

УДК 615.38МСК:616.71-018.4-003.93](048.8)

DOI: <http://dx.doi.org/10.15674/0030-598720181105-116>

Инновационные методы оптимизации регенерации кости: мезенхимальные стволовые клетки (сообщение 2) (обзор литературы)

Н. А. Корж, П. М. Воронцов, И. В. Вишнякова, Е. М. Самойлова

ГУ «Институт патологии позвоночника и суставов им. проф. М. И. Ситенко НАМН Украины», Харьков

Objective: on the base of literature we analyzed different methods of mesenchymal stem cells using for optimization of bone regeneration. Methods: we reviewed publications for the last 90 years from electronic data base PubMed, MEDLINE, thesis, articles, manuscripts and other relevant science sources of medical information. We have found more than 200 scientific works, 86 were included for analysis. Results: mesenchymal stem cells have unique abilities — to differentiate into soft tissue cells and multiply in vitro, they possess immune modular and immune suppressive effects. It gives possibility to use them for therapeutic method in regenerative medicine for bone osteogenesis. In review we presented sources of mesenchymal stem cells, ways to get bone marrow puncture and its transplantation, mesenchymal stem cells culturing and possibilities to differentiate them into certain direction. We gave examples of independent and complex (with different implantation materials) using of mesenchymal stem cells. It was shown that mesenchymal stem cells transplantation had positive influence on bone regeneration process, it enlarge osteoblast differentiation, volume of new formed bone tissue and decrease the terms of bone formation. Advantages of mesenchymal stem cells using are minimal invasive procedures and possibility to enlarge number of cells during culturing. But during culturing cells become older and the growth slows down. Creation of bioconstructions on the base of different matrix can facilitate introduction into defect area and create a graft with required shape and size. Choice of material for matrix is debated issue. So further studies of complex bioengineering constructions which will possess peculiarities of bone tissues are go on. Key words: mesenchymal stem cells, bone regeneration, implantation materials, cells culturing, regenerative medicine.

Мета: на підставі даних літератури проаналізувати різні способи використання мезенхімальних стовбурових клітин (МСК) для оптимізації регенерації кісткової тканини. Методи: розглянуто публікації за останні 90 років із електронних баз PubMed, MEDLINE, тези, статті, автореферати, дисертації та інші релевантні джерела науково-медичної інформації. Знайдено понад 200 робіт, 86 відібрано для аналізу. Результати: МСК мають унікальні властивості — здатність диференціюватися в клітини сполучної тканини і розмножуватися in vitro, надавати імуномодулювальний та імуносупресивний ефекти. Це дає змогу використовувати їх як терапевтичний засіб у регенераторній медицині, зокрема для оптимізації репаративного остеогенезу. В огляді подано джерела МСК, способи отримання пунктата кісткового мозку та його трансплантації, культивування МСК і можливість їх диференціації в певному напрямку. Наведені приклади самостійного та комплексного (із різними імплантацийними матеріалами) використання МСК. Виявлено, що трансплантація МСК позитивно впливає на перебіг остеорепації, збільшуючи диференціацію остеобластів, обсяг новоутвореної кісткової тканини та скорочуючи терміни відновлення цілісності кістки. Безперечними перевагами використання МСК є малоінвазивність процедури отримання та можливість збільшення кількості в процесі культивування. Проте під час культивування клітини старіють і сповільнюється їх зростання. Створення біоконструкцій на основі різних матриць полегшує введення в зону дефекту і дозволяє створити трансплантат необхідної форми і розмірів. Вибір матеріалу матриці активно дискутується. Тому тривають дослідження, спрямовані на розроблення складних біоінженерних конструкцій, які будуть максимально наближені до властивостей кісткової тканини, що дозволить оптимізувати процеси її регенерації. Ключові слова: мезенхімальні стовбурові клітини, регенерація кістки, імплантацийні матеріали, культивування клітин, регенеративна медицина.

Ключевые слова: мезенхимальные стволовые клетки, регенерация кости, имплантационные материалы, культивирование клеток, регенеративная медицина

Введение

Регенерация кости — это одна из актуальных задач современной травматологии и ортопедии, поскольку, несмотря на развитие технологий лечения пациентов с повреждениями костей, остаются проблемы, обуславливающие продолжение поиска альтернативных способов оптимизации репаративного остеогенеза. Особого подхода к лечению требуют полисегментарные, длительно несрастающиеся и остеопоротические переломы, обширные дефекты, образовавшиеся после резекции опухолей, и др. Регенерация кости — это сложный многоступенчатый процесс, звеньями которого является миграция мезенхимальных стволовых клеток (МСК) в область повреждения, пролиферация с последующей дифференцировкой в остеогенные, формирование костной ткани в регенерате. В связи с этим терапию на основе МСК исследователи рассматривают как перспективный метод оптимизации регенерации кости.

Цель работы: на основе данных литературы провести анализ различных способов использования МСК для оптимизации регенерации кости в эксперименте и клинике.

Материал и методы

Рассмотрены публикации за последние 90 лет из электронных баз PubMed, MEDLINE, тезисы, статьи, авторефераты, диссертации и другие релевантные источники научно-медицинской информации. Найдено более 200 работ по данной теме, 86 отобрано для анализа.

История формирования понятий о МСК

Исследования в данной области начались еще в начале XX века, когда в 1925 году А. А. Максимов [1] обнаружил, что на протяжении всей жизни человека в соединительной ткани вокруг мелких сосудов сохраняются малодифференцированные клетки, которые по своей плюрипотентности приближаются к мезенхимальным эмбриональным. По результатам исследований он утверждал: «Костная ткань может при определенных условиях образовываться в любом месте организма, в соединительнотканых прослойках органов, поскольку там есть клетки мезенхимального происхождения, обладающие остеогенными свойствами». Позже он ввел понятие «стволовая клетка», имея в виду расположение в «стволе» кроветворения, т. е. у истоков кроветворного древа [1].

В 1970-х годах две группы исследователей под руководством А. Я. Фриденштейна и И. Л. Черткова показали, что некоторые клетки стромы костного мозга обладают повышенной адгезивностью

к пластику и способны дифференцироваться в остеогенные [2, 3]. В дальнейшем эти авторы выявили, что одна такая клетка или колониеобразующая единица (КОЕ), дает начало колониям, различающимся по морфологическим и биохимическим свойствам, и сделали вывод о мультипотентности МСК. Результаты этих работ послужили исходной точкой для дальнейших исследований в области регенеративной медицины, на их основе было сформировано определение, принятое Международным обществом клеточной терапии [4]: «мезенхимальные стволовые клетки — это гетерогенная группа недифференцированных клеток-предшественников, обладающих повышенной адгезией к пластику и способностью дифференцироваться в клетки специализированных тканей».

В научной литературе описаны классификации стволовых клеток, основанные на их происхождении [5] и способности к дифференциации [6, 7].

По происхождению эти клетки разделяют на:

- эмбриональные, которые можно выделить на ранних стадиях развития эмбрионов;
- фетальные — содержащиеся в пуповинной крови и плаценте;
- МСК — гемопоэтические стволовые клетки, которые можно выделить из крови и кроветворных органов (костного мозга и др.) и некоторых других специализированных тканей, происходящих из мезенхимы.

По способности к дифференциации стволовые клетки классифицируют как:

- тотипотентные — клетки внезародышевых структур и эмбриональные, способные не только дифференцироваться в различные клетки, но при определенных условиях развиваться до целого организма;
- полипотентные — эмбриональные, которые в результате дифференциации дают начало органам и тканям;
- мультипотентные — способные дифференцироваться в несколько типов клеток;
- унипотентные — могут дифференцироваться только в один тип клеток.

Характеристика МСК

Имеют фибробластоподобное строение и способны к симметричному и асимметричному делению. При симметричном — клетки делятся митозом, образуя две новые стволовые клетки, являющиеся аналогами материнской, т. е. недифференцированными и сохраняющими способность к образованию других МСК с такими же способностями к пролиферации, что определяет основную черту всех стволовых клеток — способность к самообновлению [5, 8].

