

К ВОПРОСУ ОБ ИСПОЛЬЗОВАНИИ КЛЕТОЧНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ В ЛЕЧЕНИИ ФИБРОЗНЫХ АНКИЛОЗОВ ПРОКСИМАЛЬНОГО МЕЖФАЛАНГОВОГО СУСТАВА ПАЛЬЦЕВ КИСТИ

Новиков А.В., Щедрина М.А., Петров С.В.

ФГБУ «Приволжский федеральный медицинский исследовательский центр» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Нижний Новгород, e-mail: novik2.55@mail.ru

Цель работы – предложить вариант использования клеточных технологий в лечении фиброзных анкилозов проксимального межфалангового сустава пальцев кисти. Нами были проанализированы результаты лечения 46 пациентов с фиброзным анкилозом проксимального межфалангового сустава одного из пальцев кисти. Диагноз подтвержден данными клинического и рентгенологического обследований. Степень нарушения повседневной деятельности пациента оценивали по данным DASH-опросника и опросника для оценки повседневной деятельности. Первым этапом выполнялось наложение на палец аппарата внешней фиксации «Ellis Mini-Fixateur». Темп distraction составлял 0,5 мм в сутки. Вторым этапом являлось снятие аппарата с одновременной артропластикой. Установлено, что применение distractionного метода с последующей артропластикой не решает в полной мере проблему восстановления функции в проксимальном межфаланговом суставе, что в первую очередь связано с состоянием суставного хряща, сухожильно-капсульного аппарата и отсутствием реабилитации в послеоперационном периоде. Предложено дополнить distractionный метод введением в полость сустава на этапе артропластики культуры мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток, которые могут играть роль не только «механической подушки», облегчающей движения, но и являться мощным катализатором репаративных процессов. В комплексе реабилитационных мероприятий следует включить магнитотерапию, ультразвук, активные и пассивные упражнения для суставов пальцев, которые не оказывают отрицательного воздействия на культуру введенных клеток и стимулируют регенераторные процессы.

Ключевые слова: кисть, проксимальный межфаланговый сустав, фиброзный анкилоз, distraction, мультипотентные мезенхимальные клетки, реабилитация.

TO THE ISSUE OF USE OF CELL TECHNOLOGIES IN TREATING FIBROUS ANKYLOSES OF A PROXIMAL INTERPHALANGEAL JOINT OF FINGERS

Novikov A.V., Shhedrina M.A., Petrov S.V.

Federal State Budgetary Institution «Privolzhsky Federal Research Medical Centre» of the Ministry of Health of the Russian Federation, Nizhny Novgorod, e-mail: novik2.55@inbox.ru

Purpose. To suggest a variant of use of cell technologies in treating fibrous ankyloses of a proximal interphalangeal joint of fingers. We analyzed results of treatment of 46 patients with fibrous ankylosis of a proximal interphalangeal joint of one of the fingers. The diagnosis was confirmed by clinical and radiographic data. The degree of disability in daily activity of the patients was assessed by the DASH questionnaire and daily activity evaluation questionnaire. The first stage involved applying Ellis Mini-Fixateur external fixator to the finger. The distraction rate was 0.5 mm/day. At the second stage the external fixator was removed with simultaneous arthroplasty. It was established that the use of the distraction method with subsequent arthroplasty does not solve in full the problem of function recovery in the proximal interphalangeal joint, being primarily related to the state of the articular cartilage, tendon and capsular system and lack of rehabilitation in the postoperative period. It is suggested to supplement the distraction method with introduction of MMSC culture in the joint cavity at the arthroplasty stage, which can act as both a “mechanic pillow” facilitating movements and a powerful catalyst of reparative processes. A rehabilitation action plan should include magnet therapy, ultrasound therapy, active and passive exercises for knuckles, which do not have a negative effect on the cell culture introduced and stimulate regeneration processes.

Keywords: hand, proximal interphalangeal joint, fibrous ankylosis, distraction, multipotent mesenchymal cells, rehabilitation.

