

Kaulu smadzeņu mononukleāro šūnu transplantācija gūžas un ceļa locītavas osteoartrīta ārstēšanai: īstermiņa klīniskie rezultāti un drošums

Valdis Gončars,

traumatologs ortopēds, VSIA *Traumatoloģijas un ortopēdijas slimnīca*, LU pētnieks traumatoloģijā un ortopēdijā

Ēriks Jakobsons,

P. Stradiņa KUS Šūnu transplantācijas centra vadītājs

Ilze Laila Laudere,

radioloģe diagnoste, Rīgas Austrumu KUS

Edgars Ginevičs,

LU, MF 5. kursa students

Konstantīns Kalnbērzs,

professors, *Dr.med.*, traumatologs ortopēds, LU MF Ortopēdijas katedra, VSIA *Traumatoloģijas un ortopēdijas slimnīca*

Andrejs Ērglis,

professors, *Dr.med.*, kardiologs, Latvijas Universitātes (LU) Kardioloģijas zinātniskā institūta direktors, LU Medicīnas fakultāte, P. Stradiņa KUS Kardioloģijas centra vadītājs

Anna Ramata-Stunda,

P. Stradiņa KUS Šūnu transplantācijas un zinātniskās izpētes laboratorijas vadītāja

Mārtiņš Borodušķis,

P. Stradiņa KUS Šūnu transplantācijas centra biotehnologs

Inese Čakstiņa,

P. Stradiņa KUS Šūnu transplantācijas centra biotehnoloģe

Vika Vorobjeva,

P. Stradiņa KUS Šūnu transplantācijas centra biotehnoloģe

Lita Grīne,

P. Stradiņa KUS Šūnu transplantācijas centra biotehnoloģe

Kristaps Ērglis,

LU MF 2. kursa students

Inga Narbutē,

kardioloģe, P. Stradiņa KUS Latvijas Kardioloģijas centrs

Sanda Jēgere,

kardioloģe, P. Stradiņa KUS Latvijas Kardioloģijas centrs

Ieva Briede,

kardioloģe, P. Stradiņa KUS Latvijas Kardioloģijas centrs

Īsumā

Osteoartrīta ārstēšana jauniem un aktīviem pacientiem, kā arī pacientiem ar vairāku locītavu bojājumu vienlaikus joprojām ir grūti risināma problēma ortopēdijā. Pēdējos gados literatūrā sastopami atsevišķu klīnisko gadījumu apraksti par cīlmes šūnu lietošanu, lai uzlabotu locītavu skrimšļa reģenerāciju un samazinātu iekaisumu locītavā. Mūsu pētījumā tika veikta mezenhimālo cīlmes šūnu ievadīšana locītavās pacientiem ar gūžas un ceļa locītavu II–III pakāpes osteoartrītu. Par cīlmes šūnu avotu tika izmantots sarkano kaula smadzeņu aspirāts no zarnu kaula spārna un asiņu materiāls no endoprotezēšanas operācijas. Ar gradienta centrifugēšanas metodi P. Stradiņa KUS Šūnu transplantācijas laboratorijā tika veikta mononukleāro šūnu frakcijas izdalīšana. To skaits tika noteikts ar plūsmas citometrijas metodi. Mezenhimālo cīlmes šūnu ievadīšana locītavās abām pacientu grupām jāva uzlabot to klīnisko stāvokli 6 mēnešu laikā. Konstatējām noturīgu sāpju samazinājumu un funkcijas uzlabojumu. Samazinājās nepieciešamība lietot nesteroidos pretiekaisuma līdzekļus ikdienas aktivitāšu veikšanai. 6 mēnešu periodā netika konstatētas nelabvēlīgas blakusparādības vai komplikācijas. Endoprotezēšanas operāciju laikā evakuētās asinis ir labs materiāls lielāka mononukleāro šūnu daudzuma ieguvei salīdzinoši ar zarnu kaula spārna sarkano smadzeņu aspirātu.

Osteoartrīts (OA) ir viena no biežāk sastopamajām locītavu slimībām pasaulē, kas veido aptuveni 50% no muskuloskeletālās slimību grupas. Populācijā, kas vecāka par 60 gadiem, simptomātisks OA konstatējams 9,6% vīriešu un 18% sieviešu. Bet kļūdaini būtu uzskatīt, ka OA ir vienīgi vecāka gadagājuma cilvēku slimība, jo vecuma grupā no 30 līdz 50 gadiem daudzās Eiropas valstīs tas sasniedz 2% incidenci. [1, 2]

Osteoartrīts ir hroniska progresējoša locītavu slimība, kam raksturīgs locītavas skrimšļa bojājums, kaula hipertrofiska reakcija, sinoviālā apvalka iekaisums un locītavas kapsulas sabiezēšanās. Etioloģija ir multifaktoriāla, kur noteicošie faktori ir iedzimtība, biomehānikas izmaiņas locītavu veidojošajos kaulos (*varus, valgus*, displāzijas u.c.), vecums, dzimums, rase, traumas, sports, pārslogdes, imobilizācija un paaugstināts ķermeņa svars. Simptomi ir sāpes

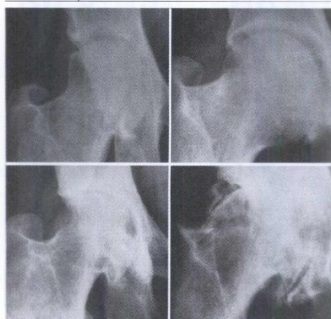
locītavā, stīvums, krepitācija, kustību ierobežojums, locītavas šķidruma produkcijas disfunkcija – tā daudzums var būt gan palielināts, gan samazināts, un tā reoloģiskās īpašības ir izmainītas, locītavas ass pārmainītas.