В процессе асимметричного деления одна клетка сохраняет все особенности родительской стволовой, а другая становится детерминированной, прогениторной, способной делиться симметрично, создавая себе подобные с ограниченным пролиферативным потенциалом. Следствием асимметричного деления и дифференциации МСК является их пластичность, т. е. способность продуцировать клеточную популяцию с фенотипическими чертами детерминированных клеток различных тканей [5, 9].

Высокий потенциал пролиферации МСК *in vitro* позволяет получить достаточное количество клеток для трансплантации. Так, N. K. Satija и соавт. [10] продемонстрировали 88–560-кратное увеличение количества МСК в одном пассаже в течение 15–20 дней культивирования с посадочной плотностью 50–500 клеток/см², а D. C. Colter и соавт. [11] — 109-кратное через 6 недель культивирования при низкой посадочной плотности (1,5–3 клеток/см²). Доказано, что во время этого процесса МСК сохраняют свои морфофункциональные характеристики и их можно использовать для трансплантации [12–16].

Еще одна характерная для МСК особенность — это образование фибробластоподобных колоний КОЕ (КОЕ-Ф) при культивировании. Она лежит в основе многих методик, определяющих пророст и состояние культивируемых МСК [9].

В МСК обнаружены рецепторы, чувствительные к факторам роста и цитокинам, что позволяет им получать межклеточные сигналы при аутокринном и паракринном взаимодействии. Кроме того, наличие у МСК специфических молекул адгезии определяет их взаимодействие между собой при культивировании [17–19].

Свойства МСК представлены на рисунке.

Предполагается, что мезенхимальные стволовые клетки синтезируют поверхностные антигены STRO-1, CD29, CD106, CD166, CD146, CD44, CD271, CD105, CD73, CD90 и не проявляют экспрессии гемопоэтических маркеров: c-kit, CD14, CD45, CD11b, CD116, CD34, CD19 [8, 10, 18, 20]. Однако по-прежнему в литературе дискутируется вопрос о наборе маркеров, определяющих природу и происхождение МСК *in vivo* [20].

МСК считают слабо иммуногенными, т. к. они продуцируют промежуточный уровень основного комплекса гистосовместимости I класса. При этом экспрессия комплекса гистосовместимости II класса и антигенстимулирующих молекул CD40, CD80 и CD86 и HLA-DR очень низкая или вообще отсутствует [10, 21–23]. Кроме того,

МСК ингибируют пролиферацию и активацию иммунных клеток (В- и Т-клеток, естественных киллеров и дендритных клеток) [10]. Показано, что МСК способствуют снижению воспалительных реакций путем уменьшения биосинтеза противовоспалительных цитокинов, таких как интерлейкин-1, 6, 8 (ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-8) и фактора некроза опухоли-альфа (TNF- α) за счет подавления транскрипции генов провоспалительных цитокинов в клетках-продуцентах, индуцирования синтеза рецепторных антагонистов интерлейкинов, увеличения экспрессии противовоспалительных цитокинов (ИЛ-10, ИЛ-4) и других иммуномодулирующих факторов (синтаза оксида азота (NOS), индоламин-2, 3-диоксигеназа, простагландин E2) [8, 10, 18]. Указанные иммуносупрессивные и иммуномодулирующие свойства МСК способствуют перестройке аллотрансплантатов и их интеграции с костью за счет снижения иммунологической реакции реципиента.

Источники получения МСК

Клетки выделяют из эмбриональных тканей (плод 9–12 недель) [24] и тканей организма. Процедура получения МСК относительно несложная, но проблема состоит в достижении достаточного количества однородных клеток для трансплантации.

МСК, полученные из фетального материала, однородны и обладают большим потенциалом пролиферации и роста. Однако труднодоступность исходного материала и морально-этическая сторона использования фетальных МСК обусловили детальное изучение свойств постнатальных стволовых и прогениторных клеток.

МСК из организма человека и животных выделяют из периферической [25] и пуповинной крови [26], синовиальной мембраны [27], зубной пульпы [28], амниотической жидкости [29], надкостницы [18], мышц [30, 31], кровеносных сосудов, лимфоидных органов, кожи, легких [10, 17, 32] и др. Однако получение МСК из этих источников имеет определенные недостатки: травматичность манипуляции [9, 18] и небольшое количество клеток, для увеличения количества которых используют культивирование. Для дифференциации клеток в культуру добавляют специальные индукторы. Однако идентификация поверхностных маркеров плазматической мембраны показала, что, несмотря на общие свойства и однородность, полученные клетки экспрессируют специфические гены, четко показывающие, из какой они ткани [8, 17, 33].

Самым распространенным источником МСК во взрослом организме человека и животных

является костный мозг из гребня подвздошной кости. В среднем в процессе аспирации у здорового донора получают 8–10 мл суспензии, где содержится достаточное количество МСК, однако их концентрация варьирует: увеличение возраста или наличие патологии приводит к уменьшению количества МСК. В этом случае целесообразно использовать другие доступные источники — жировую ткань, кровь и т. д. [8, 34]. Выделенная моноклеарная фракция костного мозга содержит не более 1–3 % стволовых клеток, а основную часть пунктата составляет периферическая кровь. В связи с этим необходимы методики идентификации и получения однородной по фенотипу массы МСК, пригодной для использования в медицинских целях. МСК идентифицируют в клеточной суспензии методом проточной цитофлуориметрии или с помощью флуоресцентно-меченных моноклональных антител к поверхностному антигену CD105, а также иммуногистохимически. Широко распространен способ получения МСК из костного мозга, связанный с их способностью прикрепляться к поверхности пластиковой посуды, в которой выращивают культуру [35–38].

В костном мозге, в основном, содержатся клетки-предшественники, которые не реализуют свои остеогенные потенции без использования специфических индукторов, например деминера-

лизованного костного матрикса, костного морфогенетического белка, β -глицерофосфата, дексаметазона, аскорбиновой кислоты и др. [2, 9, 31].

В настоящее время существуют разные способы использования МСК:

- концентрированный пунктат (аспират) костного мозга имплантируют непосредственно в зону повреждения кости [39–41];

- выделенные из спонгиозной костной ткани и культивированные МСК трансплантируют в зону повреждения [39, 42];

- системная мобилизация стволовых клеток и других клеток-предшественников костного мозга с использованием факторов роста [15, 39].

На сегодня накоплен большой объем знаний относительно использования в экспериментальных и клинических условиях трансплантации пунктата аутогенного костного мозга для оптимизации регенерации кости [43–50]. Показано, что костный мозг содержит не только МСК, но также цитокины и факторы роста, которые участвуют в регенерации тканей и органов [43].

Трансплантация аутогенного пунктата костного мозга в эксперименте

Аспират костного мозга используют для чрескожной трансплантации или вводят во время хирургических вмешательств непосредственно в зону дефекта [40, 41, 51].

