

СУЧАСНІ УЯВЛЕННЯ ПРО СТОВБУРОВІ КЛІТИНИ ТА ПЕРСПЕКТИВИ ЇХ ЗАСТОСУВАННЯ В ОРТОПЕДО-ТРАВМАТОЛОГІЧНІЙ КЛІНІЦІ

Наведено основні положення вчення про стовбурові клітини та обґрунтовано в експерименті можливість їх застосування в ортопедо-травматологічній клініці для лікування хворих з патологією опорно-рухової системи.

Ключові слова: стовбурові клітини, репаративний остеогенез, суглобовий хрящ, сухожилля.

Здатність тканин до фізіологічної та репаративної регенерації поки що не завжди приводить до повного відновлення структури та функції ушкоджених органів опорно-рухової системи [1]. Проте за останні роки завдяки досягненням біологічних наук запропоновано найновіші технології культивування клітин, які дозволяють управляти процесами проліферації та спрямовувати за бажанням їх диференціювання; розробляються та впроваджуються обнадійливі методи реституції ушкоджених органів та тканин. Тим часом, наведені у літературі результати підіймають низку нових проблем та складностей — від наявності імунологічного бар’єру до загрози зляккісного переродження трансплантованих клітин [9-11].

Історія розвитку та сучасні погляди на визначення та класифікацію стовбурових клітин

Термін “стовбура клітина” (СК) вперше запропонував відомий російський гістолог А. А. Максимов у 1908 р. на з’їзді товариства гематологів у Берліні. Найбільший поштовх у розвитку вчення про СК виник у другій половині ХХ ст. завдяки вченим, до яких у першу чергу слід віднести І. Л. Черткова, А. Я. Фриденштейна, М. Owen, М. Tavassoli та ін., які у 60-80-х роках минулого століття детально описали мор-

фологію та функцію мультипотентних стовбурових клітин (МСК) строми кісткового мозку [9]. СК можна розподілити на три основні групи залежно від джерела їх отримання: ембріональні, фетальні та постнатальні (СК дорослого організму). Це сприяло вивченню ролі МСК у процесах регенерації ушкоджених тканин дорослого організму. У 1998 р. J. A. Thompson та співавт. [20] вперше отримали ембріональні СК (ЕСК) із внутрішньоклітинної маси чотирьохденного людського ембріона. Ця подія була у 1999 р. визнана журналом *Science* третьою за значимістю у ХХ ст. після розшифрування ДНК і програми “Геном людини” [18].

У сучасному розумінні СК — це клітини, в яких відсутні тканинноспецифічні структури і які здатні до проліферації, тобто тривалого самовідновлення та диференціювання в різні типи спеціалізованих клітин [17].

На сьогоднішній день існує кілька класифікацій СК.

1. За кількістю типів різноманітних спеціалізованих клітин, початок яким можуть дати СК:
 - *тотипотентні* (від лат. всемогутні) — перші клітини, що утворюються після поділу заплідненої яйцеклітини, які при трансплантації можуть дати початок росту та формуванню повноцінного зародка;

- *плюрипотентні* — клітини внутрішньоклітинної маси бластоцисти, які у процесі ембріонального розвитку дають початок усім типам соматичних клітин ссавців, у тому числі й людини;
- *мультипотентні* (мезенхімальні СК) — клітини, що можуть утворювати клітини в межах однієї спеціалізованої тканини та є попередниками клітинних елементів сполучної тканини і джерелом усіх клітин крові;
- *уніпотентні* та *біпотентні* — клітини, що диференціюються відповідно в один та два типи клітин.

2. За джерелом отримання матеріалу та його локалізації:

А. *ЕСК*, які, у свою чергу, розподіляють на:

- *власне ЕСК* — клітини внутрішньоклітинної маси бластоцисти ембріона в ранніх стадіях розвитку (4-7 доби гестації), які характеризуються плюрипотентністю, тобто можуть давати початок усім типам соматичних клітин людини;
- *фетальні СК* — клітини абортівного матеріалу зародка ембріона 9-12 тижнів гестації.

