

УДК 616.718+616.717-089.843:576.3/7

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ АУТОЛОГИЧНЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК ПРИ ЛЕЧЕНИИ ДЕФЕКТОВ КОСТЕЙ КОНЕЧНОСТЕЙ

В. М. Оксимец

Научно—исследовательский институт травматологии и ортопедии  
Донецкого национального медицинского университета им. М. Горького

## APPLICATION OF AUTOLOGOUS MESENCHYMAL STROMAL CELLS IN TREATMENT OF THE EXTREMITIES BONES DEFECTS

V. M. Oksimets

**П**роблема полноценного восстановления кости при наличии костного дефекта сложна и актуальна в настоящее время. Наиболее часто дефекты костной ткани образуются при открытой высокоэнергетической травме, их частота составляет 11,4% в структуре всех открытых переломов костей [1]. Обычно при лечении костных дефектов используют ауто—, аллотрансплантаты или их сочетание. По данным литературы, достичь положительных результатов лечения дефектов костей не удается у 7,6 — 12% пострадавших [2 — 5]. При использовании аллотрансплантатов в 30% наблюдений происходит их резорбция [6]. При использовании неваккуляризованных ауто—трансплантатов у 9% больных отмечают их полный или частичный лизис, у 12% — несращение трансплантата с дистальным фрагментом кости [7]. При замещении костного дефекта distractionным регенератом по Илизарову неудовлетворительный исход лечения у 10% больных обусловлен замедлением процессов формирования костного регенерата, у 40% — возникновением инфекционных процессов, у 5% — переломом регенератов, у 5% — переломом в месте сопоставления костных фрагментов [3]. Недостатком distractionного регенерата, используемого для замещения костного дефекта, является длительность лечения, которая, в зависимости от размеров дефекта, составляет от 18 до 43 мес [8]. Использование в лече-

### Реферат

Изучены возможности клинического использования трехмерного остеопрогениторного трансплантата (ТОТ) на основе аутологичных мезенхимальных стромальных клеток (МСК) для лечения дефектов костной ткани конечностей. В исследование включены 12 больных, у которых обнаружены дефекты плечевой, бедренной, большеберцовой и пяточной костей. У 8 больных над костными дефектами имелись рубцово—язвенные дефекты мягких тканей. ТОТ в виде "чипсов" применяли при тангенциальных, в виде блоков — при полных дефектах костей. Для замещения мягкотканых дефектов использовали несвободные кожно—фасциальные и мышечные лоскуты. Обоснована возможность использования ТОТ при лечении дефектов костной ткани и их высокая эффективность.

**Ключевые слова:** дефекты костной ткани; мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки; трехмерный остеопрогениторный трансплантат.

### Abstract

Possibilities of clinical application of a three dimensional osteoprogenitoral transplant (TDOPT), background of autologous mesenchymal stromal cells (MCK), were studied for treatment of the extremity bone defects. Twelve patients were included in the investigation, in whom the defects of brachial, femoral, tibial and the heel bones were revealed. In 8 patients a cicatricial—ulcerative defects of soft tissues were present over the bone defects. TDOPT in a kind of "chips" were applied in tangential bone defects, while in full defects they were applied in a kind of blocks. For substitution of the soft tissue defects the fascio—cutaneous and muscular flaps on pedicles were used. Possibility of the TDOPT application in the treatment of the bone tissue defects and their high efficacy were substantiated.

**Key words:** defects of the bone tissue; multipotent mesenchymal stromal cells; three dimensional osteoprogenitoral transplant.

нии костных дефектов синтетических материалов сопряжено с их длительной (в 2,5 — 3 раза дольше, чем аллотрансплантатов) перестройкой и отрицательными результатами лечения 8,2 — 14% больных [6].

