

© Коллектив авторов, 2011

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ АУТОЛОГИЧНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ ГНОЙНО-ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ ПРИ ОПЕРАТИВНЫХ ВМЕШАТЕЛЬСТВАХ С ВЫСОКОЙ ХИРУРГИЧЕСКОЙ АГРЕССИЕЙ У ТРАВМАТОЛОГО-ОРТОПЕДИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ

С.П. Миронов, Г.А. Кесян, И.Е. Кондратьева, Р.З. Уразгильдеев,
Г.Н. Берченко, А.С. Самков, Г.С. Карапетян, Б.Н. Шулашов

ФГУ «Центральный научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова»
Минздравсоцразвития России, Москва

Проведено изучение эффективности применения выращенных in vitro аутолимфоцитов для защиты гомеостаза и профилактики гнойно-воспалительных осложнений при выполнении реконструктивно-восстановительных операций у травматолого-ортопедических больных. Данная методика использована у 35 больных с оскольчатыми переломами, ложными суставами бедренной кости и коксартрозом, которым производились накостный, внутрикостный остеосинтез и эндопротезирование тазобедренного сустава. Контрольную группу составили 30 пациентов с аналогичными видами патологии, лечившихся аналогичными методами, но без использования аутолимфоцитов. Применение после операции трансфузии аутолимфоцитов с учетом прогноза возможных гнойно-воспалительных осложнений позволило добиться более благоприятного течения послеоперационного периода, более быстрой стабилизации общего состояния больных, нормализации показателей общеклинических и специальных методов исследования, а также сократить частоту гнойно-воспалительных осложнений.

Ключевые слова: хирургическая агрессия, гомеостаз, стромальные клетки, гнойно-воспалительные осложнения.

Use of Autologous Stem Cells for Prevention of Pyo-Inflammatory Complications at Surgical Interventions with Surgical Aggression in Traumatologic and Orthopaedic Patients

S.P. Mironov, G.A. Kesyan, I.E. Kondrat'eva, R.Z. Urazgil'deev,
G.N. Berchenko, A.S. Samkov, G.S. Karapetyan, B.N. Shulashov

Study of the efficacy of in vitro cultivated autolymphocytes for homeostasis protection and pyo-inflammatory complications prevention at reconstructive operations performance. That technique was applied in 35 patients with comminuted fractures, femur pseudarthroses and coxarthrosis to whom extraosseous, intraosseous osteosynthesis and hip arthroplasty were performed. Control group included 30 patients with similar types of pathology who were treated by similar methods but without use of autolymphocytes. Post-operative use of autolymphocytes transfusion with regard for potential pyo-inflammatory complications enabled to achieve more favorable course of post-operative period, faster stabilization of patients' general condition, normalization of clinical and special indices as well as to decrease the rate of pyo-inflammatory complications.

Key words: surgical aggression, homeostasis, stromal cells, pyo-inflammatory complications.

Известно, что не только заболевания, травматические повреждения и их последствия, но и оперативные вмешательства с высокой хирургической агрессией в той или иной степени отрицательно сказываются на гомеостазе человека, нередко вызывая развитие в послеоперационном периоде разного рода осложнений, в том числе и гнойно-воспалительных [2–9, 14]. Это определяет актуальность поиска эффективных способов предотвращения подобных осложнений.

Одним из перспективных методов защиты гомеостаза и профилактики гнойно-воспалительных осложнений при проведении обширных и длительных реконструктивно-восстановительных операций может быть использование аутолимфоцитов,

выращенных in vitro и являющихся собственными гемопоэтическими стволовыми клетками [1, 12]. Изучение эффективности такого подхода и послужило целью настоящего исследования.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В основу работы положен анализ результатов комплексного обследования и оперативного лечения 65 больных с травматолого-ортопедической патологией в возрасте от 18 до 60 лет и старше. По видам патологии больные распределялись следующим образом: оскольчатый перелом бедренной кости — 21 пациент, ложный сустав бедренной кости — 11, посттравматический коксартроз — 19, диспластический коксартроз — 14. У 35 больных