Застосування *ЕСК* у медицині поки що в основному перебуває на стадії доклінічних досліджень. Незважаючи на перспективність *ЕСК*, низка чинників (зокрема, морально-етичних та законодавчих), а також високий ризик малігнізації та імунологічного відторгнення цих клітин обмежують їх терапевтичне застосування в найближчому майбутньому [18].

Б. *Постнатальні СК дорослої людини*, які, у свою чергу, розподіляють на:

- *гемопоетичні СК*, джерелом яких є кістковий мозок, дають початок різним типам клітин крові, ендотеліоцитам, овальним клітинам печінки, міоцитам;
- *нервові СК*, які містять кістковий мозок, можуть бути джерелом нейронів, клітин нейроглії (астроцити, олігодендроцити) та клітинних елементів крові;
- *епітеліальні СК* кишечника та епідерміса є джерелом усіх клітинних типів епітеліальних крипт та епідермальних шарів;
- *мезенхімальні СК*, або за новою класифікацією мультипотентні мезенхімальні стромальні клітини (ММСК), джерелом яких є кістковий мозок, жирова тканина тощо, дають початок остеобластам, остеоцитам, хондроцитам, фібробластам, тендиноцитам, адипоцитам, міоцитам [10, 11].

Теоретичні аспекти застосування стовбурових клітин в ортопедії та травматології

Серед вищезазначених СК для вирішення наукових та клінічних проблем в ортопедії та травматології найбільший інтерес становлять ММСК,

які є попередниками всіх клітин сполучної тканини та міоцитів. ММСК були виділені з кісткового мозку, окістя, жирової тканини, синовіального шару суглобової капсули, скелетних м'язів. На сьогодні відомо, що ці клітини виконують у кістковому мозку опорну функцію та сприяють збереженню в недиференційованому стані стовбурових клітин крові. Ці клітини мають здатність диференціюватися в клітини сполучної тканини (зокрема, кісткову, хрящову та сухожилля), а також продукувати різноманітні цитокіни, фактори росту та молекули позаклітинного матрикса [13, 14].

Останніми роками було отримано та з'ясовано морфологію та біологію ММСК, визначені методи контролю їх проліферації та диференціювання, що дозволило активно впливати на процеси формування пулу клітин диферона спеціалізованих тканин. Існують дані, що в дорослому організмі ММСК є резервуаром клітин, які активуються ушкодженням і мігрують у зону ушкодження, де разом із соматичними клітинами беруть участь у репаративному процесі [13, 14, 17, 19].

Відомі кілька аспектів взаємодії імплантованих СК із тканинами організму господаря, що складають основу механізму їх лікувального ефекту. Це імунна відповідь організму на імплантовані клітини, механізми хоумінгу, які спрямовують клітини до місця ушкодження, диференціювання імплантованих клітин під впливом локальних сигналів факторів мікрооточення [8, 10].

ММСК зберігають здатність диференціюватися в клітинні типи, фенотипово не пов'язаних з клітинами первинної тканини. При оптимальних умовах культивування поліклональні лінії СК строми кісткового мозку можуть здійснювати *in vitro* понад 50 клітинних поділів, що дозволяє отримати мільярди клітин з 1 мл кістковомозкового пунктату [10, 14].

Слід зазначити, що найбільш пріоритетними напрямками застосування клітинної терапії у травматології та ортопедії є використання СК при ушкодженнях суглобового хряща, гострих та дегенеративних ураженнях сухожилля, а також у лікуванні розладів репаративного остеогенезу. Саме в цих важливих медико-соціальних напрямках клітинної терапії ДУ "Інститут травматології та ортопедії НАМН України" має власні вагомі здобутки.

Використання клітинної терапії при ушкодженнях суглобового хряща

Проблема відновлення ушкодженого суглобового хряща в сучасній ортопедії залишається актуальною. Відсутність кровопостачання, лімфатичного дренажу та іннервації суглобового хряща, а також складна організація його позаклітинного матриксу не дозволяють хондроцитам та іншим біологічно ак-

тивним клітинам мігрувати в зону uszkodження, що сприяє слабкій репаративній реакції [3].