Трудности лечения посттравматических деформаций пальцев, нередко сопровождающихся развитием фиброзных анкилозов в проксимальных межфаланговых

суставах, определяются необходимостью одновременного устранения деформации пальца и восстановления подвижности суставов для осуществления функции кисти. С этой целью в настоящее время широко используется подход, когда на первом этапе осуществляется наложение чрескостного аппарата и проводится постепенное расширение суставной щели, а затем, после снятия аппарата, выполняется артропластика с удалением внутрисуставных образований, препятствующих движению. Однако при выполнении артропластики возникают определенные технические трудности, обусловленные особенностями анатомического строения сустава (небольшие размеры суставных концов, малый объем суставной полости, незначительная толщина жировой клетчатки), что повышает риск развития осложнений. У многих больных в послеоперационном периоде наблюдается «потеря» активных движений в суставе.

Развитие и внедрение в практику клеточных технологий открывает новые перспективы в использовании сочетанного применения метода distraction и клеточных субстанций, обладающих хондрогенной и остеогенной активностью у пострадавших с последствиями травм кисти. О первых обнадеживающих результатах подобной методики сообщают А.А. Богов с соавторами [1].

Цель исследования – предложить вариант использования клеточных технологий в лечении фиброзных анкилозов проксимального межфалангового сустава пальцев кисти.

Материал и методы исследования

В исследование включено 46 пациентов (16 женщин и 30 мужчин), поступивших на оперативное лечение с диагнозом фиброзный анкилоз проксимального межфалангового сустава. Наличие фиброзного анкилоза подтверждалось данными клинического (отсутствие активных и пассивных движений в суставе) и рентгенологического (отсутствие или резкое снижение суставной щели) обследований. В анамнезе у девяти больных были выявлены переломы (в том числе внутрисуставные) фаланг пальцев, у трех – вывихи средней фаланги, у одного – подкожный разрыв сухожилия разгибателя. Открытые сочетанные травмы нескольких структур кисти имели место у пяти пациентов. У 23 больных были диагностированы ушибы пальцев. Анкилоз проксимального межфалангового сустава только одного пальца были выявлены у 40 человек, двух пальцев – у пяти, четырех – у одного. По частоте поражения пальцев распределение было следующее: II палец – 9 случаев, III – 15, IV – 19, V – 11. Преимущественно страдала правая кисть (29 человек). Причиной обращения в специализированное отделение хирургии кисти была деформация травмированного пальца, которая приводила к нарушению функции кисти и не позволяла пациенту выполнять свои профессиональные или бытовые обязанности. Все пациенты были трудоспособного возраста (от 18 до 55 лет, средний – 37,4).

Всем пациентам на первом этапе был наложен чрескостный аппарат «Ellis Mini-Fixateur» с целью расширения суставной щели до 10–12 мм и выведения пальца в функционально выгодное положение (темп distraction – 0,5 мм в сутки). На втором этапе производили снятие чрескостного аппарата и мобилизацию сустава. Восстановление полного объема пассивных движений в суставе проверялось на операционном столе и было достигнуто во всех случаях.

Состояние функции кисти оценивали, используя DASH-опросник и авторский [2].

Для проверки выдвигаемых гипотез использовали методы непараметрической статистики. Уровень статистической значимости принят равным 0,05. Описание данных приведено средним и стандартным отклонением.

Результаты и обсуждение

При обследовании до операции средние значения по DASH-опроснику составили $38,0 \pm 3,2$ балла, по авторскому опроснику – $66,2 \pm 3,0$ балла, что объективно подтверждало нарушение функции кисти. Степень функциональных нарушений зависела от количества поврежденных пальцев. При повреждении одного пальца суммы баллов по опросникам составили соответственно $35,2 \pm 3,3$ и $68,0 \pm 3,1$, а при повреждении нескольких пальцев – $53,5 \pm 7,0$ и $56,3 \pm 8,5$ ($p < 0,05$).

При контрольном осмотре 35 пациентов через три месяца после артропластики установлено, что ни у одного из них не было полного восстановления амплитуды активных движений в проксимальном межфаланговом суставе. Дефицит активного разгибания составлял в среднем $40,0 \pm 12,5^\circ$. Данные DASH-опросника – $26,4 \pm 3,5$ баллов и нашего опросника – $82,0 \pm 3,5$ балла, что свидетельствовало о положительной динамике, но не о полном восстановлении функции.