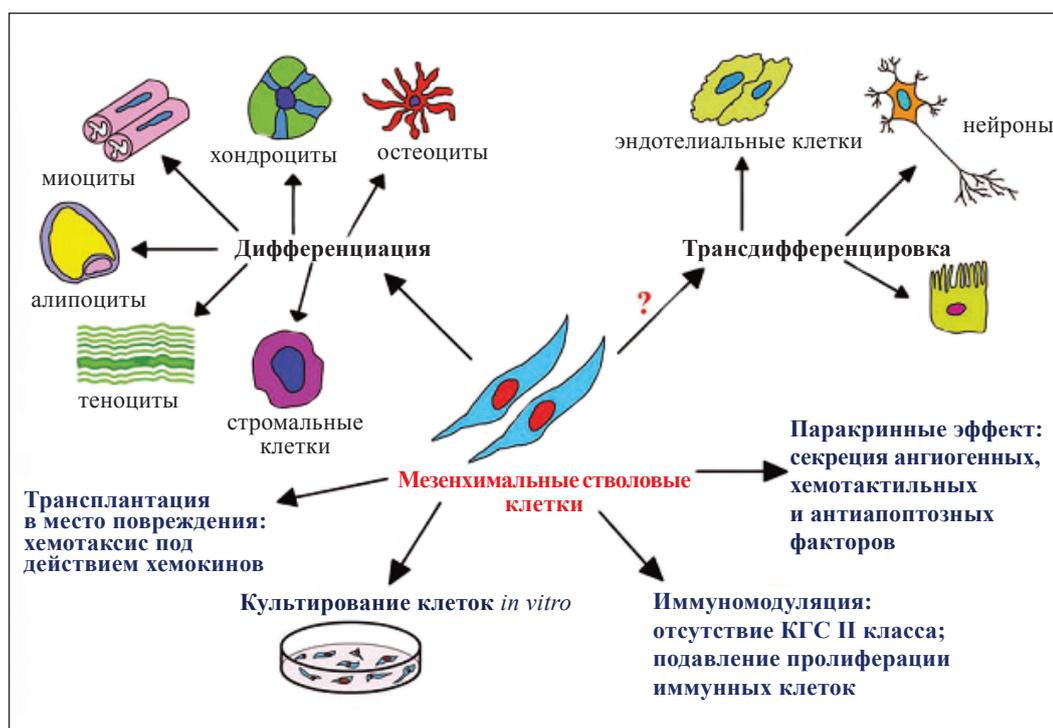


Рисунок. Свойства мезенхимальных стволовых клеток. Адаптировано по N. K. Satija и соавт. [10]

В. И. Шевцов и соавт. [41] вводили суспензию аутогенного костного мозга взрослым собакам в область остеотомии средней трети голени и накладывали аппарат Илизарова. В области дефекта обнаружено повышение плотности остеобластов, образование фиброретикулярной ткани и остеоида с последующим формированием костного регенерата, что свидетельствует о положительном влиянии трансплантации аутогенного костного мозга.

А. М. Рахимов [51] исследовал влияние трансплантации аутогенного костного мозга на остеорепаративный процесс при экспериментальном моделировании ложного сустава, развившегося после перелома бедренной кости крыс. После рентгенологического контроля в зону мягкотканного регенерата вводили аутогенный красный костный мозг и на конечность накладывали шину. Установлено, что площадь новообразованной костной ткани была на 22,8 % больше по сравнению с контролем. В регенерате продемонстрирована активизация неоангиогенеза, энхондральная оссификация, формирование губчатой костной ткани и снижение деструктивных процессов в материнской кости.

J. Du и соавт. [40] изучили возможность использования местного введения аллогенных МСК костного мозга для индукции регенерации при повреждениях костной ткани челюсти, вызванной периодонтитом у крыс. Выделенные у крыс МСК смешивали с 0,9 % раствором NaCl и вводили в зону повреждения костной ткани. Животным контрольных групп вводили 0,9 % раствор NaCl или в другой серии эксперимента раны заживали без вмешательства. Результаты оценивали с помощью клинических, рентгенологических и гистологических методов. Через 12 недель после трансплантации выявлено уменьшение средних показателей потери костной ткани ($1,2 \pm 0,19$; $1,6 \pm 0,2$ и $1,7 \pm 0,14$) и сокращение срока регенерации в опытной группе (53, 45 и 44 %). Трансплантация МСК ингибирует воспалительные факторы TNF α , IFN γ и IL1 β , что подтверждает иммуномодулирующие функции этих клеток.

D. S. Nan и соавт. [52] в эксперименте на 16 новозеландских белых кроликах изучали влияние трансплантации МСК, выделенных из костного мозга и жировой ткани, на регенерацию кости свода черепа. Животным проводили краниэктомию (размер 10×10 мм) и в каждый дефект трансплантировали 0,2 мл суспензии МСК (концентрация $1 \cdot 10^6$ клеток/мл). Через 3 и 5 недель после трансплантации проводили компьютерную томографию, через 6 недель — гистологический

и морфометрический анализы. Обнаружено, что при использовании МСК костного мозга была повышена плотность остеобластов по сравнению с МСК из жировой ткани.

Сложность локального введения МСК непосредственно в открытую рану заключается в том, что клетки плохо удерживаются в зоне дефекта. Одно из решений данной проблемы — применение матриц, насыщенных суспензией костного мозга. Спектр материалов, используемых в качестве подложки довольно широк, среди них: бета-трикальцийфосфат (β -ТКФ) [53], минерализованный губчатый матрикс [54], различные металлы с покрытием из титана [55] и др.

К. А. Saad и соавт. [53] использовали β -ТКФ с аутогенными МСК для реконструкции дефектов нижней челюсти кроликов критического размера (10×15 мм). Животным контрольной группы имплантировали чистый β -ТКФ. Обнаружено, что при совместном использовании МСК и β -ТКФ через 2 недели площадь костной ткани в дефектах была значительно больше, чем у контрольных животных.

W. Zhong и соавт. [56] исследовали влияние МСК и обогащенной тромбоцитами плазмы (*англ.* platelet rich plasma — PRP) человека в сочетании с β -ТКФ на регенерацию кости. Дефекты черепа у мышей с иммунодефицитом замещали: группа 1 — МСК + PRP + β -ТКФ, группа 2 — PRP + β -ТКФ, контроль — β -ТКФ. Через 4 недели объем новообразованной костной ткани в группах 1 ($7,6 \pm 3,9$) % и 2 ($7,2 \pm 3,8$) % превышал показатели контроля ($2,7 \pm 1,4$) %, что свидетельствует о положительном влиянии МСК и PRP на процесс регенерации кости.

G. Russmueller и соавт. [57] использовали биокомпозит, состоящий из трехмерного полилактидного каркаса, ТКФ и аутогенного костного мозга для восстановления дефектов костной ткани нижней челюсти критического размера у взрослых овец. Биокомпозиты, насыщенные только венозной кровью, служили контролем. Через 12 недель после имплантации на основе гистологического анализа в дефектах опытной группы животных обнаружена новообразованная костная ткань, сохраненная структура подложки. По мнению авторов, формирование костной ткани привело к сохранению макроскопической структуры подложки, в то время как в контрольной группе подложка была деформирована.

T. Caralla и соавт. [54] использовали минерализованный губчатый аллотрансплантат в качестве остеокондуктивной матрицы для МСК. Собакам воспроизводили цилиндрические дефекты

диаметром 10 мм и длиной 15 мм в бедренной кости, и заполняли их биоинженерными конструкциями, содержащими $(0,8-2) \cdot 10^9$ клеток/см³. Через 4 недели с помощью КТ оценили объем костной ткани, регенерат из области дефекта исследовали гистологическим методом. Выявлено повышение площади костной ткани в регенерате у экспериментальных животных.

J. E. Lee и соавт. [55] создали биоконструкцию, состоящую из металлического каркаса, покрытого титаном, и аллопласта (микро- и макропористого двухфазного фосфата кальция) с МСК костного мозга кролика и PRP. Созданные конструкции имплантировали в дефект бедренной кости 20 новозеландским белым кроликам. Контролем выступали животные, которым воспроизводился чистый дефект. После 4 и 12 недель лечения продемонстрировано увеличение формирования костной ткани у животных опытной группы.

Трансплантация пункта аутогенного костного мозга в клинике

Трансплантацию костного мозга применяли для лечения длительно незаживающих переломов [58, 59], переломов большеберцовой кости [60], псевдоартрозов [61] и др. Способы введения костного мозга, используемые в клинических условиях, аналогичны тем, что описаны в экспериментах на животных.

J. F. Connolly и соавт. [58] первыми продемонстрировали эффективность чрескожной трансплантации аутогенного костного мозга для лечения несрастающихся переломов большеберцовой кости у 20 пациентов. Исследования проводили в течение 5 лет. Трансплантацию костного мозга использовали совместно с различными методами фиксации: гипсовой повязкой (10 пациентов) или интрамедуллярной фиксацией (10). У 18 больных обеих групп было отмечено формирование костного регенерата в области перелома.