Табл. 1. Динамика уровня стресс-белков

Исследуемый параметр	Группа больных	Показатель	Этапы исследования			
			до операции	после операции		
				1-е сутки	3-и сутки	7-е сутки
Кортизол, нг/мл (норма 60–216)	Контрольная	$M \pm m$	197±28	470±1,6	268±24	207±32
		p_1	>0,05	<0,05	<0,05	>0,05
	Основная	$M \pm m$	189±34	468±17	281±17	176±42
p_1		>0,05	<0,05	<0,05	>0,05	
		p_2	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
Лактатдегидрогеназа, Е/л (норма 170–480)	Контрольная	$M \pm m$	370±18	686±23	545±34	415±38
		p_1	>0,05	<0,05	<0,05	>0,05
	Основная	$M \pm m$	374±13	690±35	547±28	369±27
p_1		>0,05	<0,05	<0,05	>0,05	
		p_2	>0,05	>0,05	>0,05	<0,05

Примечание. p_1 – достоверность различия с нормой; p_2 – достоверность различия между группами.

ви, иммунологические показатели) в дооперационном и послеоперационном периодах позволило нам создать систему скрининга состояния гомеостаза у пациентов, подвергшихся оперативному вмешательству, и определить с ее помощью, в какой степени хирургическая агрессия влияет на гомеостаз пациента, ухудшая процессы послеоперационного восстановления.

Включенные в скрининг-систему параметры гомеостаза определяли до операции (исходные показатели), в 1-е, 3-и и 7-е сутки после операции (табл. 1–3).

Сразу после операции у больных обеих групп отмечались примерно одинаковые изменения —

резкое снижение количества эритроцитов и содержания гемоглобина, повышение СОЭ, увеличение количества лейкоцитов, резкое увеличение содержания кортизола и активности лактатдегидрогеназы, преобладание процессов коагуляции, угнетение клеточного звена иммунитета.

На 3-и сутки послеоперационного периода у больных основной группы, в отличие от пациентов контрольной группы, наблюдалось значительное улучшение общего состояния: нормализовалась температура тела, купировалась отечность в области оперативного вмешательства, улучшались аппетит и самочувствие. Каких-либо воспалительных явлений в области послеоперационной раны

Табл. 2. Динамика показателей системы гемостаза

Исследуемый параметр	Группа больных	Показатель	Этапы исследования			
			до операции	после операции		
				1-е сутки	3-и сутки	7-е сутки
Фибриноген, мг% (норма 200–400)	Контрольная	$M \pm m$	274±22,3	686±23,5	622±18,7	542±12,4
		p_1	>0,05	<0,05	<0,05	<0,05
	Основная	$M \pm m$	321±27,5	724±19,7	451±10,2	370±7,2
p_1		>0,05	<0,05	<0,05	>0,05	
		p_2	>0,05	>0,05	<0,05	<0,05
рФМК, мг% (О-фенаптролиновый тест) (норма 3,5–4,0)	Контрольная	$M \pm m$	3,7±0,4	18±3,3	14±2,1	8,7±1,2
		p_1	>0,05	<0,05	<0,05	<0,05
	Основная	$M \pm m$	3,6±0,3	18±2,7	9±1,7	3,6±0,5
p_1		>0,05	<0,05	<0,05	>0,05	
		p_2	>0,05	>0,05	<0,05	<0,05
Фибринолитическая активность (ХПа-зависимый фибринолиз), мин (норма 4–10)	Контрольная	$M \pm m$	7±1	20±2,1	18±3,1	10±1,8
		p_1	>0,05	<0,05	<0,05	>0,05
	Основная	$M \pm m$	5±2	23±1,7	10±2,3	9±0,7
p_1		>0,05	<0,05	>0,05	>0,05	
		p_2	>0,05	>0,05	<0,05	>0,05

Примечание. p_1 – достоверность различия с нормой; p_2 – достоверность различия между группами.