Bez klīniskajiem simptomiem diagnostikā nozīmīgākā ir radioloģiskā izmeklēšana. Locītavas rentgenogrammās novēro asimetriski sašaurinātu locītavas spraugu, subhondrālu sklerozi, osteofītus locītavas malās, kaula cistiski degeneratīvas izmaiņas un ass novirzes. Osteoartrīta agrīnās stadijās nozīmīgu informāciju ir iespējams iegūt ar magnētiskās rezonanses izmeklējumu. Iespējams diagnosticēt agrīnus skrimšļa bojājumus bez rentgenogrammās redzama locītavas spraugas augstuma samazinājuma; kā arī agrīnu kaula reakciju, t.s. kaula smadzeņu tūska. OA klasifikācijai visbiežāk izmanto Kelgrēna–Lorenca (*Kellgren-Lawrence*) klasifikāciju, kur atkarībā no radioloģisko izmaiņu pakāpes gan gūžas (1. attēls), gan ceļa (2. attēls) locītavās osteoartrītu iedala četrās pakāpēs [3]:

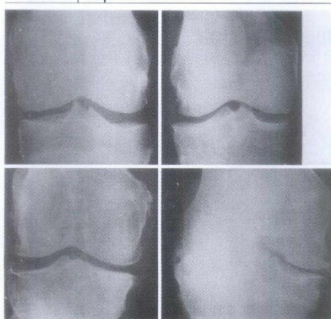
I pakāpe: neredzams sašaurināta locītavas sprauga, sākotnēja osteofītu veidošana locītavas malās;

II pakāpe: izteikta locītavas spraugas sašaurināšanās, izteikti osteofīti;

1. attēls | Gūžas locītavas OA



2. attēls | Ceļa locītavas OA



III pakāpe: izteikti multipli osteofīti, izteikta locītavas spraugas sašaurināšanās, vietām subhondrālā skleroze, locītavas virsmas kaula kontūra nelīdzena;

IV pakāpe: lieli osteofīti, locītavas sprauga vietām izzudusi, izteikta osteoskleroze, locītavas kaula kontūras izteiktas izmaiņas.

Histoloģiski skrimšļa izmaiņas atbilstoši OARSI (*Osteoarthritis Research Society International*) klasifikācijai iedala sešās pakāpēs (3. attēls). Skrimšļa virspusējo un dziļāko slāņu bojājumi raksturīgi 2., 3. un 4. pakāpei. Cilmes šūnu nokļūšana šādos bojājumos varētu izraisīt to fiksāciju pie bojātā skrimšļa bazālajiem slāņiem un tālāku

derivāciju par skrimšļa šūnām, tādējādi novēršot skrimšļa bojājumus.

OA ārstēšana sākuša etapis ir balstīta uz dzīvesveida un diētas ieteikumiem, hondroprotektīvo līdzekļu, kā glikozamīns, hondroitīns lietošanu. Progresējot slimībai, jāpievieno pretsāpju un nesteroidie pretiekaisuma līdzekļi (NPL), kuru ilgstoša lietošana rada nopietnu kuņģa un zarnu trakta asiņošanas risku. Kortikosteroīdu intraartikulāra ievadīšana, ņemot vērā iespējamās blakus-efektus, kā infekcijas un lokālas osteonekrozes, būtu lietojama ar izteiktu piesardzību un vairāk kā ārkārtas pasākums. Intraartikulāri kursi ar nātrija hialuronāta preparātiem pēdējā laikā iekarojuši paliekošu vietu OA ārstēšanā, kaut arī nereti klīniskais efekts nav vērtējams kā pietiekams. Šiem preparātiem nav novērotas nopietnas blaknes, to kursus iespējams atkārtot, kas ir ļoti svarīgi tādas hroniskas progresējošas patoloģijas gadījumā kā OA.

OA radikāla ārstēšanas metode ir un paliek locītavu endoprotezēšana. Nepārtraukti tiek uzlaboti endoprotēžu izgatavošanā lietotie materiāli, izstrādāti precīzāki instrumenti un ķirurģiskā tehnika. Tas kopumā ļāvis ievērojami uzlabot klīniskos rezultātus pēc endoprotezēšanas operācijām un palielināt implantu kalpošanas laiku. Tomēr nereti jāsaškas ar komplikācijām, kas saistītas ar dziļo infekciju, implantu izkustēšanos un sadīšanas problēmām. Tas izraisa arvien pieaugošu revīzijas endoprotezēšanas operāciju nepieciešamību un ievērojami pasliktina pacientu dzīves kvalitāti un paaugstina mirstību. Tādu endoprotēžu radīšana, kas spētu kalpot aktīvam pacientam vairāk nekā 20 gadus, joprojām ir nākotnes uzdevums.