T. Niedźwiedzki [61] исследовал регенерацию длинных костей при разных патологических состояниях после аутогенной трансплантации костного мозга. Костный мозг выделяли из гребня подвздошной кости, смешивали с гепарином и чрескожно трансплантировали в зону перелома (24 пациента), замедленно срастающегося перелома (42) и псевдоартроза (30). Сращение наблюдали во всех группах исследования, но в разные сроки: при переломах — в среднем 2,8 мес., замедленно срастающихся переломах — 3,2 мес., псевдоартрозах — 3,4 мес. Автор заключил, что трансплантация костного мозга оптимизирует

процесс регенерации кости при нарушениях репаративного остеогенеза.

G. P. Khanal и соавт. [59] в проспективном рандомизированном клиническом исследовании (40 пациентов) оценили влияние трансплантации костного мозга на скорость регенерации переломов большеберцовой кости. Больных случайным образом разделили на две группы: одним локально вводили 15 мл аутогенного костного мозга, другим — плацебо. Рентгенологически через 3, 4 и 5 мес. после трансплантации установлено, что локальное введение костного мозга приводило к значительному сокращению сроков сращения перелома (в среднем 3,65 мес., $p < 0,0004$) по сравнению с контролем (в среднем 4,3 мес.).

Оптимальная концентрация МСК на единицу объема является важным параметром, определяющим успешный исход процесса регенерации. P. Hernigou и соавт. [60] продемонстрировали полное восстановление целостности большеберцовой кости у 53 пациентов с атрофическим несращением перелома, которым однократно были введены МСК. Авторы установили, что ключевую роль при использовании МСК играет концентрация КОЕ, вводимых в зону дефекта. Всем пациентам трансплантировали по 20 см³ аутогенной суспензии костного мозга, содержащей в среднем $5,1 \cdot 10^3$ КОЕ. Показана прямая корреляция между КОЕ в суспензии и объемом минерализованной костной ткани на КТ-сканах, которая образовалась у пациентов через 4 мес. после трансплантации. Кроме того, обнаружена отрицательная корреляция между количеством КОЕ в трансплантате и временем регенерации. При трансплантации МСК сроки регенерации сокращались.

L. R. le Nail и соавт. [62] с 2002 по 2007 г. исследовали случаи замедленного сращения открытых переломов большеберцовых костей с отсроченным хирургическим лечением. Показано, что эффективность введения костного мозга зависит от времени: если манипуляцию проводили в период до 110 дней после перелома, получено 47 % положительных результатов, а после 110 — 73 %. Кроме того при диастазе между отломками кости более 4 мм результат лечения был негативным. Для таких случаев необходимо применять другие способы трансплантации, например, матрицы, насыщенные костным мозгом.

S. Wongchuensoontorn и соавт. [63] представили положительные клинические результаты использования аутогенного аспирата костного мозга с аутотрансплататами кости при атрофических плохо срастающихся трещинах челюсти.

М. Jäger и соавт. [64] применяли МСК с подложками из коллагеновой губки или гидроксилапатита при хирургическом лечении пациентов с переломом. Через 6 мес. у всех пациентов рентгенологически зафиксирована консолидация отломков. Сокращение сроков образования костной ткани в области перелома отмечено при использовании в качестве матрицы гидроксилапатита по сравнению с применением коллагеновой губки (6,8 против 13,6 недель). Полное восстановление кости в этих группах зафиксировано через 17,3 и 22,4 недели соответственно. Авторы пришли к выводу, что сочетание МСК с подложкой из гидроксилапатита имеет остеоиндуктивный эффект [64].

М. Payer и соавт. [65] оценили возможность использования аллогенного остеопластического материала и МСК в челюстно-лицевой хирургии. Рентгенологически через 3 и 6 мес. после имплантации не обнаружено существенной разницы в объеме новообразованной кости, однако остеointеграция имплантатов была повышена в случае использования МСК.

В литературе описан еще один способ введения МСК костного мозга — инфузия в кровяное русло. При этом МСК оказывают паракринный эффект на организм в целом. Этот способ рекомендован для лечения метаболических заболеваний соединительной ткани. Е. М. Horwitz и соавт. [15] провели исследование трансплантации костного мозга путем инфузии 5 детям с несовершенным остеогенезом для стимуляции регенерации после перелома. Через 18–36 мес. наблюдения выявлено увеличение общего содержания минеральных веществ в костной ткани и скорости регенерации переломов, а также линейного роста у 3 из 5 детей. Однако с течением времени после трансплантации костного мозга линейный рост детей и скорость регенерации замедлялись, в конечном итоге, достигая плато, в то время как минеральная составляющая костных тканей продолжала увеличиваться.

Таким образом, преимуществом трансплантации костного мозга является малоинвазивность процедуры, отсутствие иммунологических осложнений, необходимости дополнительных предварительных манипуляций (выделение и культивирование клеток). Однако можно выделить несколько недостатков, основным из которых является низкая жизнеспособность трансплантируемого материала. Показано, что в 20 см^3 костного мозга в среднем насчитывается $5 \cdot 10^3$ клеток, однако количество потенциально активных КОЕ ко-

леблется [60]. Кроме того, количество и регенераторный потенциал МСК варьирует в зависимости от индивидуальных особенностей, сопутствующей патологии и возраста пациентов [58, 66–68]. В некоторых случаях малоинвазивные методы (например, локальная трансплантация пунктата костного мозга) могут быть недостаточно эффективны, как, например, при лечении сложных переломов с массивными кожными повреждениями, длительно срастающихся переломов или осложненных сопутствующими заболеваниями, а также широким диастазом между костными отломками. В таких ситуациях рекомендовано комбинированное использование пунктата костного мозга с другими методами оптимизации регенерации кости, в частности, использование различных трансплантационных материалов, медикаментозных препаратов и биологически активных веществ [20, 34, 69, 70].

Использование культивированных мезенхимальных стволовых клеток

Культивируют МСК, чтобы увеличить их количество для последующей трансплантации. Их используют для оптимизации регенерации кости [71–73], а также в качестве тест-систем для определения биосовместимости и цитотоксичности остеопластических материалов [74]. На основе культивирования МСК создана методика определения регенеративного потенциала костной ткани человека [75, 76], опираясь на результаты которой можно подобрать индивидуальное лечение для каждого пациента.

Одной из основных проблем использования культуры МСК в медицинской практике является старение клеток и замедление их роста в процессе культивирования в стандартных условиях. Поэтому особое внимание уделяется возможности использования матриц из различных биоматериалов, которые позволяют сохранить тканеспецифические свойства стволовых клеток. Кроме того, культивирование клеток на различных подложках устраняет необходимость ферментативной обработки для получения их концентрата (в результате этих процедур часть гибнет). К преимуществам биоинженерных конструкций (клетки – матрица) следует также отнести облегчение процедуры и сохранения клеток в зоне дефекта, возможность создания трансплантата необходимой формы и размера, что имеет особое значение для заполнения полостей после резекции опухолей, при проведении остеотомии и других обширных повреждениях кости.

Использование культивированных мезенхимальных стволовых клеток в эксперименте

В литературе представлены работы, подтверждающие положительный результат использования инъекционного введения культивированных МСК, несмотря на указанные выше сложности.

Например, в экспериментальных исследованиях на животных I. S. Kim и соавт. [71] доказали остеогенный эффект при отсутствии воспалительной реакции недифференцированных культивированных МСК костного мозга человека, которые вводили кроликам в область остеотомии (диастаз около 7 см).

D. Ben-David и соавт. [72] показали, что в процессе культивирования на гидрогеле МСК из костного мозга крысы дифференцируются в остеогенном направлении. Трансплантация такой биосистемы в зону дефекта черепа мышей способствовала увеличению объема новообразованной костной ткани — 65 % против 10 % у животных, которым вводили гидрогелевые трансплантаты без клеток.

Описана возможность использования керамической матрицы, насыщенной культивированными МСК, для стимуляции регенерации дефектов бедренных костей у крыс. Такой комбинированный трансплантат значительно повышал объем новообразованной кости по сравнению с контрольной группой животных [77].

В качестве матрицы для насыщения культивированными МСК также использовали кортикальные трансплантаты. После помещения их в дефекты критического размера диафиза большеберцовой кости овец с помощью рентгенологических и гистологических методов доказана инкорпорация аллотрансплантата в кость и его перестройка, что способствовало восстановлению поврежденной костной ткани [73].