После выписки из стационара реабилитационные мероприятия в условиях поликлиники не проводились. Лишь 18 пациентов регулярно занимались гимнастикой самостоятельно.

Таким образом, применение distractionного метода с последующей артропластикой «в чистом виде» не решает в полной мере проблему восстановления функции в проксимальном межфаланговом суставе, что, на наш взгляд, в первую очередь связано с состоянием суставного хряща и сухожильно-капсульного аппарата, а также отсутствием реабилитационных мероприятий.

Двухэтапное лечение, включающее плавную distraction и артропластику с введением мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток (ММСК) жировой ткани в полость сустава на втором этапе, может существенно улучшить результаты лечения и имеет ряд предпосылок.

Дозируемая дистракция позволяет восстановить анатомическую ось пораженного пальца (если фиброзный анкилоз был в порочном положении), создать структурную основу для оперативного доступа к внутрисуставным формированиям, наблюдать в ряде случаев феномен роста внутрисуставного костного регенерата. Постоянная нарастающая (но дозируемая!) дистракция сустава вызывает временную ишемию дистрагируемых тканей и, как следствие, локальную гипоксию.

Именно дефицит кислорода способствует сохранению гомогенности активно пролиферирующей менее коммитированной популяции мезенхимальных клеток, сохраняющих высокий уровень жизнеспособности. Это сопровождается изменением экспрессии генов структурных и регуляторных белков цитоскелета, регуляторов клеточного цикла, а также регуляции экспрессии некоторых про- и антиапоптотических белков [3]. Доказано, что гипоксическая нагрузка активирует хемокины, секретируемые клетками поврежденной ткани, градиент концентрации которых определяет способность стромальных клеток к миграции [4]. В условиях гипоксии повышается экспрессия фактора роста ММСК (SDF-1), стимулирующего пролиферацию, и его рецептора (CXCR4), что приводит к усиленной миграции клеток-предшественниц в зоны повреждения [5].

Снижение в условиях гипоксии синтеза макроэргических соединений (аденозинтрифосфорная, пиро- поли- и креатинфосфорная кислоты и др.) активирует синтез нуклеиновых кислот и белков, в том числе хемоаттрактантов, стимулирующих миграцию ММСК жировой ткани.

Миграция стромальных клеток по градиенту концентрации хемоаттрактанта является необходимым компонентом хоуминга, обеспечивающим их доставку в пораженный участок ткани, что имеет решающее значение для эффективности клеточной терапии [6]. Этот процесс обусловлен наличием на мигрирующих клетках рецепторов, избирательно взаимодействующих с цитокинами и/или хемокинами, вырабатываемыми клетками поврежденной ткани.

Таким образом, дискретное растяжение тканей с помощью аппарата внешней фиксации можно рассматривать как ишемический стимул, потенцирующий фибриллогенез, пролиферацию и дифференцировку клеток.

Можно предположить, что дополнительное введение в полость патологически измененного сустава культивированных аутологичных ММСК будет служить не только «механической подушкой», облегчающей движения, но мощным катализатором репаративных процессов.

Для достижения максимального успеха в послеоперационном периоде необходимо проведение полноценного курса реабилитационных мероприятий.

С учетом анатомических особенностей сустава наиболее целесообразным в комплексе реабилитационных мероприятий считаем использование лечебной гимнастики в виде активных и пассивных упражнений для оперированного пальца, бегущего импульсного магнитного поля и ультразвука низкой интенсивности.

В эксперименте *in vitro* нами было доказано, что воздействие магнитным полем в терапевтических дозировках не оказывает цитотоксического эффекта на морфологию ММСК жировой ткани, не влияет на иммунофенотип, жизнеспособность, пролиферативную и секреторную активность клеток [7, 8].