Pēdējos gados jāsastopas ar jauniem izaicinājumiem, pacientiem kļūstot arvien prasīgākiem pēc augstas dzīves kvalitātes un kustību aktivitātes. Sports kļuvis par daudzu cilvēku ikdienas sastāvdaļu ne tikai jaunāku pa-

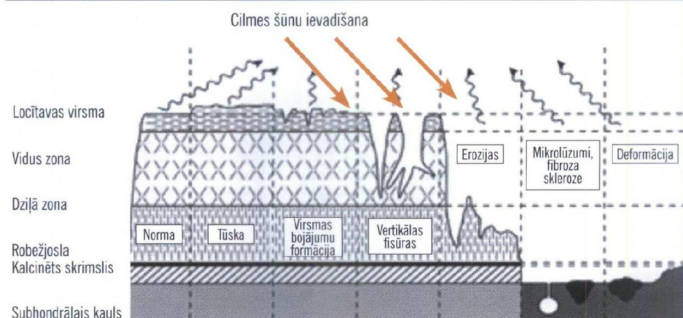
cientu vecuma grupā, bet arī vidēja un pat vecāka gadagājuma pacientiem. Jo lielāka slodze būs endoprotezētajai locītavai, jo vairāk nodiluma produktu nokļūs apkārtējos audos. Tie savukārt ir atbildīgi par iekaisuma veidošanās apkārtējos audos un osteolīzi ap endoprotēzi, kas noved pie implanta izkustēšanās. Joprojām neatrisināts paliek jautājums, kā ārstēt OA jaunam aktīvam pacientam.

OA pamatā ir tieši skrimšļa virsmu deģeneratīvas izmaiņas. Skrimslim cilvēka organismā pašatjaunošanās spējas ir ļoti ierobežotas, salīdzinot ar citiem audu veidiem. Nākotnē risinājums varētu būt reģeneratīvā medicīna, kas ļautu atjaunot organisma bojātos audus ar tā paša spēkiem, izmantojot paša pacienta šūnas. Lielāko interesi izraisa tieši mezenhimālās cilmes šūnas (MCŠ), pateicoties to spējai derivēt par dažāda veida šūnām, tostarp par osteocītiem un hondrocītiem. To ievadīšana locītavā spētu dot jaunas vitālās šūnas, kas varētu sākt skrimšļa reģenerācijas procesus. Mezenhimālajām cilmes šūnām piemīt arī citas īpašības, kas var būt noderīgas reģeneratīvo procesu stimulēšanai. Konstatēts, ka tās inhibē šūnu apoptozi, stimulē angiogēni, stimulē endogēno šūnu proliferāciju un samazina iekaisuma procesa aktivitāti. [22] Iedarbības mehānisms ir, šūnām izdalot bioloģiski aktīvas vielas, kā arī mijiedarbojoties ar šūna-šūna signālu pāldziību. [23] Minētos fenomenus dēvē par MCŠ parakrīnājiem efektiem.

Mezenhimālās cilmes šūnas ir iespējams iegūt no dažādiem audiem, piemēram, no sarkanajām kaulu smadzenēm [4], no lielo stobra kaulu kanāliem [12–15], no taukajiem [16], trabekulārā kaula [17], periosta [18], perifērājiem asinīm [18] un sinoviālā apvalka [19]. Arvien tiek meklēti jauni efektīvi MCŠ ieguves avoti. Izplatītākā no mezenhimālo cilmes šūnu iegūšanas metodēm ir to izdalīšana no sarkanajām kaulu smadzenēm, aspirējot tās no iegurni zarnu kaula. Īpašu interesi izraisa metodes, kas ļautu iegūt iespējami lielāku multipotento šūnu daudzumu tālākai autoloģai transplantācijai, neveicot to kultivēšanu laboratorijas apstākļos *in vitro*, tā samazinot iespējamo risku šūnām mainīties. Tehniski vienkāršāk ir iegūt mononukleāro šūnu frakciju, kuras sastāvā ir arī MCŠ. Ar grādienta centrifugācijas metodi iegūta mononukleāro šūnu (MNS) frakcija satur virkni šūnu populāciju, galvenokārt B šūnas, T šūnas, monocītus, kā arī priekšteču šūnas, hematopoētiskās šūnas, mezenhimālās stromas šūnas u.c. Tāpēc terapeitiskiem nolūkiem praktiskāk izvēlēties mononukleārās šūnas. Pašreiz visplašāk izmantotā dokumentētā kaula smadzeņu mononukleāro

Histoloģiskās osteoartrīta attīstības pakāpes (pēc OARSI)
(No prezentācijas 5. Baltijas traumatologu un ortopēdu kongresā (20.09.2013.–21.09.2013.))

3. attēls



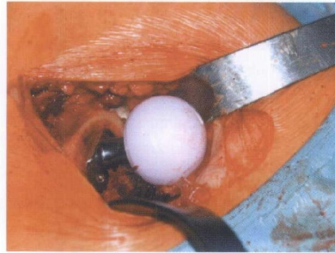
šūnu iegūšanas metode ir grādienta centrifugācija, izmantojot *Ficoll-Paque* blīvuma gradientu, ar kā palīdzību sarkanās kaula smadzenes tiek frakcionētas un tiek izdalīta nepieciešamā frakcija, kas satur mononukleārās šūnas. Secīgi tiek veikta virkne tehnoloģisko soļu, kas nepieciešami atlikušā blīvuma grādienta aizvākšanai un transplantācijā izmantojamā preparāta sagatavošanai. Lai novērtētu transplantācijai nododamā materiāla kvantitatīvo saturu, tiek veikta plūsmas citometrija (*FC-500 Beckman Coulter*).