Различные подложки, насыщенные культивированными МСК, выделенными из костного мозга, также успешно использовали при спондилодезе позвоночника. При этом отмечено сокращение сроков регенерации у 95,1 % пациентов. Положительный результат достигался через 34,5 мес. [78].

Использование культивированных мезенхимальных стволовых клеток в клинике

В клинических условиях выявлено восстановление длины кости у пациентов с дистракционным остеогенезом при использовании аутологичных МСК и PRP. МСК культивировали в присутствии индукторов, влияющих на остеобластическую дифференциацию. PRP получали непосредственно перед трансплантацией. Культивированные клетки и PRP смешивали для полу-

чения гелеобразной субстанции, которую вводили в виде инъекций в область остеотомии [79].

Положительные результаты отмечено после инъекционного введения дифференцированных остеобластов ($1,2 \cdot 10^7/0,4$ мл), полученных после культивирования МСК, выделенных из тел позвонков поясничного отдела, в зону перелома длинных костей конечностей. Через 8 недель после операции отмечено сокращение сроков регенерации за счет ее оптимизации [42].

Некоторые ученые предполагают, что аллогенные МСК, индуцированные в процессе культивирования в остеогенном направлении, можно использовать для лечения наследственных метаболических заболеваний, затрагивающих костную ткань. Например, после инъекционного введения культивированных остеобластов больным с гипофосфатазией обнаружено замещение ими клеток пациентов, что приводило к заметному улучшению морфологических и функциональных характеристик костной ткани.

Для лечения различных дефектов костей конечностей использовали трехмерный остеопрогениторный трансплантат «Остеоматрикс» в комбинации с МСК из костного мозга. Трансплантат в виде «чипсов» или блоков укладывали в зону дефекта, формируя плотный контакт с костной тканью ложа реципиента. Между фрагментами материала инъекционно вводили культивированные в коллагеновом геле МСК. В результате однократного применения этого метода достигнуто восстановление целостности кости у всех пациентов [81].

M. Jager и соавт. [82] показали формирование костной ткани после трансплантации аутогенных МСК на коллагеновой матрице 10 пациентам с обширными дефектами костей. Трансплантат получен в процессе культивирования МСК костного мозга на пористом каркасе из коллагена I типа, который обеспечивал прикрепление клеток и остеогенную дифференцировку без дополнительного стимулирования.

Перспективными материалами в качестве носителей культивированных клеток являются кальций-фосфатные керамики. Так, использование культивированных МСК на подложке из гидроксилатапата для лечения дефектов костной ткани приводило к повышению остеоинтеграции имплантата, что положительно влияет на течение регенераторного процесса [83, 84]. Размер и форму подложки подбирали в соответствии с конфигурацией дефекта. После трансплантации выполняли внешнюю фиксацию для обеспечения

механической стабильности. С помощью рентгенографии и КТ у пациентов выявлено образование костной ткани по периметру имплантатов уже на второй месяц после пластики дефектов с диастазом отломков 4–7 см аутогенными МСК, культивированными на подложках из макропористого гидроксилапатита. В случае заполнения дефектов костными трансплантатами их перестройка и регенерация кости проходила в сроки от 12 до 18 мес. [83].

М. Maggassi и соавт. [84] создали трехмерные биоинженерные конструкции из пористого гидроксилапатита и МСК из костного мозга необходимой формы и размеров, поместили в дефекты костей размером 4–7 см во время хирургического вмешательства и фиксировали с помощью аппарата Илизарова. Через 5–7 мес. после операции с помощью рентгенографии и КТ зафиксирована остеоинтеграция имплантата с костной тканью реципиента, которая сохранялась на протяжении длительного периода (6–7 лет).

К. Kawate и соавт. [85] с успехом применили аутологенные МСК, культивированные на матрицах из β -ТКФ, для лечения пациентов со стероидиндуцированным остеонекрозом головки бедренной кости. Гранулами β -ТКФ с МСК заполняли полость, оставшуюся после кюретажа области деструкции кости, и зафиксировали фрагментом малоберцовой кости. Отмечено отсутствие прогрессирования остеонекроза и регенерация костной ткани в области кюретажа.

Выводы

МСК обладают уникальными свойствами — способностью дифференцироваться в нескольких направлениях (фибробластическом, остеогенном, хондроцитарном и адипоцитарном), размножаться *in vitro*, оказывать иммуномодулирующий и иммуносупрессивный эффекты. Это позволяет использовать их в качестве терапевтического агента в регенеративной медицине, в частности для оптимизации репаративного остеогенеза. Результаты экспериментальных и клинических исследований свидетельствуют о положительном влиянии трансплантации МСК на течение репаративного процесса. Выявлено, что вследствие их остеогенной дифференцировки повышается пул остеобластов, объем новообразованной костной ткани и сокращаются сроки восстановления целостности кости. Несомненными преимуществами использования МСК является малоинвазивность процедуры получения и возможность увеличения количества в процессе культивирования. Однако

при культивировании клетки стареют, и замедляется их рост. Для сохранения тканеспецифических свойств клеток предлагают использовать матрицы из коллагена, костных трансплантатов, кальций-фосфатных керамик и др. Создание биоконструкций на их основе облегчает трансплантацию в область повреждения и позволяет создать трансплантат необходимой формы и размеров. Вопрос об оптимальном материале для матрицы остается открытым. Поэтому продолжение исследований, направленных на создание сложных биоинженерных конструкций, максимально приближенных к анатомическим свойствам кости, позволит оптимизировать процесс репаративного остеогенеза при различных травматических повреждениях и патологических состояниях.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.

Список литературы

1. Максимов А. Основы гистологии: Ч. II. Учение о тканях / А. Максимов. — Л. : Б. М. И., 1925. — 316 с.
2. Фриденштейн А. Я. Индукция костной ткани и остеогенные клетки-предшественники / А. Я. Фриденштейн, К. С. Лалыкина. — М. : Медицина, 1973. — 223 с.
3. Фриденштейн А. Я. Клеточные основы кроветворения (кроветворные клетки предшественники) / А. Я. Фриденштейн, И. Л. Чертков. — М. : Медицина, 1977. — 274 с.
4. Clarification of the nomenclature for MSC: The International Society for Cellular Therapy position statement / E. M. Horwitz, K. le Blanc, M. Dominici [et al.] // *Cytotherapy*. — 2005. — Vol. 7 (5). — P. 393–395. — DOI: 10.1080/14653240500319234.
5. Зуева Е. Е. Стволовые клетки. Некоторые биологические особенности и терапевтические возможности / Е. Е. Зуева, А. В. Куртова, Л. С. Комарова // *Гематология*. — 2005. — Т. 6. — С. 705–724.
6. Хэм А. Гистология / А. Хэм, Д. Кормак. — М. : Мир, 1983. — Т. 3. — 292 с.
7. Семенов М. Г. Перспективы применения стволовых клеток в реконструктивно-восстановительной хирургии челюстно-лицевой области / М. Г. Семенов, Ю. В. Степанова, Д. О. Трошичева // *Ортопедия, травматология и восстановительная хирургия детского возраста*. — 2016. — Т. 4, Вып. 4. — С. 84–92. — DOI: 10.17816/PTORS4484-92.
8. Shao J. Using mesenchymal stem cells as a therapy for bone regeneration and repairing / J. Shao, W. Zhang, T. Yang // *Biol Res*. — 2015. — Vol. 62 (48). — P. 594–601. — DOI: 10.1186/s40659-015-0053-4.
9. Астахова В. С. Остеогенные клетки-предшественники костного мозга человека / В. С. Астахова. — К. : Феникс, 2000. — 176 с.
10. Mesenchymal stem cell-based therapy: a new paradigm in regenerative medicine / N. K. Satija, V. K. Singh, Y. K. Verma [et al.] // *J. Cell Mol. Med*. — 2009. — Vol. 13 (11–12). — P. 4385–4402. — DOI: 10.1111/j.1582-4934.2009.00857.x.
11. Rapid expansion of recycling stem cells in cultures of plastic adherent cells from human bone marrow / D. C. Colter, R. Class, C. M. DiGirolamo [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. — 2000. — Vol. 97. — P. 3213–3288. — DOI: 10.1073/pnas.070034097.
12. Effect on left ventricular function of intracoronary transplantation of autologous bone marrow mesenchymal stem cell in patients with acute myocardial infarction / S. L. Chen,