Консервативні методи лікування uszkodжень суглобового хряща, які існують на сьогоднішній день, спрямовані на зменшення больового синдрому, відновлення фізико-хімічного складу синовіальної рідини та оптимізацію обміну в хрящовій тканині, проте дія їх короткочасна.

При механічних uszkodженнях суглобового хряща застосовують інвазійні способи лікування — оперативні втручання без або з частковим заміщенням дефекту хряща (хондропластика). До перших належать абразивна артропластика та остеоперфорація. Однак тканина, яка утворюється при використанні цих методів, набуває будови волокнистого хряща. Перспективною методикою є мозаїчна кістково-хрящова аутопластика, яка сприяє відновленню гіалінового хряща, однак застосування її показано лише при невеликих обмежених травматичних дефектах та відсутності в тканинах суглоба дегенеративно-некротичних змін [12]. Останнім часом у світі для відновлення і усунення дефекту суглобового хряща все більшої популярності набувають методи клітинної та тканинної імплантації. Джерелом одержання хондроцитів можуть служити як клітини власної хрящової тканини, так і отримані шляхом культивування клітинпопередників різного ступеня зрілості (ЕСК, СК плаценти, періостальні прогеніторні клітини та ін.). Серед інших біотехнологій найбільшого розповсюдження набула методика аутологічної трансплантації хондроцитів, яка, на жаль, може використовуватися лише за умови відсутності в суглобі дегенеративних змін та яка не має переваг перед іншими артропластичними втручаннями, зокрема мозаїчною хондропластикою [12, 21].

Перспективним матеріалом для імплантації з метою усунення дефекту хряща, на думку багатьох вчених, є ММСК пацієнта, які отримують із спонгіозної кісткової тканини. Сьогодні у світі вивчається не лише застосування цих клітин для відновлення травмованого хряща, але й для лікування остеоартрозу. Однак потенційні можливості ММСК у регенерації суглобового хряща, їх безпечність та ефективність потребують подальших досліджень [13].

У результаті проведеного нами експериментального дослідження сумісно з Інститутом проблем кріобіології та кріомедицини НАН України [3] з вивчення впливу внутрішньосуглобового введення культури аутологічних ММСК кісткового мозку на регенерацію суглобового хряща встановлено, що внутрішньосуглобове введення недиференційованої культури аутологічних ММСК кісткового мозку позитивно впливає на перебіг репаративного хондрогенезу при механічному травматичному uszkodженні

суглобового хряща, а саме приводить до формування в ділянці дефекту гіаліноподібної тканини, яка повністю заповнює травматичний дефект при обмежених або відсутніх дистрофічних і некротичних змінах у суглобовому хрящі (рис. 1).

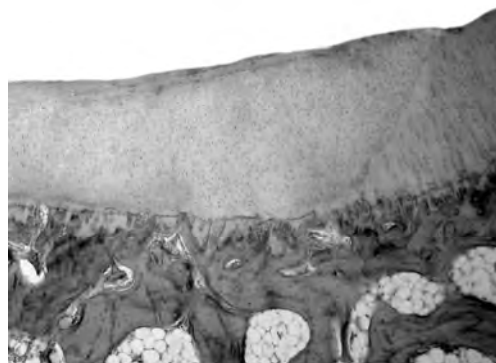


Рис. 1. Відновлення гіаліноподібного хряща в дефекті суглобової поверхні (справа край материнського хряща). Надколінкова поверхня стегнової кістки через 45 днів після механічного нанесення дефекту суглобового хряща та введення культури недиференційованих аутологічних ММСК кісткового мозку (гематоксилін-еозин, $\times 20$).

