

OPTIMIZAREA PROCESELOR DE OSTEOGENEZĂ ÎN PATOLOGIA OSTEO-ARTICULARĂ

V. NACU

Catedra Ortopedie, traumatologie și chirurgie în campanie, Catedra Chirurgie operatorie și anatomie topografică, Laboratorul Inginerie tisulară și culturi celulare, USMF „Nicolae Testemițanu”

Summary

The purpose of this study was to evaluate the ability of xenogenous fetal and autological bone marrow cells separately and in association with allogenic extracellular bone matrix to stimulate the long bone regeneration in cases of insufficient bone formation. Were analyzed the opportunity of the quail lyophilized cell culture and autological bone marrow cells use in the cell-replacement therapy, for bone formation activization, on the 66 patients with nonunion and pseudoarthroses of the long bones.

Key words: bone marrow cells, bone regeneration, bone defects, non union, pseudoarthrosis

Резюме

В статье представлены результаты исследований воздействия эмбриональных лиофилизированных ксеногенных клеточных культур и аутологичных костномозговых клеток с деминерализованным костным матриксом на процесс регенерации костной ткани.

Использованы данные морфоиндуктивные биологические препараты для лечения асептических замедленных консолидаций и ложных суставов длинных костей у 66 больных с удовлетворительными результатами.

Ключевые слова: костномозговые клетки, регенерация кости, дефекты костей, медленная консолидация, ложный сустав.

Introducere

Numărul traumatismelor aparatului locomotor este în continuă creștere. Diverse acțiuni asupra organismului, în general și asupra țesutului osos în particular duc la dereglări în procesul de reparare osoasă.

Frecvența traumatismelor grave crește și în Republica Moldova. Dacă în 1999 s-au înregistrat 43,6 cazuri de fracturi ale oaselor membrilor inferioare la 10000 locuitori, în 2003 - respectiv 57,5 cazuri. În același an (1999) fracturi ale oaselor membrilor toracice au fost atestate în 68,0 cazuri la 10000 locuitori, pe când în 2003 - 89,9 cazuri [Ciobanu Gh. 2005].

Nonform datelor prezentate de Charles Taylor (1996), în SUA anual sunt tratate circa 2 mln de fracturi ale oaselor tubulare lungi. Dintre acestea, la 5% procesul de consolidare osoasă se finalizează prin instalarea pseudoartrozei.

Tratamentul chirurgical prin utilizare a autogrefelor spongioase, aplicat frecvent, reprezintă un traumatism repetat al regiunii afectate și ale regiunii donatoare și nu întotdeauna se soldează cu rezultatul scontat.

Administrarea preparatelor morfoinductive în stimularea regenerării osului și în recuperarea defectelor osoase continuă să fie cercetată, prin căutarea continuă a noi metode de osteoinducție, osteosubstituție ((M.R.Urist 1972; B. Topor 1992; P. Ciobanu 1994, V. Nacu 2001 etc.); totodată, tratamentul stărilor urmate de stagnarea sau de încetinirea regenerării osului rămâne a fi o problemă clinică dificilă.

Obiectivele lucrării

Scopul prezentei lucrări constă în aprecierea influenței culturii de celule osteomedulare fetale xenologice, autologice și a preparatului complex osteomatrix forte asupra regenerării osoase în insuficiența procesului de reparare oaselor lungi ale membrului pelvin la om.

Material și metode de cercetare

Grefa morfoinductivă xenogenă reprezintă o cultură celulară primară din embrioni de prepeliță, colectată la a

10-a zi de incubare, prin separare și cultivare timp de 10-14 zile in vitro, pe mediu nutritiv, în condiții sterile, după o metodă specială. Suspensia celulară, cu concentrația celulelor în suspensie de aproximativ 15 milioane celule în 1ml, se repartizează în flaconașe și se supune liofilizării. Extempore, până la utilizare, conținutul se dizolvă în mediu nutritiv și, în funcție de regiune, se administrează de la 2 până la 8 ml de cultură celulară. Autogrefa se cultivă din măduva osoasă, care este obținută din spina iliacă posterosuperioară a osului iliac prin puncție osoasă. Grefa obținută este prelucrată și celulele obținute sunt cultivate pe mediu nutritiv și pe substanțe adjuvante. Grefa compozită constă din celule autologice osteomedulare care înainte de inoculare se amestecă cu cantitatea necesară de matrice osoasă alogenă demineralizată. Cantitatea de matrice osoasă depinde de volumul defectului osos sau de osul în care se inoculează grefa combinată. Pentru oasele lungi poate fi de la 2 până la 20ml. Inocularea se face cu seringă. În caz de utilizare a matricei demineralizate, inocularea se face cu seringă și cu ace speciale.

