термінах спостереження, при цьому ефективність лікування залежала від локалізації та ступеня ушкодження, а патогномонічні симптоми, що супроводжували ці ушкодження, зникали вже на 21 добу спостереження.



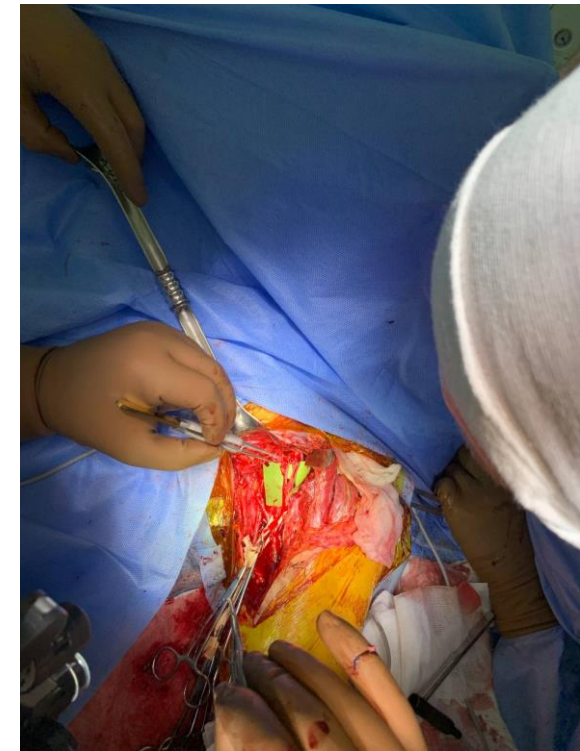
Наукова новизна одержаних результатів на світовому рівні

- вперше клінічно та ультразвукографічно встановлено достовірно високу ($p < 0,05$) ефективність обох видів оперативного лікування (із застосуванням АПБФР та без застосування АПБФР) позасуглобової форми синдрому пахвинного болю військових (ARS-синдрому) на всіх термінах спостереження, при цьому ефективність лікування була вищою у військових, оперованих за новою методикою (із застосуванням АПБФР);
- вперше клінічно та ультразвукографічно встановлено достовірно високу ($p < 0,05$) ефективність оперативного лікування тендинопатії привідних м'язів стегна у військових старшої вікової групи з двобічним ARS-синдромом III-IV стадії шляхом двобічної тенотомії *mm. adductor longus* (зменшення больового синдрому до $(0,57 \pm 0,29)$ балів вже на 21 добу та повернення військових до професійної діяльності після відновлення повної м'язової сили); методика рекомендується у разі відсутності ефекту від консервативного лікування;
- вперше клінічно та ультразвукографічно встановлено достовірно високу ($p < 0,05$) ефективність обох видів оперативного лікування (із застосуванням АПБФР та без застосування АПБФР) інгвінальної форми синдрому пахвинного болю військових (кила військового), при цьому ефективність лікування була вищою у військових, оперованих за новою методикою (із застосуванням АПБФР);
- вперше отримано наукові дані щодо впливу різних клітинних технологій на процеси регенерації ішемізованих скелетних м'язів внаслідок турнікетної ішемії кінцівок;
- поглиблено знання щодо якісних та кількісних характеристики структурних змін м'язової тканини у реактивно-відновлювальному періоді ішемічної контрактури під впливом клітинної терапії морфологічними та ультразвуковим методами досліджень;