Sākotnējā un gala materiāla paraugi tiek analizēti ne vēlāk kā 2 h no sagatavošanas brīža. Tiek izmantots *Stem kit* (*Beckman Coulter*). Parauga iezīmēšanai tiek izmantotas CD45-FITC, CD34-PE, 7-AAD un *Stem-Count* fluorosfēras. Mononukleāro šūnu, CD34⁺ un šūnu dzīvotspējas noteikšanai tiek izmantota *StemCXP* programma, iekārtas iestatījumi veikti saskaņā ar ISHAGE protokolu un ražotāja rekomendācijām [24].

Literatūrā nav sastopamas norādes par nopietnām blaknēm, kas saistītas ar MCŠ ievadīšanu locītavās, kas iegūtas no sarkanajām kaulu smadzenēm bez tālākas to pavairošanas kultivējot. Dzīvnieku modeļsistēmu pētījumos MCŠ autotransplantācijā izmantota osteoartrīta ārstēšanai [5, 6]. Publicēti atsevišķi klīniskie piemēri mezenhimālo cilmes šūnu transplantācijai pacientiem ar gūžas un ceļa locītavas osteoartrītu [7–9] un *femur* galviņas avaskulāro nekrozi [10, 11]. Iegūti pozitīvi klīniskie rezultāti: samazinājušās sāpes, palielinājies kustību apjoms, locītavas skrimšļa masas pieaugums MR izmeklējumā.

Ceļa vai gūžas locītavas endoprotezēšanas operācijas laikā tiek zaudētas asinis kopā ar kaula smadzenēm (4. attēls), kaulaudi (5. attēls) un citi organisma audi un šķidrums, kas tiek aizvietoti ar implantiem (6. attēls), asins preparātiem vai citādi kompensēti to zudums, lai atjaunotu organisma normālu darbību. Ikdienu praksē šie

6. attēls Zaudētie audi tiek aizvietoti ar implantiem



audi tiek utilizēti kremējot. Iespējams, ka tie varētu saturēt MCŠ, ko varētu izmantot tālākai transplantācijai.

Līdz šim literatūrā nav atrodami dati par endoprotezēšanas laikā evakuēto audu izmantošanu mononukleāro cilmes šūnu ieguvei. Nav klīnisko pētījumu par lielākām pacientu grupām par mononukleāro šūnu ievadīšanu locītavā ar mērķi ārstēt osteoartrītu. Literatūrā sastopami tikai atsevišķi klīnisko gadījumu apraksti [7–10]. Nereti klīniskajā praksē OA pacientam skar vienlaikus vairākas locītavas. Novērojams gan abu gūžu locītavu vai abu ceļa locītavu OA, gan retāk gūžas un ceļa locītavu dažādas pakāpes OA kombinācijas vienam un tam pašam pacientam. Tā izpausme parasti kādā no locītavām ir tālākā slimības stadijā, citā mazāk izteikta. Pacienta klīnisko stāvokli pēc endoprotezēšanas ievērojami apgrūtina nepieciešamība pēcoperācijas perio-

dā atslēgot operēto kāju. Tas palielina slodzi otrai kājai un bieži vien paātrina OA procesa attīstību, kā arī rada ievērojamus funkcionālus traucējumus pacientam. Paātrina nepieciešamību veikt nākamo endoprotezēšanas operāciju jau otrai kājai. Locītavā, kur OA ir tālākā attīstības pakāpē, var veikt endoprotezēšanu. Tās laikā savāktos audus iespējams izmantot MNŠ ieguvei un iegūtās šūnas ievadīt citā OA skartajā locītavā šim pašam pacientam, lai apturētu tur OA attīstību un stāvokļa pasliktināšanos.

Darba mērķis

Transplantēt mononukleārās šūnas locītavās pacientiem ar gūžas vai ceļa locītavas osteoartrītu. Novērtēt locītavas skrimšļa audu reģenerāciju un iekaisuma procesa aktivitātes izmaiņas un pacientu klīniskā stāvokļa dinamiku. Pārliecināties, vai no endoprotezēšanas operācijas evakuētos audus iespējams izmantot MCŠ iegūšanai un vai iespējama tālāka to izmantošana citu locītavu osteoartrīta ārstēšanai tam pašam pacientam.

Materiāls un metodes

Pacientiem ar izolētu OA gūžas vai ceļa locītavā, kas atbilst Kelgrēna–Lorensa klasifikācijas 2.–3. pakāpei (9. attēls), dienas stacionāra apstākļos lokālā anestēzijā tiek veikta zarnu kaula spārna šķautnes punkcija (7. attēls). Aspirēto kaula smadzeņu apmērs (8. attēls) ir ap 45 ml, tās tiek aspirē-

4. attēls Zaudētas asinis ar kaula smadzenēm



5. attēls Endoprotezēšanas operācijas laikā tiek zaudēti kaulaudi



7. attēls Zarnu kaula spārna šķautnes punkcija



8. attēls Aspirētās kaula smadzenes



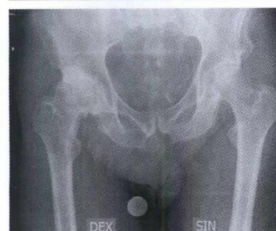
tas antikoagulantu saturošā šļircē (heparīns 500 U/ml). Iegūtais aspirāts tiek nodots P. Stradiņa KUS Šūnu transplantācijas centra laboratorijā, kas veic materiāla apstrādi saskaņā ar protokolu, ievērojot Labas ražošanas prakses standartu (*Good Manufacturing Practice* – GMP).