Pentru a introduce orientat, corect preparatul morfoinductiv în regiunea afectată, această procedură se face sub control radiologic sau RX-TV care permite vizualizarea plasării și a deplasării acului în focar. O considerăm ca o metodă de elecție în inocularea acestor grefe.

Rezultate obținute

Studiul a fost efectuat pe un eșantion de 66 pacienți cu consolidări lente și pseudoartroze ale oaselor lungi ale membrului toracic (24) și ale celui pelvian (44). Conform localizării procesului patologic, pacienții s-au repartizat astfel: claviculă - 1 pacient, la nivelul humerusului - 9; radiusul - 5; ulna - 4; ambele oase ale antebrațului - 5; colul femural - 3; femurul în 1/3 medie și în cea distală - 12; consolidări lente și pseudoartroze ale osului tibial - 38 cazuri. Au fost utilizate grefe celulare morfoinductive xenogene în 36 cazuri și autologice în 32 cazuri. Remediul biostimulator a fost inoculat prin injecție în focarul patologic, sub control

radiologic, vizual sau RX-TV o singură dată, administrare repetată a fost efectuată în 12 cazuri. În toate situațiile, individual, a fost aleasă metoda de imobilizare adecvată nivelului fracturii și segmentului afectat, fiind aplicate metode ortopedice și chirurgicale. Metodele de examinare au fost clinice, radiologice și scintigrafice cu radionucleizi (Th⁹⁹).

La 50 pacienți (75,7%) au fost obținute rezultate satisfăcătoare, 7 pacienți (10,6%) sunt în curs de examinare, la 2 (3,1%) bolnavi nu se cunoaște rezultatul final și în 7 (10,6%) cazuri nu s-a reușit consolidarea fragmentelor și a fost utilizată metoda chirurgicală de tratament. Complicații în timpul utilizării preparatului nu au fost înregistrate.

Discuții

Deoarece la unii pacienți apar dereglări ale procesului de reparare osoasă, inclusiv în unele cazuri când a fost efectuată reducerea corectă a fragmentelor, a fost utilizată pentru fixarea fragmentelor o metodă de osteosinteză stabilă. Sunt cunoscute mai multe metode de optimizare a regenerării osoase. Pentru accelerarea osteogenezei s-au propus multiple preparate de diverse origini: preparate hormonale, vitamine, fermenți, imunomodulatori, adaptogeni, substanțe micromoleculare organice și neorganice.

Sigur, utilizarea **fixatoarelor externe** ce permit compresia sau distracția fragmentelor, în multe cazuri, permite soluționarea acestor probleme. Dar se cere o perioadă îndelungată de menținere a fixatorului extern, care poate dura luni, uneori mai mult de un an, fapt ce face ca metoda să fie chinuitoare pentru bolnav. Totodată, inconvenientul fixatoarelor externe, care străpung țesuturile moi, constă în asocierea probabilă cu multiple complicații. La plasarea broșelor prin țesuturi și în cazul distracției pot fi lezate pachetele neuro-vasculare, uneori dezvoltându-se și complicații septice.

Autogrefele, considerate "gold standard" între transplantele osoase ca și între grefele osoase vascularizate, sunt colectate mai frecvent din aripa osului iliac, din fibulă. Utilizarea tehnicii microchirurgicale pentru revascularizarea autogrefei pediculate are un avantaj evident pentru un proces reparator activ, calitativ. Dar durata intervenției chirurgicale se mărește și este strict dependentă de tehnica specială necesară pentru astfel de operații. Oricum și dimensiunile autogrefei care poate fi colectată sunt limitate. O incomoditate vizibilă pentru pacient este faptul că locul donator suferă în momentul colectării transplantului, aceasta fiind un traumatism suplimentar la care este supus organismul, detaliu care nu poate fi subestimat. Autogrefa pe pedicul vascular necesită și ea timp suficient pentru integrare completă în loja recipientă și restabilirea biomecanicii la nivelul grefării, inclusiv la nivelul regiunii donatoare.