- W. W. Fang, F. Ye [et al.] // *Am. J. Cardiol.* — 2004. — Vol. 94. — P. 92–95. — DOI: 10.1016/j.amjcard.2004.03.034.
13. Ex vivo expansion and subsequent infusion of human bone marrow-derived stromal progenitor cells (mesenchymal progenitor cells): implications for therapeutic use / H. M. Lazarus, S. E. Haynesworth, S. L. Gerson [et al.] // *Bone Marrow Transplant.* — 1995. — Vol. 16. — P. 557–564.
 14. Rapid hematopoietic recovery after coinfusion of autologous-blood stem cells and culture-expanded marrow mesenchymal stem cells in advanced breast cancer patients receiving high-dose chemotherapy / O. N. Koc, S. L. Gerson, B. W. Cooper [et al.] // *J. Clin. Oncol.* — 2000. — Vol. 18. — P. 307–316. — DOI: 10.1200/JCO.2000.18.2.307.
 15. Isolated allogeneic bone marrow-derived mesenchymal stem cells engraft and stimulate growth in children with osteogenesis imperfecta: implications for cell therapy of bone / E. W. Horwitz, P. L. Gordon, W. K. Koo [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2002. — Vol. 99. — P. 8932–8937. — DOI: 10.1073/pnas.132252399.
 16. New approach to radiation burn treatment by dosimetry-guided surgery combined with autologous mesenchymal stem cell therapy / J. J. Lataillade, C. Doucet, E. Bey [et al.] // *Regen Med.* — 2007. — Vol. 2. — P. 785–794. — DOI: 10.2217/17460751.2.5.785.
 17. Stem cell technology for bone regeneration: current status and potential applications / G. Asatrian, D. Pham, W. R. Hardy [et al.] // *Stem Cells Cloning.* — 2015. — Vol. 8. — P. 39–48. — DOI: 10.2147/SCCAA.S48423.
 18. The effects of endocrine disruptors on adipogenesis and osteogenesis in mesenchymal stem cells: a review / M. E. Bateman, A. L. Strong, J. A. McLachlan [et al.] // *Front. Endocrinol.* — 2017. — Vol. 7 (171). — P. 1–12. — DOI: 10.3389/fendo.2016.00171.
 19. Characterization of bone marrow derived mesenchymal stem cells in suspension / K. Akiyama, Y. Yong-Ouk, Y. Takayoshi [et al.] // *Stem Cell Res. Ther.* — 2012. — Vol. 40 (3). — P. 1–13. — DOI: 10.1186/scrt131.
 20. Mesenchymal stem cells (MSCs) as skeletal therapeutics an update / H. Saeed, M. Ahsan, Z. Saleem [et al.] // *J. Biomed. Sci.* — 2016. — Vol. 41 (23). — P. 1–15. — DOI: 10.1186/s12929-016-0254-3.
 21. Le Blanc K. Immunomodulatory effects of fetal and adult mesenchymal stem cells / K. le Blanc // *Cytotherapy.* — 2003. — Vol. 6 (5). — P. 485–489. — DOI: 10.1080/14653240310003611.
 22. Zhang X. Role of mesenchymal stem cells in immunological rejection of organ transplantation / X. Zhang, C. Jiao, S. Zhao // *Stem Cell Rev.* — 2009. — Vol. 5 (4). — P. 402–409. — DOI: 10.1007/s12015-009-9076-y.
 23. Characterization and functionality of cell surface molecules on human mesenchymal stem cells / M. K. Majumdar, M. Keane-Moore, D. Buyaner [et al.] // *J. Biomed. Sci.* — 2003. — Vol. 10 (2). — P. 2228–2241. — DOI: 10.1159/000068710.
 24. Hematti P. Human embryonic stem cell derived mesenchymal stromal cells / P. Hematti // *Transfusion.* — 2011. — Vol. 4 (51). — P. 138–144. — DOI: 10.1111/j.1537-2995.2011.03376.x.
 25. Circulating skeletal stem cells / S. A. Kuznetsov, M. H. Mankani, S. Gronthos [et al.] // *J. Cell Biol.* — 2001. — Vol. 153. — P. 1133–1140.
 26. The human umbilical cord blood: a potential source for osteoblast progenitor cells / C. Rosada, J. Justesen, D. Melsvik [et al.] // *Calcif. Tissue Int.* — 2003. — Vol. 72. — P. 135–142. — DOI: 10.1007/s00223-002-2002-9.
 27. Multipotent mesenchymal stem cells from adult human synovial membrane / C. De Bari, F. Dell'Accio, P. Tylzanowski [et al.] // *Arthritis Rheum.* — 2001. — Vol. 44. — P. 1928–1942.
 28. SHED: stem cells from human exfoliated deciduous teeth / M. Miura, S. Gronthos, M. R. Zhao [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2003. — Vol. 100. — P. 5807–5812. — DOI: 10.1073/pnas.0937635100.
 29. Isolation of amniotic stem cell lines with potential for therapy / P. De Coppi, G. Jr. Bartsch, M. M. Siddiqui [et al.] // *Nat. Biotechnol.* — 2007. — Vol. 25. — P. 100–106. — DOI: 10.1038/nbt1274.
 30. Differentiation and regeneration potential of mesenchymal progenitor cells derived from traumatized muscle tissue / W. M. Jackson, T. P. Lozito, F. Djouad [et al.] // *J. Cell Mol. Med.* — 2011. — Vol. 15 (11). — P. 2377–2388. — DOI: 10.1111/j.1582-4934.2010.01225.x.
 31. A comparison of bone regeneration with human mesenchymal stem cells and muscle derived stem cells and the critical role of BMP / X. Gao, A. Usas, Y. Tang [et al.] // *Biomaterials.* — 2014. — Vol. 25 (35). — P. 6859–6870. — DOI: 10.1016/j.biomaterials.2014.04.113.
 32. Liu Y. The role of recipient T cells in mesenchymal stem cell-based tissue regeneration / Y. Liu, S. Wang, S. Shi // *Int. J. Biochem. Cell Biol.* — 2012. — Vol. 11 (44). — P. 2044–2050. — DOI: 10.1016/j.biocel.2012.08.003.
 33. Comparative characteristics of mesenchymal stem cells from human bone marrow, adipose tissue, and umbilical cord blood / W. Wagner, F. Wein, A. Seckinger [et al.] // *Exp. Hematol.* — 2005. — Vol. 33. — P. 1402–1416. — DOI: 10.1016/j.exphem.2005.07.003.
 34. Virk M. S. Biologic adjuvants for fracture healing / M. S. Virk, J. R. Lieberman // *Arthritis Res. Ther.* — 2012. — Vol. 225 (14). — P. 1581–1588. — DOI: 10.1186/ar4053.
 35. Friedenstein A. J. The development of fibroblast colonies in monolayer cultures of guinea-pig bone marrow and spleen cells / A. J. Friedenstein, R. K. Chailakhjan, K. S. Lalykina // *Cell Tissue Kinet.* — 1970. — Vol. 3. — P. 393–403.
 36. Luria E. A. Fibroblast colony formation from monolayer cultures of blood cells / E. A. Luria, A. F. Panasyuk, A. Y. Friedenstein // *Transfusion.* — 1971. — Vol. 11. — P. 345–349.
 37. Kassem M. 1,25-dihydroxyvitamin D₃ potentiates fluoride-stimulated collagen type I production in cultures of human bone marrow stromal osteoblast-like cells / M. Kassem, L. Mosekilde, E. F. Eriksen // *J. Bone Miner. Res.* — 1993. — Vol. 8. — P. 1453–1458. — DOI: 10.1002/jbmr.5650081207.
 38. Isolation and characterization of osteoblast precursor cells from human bone marrow / D. J. Rickard, M. Kassem, T. E. Hefferan [et al.] // *J. Bone Miner. Res.* — 1996. — Vol. 11. — P. 312–324. — DOI: 10.1002/jbmr.5650110305.
 39. Marmotti A. Bone marrow derived stem cells in joint and bone diseases: a concise review / A. Marmotti, L. de Girolamo, D. E. Bonasia // *Int. Orthop.* — 2014. — Vol. 9 (38). — P. 1787–1801. — DOI: 10.1007/s00264-014-2445-4.
 40. Allogeneic bone marrow mesenchymal stem cell transplantation for periodontal regeneration / J. Du, Z. Shan, P. Ma [et al.] // *J. Dent. Res.* — 2014. — Vol. 2 (93). — P. 183–188. — DOI: 10.1177/0022034513513026.
 41. Стимуляция костным мозгом остеогенеза в distractionном регенерате (экспериментальное исследование) / В. И. Шевцов, С. А. Ефрефеев, Н. С. Мигалкин, Е. В. Осипова // *Гений Ортопедии.* — 2003. — № 3. — С. 131–137.
 42. A multi-center, randomized, clinical study to compare the effect and safety of autologous cultured osteoblast (Ossron) injection to treat fractures / S. J. Kim, Y. W. Shin, K. H. Yang [et al.] // *BMC Musculoskelet. Disord.* — 2009. — Vol. 10. — P. 20–27. — DOI: 10.1186/1471-2474-10-20.
 43. The effect of bone morphogenetic protein-2, bone morphogenetic protein-7, parathyroid hormone, and platelet-derived growth factor on the proliferation and osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells derived from osteoporotic bone / I. Pountos, T. Georgouli, K. Henshaw [et al.] // *J. Orthop. Trauma.* — 2010. — Vol. 24 (9). — P. 552–556. — DOI: 10.1097/BOT.0b013e3181efa8fe.
 44. Patel D. M. Therapeutic potential of mesenchymal stem cells

