

**ТКАНЕВАЯ ИНЖЕНЕРИЯ ЖИВОГО ЭКВИВАЛЕНТА КОСТИ:
БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ И КЛИНИЧЕСКИЕ РЕЗУЛЬТАТЫ**

Васильев Р.Г.^{1,2}, Оксимец В.М.², Родниченко А.Е.^{1,2}, Злацкая А.В.^{1,2}, Губарь. О.С.³, Оксимец В.В.², Зубов Д.А.^{1,2}

¹ГУ «Институт генетической и регенеративной медицины НАМН Украины», Киев,

²Медицинская компания *ilaya*®, Киев, Украина ³Институт молекулярной биологии и генетики НАН Украины, Киев, Украина

Лечение дефектов кости критического размера (от 3-5 см) представляет собой актуальную задачу травматологии и ортопедии. «Золотым стандартом» при восстановлении костных дефектов считается трансплантация аутологичной кости. Однако данный способ имеет существенный недостаток в виду ограниченности донорских ресурсов. Одним из наиболее перспективных решений данной проблемы представляется разработка ткане-инженерного живого эквивалента кости (ТИЭК).

Цель: разработать технологию создания ТИЭК на основе костно-пластических материалов (КПМ) и аутологичных культивированных клеток и оценить клиническую эффективность его применения у пострадавших в результате боевых действий на востоке Украины в рамках национального проекта «БиоТехРеабилитация раненых» (19 пациентов с 21 дефектом).

Материалы и методы. *Получение, культивирование и анализ клеток.* В качестве клеточного компонента использовались аутологичные культивированные: мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки (ММСК) костного мозга отдельно (дефект 3-5 см); с добавлением остеопрогениторных клеток периоста (ОКП) (3:1) (дефект 5-7 см); или с добавлением ОКП и эндотелиальных клеток-предшественниц (ЭКП) (3:1:1) (дефект более 7 см). Культивирование клеток и ТИЭК осуществляли в низкокислородных условиях с использованием гуманизированных (xeno-free) сред. Контроль качества клеточных культур проводили с помощью ПЦР, проточной цитометрии, цитогенетического анализа, функциональных тестов (окрашивание на щелочную фосфатазу (ALP) и направленная дифференциация для ММСК и ОКП; формирование капилляроподобных структур для ЭКП) и др. *Приготовление 3D-ТИЭК.* В качестве КПМ использовали девитализированную аллогенную кость в виде блоков или чипсов в aPRF геле. Контроль качества засева ТИЭК проводили с помощью комбинированного окрашивания FDA/PI, МТТ-теста и гистологического анализа. Образование кости *de novo* оценивали с помощью рентгенографии и патоморфологического анализа биоптатов.

Результаты и обсуждение. Пациенты были включены в Проект через 4-10 месяцев после ранения при условии неэффективности традиционных методов лечения. Необходимое количество клеток всех типов в среднем получали в течение месяца и не более чем за 3 пассажа. ММСК удовлетворяли минимальным критериям ISCT: дифференцировались в адипо-, остео- и хондрогенном направлении, имели фенотип CD73⁺CD90⁺CD105⁺CD146⁺CD166⁺CD34⁻CD45⁻CD271⁻HLA-DR⁻ и были слабо позитивны на ALP. ОКП дифференцировались в остео- и хондрогенном направлениях, слабо или не дифференцировались в адипоциты, были сильно позитивны по ALP и имели следующий фенотип:

CD73⁺CD90⁺CD105⁺CD146⁺CD166⁺CD271⁺CD34⁻CD45⁻HLA-DR⁻. ЭКП обладали способностью к формированию капилляроподобных структур и фенотип CD31⁺CD34⁺CD73⁺CD105⁺CD45⁻CD90⁻HLA-DR⁻. Все клеточные культуры были без признаков старения, имели нормальный кариотип и частоту КОЕ более 30%. Окрашивание FDA/PI, МТТ-тест и гистологический анализ образцов ТИЭК показали их равномерный засев жизнеспособными клетками. Во всех случаях

трансплантациа ТИЭК прошла без серьёзных осложнений и неблагоприятных побочных реакций. Патоморфологический анализ биоптатов ТИЭК через 3 месяца после трансплантации показал их интенсивное ремоделирование и формирование молодой костной ткани. Рентгенографически полное восстановление дефекта кости наблюдалось через 5-6 месяцев. Целостность костной ткани удалось восстановить у всех 19 пациентов (21 дефект).