Culturile celulare autologice și alogene au un efect osteostimulator demonstrat experimental. Este menționată de mulți autori capacitatea autocelulelor osteomedulare de a induce formarea osului la plasarea lor în afara țesuturilor scheletice, inclusiv în camere de difuzie. Cu atât mai mult ele își manifestă caracteristicile osteoinducției la inocularea lor în regiunea osului. La inoculare, în caz de osteogeneză suprimată, se activează regenerarea osoasă stimulându-se celulele lojei recipiente pentru dezvoltare osteogenică. Din cauza caracterului lichid al culturilor celulare, ele nu se

mențin toate plasate nemijlocit în locul inoculării, fapt ce face dificilă utilizarea lor în substituirea defectelor osoase de dimensiuni mai mari.

Grefele combinate (compozite), osteomatricea demineralizată și celulele osteomedulare, fiind o asociere a două grefe cu capacități osteoinducții pronunțate, permit completarea reciprocă a capacităților lor și obținerea unei grefe noi. Această grefă compozită se menține în regiunea inoculării și activează procesul de regenerare stagnat.

Oricum, indiferent de metoda utilizată pentru stimularea formării regeneratului osos, succese în această direcție pot fi înregistrate numai asigurând următoarele condiții de bază:

1. imobilitate (osteosinteză) stabilă a fragmentelor, ulterior și a transplantelor în raport cu fragmentele osoase;
2. alimentarea, vascularizarea suficientă a transplantelor; grosimea transplantelor nu trebuie să depășească 2 cm. (în cazul grefelor masive, este necesar a le diviza longitudinal);
3. lipsa elementelor medulare osoase în alotransplant, purtătoare ale unor capacități antigenice pronunțate, care pot provoca reacția gazdei contra transplantului.

Considerăm obligatorie existența în grefele destinate transplantării, substituirii țesutului osos și substanțelor bioactive, morfoinductive, osteostimulatoare - factori, ce influențează decisiv procesul reparator de osteogeneză. Grefele celulare osteomedulare xenogene liofilizate și autologice, inclusiv cele compozite corespund acestor cerințe, fapt confirmat de cercetările experimentale și clinice efectuate.

Concluzii

1. Culturile celulare osteomedulare xenogene (liofilizate) și cele autologice sunt un remediu eficient de tratament miniminvasiv ale consolidărilor lente și pseudoartrozelor.
2. Din punct de vedere etic, dar și din cel al răspunsului imun al organismului, celulele osteomedulare alogene sunt prioritare; un argument în plus fiind și excluderea posibilității de transmitere a maladiilor hematotransmisibile.
3. Formarea, regenerarea și remodelarea țesutului osos este un proces fiziologic dependent de crearea unei vascularizări adecvate, asigurate de procesul de angiogeneză care formează un suport considerabil pentru progresul în formarea țesutului nou și care este susținut de preparatele morfoinductive administrate.

Bibliografie

1. Ababii I., Ciobanu P., Eșanu N., Topor B., Nacu V. Actualități și perspective în transplantarea celulară. Curierul Medical, nr.3 (285), 2005, p.42 – 47.
2. Ababii I., Șroitu I., Gladun E., Ghidirim Gh. Stimularea imunității locale în tratamentul procesului inflamator.// Chișinău, 2004, 333 p.
3. Ciobanu P.I. și al. Stimularea osteogenezei prin celule osteomedulare în complicațiile la fracturi., Chișinău 1989, 200 p.
4. Ciobanu P.I. Activizare osteogenezei reparatoare prin celule osteomedulare. Dis.dr.h. în med. Chișinău 1994., - 232 p.
5. 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., Ukraina, Krim 31 mai – 9 iunie 2006, p.92-93
6. Jingushi Seiya, Wei/Jia Chen, Yukihide Iwamoto Delivery

- of BMPs for Bone Formation., The 5th International Conference on Bone Morphogenetic Proteins, Abstract book 2004, NAGOVA, p.69]
7. Nacu V., Ciobanu P., B. Topor CEOM de prepeliță în tratamentul consolidărilor lente și pseudoartrozelor. Conferința a VII-a Națională a Ortopezilor-traumatologi din RM, Bălți, 2004. p. 69 - 70.
 8. Owen M.E., Fridenștein A.I. Stromal stem cells: marrow – derived osteogenic precursors. Cells and molecular biology of vertebrate hard tissues. Proceedings of a Symposium held at the Ciba Foundation, London, Oct. 13 – 15, 1987.
 9. Termaat M.F., Blokhuis T.J., Den Boer F.C., Bakker F.C. et al. The role of Bone Morphogenetic Protein in Bone Healing. *Osteo Trauma Care*, 2003; 11; p.122-125]
 10. Urist M.R., New Bone formation induced in postfetal life by Morphogenetic protein. *Mechanism of Growth Control*. Springfield, 1981, 406-438.
 11. Фриденштейн А.И., Лалыкина К.С. Индукция костной ткани и остеогенные клетки предшественники, 1973, p.30-63.