- in regenerative medicine / D. M. Patel, J. Shah, A. S. Srivastava // *Stem Cells Int.* — 2013. — Vol. 5. — P. 1–15. — DOI: 10.1155/2013/496218.
45. Bone marrow concentrate for autologous transplantation in minipigs. Characterization and osteogenic potential of mesenchymal stem cells / M. Herten, J. P. Grassmann, M. Sager [et al.] // *Vet. Comp. Orthop. Traumatol.* — 2013. — Vol. 1 (26). — P. 34–41. — DOI: 10.3415/VCOT-11-11-0165.
 46. Rohban R. Mesenchymal stem and progenitor cells in regeneration: tissue specificity and regenerative potential / R. Rohban, T. R. Pieber // *Stem Cells Int.* — 2017. — Vol. 1. — P. 12–25. — DOI: 10.1155/2017/5173732.
 47. Хейфец М. В. Аутоотрансплантация иммобилизованных мезенхимальных стромальных клеток костного мозга при поясничном спондиллодезе в эксперименте / М. В. Хейфец // *Казанский медицинский журнал.* — 2012. — Т. 93, № 2. — С. 395–397.
 48. Connolly J. F. Clinical use of marrow osteoprogenitor cells to stimulate osteogenesis / J. F. Connolly // *Clin. Orthop. Relat. Res.* — 1998. — Suppl. 355. — P. 257–266.
 49. Mesenchymal stem cells systemically injected into femoral marrow of dog's home to mandibular defects to enhance new bone formation / X. Liu, X. Liao, E. Luo [et al.] // *Tissue Eng Part A.* — 2014. — Vol. 20 (3–4). — P. 883–892. — DOI: 10.1089/ten.TEA.2012.0677.
 50. Means of enhancing bone fracture healing: optimal cell source, isolation methods and acoustic stimulation / C. A. Ghebes, M. V. Braham, A. V. Zeegers [et al.] // *BMC Biotechnology.* — 2016. — Vol. 89 (16). — P. 1–13. — DOI: 10.1186/s12896-016-0318-1.
 51. Рахимов А. М. Стимуляция аутогенным костным мозгом остеорепарации в зоне смоделированного ложного сустава бедренной кости у крыс / А. М. Рахимов // *Гений Ортопедии.* — 2016. — № 4. — С. 88–94. — DOI: 10.18019/1028-4427-2016-4-88-94.
 52. Consideration of bone regeneration effect of stem cells: comparison of bone regeneration between bone marrow stem cells and adipose-derived stem cells / D. S. Han, H. K. Chang, K. R. Kim, S. M. Woo // *J. Craniofac. Surg.* — 2014. — Vol. 1 (25). — P. 196–201. — DOI: 10.1097/SCS.0000000000000378.
 53. Evaluation of the role of autogenous bone-marrow-derived mesenchymal stem cell transplantation for the repair of mandibular bone defects in rabbits / K. A. Saad, A. G. Abu-Shahba, E. A. El-Drieny, M. S. Khedr // *J. Craniomaxillofac. Surg.* — 2015. — Vol. 7 (43). — P. 1151–1160. — DOI: 10.1016/j.jcms.2015.04.013.
 54. In vivo transplantation of autogenous marrow-derived cells following rapid intraoperative magnetic separation based on hyaluronan to augment bone regeneration / T. Caralla, P. Joshi, S. Fleury [et al.] // *Tissue Eng. Part A.* — 2013. — Vol. 1–2 (19). — P. 125–134. — DOI: 10.1089/ten.tea.2011.0622.
 55. Lee J. E. Bone regeneration with rabbit bone marrow-derived mesenchymal stem cells and bone graft materials / J. E. Lee, S. J. Heo, J. Y. Koak // *Int. J. Oral. Maxillofac. Implants.* — 2012. — Vol. 6 (27). — P. 1389–1399.
 56. In vivo comparison of the bone regeneration capability of human bone marrow concentrates vs. platelet-rich plasma / W. Zhong, Y. Sumita, S. Ohba [et al.] // *PLoS ONE.* — 2012. — Vol. 7 (7). — P. 1–7. — DOI: 10.1371/journal.pone.0040833.
 57. Tricalcium phosphate-based biocomposites for mandibular bone regeneration: A histological study in sheep / G. Russmueller, D. Moser, E. Spassova [et al.] // *J. Craniomaxillofac. Surg.* — 2015. — Vol. 43 (5). — P. 696–704. — DOI: 10.1016/j.jcms.2015.03.022.
 58. Autologous marrow injection as a substitute for operative grafting of tibial nonunions / J. F. Connolly, R. Guse, J. Tiedeman, R. Dehne // *Clin. Orthop. Relat. Res.* — 1991. — Vol. 266. — P. 259–270.
 59. A prospective randomized trial of percutaneous marrow injection in a series of closed fresh tibial fractures / G. P. Khanal, M. Garg, G. K. Singh // *Int. Orthop.* — 2004. — Vol. 28. — P. 167–170. — DOI: 10.1007/s00264-004-0547-0.
 60. Percutaneous autologous bone-marrow grafting for nonunions. Influence of the number and concentration of progenitor cells / P. Hernigou, A. Poignard, F. Beaujean, H. Rouard // *J. Bone Joint Surg. Am.* — 2005. — Vol. 87. — P. 1430–1437. — DOI: 10.2106/JBJS.D.02215.
 61. Niedźwiedzki T. Effect of bone marrow on healing of fractures, delayed unions and pseudoarthroses of long bones / T. Niedźwiedzki // *Chir. Narządow Ruchu Ortop. Pol.* — 1993. — Vol. 58 (3). — P. 194–204.
 62. Percutaneous grafting with bone marrow autologous concentrate for open tibia fractures: analysis of forty three cases and literature review / L. R. le Nail, J. Stanovici, J. Fournier [et al.] // *Int. Orthop.* — 2014. — Vol. 38 (9). — P. 1845–1853. — DOI: 10.1007/s00264-014-2342-x.
 63. Application of a new chair-side method for the harvest of mesenchymal stem cells in a patient with non-union of a fracture of the atrophic mandible: a case report / C. Wongchuensoontorn, N. Liebehenschel, U. Schwarz [et al.] // *J. Craniomaxillofac. Surg.* — 2009. — Vol. 37. — P. 155–161. — DOI: 10.1016/j.jcms.2008.11.002.
 64. Bridging the gap: bone marrow aspiration concentrate reduces autologous bone grafting in osseous defects / M. Jäger, M. Herten, U. Fochtmann [et al.] // *J. Orthop. Res.* — 2011. — Vol. 2 (29). — P. 173–180. — DOI: 10.1002/jor.21230.
 65. Effects of directly autotransplanted tibial bone marrow aspirates on bone regeneration and osseointegration of dental implants / M. Payer, B. Lohberger, D. Strunk [et al.] // *Clin. Oral. Implants Res.* — 2014. — Vol. 4 (25). — P. 468–474. — DOI: 10.1111/clr.12172.
 66. Age-related osteogenic potential of mesenchymal stromal stem cells from human vertebral bone marrow / G. D'Ippolito, P. C. Schiller, C. Ricordi [et al.] // *J. Bone Miner. Res.* — 1999. — Vol. 14 (7). — P. 1115–1122. — DOI: 10.1359/jbmr.1999.14.7.1115.
 67. Effect of age and sampling site on the chondro-osteogenic potential of rabbit marrow derived mesenchymal progenitor cells / B. A. Huibregtse, B. Johnstone, V. M. Goldberg, A. I. Caplan // *J. Orthop. Res.* — 2000. — Vol. 18 (1). — P. 18–24. — DOI: 10.1002/jor.1100180104.
 68. Bruder S. P. Mesenchymal stem cells in bone development, bone repair, and skeletal regeneration therapy / S. P. Bruder, D. J. Fink, A. I. Caplan // *J. Cell Biochem.* — 1994. — Vol. 56. — P. 283–294. — DOI: 10.1002/jcb.240560303.
 69. Soltan M. Bone marrow: orchestrated cells, cytokines, and growth factors for bone regeneration / M. Soltan, D. Smiler, J. H. Choi // *Implant Dent.* — 2009. — Vol. 2 (18). — P. 132–1341. — DOI: 10.1097/ID.0b013e3181990e75.
 70. Osteogenic efficacy of bone marrow concentrate in rabbit maxillary sinus grafting / L. Sununliganon, L. Peng, W. Singhatanadgit, L. K. Cheung // *J. Craniomaxillofac. Surg.* — 2014. — Vol. 8 (42). — P. 1753–1765. — DOI: 10.1016/j.jcms.2014.06.011.
 71. Bone regeneration by transplantation of human mesenchymal stromal cells in a rabbit mandibular distraction osteogenesis model / I. S. Kim, T. H. Cho, Z. H. Lee [et al.] // *Tissue Eng. Part A.* — 2013. — Vol. 19 (1). — P. 66–78. — DOI: 10.1089/ten.TEA.2011.0696.
 72. Cell-scaffold transplant of hydrogel seeded with rat bone marrow progenitors for bone regeneration / D. Ben-David, T. A. Kizhner, T. Kohler [et al.] // *J. Craniomaxillofac. Surg.* — 2011. — Vol. 39 (5). — P. 364–371. — DOI: 10.1016/j.jcms.2010.09.001.
 73. The effect of bone allografts combined with bone marrow stromal cells on the healing of segmental bone defects in a sheep model / M. B. Fernandes, J. A. Guimarras, P. L. Casado [et al.] // *BMC Vet. Res.* — 2014. — Vol. 36 (10). — P. 1–12. — DOI: 10.1186/1746-6148-10-36.