Значительная частота неудовлетворительных результатов лечения дефектов костей свидетельствует о необходимости поиска новых костнозамещающих технологий. На основании анализа достижений современной биологии в изучении стволовой клетки и результатов собственных экспериментальных ис-

следований *in vitro* и *in vivo* нами разработана технология создания в условиях *in vitro* ТОТ на основе аутологичных МСК, индуцированных по остеогенному пути, и носителя "Остеоматрикс" [9, 10].

Целью работы явилось изучение возможности клинического использования ТОТ для лечения дефектов костной ткани конечностей.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Юридическим основанием для проведения клинических исследо-

ваний было разрешение Координационного центра трансплантации органов, тканей и клеток МЗ Украины на изготовление клеточных и тканевых трансплантатов на основе МСК и их клиническое использование. В исследование включены 12 больных, у которых выявлены тангенциальные и полные дефекты костей конечностей (см. таблицу). Возраст больных от 23 до 54 лет, все мужчины.

У 8 пострадавших над областью костного дефекта обнаружены рубцово-язвенные и мягкотканые дефекты. У 6 больных выявлены дефекты большеберцовой кости с мягкоткаными дефектами голени, у 1 — дефекты костной и мягких тканей локализовались в области плеча, у 1 — в пяточной области. Трансплантацию аутологичных МСК в виде ТОТ осуществляли в сроки от 2 до 14 мес после травмы. Пациенты, у которых при лечении дефектов костей использовали ТОТ, были информированы о природе МСК, их роли в репаративных процессах, технологии получения трансплантата, этапах оперативного лечения, о том, что предлагаемая технология лечения является новой и находится в стадии разработки. Добровольное со-

#### Распределение больных с дефектами костной ткани в зависимости от локализации и вида дефекта

Локализация	Число больных с дефектом		Всего
	тангенциальным	циркулярным	
Плечо	диафиз	1	1
	метаэпифиз	—	—
Бедро	диафиз	1	3
	метаэпифиз	1	1
Голень	диафиз	1	5
	метаэпифиз	1	1
Пятка	—	1 (субтотальный)	1
Итого ...	5	7	12

гласие на использование при лечении аутологичных МСК пациенты подтвердили в письменной форме. Процесс формирования костной ткани в области трансплантации оценивали с помощью рентгенографии. Результаты трансплантации оценены как хорошие, удовлетворительные и неудовлетворительные. Хорошим считали результат лечения, при котором восстановление целостности костной ткани происходило после однократной трансплантации; удовлетворительным — если для восстановления целостности костной ткани требовалось осуществление повторной трансплантации; неудовлетворительным — ес-

ли достичь устранения костного дефекта не удавалось после двух операций трансплантации.

#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Трансплантацию ТОТ выполняли в условиях операционной с соответствующим анестезиологическим обеспечением по разработанной технологии. Операцию начинали с подготовки реципиентного ложа. Продольным или дугообразным разрезом обнажали область дефекта костной ткани. Распатором аккуратно, как можно меньше отделяли костные фрагменты от окружающих мягких тканей. Всю рубцово-изме-

hirurgiya.com.ua

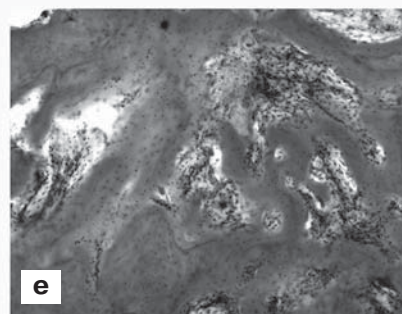
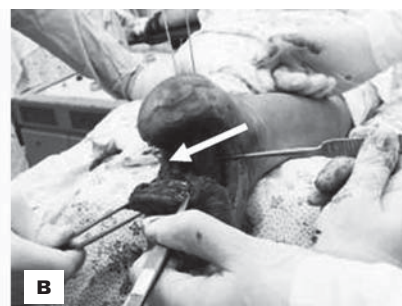


Рис. 1.  
Этапы лечения больного М., 42 лет  
(описание в тексте).