Табл. 3. Динамика иммунологических показателей

Исследуемый параметр	Группа больных	Показатель	Этапы исследования			
			до операции	после операции		
				1-е сутки	3-и сутки	7-е сутки
Лейкоциты, $\cdot 10^9/\text{л}$ (норма 5,5–7,7)	Контрольная	$M \pm m$ p_1	4,8±1,2 >0,05	10,7±0,8 <0,05	9,4±0,7 <0,05	7,9±0,3 <0,05
	Основная	$M \pm m$ p_1	5,1±0,7 >0,05	11,2±1,2 <0,05	7,4±0,9 >0,05	5,6±1,4 >0,05
		p_2	>0,05	>0,05	<0,05	<0,05
Лимфоциты, $\cdot 10^9/\text{л}$ (норма 1,75)	Контрольная	$M \pm m$ p_1	1,73±0,07 >0,05	0,92±0,06 <0,05	1,33±0,04 <0,05	1,42±0,08 <0,05
	Основная	$M \pm m$ p_1	1,72±0,04 >0,05	0,81±0,03 <0,05	1,68±0,02 <0,05	1,76±0,07 >0,05
		p_2	>0,05	<0,05	<0,05	<0,05
Т-лимфоциты (CD_3), $\cdot 10^9/\text{л}$ (норма 1,33–1,58)	Контрольная	$M \pm m$ p_1	1,42±0,03 >0,05	0,64±0,02 <0,05	0,61±0,03 <0,05	0,68±0,01 <0,05
	Основная	$M \pm m$ p_1	1,53±0,02 >0,05	0,63±0,03 <0,05	0,71±0,04 <0,05	1,32±0,02 >0,05
		p_2	>0,05	>0,05	<0,05	<0,05
Т-хелперы-индукторы (CD_4), $\cdot 10^9/\text{л}$ (норма 0,42–0,76)	Контрольная	$M \pm m$ p_1	0,56±0,03 >0,05	0,29±0,01 <0,05	0,27±0,12 <0,05	0,29±0,18 <0,05
	Основная	$M \pm m$ p_1	0,52±0,02 >0,05	0,24±0,04 <0,05	0,30±0,03 <0,05	0,46±0,14 >0,05
		p_2	>0,05	>0,05	>0,05	<0,05
Т-киллеры-супрессоры (CD_8), $\cdot 10^9/\text{л}$ (норма 0,30–0,90)	Контрольная	$M \pm m$ p_1	0,48±0,04 >0,05	0,18±0,01 <0,05	0,16±0,01 <0,05	0,17±0,02 <0,05
	Основная	$M \pm m$ p_1	0,56±0,04 >0,05	0,17±0,01 <0,05	0,21±0,02 <0,05	0,51±0,02 >0,05
		p_2	>0,05	>0,05	<0,05	<0,05

Примечание. p_1 — достоверность различия с нормой; p_2 — достоверность различия между группами

не отмечалось. Уровень стресс-маркеров у больных обеих групп снижался, но оставался выше нормы, достоверного различия между группами не определялось. Показатели гемостаза в этот срок имели тенденцию к снижению в обеих группах, но в основной группе их снижение было достоверно более существенным, чем в контрольной. Сравнительная оценка иммунологических параметров показала достоверное различие между исследуемыми группами при тенденции к нормализации клеточного иммунитета в обеих группах. Недостоверным было различие только по параметру CD_4 . Показатели общеклинических анализов на 3-и сутки после операции приближались к норме, достоверных различий между группами по этим показателям, за исключением СОЭ, не определялось.

Необходимо отметить, что в контрольной группе у половины больных пришлось продолжить антибактериальную и инфузионную терапию по показаниям, основанным на клинических проявлениях (высокая температура тела, отек и гиперемия в обла-

сти оперативного вмешательства и т.д.) и лабораторных данных (лейкоцитоз, сдвиг лейкоцитарной формулы влево, высокая СОЭ, повышение содержания фибриногена и т.п.). Главным образом это были больные с выявленным высоким риском гнойно-воспалительных осложнений ($n=11$) [7]. У больных основной группы инфузионную терапию проводили в первые один–два суток после операции, а антибактериальную терапию — только профилактически по методике, принятой в ЦИТО (за 6 ч до операции и через 6 ч после операции), каких-либо дополнительных назначений не потребовалось.

К 7-м суткам после оперативного вмешательства показатели стресс-белков у больных обеих групп снижались до нормы, но при этом различие между группами оставалось достоверным (табл. 1). Содержание кортизола у пациентов контрольной группы составляло в среднем 207 ± 32 нг/мл, у пациентов основной группы — 176 ± 42 нг/мл, активность лактатдегидрогеназы — соответственно 415 ± 38 и 369 ± 27 Е/л. По всей видимости, такое

различие было связано с более благоприятным течением послеоперационного периода у пациентов основной группы.