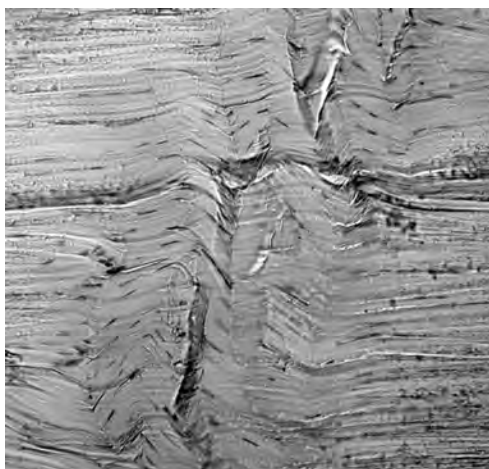
З практичного погляду, результати цього експериментального дослідження дозволяють рекомендувати застосування культури аутологічних ММСК кісткового мозку в лікуванні хворих із травматичними uszkodженнями суглобового хряща з метою відновлення функції ураженого суглоба та профілактики розвитку посттравматичного остеоартрозу.

Використання клітинної терапії при дегенеративних uszkodженнях сухожиль

Дегенеративні uszkodження сухожиль трапляються досить часто серед uszkodжень сухожиль як у людей похилого віку, так і у спортсменів, зокрема. Тактика лікування хворих з дегенеративним uszkodженням сухожиль на сьогодні не має чіткого патогенетично обґрунтованого алгоритму лікування та характеризується неузгодженістю застосування різних методів лікування та їх низькою ефективністю, що пояснюється недосконалістю задіяних методів відновити на достатньому рівні метаболичні та репаративні процеси в тканині дегенеративно зміненого сухожилля [15]. У зв'язку з цим на сьогоднішній день одним із перспективних шляхів у лікуванні дегенеративних uszkodжень сухожиль є залучення до медичної практики сучасних досягнень молекулярної та клітинної біології, зокрема використання аутологічних ММСК [7, 16].

Результатами проведеного нами експериментального дослідження спільно з Інститутом про-

блем кріобіології та кріомедицини НАН України [5, 6] вперше було доведено, що внутрішньо-сухожилльне введення культури аутологічних ММСК при дегенеративному ушкодженні сухожилля сприяє репаративному відновленню структурної будови та клітинного складу сухожилля (рис. 2), що приводить до покращення біомеханічних властивостей, насамперед міцнісних характеристик. Отже, вирішено актуальне медичне завдання оптимізації репаративного лікування дегенеративно-некротичних процесів сухожилля, які є частим ускладненням травм та функціональних перевантажень опорно-рухової системи.



А



Б

Рис. 2. Ділянки дегенеративно ушкодженого ахіллового сухожилля до (А) та через 45 днів (Б) після введення культури аутологічних ММСК. Відновлення чіткості контурів сухожилльних волокон та відсутність ознак дегенерації, збільшення кількості клітинних елементів (гематоксилін-еозин, $\times 40$).

Враховуючи вищезазначене, вважаємо за доцільне використовувати культуру аутологічних

ММСК у клінічній практиці при лікуванні хворих з дегенеративними ушкодженнями сухожилля. Це покращить результати їх лікування та прискорить повернення до професійної діяльності.

Використання клітинної терапії при розладах репаративного остеогенезу при переломах довгих кісток

Проблема лікування розладів репаративного остеогенезу — сповільнена консолидація кісткових відламків, незрощення переломів та несправжні суглоби — є одною з найважливіших медико-соціальних проблем сучасної медицини [4-6]. Частота розвитку цієї патології за даними вітчизняних і закордонних фахівців становить від 2,5 % до 18 % і є актуальною для всіх країн світу [1, 2, 5, 6]. Так, у США з 2 млн хворих з переломами довгих кісток, що виникають щорічно, 100 тис. (5 %) закінчується незрощенням, яке посідає провідне місце серед причин тривалої тимчасової непрацездатності й первинної інвалідності серед хворих із травмами опорно-рухової системи та потребує колосальних матеріальних витрат.