74. Development and preclinical studies of insulating membranes based on poly-3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate for guided bone regeneration / S. Y. Ivanov, A. P. Bonartsev, Y. V. Gazhva [et al.] // *Biomed. Khim.* — 2015. — Vol. 61 (6). — P. 717–723. — DOI: 10.18097/PBMC20156106717.
75. Визначення *in vitro* регенераторного потенціалу пацієнтів та його взаємозв'язку з мінеральною щільністю кісткової тканини / С. В. Малишкіна, О. А. Нікольченко, О. А. Костерін [та ін.] // *Український медичний альманах.* — 2012. — Т. 10, № 4. — С. 69–74.
76. Визначення *in vitro* остеорепаративного потенціалу пацієнтів з переломами довгих кісток / С. А. Побел, С. В. Малишкіна, О. А. Нікольченко, І. В. Вишнякова // *Український морфологічний альманах.* — 2013. — Т. 11, № 2. — С. 80–86.
77. Bone regeneration by implantation of purified, culture-expanded human mesenchymal stem cells / S. P. Bruder, A. A. Kurth, M. Shea [et al.] // *J. Orthop. Res.* — 1998. — Vol. 16 (2). — P. 155–162. — DOI: 10.1002/jor.1100160202.
78. The clinical use of enriched bone marrow stem cells combined with porous β -tricalcium phosphate in posterior spinal fusion / Y. Gan, K. Dai, P. Zhang, T. Tang [et al.] // *Biomaterials.* — 2008. — Vol. 29 (29). — P. 3973–3982. — DOI: 10.1016/j.biomaterials.2008.06.026.
79. Transplantation of marrow-derived mesenchymal stem cells and platelet-rich plasma during distraction osteogenesis — a preliminary result of three cases / H. Kitoh, T. Kitakoji, H. Tsuchiya [et al.] // *Bone.* — 2004. — Vol. 35 (4). — P. 892–898. — DOI: 10.1016/j.bone.2004.06.013.
80. Marrow cell transplantation for infantile hypophosphatasia / M. P. Whyte, J. Kurtzberg, W. H. McAlister [et al.] // *J. Bone Miner. Res.* — 2003. — Vol. 18 (4). — P. 624–636. — DOI: 10.1359/jbmr.2003.18.4.624.
81. Оксимец В. М. Использование аутологичных мезенхимальных стромальных клеток при лечении дефектов костей конечностей / В. М. Оксимец // *Клінічна хірургія.* — 2014. — № 10. — С. 63–66.
82. Bone marrow concentrate: a novel strategy for bone defect treatment / M. Jager, E. M. Jelinek, K. M. Wess [et al.] // *Curr. Stem Cell Res. Ther.* — 2009. — Vol. 1 (4). — P. 34–43.
83. Repair of large bone defects with the use of autologous bone marrow stromal cells / R. Quarto, M. Mastrogiacomo, R. Cancedda [et al.] // *N. Engl. J. Med.* — 2001. — Vol. 344 (5). — P. 385–386. — DOI: 10.1056/NEJM200102013440516.
84. Stem cells associated with macroporous bioceramics for long bone repair: 6- to 7-year outcome of a pilot clinical study / M. Marcacci, E. Kon, V. Moukhachev [et al.] // *Tissue Engineering.* — 2007. — Vol. 13 (5). — P. 947–955. — DOI: 10.1089/ten.2006.0271.
85. Tissue-engineered approach for the treatment of steroid-induced osteonecrosis of the femoral head: transplantation of autologous mesenchymal stem cells cultured with β -tricalcium phosphate ceramics and free vascularized fibula / K. Kawate, H. Yajima, H. Ohgushi [et al.] // *Artificial Organs.* — 2006. — Vol. 30 (12). — P. 960–962. — DOI: 10.1111/j.1525-1594.2006.00333.x.

Статья поступила в редакцию 08.02.2018

INNOVATIVE METHODS FOR OPTIMIZATION OF BONE REGENERATION: MESENHYMAL BONE CELLS (PART 2) (LITERATURE REVIEW)

N. A. Korzh, P. M. Vorontsov, I. V. Vishnyakova, E. M. Samoiloiva

Sytenko Institute of Spine and Joint Pathology National Academy of Medical Sciences of Ukraine, Kharkiv

✉ Mykola Korzh, MD, Prof. in Orthopaedics and Traumatology: mykola.korzh47@gmail.com

✉ Petro Vorontsov, PhD in Orthopaedics and Traumatology: vorontsov64@ukr.net

✉ Iryna Vishnyakova: yellow_b@bk.ru

✉ Kateryna Samoiloiva: samoylova_e@ukr.net