Наукова новизна одержаних результатів на світовому рівні

- вперше в умовах експерименту проведено порівняльний аналіз впливу концентрату тромбоцитарної плазми, аспірату кісткового мозку та стромально-васкулярної фракції жирової тканини на перебіг атрофічних процесів м'язової тканини в умовах посттравматичної ішемії кінцівок;
- виявлено деякі ефекти (формування нових міотубу, появу додаткових міомер) впливу аспірату кісткового мозку на перебіг процесу атрофії м'язової тканини і активації регенерації м'язових волокон у реактивно відновлювальному періоді ішемічної контрактури;
- вперше досліджено зміни периферійних нервів кінцівки за умов посттравматичної ішемії та введення концентрату тромбоцитарної плазми, аспірату кісткового мозку та стромально-васкулярної фракції жирової тканини. Встановлено різницю щодо стійкості м'язової тканини і нервових стовбурів до посттравматичної ішемії, виявлено рівень збереження головних морфологічних структур нерва та топографічні особливості атрофії м'язів;
- на основі сонографії (даних ентропії) встановлено ефективність ультразвукового дослідження у оцінці стану м'язової тканини, встановлено переваги методу на 5 добу після пошкодження кінцівки;
- вперше на основі експериментальних та біохімічних досліджень було досліджено стан пероксидації та ферментів антиоксидантної системи пошкоджених скелетних м'язів за умов введення у м'язову тканину концентрату тромбоцитарної плазми, аспірату кісткового мозку та стромально-васкулярної фракції жирової тканини. Виявлено гіперпродукцією нітрит-аніону NO^{2-} у термін 5, 15 і 30 діб після турнікетної ішемії та позитивний ефект його зменшення після введення тромбоцитарної плазми і аспірату кісткового мозку, за рахунок відновлення глутатіонпероксидази як ферментативної ланки антиоксидантної системи, що вказує на відновні процеси у м'язовій тканині.



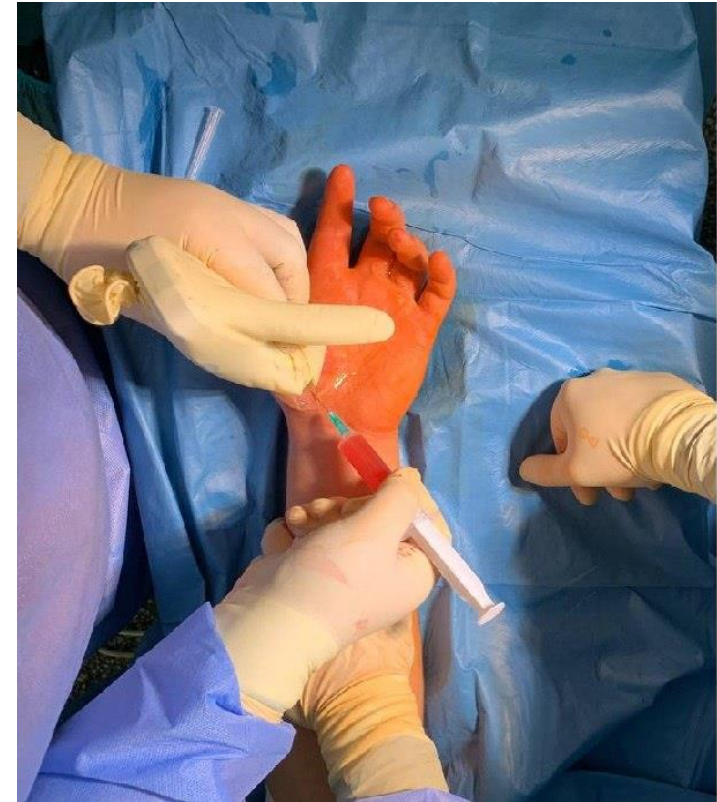
Практичне значення одержаних результатів

- Проведені експериментальні дослідження та отримані дані свідчать про позитивний вплив АМСК кісткового мозку на репаративний хондрогенез при травматичному пошкодженні суглобового хряща.
- Результати проведеного експериментального дослідження відкривають нові перспективні можливості застосування як локального, так і генералізованого введення мезенхімальних стовбурових клітин з метою лікування тендинопатій у клінічній практиці. Експериментальне доведення позитивного впливу внутрішньосухожильного введення АПБФР на відновлення структурно-функціонального стану тканини сухожилля, що проявляється припиненням прогресування дегенеративно-дистрофічних змін, активізацією регенеративного відновлення, ремоделюванням гістологічної структури та нормалізацією тинкторіальних властивостей сухожилля, супроводжується покращенням міцностних характеристик сухожилля на всіх строках спостереження, та відсутністю клиновидного дефекту від пошкодження сухожилля вже на 60 добу, а також більш швидкі темпи дозрівання сухожильних регенератів та супутньої поширеної реакції в кінцях розсічених сухожильних пучків у групі тварин де застосувалася АПБФР, отримана шляхом подвійного центрифугування, у порівнянні з групами де АПБФР одержували, використовуючи менш інтенсивні режими центрифугування обґрунтовує та дозволяє пропонувати лікування тендинопатій та ушкоджень сухожиль за допомогою АПБФР у військових, а також допомогти у виборі оптимальних способів її практичного отримання.