Нами також в експерименті встановлено позитивний вплив збагаченого тромбоцитами фібринового гелю на проліферативну активність та диференціювання ММСК кісткового мозку в клітинні елементи кісткової тканини, що сприяє репаративному остеогенезу, формуванню та перебудові кісткової мозолі (рис. 3) [2, 4]. Уперше було встановлено, що різні види несправжніх суглобів мають різну ефективність колонієутворення ММСК кісткового мозку, яка у хворих з гіпертрофічними несправжніми суглобами в 12 разів вища, ніж у хворих з гіпотрофічними суглобами.

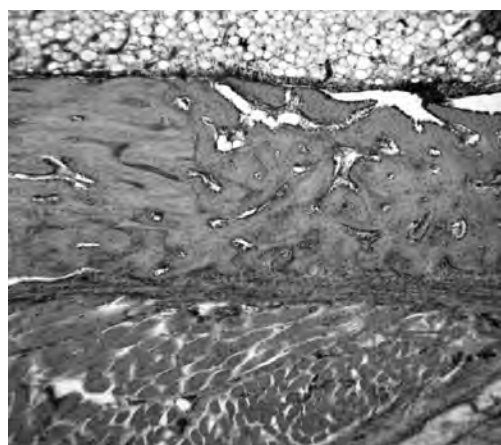


Рис. 3. Активна перебудова кісткового регенерату (справа), що заповнює дефект компактного шару кістки. 45 днів після імплантації в дефект збагаченого тромбоцитами аутофібринового гелю (гематоксилін-еозин, $\times 20$).

При цьому результати клінічних досліджень переконливо довели, що застосування збагаченого тромбоцитами фібринового гелю у пацієнтів з переломами великогомілкової кістки покращує результати лікування, скорочує строки зрощення кісткових відламків на 1,25 міс та непрацездатності — на 1,05 міс порівняно з пацієнтами, в яких збагачений тромбоцитами фібриновий гель не застосовували.

Отже, отримані нами результати експериментальних досліджень свідчать про перспективність та нові можливості використання культури аутологічних МСК у клінічній практиці з метою лікування ушкоджень суглобового хряща, сухожиль та розладів репаративного остеогенезу, що сприятиме покращенню результатів лікування та поверненню пацієнтів до професійної діяльності.