Šūnu kvantitatīvai novērtēšanai iegūtais bioloģiskais materiāls tika analizēts ar plūsmas citometrijas metodēm. Pacienti tās pašas dienas laikā tika veikta izdalītās mononukleāro šūnu frakcijas ievadīšana OA skartajā locītavā. Locītavas punkcija veikta rentgena televīzijas kontrolē, lai nodrošinātu precīzu šūnu materiāla ievadīšanu locītavas dobumā. (10. attēls.) Pēc ievadīšanas pacients atgriežas mājās un var pilnībā slēgt kāju.

Pacientiem ar klīniski aktīvu OA procesu vairākās locītavās (11. attēls) Traumatoloģijas un ortopēdijas slimnīcā tiek veikta endoprotezēšanas operācija locītavai ar smagākām OA klīniskām un radioloģiskām izpausmēm. (12. attēls.)

Operācijas laikā zaudētās asinis kopā ar kaula smadzenēm tiek savāktas sterīlā veidā, izmantojot asins retransfūzijas iekārtu. Transportēšanai uz laboratoriju tika izmantots asins retransfūzijas iekārtas rezervuārs. P. Stradiņa KUS Šūnu transplantācijas centra laboratorijā tika izdalīta mononukleāro šūnu frakcija. Tā tiek ievadīta pacientam tajā pašā dienā, kā aprakstīts iepriekš.

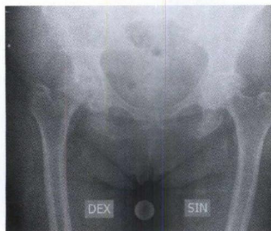
9. attēls Izolēts OA, 2.–3. pakāpe pēc Kelgrēna-Lorensa klasifikācijas



10. attēls Locītavas punkcija tiek veikta rentgena kontrolē



11. attēls Klīniski aktīvs OA process vairākās locītavās



12. attēls Locītavai ar smagākām OA klīniskām un radioloģiskām izpausmēm veikta endoprotezēšanas operācija



Visi pacienti turpina saņemt arī pirms tam saņemto ārstēšanu ar perorālajiem nesteroidajiem pretiekaisuma līdzekļiem un hondroprotektoriem. Visi pētījumā iekļautie pacienti tiek izmeklēti pirms pētījuma sākšanas un monitorēti vienu gadu.

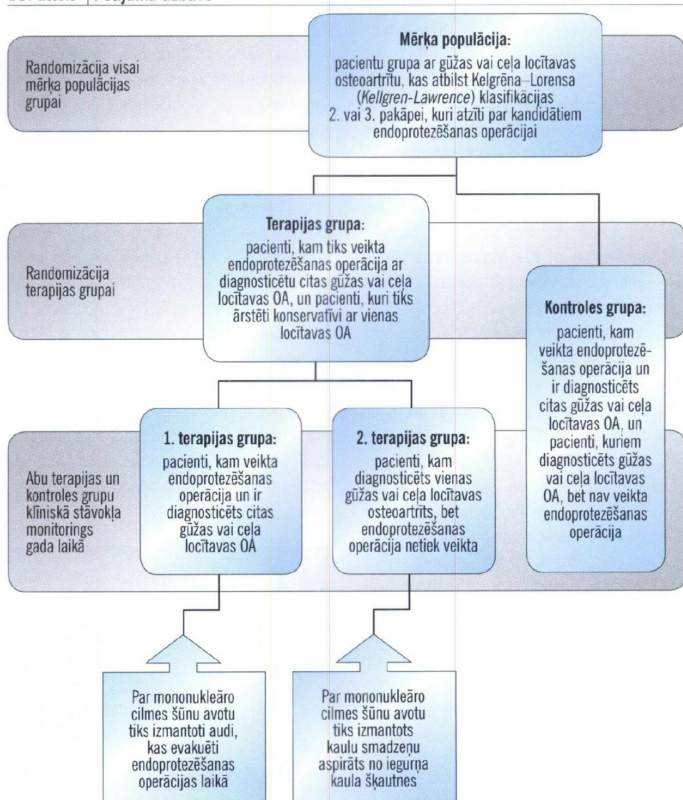
Lai novērtētu pacientu pašsajūtu dinamikā un klīnisko stāvokli, pirms transplantācijas un vienu, trīs, sešus un divpadsmit mēnešus pēc tās tiek veikta subjektīvā un objektīvā stāvokļa izvērtēšana, izmantojot anketēšanu. Izmantojām Oksfordas gūžas un ceļa locītavu

novērtēšanas, kā arī KOOS (*Knee injury and Osteoarthritis Outcome Score*) skalas subjektīvā stāvokļa novērtēšanai. Klīniskā stāvokļa objektīvai novērtēšanai izmantojām KSS (*Knee Society Score*) skalu ceļa locītavai un Harisa skalu gūžas locītavai.

