

© Коллектив авторов, 2011

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КЛЕТОЧНОЙ ТЕХНОЛОГИИ ПРИ ХИРУРГИЧЕСКОЙ КОРРЕКЦИИ ВРОЖДЕННОГО НЕРАВЕНСТВА ДЛИНЫ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ У ДЕТЕЙ

С.П. Миронов, Н.П. Омеляненко, О.В. Кожевников, В.К. Ильина,  
А.В. Иванов, И.П. Карпов, В.А. Лазарев

ФГУ «Центральный научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова»  
Минздравсоцразвития России, Москва

*Представлены первые результаты применения культивированных аутологичных стромальных клеток костного мозга для стимуляции репаративной регенерации distraction-онных костных регенератов у 8 пациентов в возрасте от 3,7 до 16 лет с врожденным неравенством длины нижних конечностей (основная группа). Контрольную группу составили 24 ребенка с аналогичной патологией в возрасте от 2,5 до 14 лет, лечившихся без применения клеточной технологии. Полученные результаты убедительно свидетельствуют о выраженном стимулирующем влиянии клеточной терапии на формирование и созревание distraction-онных регенератов. Продолжительность лечения в основной группе сократилась до 4,5–6,5 мес против 7,5–11 мес в контрольной группе. Это, в свою очередь, позволило избежать возможных осложнений, связанных с длительной фиксацией конечности в distraction-онном аппарате.*

**Ключевые слова:** дети, неравенство длины нижних конечностей, регенерация, аутологичные стромальные клетки, костный мозг.

### *Use of Cellular Technology at Surgical Correction of Congenital Lower Limb Length Discrepancy in Children*

S.P. Mironov, N.P. Omel'yanenko, O.V. Kozhevnikov, V.K. Il'ina, A.V. Ivanov,  
I.N. Karpov V.A. Lazarev

*First results of application of cultivated autologous stromal bone marrow cells for the stimulation of distraction bone regenerates' reparative regeneration in 8 patients aged from 3.7 to 16 years with congenital lower extremity length discrepancy (main group) are presented. In 24 children with similar pathology aged from 2.5 to 14 years (control group) no cellular technology was used. In the main group duration of treatment reduces to 4.5–6.5 months versus 7.5–11 months in the control one. That enabled to avoid potential complications related to the long-term fixation of the extremity in the distraction apparatus.*

**Key words:** children, discrepancy of lower extremity length, autologous stromal cells, bone marrow.

Врожденное неравенство длины конечностей у детей как проявление диспластического синдрома остается актуальной проблемой. Результаты хирургической коррекции, проводимой в основном с помощью distraction-онного остеосинтеза, во многом зависят от регуляторных возможностей организма ребенка [8]. Диспластический синдром заведомо относит таких детей к группе риска замедленного или осложненного формирования репаративного костного регенерата при distraction [4, 5, 9].

В связи с этим очевидна необходимость стимуляции репаративного остеогенеза на разных этапах формирования костного регенерата, включая его созревание. С этой целью используется имплантация в distraction-онные регенераты различных материалов биологического и неббиологического происхождения, в частности имеются указания на имплантацию фрагментированной фетальной

костной ткани человека или животных либо композиционных биоактивных материалов, содержащих лиофилизат этих тканей [4]. Подобные методы эффективны, однако для их реализации требуется дополнительное оперативное вмешательство. Альтернативой им может служить клеточная терапия [3].

В экспериментах на животных (кроликах) было показано, что аутологичные стромальные клетки костного мозга (выделенные из костного мозга и размноженные в клеточной культуре до необходимого количества) демонстрируют высокую эффективность как стимулятор репаративной костной регенерации при значительных (критических) дефектах длинных костей, при которых поврежденная кость самопроизвольно никогда не восстанавливается [6].

Целью нашей работы было исследование эффективности применения метода клеточной тера-

нии для стимуляции формирования дистракционных костных регенератов при хирургической коррекции врожденного неравенства длины нижних конечностей у детей. Клиническое исследование было утверждено ученым советом ЦИТО.

#### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В исследование включены 32 пациента с врожденным неравенством длины нижних конечностей, не имевшие отягощенного соматического анамнеза и сопутствующих заболеваний. Пациенты были разделены на две группы.

**Группа «А» (контрольная)** — 24 пациента в возрасте от 2,5 до 14 лет. Неравенство длины нижних конечностей за счет бедра констатировано у 12, за счет голени — у 9 человек, за счет обоих сегментов — у 3. Величина неравенства варьировала от 3,5 до 6 см. В этой группе при хирургической коррекции неравенства длины конечностей стимулирующих воздействий на формирующиеся регенераты не проводили.

**Группа «Б» (основная)** — 8 пациентов в возрасте от 3,7 до 16 лет. Дефицит длины конечности за счет бедра имел место у 3, за счет голени — у 4 и за счет двух сегментов — у 1 пациента. Неравенство длины составляло от 3,5 до 8 см. Пациентам этой группы проводили клеточную терапию аутологичными стромальными клетками костного мозга (СККМ). Родители пациентов давали добровольное информированное согласие на применение клеточной терапии.

Предоперационное обследование пациентов включало рентгенографию нижних конечностей на сетке Кирдана, стандартную рентгенографию сегмента с дефицитом длины в двух проекциях, ультразвуковую доплерографию (УЗДГ) сосудов нижних конечностей.

В послеоперационном периоде оценивали степень оссификации формирующегося дистракционного регенерата, проводя рентгенографию каждые 2 нед. После стабилизации аппарата контрольные снимки выполняли ежемесячно до его демонтажа. С помощью ультразвукографии и УЗДГ оценивали однородность формирующегося регенерата и микроциркуляцию области дистракции с определением индекса резистентности кровотока. Компьютерную томографию выполняли у отдельных пациентов как в группе «А», так и в группе «Б» до и после демонтажа аппарата.

Методика хирургической коррекции длины конечности была следующей. Сначала накладывали дистракционную конструкцию. На бедре использовали аппараты стержневой и спицеержневой компоновки, на голени — аппарат Илизарова. Затем выполняли остеотомию сегмента: бедра — в зоне дистального метафиза бедренной кости, голени — в верхней метафизарной зоне большеберцовой и в нижней трети малоберцовой кости. Дистракцию в аппарате начинали на 5-й день после операции. Темп дистракции варьировал от 0,5 до

1,25 мм в сутки и зависел от степени формирования регенератов, определяемой по рентгенологической картине.

В сроки 1, 2, 4, 5,5 мес оценивали динамику созревания дистракционных регенератов по данным рентгенографии, компьютерной томографии, ультрасонографии, УЗДГ. При анализе рентгенограмм учитывали локализацию, интенсивность и однородность рентгеновских теней в области дистракции, что отражает процесс образования регенератов. По данным КТ оценивали степень заполнения порочника томографического среза элементами костной ткани и формирование кортикальных пластинок вновь образованной кости. С помощью ультрасонографии определяли однородность и интенсивность оссификации дистракционного регенерата. По данным УЗДГ рассчитывали индекс резистентности кровотока, отражающий степень формирования микроциркуляторного русла в области дистракции.

У пациентов группы «Б» при выполнении оперативного вмешательства производили трепанобиопсию крыла подвздошной кости корончатой фрезой диаметром 5 мм с захватом одной или двух кортикальных стенок, столбик биоптата составлял не более 10 мм. Из костного биоптата механическим способом получали клеточную суспензию для культивирования *in vitro*. Осадок клеток после выделения мононуклеарной фракции костного мозга ресуспендировали в среде для культивирования клеток. Эксплантационная плотность в каждом культуральном флаконе с площадью дна 75 см<sup>2</sup> составляла  $1 \times 10^6$  всех ядерных клеток костного мозга. Клетки культивировали в стандартной ростовой среде с добавлением по 100 ЕД/мл пенициллина и стрептомицина в атмосфере 5% CO<sub>2</sub>.