Воздействие ультразвуком низкой интенсивности в терапевтических дозировках на культуру ММСК жировой ткани *in vitro* также не оказывало влияния на жизнеспособность, фенотип и морфологию ММСК в культуре. Под воздействием ультразвука, независимо от особенностей культуры ММСК и её генеза, отмечалась отчетливая тенденция к увеличению пролиферативной активности клеток и активации синтеза фибронектина.

Полученные экспериментальные данные подтверждают безопасность воздействия этих физиофакторов на сустав, в полость которого могут быть имплантированы ММСК.

Лечебную физкультуру, равно как и ультразвук, мы рассматривали как одни из действующих факторов поля механического напряжения, которые могут влиять на пролиферацию, миграцию и адгезию клеток [9]. Установлено, что мультипотентные клетки могут быть чувствительны к изменению напряженности механического и гравитационного поля в моделируемых условиях, а циклические нагрузки могут стимулировать хондрогенную дифференцировку ММСК [10, 11].

Сгибание-разгибание (активное или пассивное) в проксимальном межфаланговом суставе можно условно рассматривать как действие помпы с меняющимся давлением в суставе (циклическая нагрузка).

Физиологические механизмы воздействия поля механического напряжения на клетки сложны и до конца не изучены. Проведенный нами анализ литературных данных позволил разработать упрощенный вариант схемы этого взаимодействия (рисунок).

Механическая нагрузка индуцирует синтез трансформирующего фактора роста – TGF β , который может стимулировать ММСК к дифференцировке в хондроциты [11].

В ответ на действие факторов роста происходит активация экспрессии индуцибельной простагландин-синтазы (Cox-2) и продукции простогландина E2, что необходимо для перехода клеток из G1-фазы в S-фазу репликации ДНК и последующей активной пролиферации [12].

О переходе клеток из одной фазы в другую свидетельствуют изменения в уровнях экспрессии матричной РНК (mRNA) маркеров генов специфических белков хондроцитов под

действием ультразвука и механической нагрузки [13, 14]. Кроме того, увеличение продукции простогландина E2 (PGE2), который оказывает сосудорасширяющее действие на большинство сосудов, ведет к усилению микроциркуляции [10].



Схема влияния механического поля напряжения на хондрогенез

Механическая нагрузка стойко модулирует экспрессию генов специфических белков хондроцитов [15]. Экспрессия под влиянием нагрузки генов протеогликана 4 (PRG4) и гиалуронсинтаз (HAS1, HAS2) стимулирует синтез гиалуроновой кислоты, нормализует синовиальный гомеостаз [13]. Все эти процессы приводят к усиленной пролиферации клеток, и, как следствие, стимуляции хондрогенеза.

Таким образом, поле механического напряжения играет важную роль в репарации хрящевой ткани, а применение ультразвука и кинезотерапии после введения в сустав ММСК вполне оправдано.

Заключение

Поскольку применение дистракционного метода с последующей артропластикой «в чистом виде» не решает в полной мере проблему восстановления функции в проксимальном

межфаланговом суставе у пациентов с фиброзными анкилозами, считаем целесообразным дополнить его введением в полость сустава на этапе артропластики культуры ММСК. Они могут играть роль не только «механической подушки», облегчающей движения, но и являться мощным катализатором репаративных процессов. Для достижения хороших результатов лечения необходимо проведение в послеоперационном периоде реабилитационных мероприятий, включающих магнитотерапию, ультразвук, активные и пассивные упражнения для суставов пальцев, которые не оказывают отрицательного воздействия на культуру введенных клеток и стимулируют регенераторные процессы.