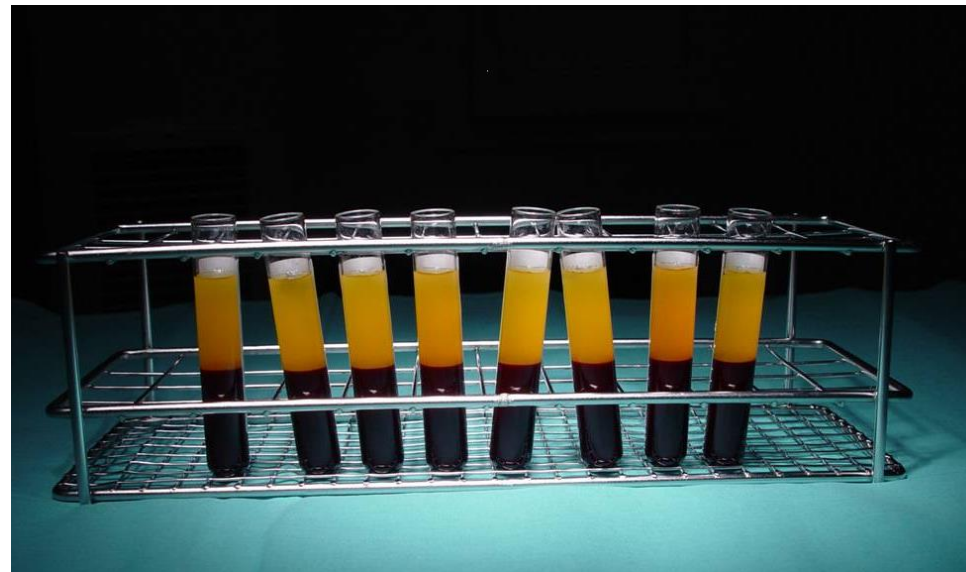
Практичне значення одержаних результатів

- Розроблена власна технологія використання аутологічної плазми багаті факторами росту сприяє отриманню більшої концентрації тромбоцитів та підвищує ефективність лікування ушкоджень опорно-рухового апарату у військових. Доведення більшої ефективності доповнення артроскопічного лікування військових з розривом медіального меніску та хондромаліцією колінного суглоба внутрішньосуглобовим введенням АПБФР та переваг застосування методики подвійного центрифугування розширює можливості та дозволяє покращити результати лікування військових.
- Розроблено диференційовані підходи до лікування ушкоджень суглобового хряща, кісток, м'язів, тендинопатій у військових із застосуванням клітинних регенеративних технологій самих по собі та в комбінації з іншими, в тому числі хірургічними, способами лікування, що дозволило покращити результати лікування та забезпечити повернення військовослужбовців до їх професійної діяльності.
- На основі отриманих даних розроблено та впроваджено в клінічну практику технологію введення суміші аспірату кісткового мозку та жирової тканини в ішемізовані ділянки скелетних м'язів в реактивно-відновлювальному періоді ішемічної контрактури.



Досягнутий ефект виконаної роботи

Полягає в тому, що вирішує актуальну наукову та медичну проблему лікування ушкоджень суглобового хряща, сухожиль, кісток, а також ішемізованих м'язів у військовослужбовців із використанням регенеративних та клітинних технологій. У результаті експериментального дослідження поглиблено знання та продемонстровано позитивний лікувальний ефект мезенхімальних стовбурових клітин, аутологічних фібробластів і аутологічної плазми багаті факторами росту на перебіг регенеративних процесів при ушкодженнях опорно-рухового апарату в дослідних тварин, з подальшим впровадженням отриманих результатів в лікуванні військовослужбовців.



Впровадження та публікація результатів наукової роботи

Матеріали дослідження висвітлені в 94 наукових працях, у тому числі: 9 патентів, 4 монографії, 60 статей у фахових виданнях, що входять до переліку ВАК України або індексовані в міжнародних базах даних, 21 теза у матеріалах науково-практичних конференцій. Крім того, запроваджено 2 нововведення, 8 актів впровадження, презентовано 26 доповідей, у тому числі і за кордоном. Захищені одна докторська та дві кандидатські дисертації. Загальна кількість цитувань робіт авторів за наукометричними базами даних становить відповідно – Web of Science – 139/5, Scopus – 222/7 та Google Scholar – 740/11.



ДУ Інститут
Травматології та Ортопедії
НАМН України

Бережи, Боже,
Україну
та її захисників!