Список використаної літератури

1. Гайко Г. В., Герасименко С. І., Корж М. О. та ін. Аналіз стану травматолого-ортопедичної допомоги населенню України 2008-2009 рр.: Довідник. — К., 2010. — 167 с.
2. Гайко Г. В., Калашиников А. В., Зубенко А. Г. та ін. Спосіб пластики дефектів кісток // Журн. АМН України (додаток). Інформаційний бюлетень випуск № 29, 2010. — С. 196-197.
3. Гайко Г. В., Коструб О. О., Грищенко В. І. та ін. Використання аутологічних мезенхімальних стовбурових клітин при травматичних пошкодженнях суглобового хряща (експерим. дослідження) // Вісник ортопедії, травматології та протезування. — 2008. — № 1. — С. 5-9.
4. Калашиников А. В., Зубенко А. Г. Возможность использования обогащенной тромбоцитами плазмы для оптимизации репаративного остеогенеза // Укр. журн. екстрим. медицини ім. Г. О. Можаяева. — 2009. — 10, № 3. — С. 109-114.
5. Корж Н. А., Кладченко Л. А., Малышкина С. В. Имплантационные материалы и остеогенез. Роль оптимизации и стимуляции в реконструкции кости // Ортопед., травматол. и протезир. — 2008. — № 4. — С. 5-14.
6. Коструб О. О., Грищенко В. І., Блонський Р. І. та ін. Використання аутологічних МСК, аутологічних фібробластів та аутологічної плазми багатої на фактори росту при лікуванні дегенеративних пошкоджень сухожилків (експерим. дослідження) // Зб. тез наук. — практ. конф. з між нар. участю "Актуальні питання артрології та спортивної травми" (Запоріжжя, 24-25 червня 2010 р.). — Запоріжжя, 2010. — С. 10-12.
7. Коструб О.О., Блонський Р. І., Грищенко В. І. та ін. Клітинна терапія при дегенеративних ушкодженнях сухожиль. — К.: Здоров'я, 2011. — 152 с.
8. Самодай В. Г., Брехов В. Л., Гайдуков В. Е. Использование богатой тромбоцитами аутоплазмы (БОТП) в хирургическом лечении дефектов костной ткани с нарушением непрерывности кости // Системный анализ и управление в биомедицинских системах. — 2007. — 6, № 2. — С. 493-495.
9. Фриденштейн А. Я. Стволовые остеогенные клетки костного мозга // Онтогенез. — 1991. — № 2. — С. 189-197.
10. Чайлахян Р. К., Герасимов Ю. В., Куралесова А. И. и др. Проллиферативные и дифференцировочные потенции индивидуальных клонов стромальных клеток-предшественников костного мозга // Известия АН. — Сер. биол. — 2001. — № 6. — С. 682-692.
11. Barry F. P. Biology and clinical applications of mesenchymal stem cells // Birth. Defects Res. C. Embryo Today. — 2003. — 69, № 3. — P. 250-256.
12. Brittberg M. Articular cartilage repair in the knee joint with autologous chondrocytes and periosteal graft // Orthop. Traumatol. — 2001. — 9, № 3. — P. 185-194.
13. Caplan A. I. Mesenchymal stem cells // J. Orthop. Res. — 1991. — 9, № 5. — P. 641-650.
14. Daley G. Q., Goodell M. A., Snyder E. Y. Realistic prospects for stem cell therapeutics // Hematology (Am. Soc. Hematol. Educ. Program). — 2003. — Review. — P. 398-418.
15. Gigante A., Specchia N., Rapali S. Fibrillogenesis in tendon healing: an experimental study // Bull. Soc. Ital. Biol. Sperim. — 1996. — 72, № 7-8. — P. 203-210.
16. Maffulli N., Renstrom P. Tendon injuries. — London: Springer, 2005. — 332 p.
17. Musina R. A., Egorov E. E., Beliavskii A. V. Stem cells: properties and perspectives of therapeutic use // Mol. Biol. — 2004. — 38, № 4. — P. 563-577.
18. Odorico J. S., Kaufman D. S., Thomson J. A. Multilineage differentiation from human embryonic stem cell lines // Stem Cells. — 2001. — 19, № 3. — P. 193-204.
19. Schwarz E. J., Alexander G. M., Procop D. J. et al. Multipotential marrow stromal cells transduced to produce L-DOPA: engraftment in a rat model of Parkinson disease // Hum. Gene. Ther. — 1999. — 10, № 15. — P. 2539-2549.
20. Thompson J. A., Itskovitz-Eldor J., Shapiro S. S. et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts // Science. — 1998. — 282. — P. 1145-1147.
21. Zohar R., Sodek J., McCulloch Ch C. Characterization of stromal progenitor cells enriched by flow cytometry // Blood. — 1997. — 90, № 9. — P. 3471-3481.

Одержано 2.08.2014

**СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О СТВОЛОВЫХ КЛЕТКАХ
И ПЕРСПЕКТИВЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ
В ОРТОПЕДО-ТРАВМАТОЛОГИЧЕСКОЙ КЛИНИКЕ**

Г. В. Гайко

Государственное учреждение "Институт травматологии и ортопедии НАМН Украины", 01601 Киев

Изложены основные положения учения о стовбуровых клетках и дано обоснование в эксперименте возможности их использования в ортопедо-травматологической клинике для лечения больных с патологией опорно-двигательной системы.

**CURRENT IDEAS ABOUT STEM CELLS AND PROSPECTS
OF THEIR USE IN ORTHOPEDICS AND TRAUMATOLOGY CLINIC**

G. V. Gaiko

State Institution "Institute of Traumatology and Orthopedics NAMS Ukraine", 01601 Kyiv

Presented are the main notions of the teaching about stem cells. The opportunities for their use in orthopedics and traumatology clinic for treating patients with pathology of locomotor system are substantiated in experiment.