ненную ткань между костными фрагментами тщательно иссекали. Все внутренние поверхности костных фрагментов и костномозговых каналов освобождали от рубцов, при необходимости костномозговые каналы вскрывали. Непосредственно перед трансплантацией реципиентное ложе промывали растворами антисептиков, высушивали, обкладывали стерильными салфетками. Если ТОТ трансплантировали в виде "чипсов", их плотно укладывали в реципиентное ложе между костными фрагментами так, чтобы трансплантат плотно контактировал с костной тканью реципиентного ложа. Трансплантат укладывали в реципиентное ложе слоями толщиной 3 — 5 мм, между которыми вводили неиндуцированные МСК в коллагеновом геле. Мягкие ткани над трансплантатом послойно зашивали наглухо. Если ТОТ имел форму

блока, его фиксировали с помощью спиц, которые крепили к опорам аппарата внешней фиксации, а между костными фрагментами и трансплантатом создавали компрессию с помощью блокируемых штифтов. Трансплантацию ТОТ в виде "чипсов" осуществляли при неполных (тангенциальных) дефектах костей (у 5 больных), в виде блоков — при полных дефектах костей (у 7). При наличии в области костного дефекта мягкотканного дефекта перед помещением трансплантата в реципиентное ложе осуществляли подготовку к пластическому замещению мягкотканного дефекта с использованием перемещенных кожно—фасциально—мышечных лоскутов или островковых лоскутов на питающей ножке. Лоскуты размещали непосредственно над трансплантатом, что позволяло устранить мягкотканый дефект и создать усло-

вия для васкуляризации и питания трансплантата. Рубцово—язвенный дефект области плеча замещен путем несвободной пластики с использованием лоскута широчайшей мышцы спины, при дефекте тканей в нижней трети голени (у 1 больного) и подошвенно—пяточной области (у 1) — применяли суральный островковый лоскут. При дефекте мягких тканей на границе средней и нижней трети голени пластику мягкотканного дефекта осуществляли с использованием медиальной головки икроножной мышцы (у 5 больных).

У всех пациентов при использовании ТОТ достигнут хороший результат — после однократной трансплантации в области дефектов костей сформировалась новая костная ткань в течение 4 — 7 мес, в зависимости от размеров и вида дефекта.

Приводим наблюдения, демонстрирующие результаты использования ТОТ при лечении дефектов костей.

1. Больной М., 42 лет, госпитализирован по поводу посттравматического открытого субтотального дефекта правой пяточной кости (рис. 1, а, б). Через 2,5 мес после травмы больному произведена трансплантация МСК в виде 3D ТОТ (рис. 1, в, стрелка). Для закрытия мягкотканного раневого дефекта и васкуляризации трансплантата использован островковый суральный лоскут (рис. 1, г). Восстановление целостности ткани пяточной кости отмечено через 5 мес, после чего осуществлена оперативная коррекция формы трансплантата (частичная резекция) (рис. 1, д) с гистологическим исследованием тканей удаленных фрагментов трансплантата. Через 5 мес после пересадки структура трансплантата полностью соответствует структуре губчатой кости. В костных балках и межбалочных пространствах содержится значительное количество клеточных элементов. В межбалочных пространствах значительное количество микрососудов (рис. 1, е).

2. Больной Ж., 32 лет, госпитализирован через 5 мес после травмы с диагнозом: открытый многоосколь-



Рис. 2.  
Этапы лечения больного Ж., 32 лет.  
(описание в тексте).

чатый перелом правой большеберцовой кости в средней трети, фиксированный аппаратом Илизарова (рис. 2, а), обширная гнойно-некротическая рана передне-наружной поверхности правой голени. Больному произведена резекция некротизированных костных фрагментов (длина костного дефекта 12 см), ремонт аппаратом, двойная остеотомия малоберцовой кости с ее дозированным перемещением в дефект большеберцовой кости (рис. 2, б). По завершении перемещения

малоберцовой кости осуществлена трансплантация аутологичных МСК (рис. 2, в) в виде "чипсов" и ТОТ (область трансплантации выделена прямоугольником). Через 7 мес в области трансплантации сформировалась новая костная ткань, которая вместе с малоберцовой костью образовала практически полноценную большеберцовую кость (рис. 2 г, д).