Radioloģiskajai osteoartrīta procesa novērtēšanai pirms MCŠ ievadīšanas un 6 mēnešus pēc ievadīšanas veicām digitālas kalibrētas rentgenogrammas iegurni vai ceļa locītavai, kā arī MR izmeklējumus.

Pētījuma uzbūve atainota 13. attēlā.

13. attēls Pētījuma uzbūve



Pavisam 16 pacientiem tika veikta mononukleāro šūnu frakcijas ievadīšana osteoartrīta skartajā locītavā. Viņiem visiem bija OA gūžas vai ceļa locītavā, kas atbilst Kelgrēna-Lorensa (Kellgren-Lawrence) klasifikācijas 2. vai 3. pakāpei. Vidējais vecums grupai – 56 gadi, 9 vīrieši un 7 sievietes, 12 pacientiem MCŠ tika ievadītas ceļa locītavā un 4 – gūžas locītavā.

1. terapijas grupā bija 7 pacienti, kam par cilmes šūnu avotu tika izmantotas asinis un kaulu smadzenes no endoprotezēšanas operācijas. 2. terapijas grupā bija 9 pacienti, kuriem šūnas tika iegūtas no sarkanajām kaulu smadzenēm, punktējot iegurņa zarnu kaula spārnu.

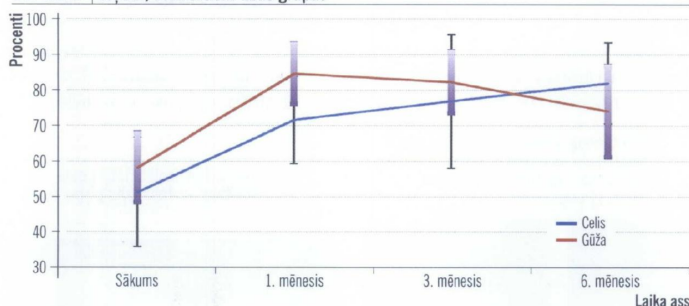
Rezultāti

Nevienam no pacientiem pēc MCŠ ievadīšanas un turpmākajā 6 mēnešu periodā netika novērotas nevēlamas blakusparādības vai pārmaiņas veselības stāvoklī. Netika novērota infekcija vai iekaisuma procesa aktivitātes pieaugums locītavās pēc transplantācijas. Nebija nepieciešamība lietot NPL ne regulāri, ne kursu veidā arī tiem pacientiem, kas bija tos lietojuši iepriekš.

Salīdzinot pacientu klīniskā stāvokļa, sāpju un locītavas funkcijas izmaiņas 6 mēnešu periodā, izmantojot anketēšanas rezultātus, visiem tika konstatēta uzlabošanās. Tika konstatēta statistiski nozīmīga atšķirība ($p < 0,001$) starp summārajiem anketu punktu rezultātiem 1, 3 un 6 mēnešus pēc MCŠ transplantācijas. (14. attēls.)

Analizējot iegūto mononukleāro šūnu daudzumu no endoprotezēšanas laikā ņemtajiem kaulaudiem un asins un kaulu smadzeņu substrāta, secinājām, ka iegūto mononukleāro šūnu daudzums no asins un kaulu smadzeņu frakcijas ir salīdzināms ar atsevišķos gadījumos ievērojami pārsniedz daudzumu, ko iegūst, aspirējot tās no iegurņa zarnu kaula spārna klasiskā veidā. MCŠ vidējais

16. attēls Uzlabojums % pēc anketu (OHS un HHS – gūžām un OKS, KOOS un KSS – ceļiem) rezultātiem abās grupās



daudzums, kas iegūts ar zarnu kaula spārna punkciju, bija $(28,4 \pm 20) \times 10^6$, bet no endoprotezēšanas operācijas laikā savāktajām asinīm – $(92,3 \pm 20) \times 10^6$. Izdalītais šūnu daudzums ir pietiekams, lai varētu tās izmantot retransplantācijai šim pašam pacientam, tas atzīts arī publikācijās. [20] Šūnu dzīvotspēja tika novērtēta ar plūsmas citometrijas metodi, un, salīdzinot to, abām grupām būtiskas atšķirības netika konstatētas. Tā bija $75,8 \pm 15,8\%$ kaula punkcijas grupai un $72,2 \pm 15,7\%$ endoprotezētajai grupai. Salīdzinot klīnisko rezultātu dinamiku pēc anketu punktu summām, statistiski nozīmīga atšķirība starp grupām netika konstatēta. (15. attēls.)

Salīdzinot ceļa locītavā un gūžas locītavā veikto MCŠ transplantāciju klīniskos rezultātus, statistiski nozīmīga atšķirība starp abām grupām netika konstatēta. (16. attēls.)

Radioloģiskie izmeklējumi pirms un 6 mēnešus pēc šūnu ievadīšanas neliecināja par deģeneratīvo izmaiņu progresēšanu. Netika novērotas ektopiskas kaula struktūras veidošanās vai kādas citas netipiskas izmaiņas locītavu veidojošajos audos. Pacienta Dz.G. rentgenogrammās – abpusējs klīniski aktīvs osteoartrīta process abās ceļa locītavās (18. attēls), K-L II pakāpe.