TRATAMENTUL CHIRURGICAL ÎN SPONDILITA TUBERCULOASĂ EVOLUTIVĂ

Vasile PROCOPCIUC

IMSP Institutul de Ftiziopneumologie "Chiril Draganiuc"

Summary

Surgical treatment's tactics in active tuberculosis spondylitis 204 patients were under our observance, they were applied 244 surgical operations, in cases of combined operations (corporodesis and rahisintesis) complications were fewer (14,8%) against (22%), obtained results: good – 82,8%, satisfying – 14,2%, unsatisfying – 2,9%.

În structura generală a tuberculozei osteoarticulare, spondilita tuberculoasă ocupă primul loc (Blasi, 1984; Коваленко К. Н. 1994). Statisticile recente demonstrează că acestea se atestă mai frecvent (circa 54,2%) la persoanele de vârstă activă și la cele de vârstă înaintată (Кирилович Л. И. 1974, Нигаи Т. А. 1983, Олейник В. В. 1994). Astfel, problema spondilitei tuberculoase rămâne actuală și numărul de pacienți cu această maladie este în continuă creștere (Blasi 1984, Weir 1985, Гарбуз А. Е. 1989).

În Republica Moldova bolnavii aflați în evidență încă din copilărie de asemenea prezintă diformități accentuate, iar cei depistați la o vârstă matură (în stadii avansate ale maladiei) în majoritatea cazurilor prezintă destrucții vertebrale multiple (pe 2-3 corpi vertebrale), însă fără diformități pronunțate (Мырзак Е. П. 1978 - 1988).

După datele unor autori, formele tardive ale spondilitei tuberculoase, la pacienți aflați în evidență, constituie 60 – 80% din totalul bolnavilor cu patologii ale aparatului locomotor (Гарбуз А. Е. 1989, Олейник В. В. 1994). Dereglările medulare la aceștia apar în perioadele precoce și sunt uneori ireversibile (Гарбуз А. Е. 1991, Макаровский А. Н. 1995).

Luând în considerație situația epidemiologică din ultimii ani, densitatea sporită a populației, evoluția gravă a tuberculozei pulmonare cu destrucție și eliminare de bacili, alterarea imuno-reactivității specifice organismului uman, frecvența maladiilor asociate și concomitente etc., diagnosticul tuberculozei osteoarticulare, în special al spondilitei tuberculoase devine tot mai problematic, fiind confirmat, de regulă, abia în stadiile ei avansate. Acest fapt provoacă o serie de complicații ireversibile, cum sunt: paralizii, dereglările trofice și cele sfincteriene.

Scopul cercetării

Ameliorarea rezultatelor tratamentului bolnavilor cu

spondilită tuberculoasă evolutivă prin diverse metode chirurgicale, în funcție de complicațiile acestei maladii. Aplicarea metodelor combinate de intervenții chirurgicale pe coloană.

Valoarea practică a acestui studiu constă în elaborarea tacticii de tratament a spondilitei tuberculoase evolutive, în funcție de complicațiile acestei maladii, de aplicarea diverselor metode chirurgicale, inclusiv și a celor combinate.

Studiul s-a bazat pe determinările clinico-radiologice, biochimice, histologice, ale tomografiei computerizate, etc. La investigarea bolnavilor în staționar accentul s-a pus pe datele anamnestice:

- debutul și caracterul bolii;
- contactul cu bolnavii baciliferi;
- frecvența maladiilor asociate și a traumatismelor.

S-a atras atenția asupra tratamentului făcut până la internare și în staționar.

La examinarea bolnavilor s-a determinat:

- starea generală;
- prezența semnelor de intoxicație;
- caracterul febrei;
- slăbiciunile;
- inapetența;
- prezența și localizarea procesului în regiunea coloanei vertebrale;
- prezența complicațiilor acestei maladii (paralizii, dereglări sfincteriene, trofice, abcese, fistule, etc.).

Bolnavii au fost supuși următoarelor teste radiologice:

- spondilografia coloanei vertebrale în două incidente;
- tomografia;
- abcesografia;
- fistulografia;

- spondilografia de control în timpul intervenției chirurgicale, după tratament, la externare și prospectiv.

Au fost supuși tratamentului chirurgical și supravegheați