Таким образом, результаты клинической апробации разработанной технологии трансплантации ау-

тологических МСК в виде ТОТ при дефектах костей свидетельствуют о том, что ее применение позволило достичь восстановления целостности кости после однократной трансплантации МСК у всех пациентов. Обобщение результатов трансплантации аутологичных МСК с определением генеральной совокупности по доверительному интервалу (ДИ) свидетельствует, что положительные результаты могут быть достигнуты не менее чем у 97,5% пациентов (95% ДИ 97,5 — 100).

## ЛИТЕРАТУРА

1. Ectopic bone formation associated with mesenchymal stem cells in a resorbable calcium deficient hydroxyapatite carrier / P. Kasten, J. Vogel, R. Luginbuhl [et al.] // *Biomaterials*. — 2005. — Vol. 26, N 29. — P. 5879 — 5889.
2. Keating J. F. The management of fractures with bone loss / J. F. Keating // *J. Bone Joint Surg. (Br.)*. — 2005. — Vol. 87—B, N 2. — P. 142 — 150.
3. Mitchell S. E. The treatment of open femoral fractures with bone loss / S. E. Mitchell, J. F. Keating, C. M. Robinson // *Ibid.* — 2010. — Vol. 92—B, N 12. — P. 1678 — 1684.
4. Sahibzada A. S. Management of tibial bone defects to high energy trauma using the locally manufactured external fixator by segmental bone transport / A. S. Sahibzada, M. A. Khan, M. S. Khan // *J. Ayub. Med. Coll. Abbottabad*. — 2005. — Vol. 17, N 3. — P. 1027 — 1031.
5. Steinlechner C. W. B. Non-vascularised fibular transfer in the management of defects of long bones after sequestrectomy in children / C. W. B. Steinlechner, N. C. Mkandawire // *J. Bone Joint Surg. (Br.)*. — 2005. — Vol. 87—B, N 9. — P. 1259 — 1263.
6. Bone growth into a ceramic-filled defect around an implant / S. A. Clarke, R. A. Brooks, P. T. H. Lee, N. Rushton // *Ibid.* — 2004. — Vol. 86 B, N 1. — P. 126 — 134.
7. Repair of bone defects using synthetic mimetics of collagenous extracellular matrices / M. P. Lutolf, F. E. Weber, H. G. Schmoekel [et al.] // *Nature Biotechnol.* — 2003. — Vol. 21. — P. 513 — 518.
8. Complications associated with distraction osteogenesis for infected nonunion of the femoral shaft in the presence of a bone defect / A. L. L. Blum, J. C. Bongiovanni, S. J. Morgan [et al.] // *J. Bone Joint Surg. (Br.)*. — 2010. — Vol. 92—B, N 4. — P. 565 — 570.
9. Пат. 45773 Україна, МПК С12N 5/00. Спосіб отримання тривимірного остеопрогеніторного трансплантата / В. К. Гринь, В. Г. Климовицький, А. Г. Попандопуло [та ін.]; заявник і патентовласник ІНВХ ім. В. К. Гусака АМНУ. — Заявл. 09.06.09; опубл. 25.11.09. Бюл. № 22.
10. Пат. 46095 Україна, МПК С12N 5/00. Спосіб біологічної стимуляції остеогенного диференціювання мезенхімальних стовбурових клітин / В. К. Гринь, В. Г. Климовицький, А. Г. Попандопуло [та ін.]; заявник і патентовласник ІНВХ ім. В. К. Гусака АМНУ. — Заявл. 09.06.09; опубл. 10.12.09. Бюл. № 23.