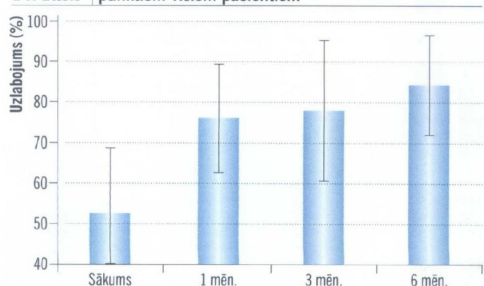
17., 19. attēls Klīniski aktīvs osteoartrīta process abās ceļa locītavās, K-L II pakāpe



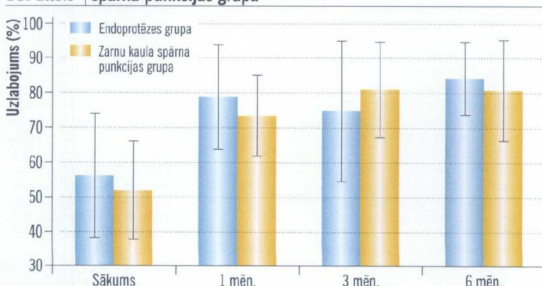
18. attēls Klīniski aktīvs osteoartrīta process abās ceļa locītavās, K-L II pakāpe



14. attēls Uzlabojums % pēc anketu (OHS, HHS – gūžām, OKS, KOOS, KSS – ceļiem) punktiem visiem pacientiem



15. attēls Uzlabojums % pēc anketu (OHS, HHS – gūžām, OKS, KOOS, KSS – ceļiem) rezultātiem endoprotezēto un zarnu kaula spārna punkcijas grupā



HHS – Harris Hip Score, KOOS – Knee injury and Osteoarthritis Outcome Score, KSS – Knee Society Score, OHS – Oxford Hip Score, OKS – Oxford Knee Score

Veikta labās ceļa locītavas endoprotezēšana, operācijas laikā savāktais asiņu materiāls izmantots MNŠ ieguvei un tai pašā operācijas dienā veikta šūnu ievadīšana kreisajā ceļa locītavā. (20. attēls.)

K-L 2 tipa izolēts labās ceļa locītavas os-

Rentgenogrammas 6 mēnešus pēc labās ceļa locītavas endoprotezēšanas operācijas un MNS ievadīšanas kreisajā ceļa locītavā

20.-23. attēls



teoartrīts 49 gadus vecam vīrietim (24. attēls). Veikta zarnu kaula spārna punkcija, aspirētas sarkanās kaulu smadzenes, kas izmantotas MNŠ iegūšanai, iegūtās šūnas ievadītas labajā ceļa locītavā. MR 6 mēnešus pēc MNŠ ievadīšanas. (25. attēls.)

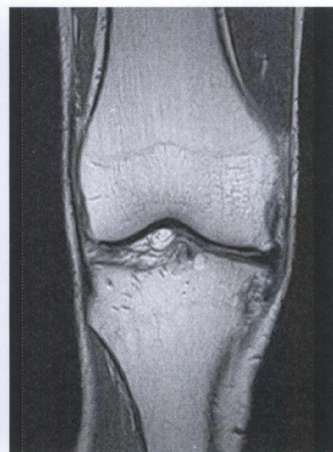
K-L 2 tipa izolēts labās ceļa locītavas osteoartrīts pirms šūnu ievadīšanas

24. attēls



K-L 2 tipa izolēts labās ceļa locītavas osteoartrīts 6 mēnešus pēc MNŠ ievadīšanas

25. attēls



Secinājumi

Mononukleāro šūnu ievadīšana locītavās ar II-III pakāpes osteoartrītu ir droša metode ar zemu komplikāciju risku.

Endoprotezēšanas operācijas laikā evakuētās asinis ir labs materiāls lielāka mononukleāro šūnu daudzuma ieguvei salīdzinoši

ar zarnu kaula spārna sarkano smadzeņu aspirātu.

Pacientiem pēc mononukleāro šūnu transplantācijas samazinās sāpes un uzlabojas funkcija locītavā. Samazinās nepieciešamība lietot nesteroidus pretiekaisuma līdzekļus, lai varētu veikt ikdienas aktivitātes. □