Показатели гемостаза в этот срок у больных основной группы достоверно не отличались от нормы, тогда как у больных контрольной группы содержание фибриногена и растворимых фибрин-мономерных комплексов (РФМК) оставалось высоким, достоверно превышая нормальные значения (табл. 2). Это позволяет говорить о благоприятном влиянии трансфузии аутолимфоцитов на течение воспалительного процесса, вызванного аутолизом поврежденных во время операции тканей (кожа и подкожная клетчатка, микрососуды, мышцы, костная ткань и т.д.), т.е. об опосредованной нормализации коагуляционных показателей крови.

После операции в обеих группах выявлено достоверное угнетение клеточного звена иммунитета (табл. 3), подтверждающее отрицательное влияние оперативного вмешательства на иммунологические показатели. На 3-и сутки после операции в основной группе, в отличие от контрольной, отмечалась активизация иммунитета. На 7-е сутки у пациентов основной группы субпопуляции Т-лимфоцитов, лимфоциты, лейкоциты приходили к норме, тогда как у больных контрольной группы сохранялось достоверное угнетение этих показателей. Таким образом, трансфузия аутолимфоцитов способствовала ранней активации клеточного звена иммунитета и более быстрому возвращению его к норме (на 7-е сутки).

Количество эритроцитов и показатель гематокрита у больных обеих групп на 7-е сутки после операции приближались к норме, уровень гемоглобина имел выраженную тенденцию к нормализации, но все еще достоверно отличался от нормы. СОЭ у больных основной группы была в пределах нормы ($12 \pm 1,2$ мм/ч). У пациентов контрольной группы СОЭ значительно превышала норму ($37 \pm 1,8$ мм/ч), что свидетельствовало о сохраняющихся агрегационно-воспалительных процессах.

ОБСУЖДЕНИЕ

Разработанная скрининг-система, основанная на определении стресс-маркеров, иммунологических параметров, показателей гемостаза и данных общеклинических анализов, позволила выявить и более объективно оценить степень влияния хирургической агрессии на организм пациентов с повреждениями и заболеваниями опорно-двигательного аппарата. Во всех случаях хирургическая агрессия (оперативное вмешательство) сопровождалась нарушением гомеостаза пациента, что отрицательно сказывалось на послеоперационном восстановлении. В контрольной группе у половины больных в послеоперационном периоде потребовалось продление антибактериальной и инфузионной терапии по показаниям, основанным на клинических проявлениях, а также признаках угнетения клеточного звена иммунитета. Главным образом это были больные

с выявленным высоким риском гнойно-воспалительных осложнений. У больных основной группы каких-либо дополнительных назначений не потребовалось. Более благоприятное течение у них послеоперационного периода было связано с применением трансфузий выращенных *in vitro* аутолимфоцитов (с учетом индивидуальных наследственно обусловленных иммунофизиологических признаков), что подтверждено клинически, а также результатами лабораторных исследований. Каких-либо гнойно-воспалительных осложнений у больных данной группы не отмечено. В контрольной группе у 3 больных имело место нагноение послеоперационной раны, потребовавшее дополнительного оперативного вмешательства, а также продления антибактериальной и инфузионной терапии (клинический исход положительный). У одного больного контрольной группы острое респираторное заболевание осложнилось трахеобронхитом (успешно купирован дополнительными терапевтическими мероприятиями).

Подводя итог, можно констатировать, что применение трансфузий культивированных аутолимфоцитов с учетом прогноза возможных гнойно-воспалительных осложнений позволило добиться более благоприятного течения послеоперационного периода, более быстрой стабилизации общего состояния больного и нормализации показателей общеклинических и специальных методов исследования.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бернет Ф. Клеточная иммунология: пер. с англ. — М., 1971.
2. Власов П.А., Зубенков М.В., Мыкот Е.Н. и др. Коррекция проявлений хирургической агрессии в раннем послеоперационном периоде // Актуальные вопросы медицинской науки: Всерос. конгресс с междунар. участием. — Ярославль, 2009. — С. 233-234.
3. Волощенко Е.В. Длительная антистрессорная терапия адреноанглитиками у хирургических больных: Дис. ... канд. мед. наук. — Красноярск, 1991.
4. Волощенко Е.В. Антистрессорная защита адреноанглитиками и клофелином от хирургической агрессии: Дис. ... д-ра мед. наук. — Красноярск, 2000.
5. Зяглицев Т.В., Герман К.Б. Экспериментальное и клиническое изучение хирургической агрессии // Успехи современного естествознания. — 2006. — № 1. — С. 73-75.
6. Калайчева И.Б., Сумин Н.А., Тараев И.А. Оценка уровня интраоперационного стресса как предиктора ранних системных осложнений хирургического вмешательства // Человек и его здоровье: Курский науч.-практ. вестник. — 2008. — № 1. — С. 64-74.
7. Кесля Г.А. Новые подходы в комплексном лечении огнестрельных ранений конечностей: Дис. ... д-ра мед. наук. — М., 2000.
8. Малкова Л.А. Изучение агрессивности различных вариантов холестирактоний у больных пожилого и старческого возраста: Дис. ... канд. мед. наук. — Екатеринбург, 2001.
9. Мальцева Л.А. Механизмы адаптации гомеостазиса к воздействию факторов операционной агрессии у детей различного возраста на этапах анестезиологического пособия: Дис. ... д-ра мед. наук. — Днепропетровск, 1990.