Список литературы

1. Богов А.А. Клеточные технологии в лечении посттравматических деформирующих артрозов мелких суставов кисти / А.А. Богов, Р.И. Муллин, А.А. Ризванов, М.Р. Журавлев // *Материалы VI Всероссийского съезда общества кистевых хирургов.* – Н.Новгород, 2016. – С.31-32.
2. Новиков А.В. Опросник для оценки повседневной жизненной активности больных с патологией кисти / А.В. Новиков, А.Н. Белова, М.А. Щедрина, Е.В. Донченко // *Вестник травматологии и ортопедии им.Н.Н. Приорова.* – 2004. – №2. – С.58-62.
3. Ударцева О.О. Экспрессия генов, ассоциированных с WNT-сигнальным каскадом, в мезенхимных стромальных клетках в условиях гипоксического стресса / О.О. Ударцева, Е.Р. Андреева, Л.Б. Буравкова // *Доклады Академии наук.* – 2015. – Т. 465. – № 1. – С. 111.
4. Ponte A.L. The in vitro migration capacity of human bone marrow mesenchymal stem cells: comparison of chemokine and growth factor chemotactic activities / A.L. Ponte, E. Marais, N. Gallay et al. // *Stem Cells.* – 2007. – V.25, No.7. – P.1737-1745.
5. Григорян, А.С. Роль миграционной оси SDF 1 CXCR4 в хоуминге клеток предшественников и метастазировании злокачественных опухолей/ А.С. Григорян // *Гены & Клетки.* – 2006. – Т. I, № 4. – С.32-38.
6. Nguyen B. Pulsed focused ultrasound enhances mesenchymal stem cell homing to skeletal muscle in a murine model of muscular dystrophy and homing was suppressed by Ibuprofen / B. Nguyen, S. Burks, S. Kim et al. // *J. Therapeutic Ultrasound.* – 2015. – No. 3(Suppl. 1). – P.69.
7. Алейник Д.Я., Щедрина М.А., Новиков А.В., Чарыкова И.Н., Рубцова Ю.П. Исследование воздействия ультразвука низкой интенсивности на ММСК человека в системе in vitro // *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований.* – 2016. – № 11-5. – С.886-890.

8. Алейник Д.Я., Щедрина М.А., Новиков А.В., Петров С.В., Сидорова Т.И., Чарыкова И.Н., Рубцова Ю.П. Влияние бегущего импульсного магнитного поля и полихроматического некогерентного поляризованного света в физиотерапевтических дозировках на мультипотентные мезенхимальные стволовые клетки жировой ткани на модели *in vitro* // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2015. – №12. – С. 625-628.
9. Hafsa M. The biophysical effects of low intensity ultrasound on the morphology, growth and differentiation potential of bone marrow-derived Mesenchymal stem cells / M. Hafsa //M. Res. thesis. – University of Birmingham, 2012. – URL: <http://etheses.bham.ac.uk/information.html>.
10. Буравкова Л.Б. Механизмы гравитационной чувствительности остеогенных клеток-предшественников / Л.Б. Буравкова, П.М. Гершович, Ю.Г. Гершович, А.И. Григорьев // Acta naturae. – 2010. – Т.2. – № 1 (4). – С.30-39.
11. Li Z. Mechanical load modulates chondrogenesis of human mesenchymal stem cells through the TGF-beta pathway / Z. Li, L. Kupcsik, S.J. Yao et al. //J. Cell Mol. Med. – 2010. – V.14, no. 6A. – P.1338-1346.
12. Dai Z.Q. Simulated microgravity inhibits the proliferation and osteogenesis of rat bone marrow mesenchymal stem cells / Z.Q. Dai, R. Wang, S.K. Ling et al.// Cell Prolif. – 2007. – V.40, no. 5. – P.671-684.
13. Li Z. Different response of articular chondrocyte subpopulations to surface motion / Z. Li, S. Yao, M. Alini, S. Grad //Osteoarthritis Cartilage. – 2007. – V.15, no. 9. – P.1034-1041.
14. Lim K. In vitro effects of low-intensity pulsed ultrasound stimulation on the osteogenic differentiation of human alveolar bone-derived mesenchymal stem cells for tooth tissue engineering / K. Lim, J. Kim, H. Seonwoo et al. // Biomed. Res. Int. – 2013. – URL: <http://www.hindawi.com/journals/bmri/2013/269724>.
15. Aigner T. Mechanisms of disease: role of chondrocytes in the pathogenesis of osteoarthritis – structure, chaos and senescence /T. Aigner, S. Söder, P.M. Gebhard et al. // Nat. Clin. Pract. Rheumatol. – 2007. – V.3, no.7. – P.287-291.