Literatūra

- Arden N, Nevitt MC. Osteoarthritis: epidemiology. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2006 Feb;20(1):3-25.
- Zhang Y, Jordan JM. Epidemiology of osteoarthritis. *Clin Geriatr Med*. 2010 Aug;26(3):355-69.
- Kellgren JH, Lawrence JS. Radiological assessment of osteo-arthritis. *Ann Rheum Dis*. 1957; 16(4):494-502.
- Harry Kottlarz, Candace L. Gunnarsson, Hai Fang, John A. Rizzo. Insurer and out-of-pocket costs of osteoarthritis in the US: Evidence from national survey data *Arthritis & Rheumatism* Volume 50, Issue 12, pages 3546-3553, December 2009.
- Centro CJ, Schultz JR, Cheever M, Robinson B, Freeman M, Marasco W. Safety and complications reporting on the re-implantation of culture-expanded mesenchymal stem cells using autologous platelet lysate technique. *Curr Stem Cell Res Ther*. 2010 Mar;5(1):81-93.
- Murphy JM, Fink DJ, Hunziker EB, Barry FP. Stem cell therapy in a canine model of osteoarthritis. *Arthritis Rheum*. 2003 Dec;48(12):3464-74.
- BMC Musculoskelet Disord. 2011 Nov 15;12(1):259. [Epub ahead of print] Homing and reparative effect of intra-articular injection of autologous mesenchymal stem cells in osteoarthritic animal model. Mokbel AN, El-Tookhy OS, Shamaa AA, Rashed LA, Sabry D, El Sayed AM.
- Christopher J. Centeno, John Kisiday, Michael Freeman, John R. Schultz. Partial Regeneration of the Human Hip Via Autologous Bone Marrow Nucleated Cell Transfer: A Case Study Pain Physician. 2006;9:253-256, ISSN 1533-3159.
- Christopher J. Centeno, Dan Busse, John Kisiday, Cristin Keohan, Michael Freeman. Increased knee cartilage volume in degenerative joint disease using percutaneously implanted, autologous mesenchymal stem cells, platelet lysate and dexamethasone. *The American Journal of Case Reports*, 2008; 9: 245-251.
- Christopher J. Centeno, Dan Busse, John Kisiday, Cristin Keohan, Michael Freeman, David Karli. Regeneration of meniscus cartilage in a knee treated with percutaneously implanted autologous mesenchymal stem cells. *Medical Hypotheses* (2008) 71, 900-908.
- Jaewoo Pak. Regeneration of human bones in hip osteonecrosis and human cartilage in knee osteoarthritis with autologous adipose-tissue-derived stem cells: a case series. *J Med Case Reports*. 2011; 5: 296.
- Hemigou P, Beaudjean F. Treatment of osteonecrosis with autologous bone marrow grafting. *Clin Orthop Relat Res*. 2002 Dec;405(14):23.
- Sarah A. Wexler, Craig Donaldson, Patricia Denning-Kendall, Claire Rice, Ben Bradley and Jill M. Hows Adult bone marrow is a rich source of human mesenchymal 'stem' cells but umbilical cord and mobilized adult blood are not. *British Journal of Haematology*, 2003, 121, 368-374.
- Cox, George; Giannoudis, Peter; Boxall, Sally; Buckley, Conor; McGonagle, Dennis; Jones, Elena The enzymatic extraction of large numbers of mesenchymal stem cells (MSCs) from long-bone intra-medullary cavities. *Congress EFORT*.
- Jones E, English A, Churchill SM, Kouroupis D, Boxall SA, Kinsey S, Giannoudis PG, Emery P, McGonagle D. Large-scale extraction and characterization of CD271+ multipotential stromal cells from trabecular bone in health and osteoarthritis: implications for bone regeneration strategies based on uncultured or minimally cultured multipotential stromal cells. *Arthritis Rheum*. 2010 Oct;62(10):3005.
- Felicitio Garcia-Alvarez, Elena Alsgrre-Aguarón, Paula Desportes, María Royo-Cañas, Tomás Castiella, Luis Larrad, María José Martínez-Lorenzo Chondrogenic differentiation in femoral bone marrow-derived mesenchymal cells from elderly patients suffering osteoarthritis or femoral fracture. 11-th Congress EFORT.
- Wickham MQ, Erickson GR, Gimble JM, Vail TP, Guilak F. Multipotent stromal cells derived from the infrapatellar fat pad of the knee. *Clin Orthop Relat Res*. 2003 Jul;412:196-212.
- Anna M. Osyczka, Ulrich Nöth, A Keith G. Danielson, Rocky S. Tuan. Different Osteochondral Potential of Clonal Cell Lines Derived from Adult Human Trabecular Bone Ann. N.Y. Acad. Sci. 961: 73-77 (2002). © 2002 New York Academy of Sciences.
- Rocky S Tuan, Genevieve Bolland and Richard Tuli Adult mesenchymal stem cells and cell-based tissue engineering. *Arthritis Res Ther* 2003, 5:32-45 (DOI 10.1186/ar614)
- De Bari C, Dell'Accio F, Ilyaznowski P, Luyten FP. Multipotent mesenchymal stem cells from adult human synovial membrane. *Arthritis Rheum*. 2001 Aug;44(8):1928-42.
- Valdis Gončars. Mononukleāro šūnu ieguve un transplantācijas iespējas osteoartrīta ārstēšanā. Ikgadējā Latvijas Traumatologu un ortopēdu konference. Rīga 19.05.2012.
- Caplan AL, Dennis JE. Mesenchymal stem cells as trophic mediators. *J Cell Biochem*. 2006 Aug 1;98(5):1076-84.
- Van Buul GM, Villafuertes E, Bos PK, Waarsing JH, Kops N, Narici R, Weinsma H, Verhaar JA, Bernsen MR, van Osch GJ. Mesenchymal stem cells secrete factors that inhibit inflammatory processes in short-term osteoarthritic synovium and cartilage explant culture. *Osteoarthritis & Cartilage*. 2012 Oct;20(10):1186-96.
- Keeney M., Chin-Yee, I., Weir, K., Popma, J., Nayar, R., Sutherland, D.R. (1998) Single platform flow cytometric absolute CD34+ cell counts based on the ISHAGE guidelines. *Cytometry*, 34, 61-70.