10. Пат. на изобретение № 2371186 РФ. Способ профилактики гнойно-воспалительных осложнений у травматолого-ортопедических больных с использованием культивированных аутологичных лимфоцитов /Миронов С.П., Кесян Г.А., Берченко Г.П. и др. //Бюл. N 30. — 2010.
11. Пат. на изобретение № 2393218 РФ. Среда для выращивания культуры лимфоцитов /Миронов С.П., Кесян Г.А., Кондратьева И.Е. и др. //Бюл. № 32. 2010.
12. Мхеидзе Д.М., Гришина В.В., Мелкова К.П. и др. Заготовка гемопоэтических стволовых клеток. Метод рекомендации. — М., 2007. — С. 13-14.
13. Шевченко Ю.А. Системный воспалительный ответ при экспериментальной хирургической агрессии. М., 2009.
14. McCredie K.B., Hersh E.M., Freireich E.J. Cells capable of colony formation circulate in the peripheral blood of man //Science. — 1971. — Vol. 171. — P. 293-294.
15. Standard haematology practice. — 3rd ed. — Great Britain, 2000. — P. 280.

Сведения об авторах: *Миронов С.П.* — акад. РАН и РАМН, доктор мед. наук, директор ЦИТО; *Кесян Г.А.* — доктор мед. наук, зав. отделением ортопедии взрослых, *Кондратьева И.Е.* — канд. биол. наук, старший науч. сотр. лаборатории экспериментальной травматологии и ортопедии; *Уразгальдеев Р.З.* — канд. мед. наук, старший науч. сотр. отделения ортопедии взрослых; *Берченко Г.П.* — профессор, доктор мед. наук, зав. лабораторией патологической анатомии; *Салков А.С.* — профессор, доктор мед. наук, зав. научно-поликлиническим отделением; *Карпетян Г.С.* — канд. мед. наук, врач научно-поликлинического отделения; *Шулашов Е.И.* — аспирант отделения ортопедии взрослых.
Для контактов: Кесян Гурген Абовенович. 127299, Москва, ул. Приорова, дом 10, ЦИТО. Тел.: (495) 708-80-24 E-mail: Kesyangurgen@yandex.ru

ЦИТО — 90 лет!

Дорогие друзья!

От души поздравляю вас со знаменательным юбилеем — 90-летием со дня основания Центрального института травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова.

У истоков этого поистине уникального клинического и научно-исследовательского центра стояли выдающиеся российские медики. Вы по праву можете гордиться несколькими поколениями замечательных врачей и ученых, которые внесли значимый вклад в развитие лучших традиций отечественного здравоохранения.

Сегодня здесь внедряются самые современные высокотехнологичные методики, проводятся уникальные операции в одной из сложнейших областей медицины — травматологии и ортопедии.

И дело тут не только в прекрасных условиях и современном оснащении на уровне самых высоких мировых стандартов, которые отличают институт. Главное — это высочайший профессионализм и гражданская ответственность вашего удивительного коллектива.

Вам удалось сохранить то лучшее, что было в отечественной медицине — опыт и мастерство замечательных врачей, заботу сестер, а главное — удивительную атмосферу, которая сама по себе врачует. Тысячи спасенных пациентов, получивших в ваших стенах своевременную и квалифицированную помощь, искренне благодарны вам за это.

От всего сердца желаю замечательному коллективу института новых успехов и достижений на благо отечественной медицины и всего самого доброго.

*Заместитель мэра Москвы в Правительстве Москвы
Л.Н. Швецова*