Стромальные клетки костного мозга как высокоадгезивные прикресплялись к поверхности дна флаконов уже через 2 ч. С 3-6-го дня в культурах формировались дискретные колонии — клоны фибробластоподобных клеток. Эти клетки — стромальные клетки-предшественники соединительнотканых дифферонов. К 10-14-му дню колонии увеличивались в размерах, часть из них становилась многослойными (рис. 1). Далее колонии сливались, покрывая все дно флакона. После этого производили рассев (пассаж) клеток 1:1 из одного флакона в два или в один флакон с большей поверхностью дна. Гемопоэтические клетки при смене среды постепенно удаляли из культуры. Последующие рассевы клеток (СККМ) производили каждые 5-7 дней — после образования ими сплошного монослоя (конфлюэнтного слоя) в культуральных флаконах (рис. 2). Через 25-30 дней, т.е. после третьего пассажа, наращивалось достаточное количество клеток для первой аутотрансплантации и для рассевов с целью продолжения наращивания клеточной биомассы для последующих инъекций и создания клеточного резерва путем консервирования материала в клеточном криобанке.

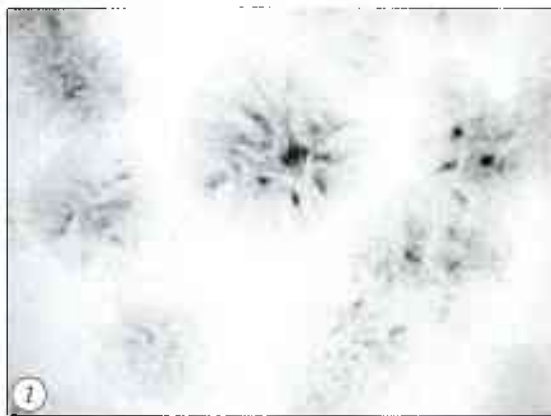


Рис. 1. Колонии стромальных клеток костного мозга. Микрофотограмма. Окраска по Романовскому—Гимзе, ув. 5.

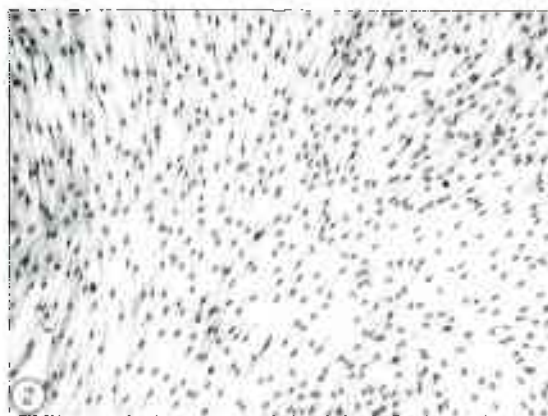


Рис. 2. Сплошной (конфлюэнтный) монослой культуры: стромальных клеток костного мозга. Микрофотограмма. Окраска по Романовскому—Гимзе, ув. 100.

Для оценки жизнеспособности клеток использовали МТТ-тест. Тест основан на способности сукцинатдегидрогеназы митохондрий живых клеток восстанавливать светло-желтый МТТ-тетразолиум [3-(4,5-диметилтиазолил-2)-2,5-дифенилтетразолиум бромид] до нерастворимого темноокрашенного формазана.

Фенотипирование культивированных СККМ по клеточным антигенам проводили на лазерном проточном цитометре FACScal по программе Cellquest. На клетках культуры отсутствовали антигены, свойственные гемопоэтическим стволовым клеткам (CD34), различным лимфоцитам (CD3, 20, 23, 25, 45, 80, HLA-DR), а также гранулоцитам, макрофагам и нормальным киллерным клеткам (CD11b, 14, 15, 45). На клетках культуры имелись антигены, общие для остеобластов и фибробластов CD10, 44, 54 (ICAM-1, 63, 98), что в сумме с экспрессией CD105 и CD90 соответствует специфическим характеристикам мультипотентных стромальных клеток.

Клеточный материал после культивирования исследовали на стерильность и проводили ДНК-диагностику на отсутствие внутриклеточных возбудителей вирусных инфекций. Все данные регистрировали в паспорте культуры клеток, который в дальнейшем вносили в историю болезни пациента.

Стимуляцию формирования регенерата в группе «Б» начинали на 25–30-й день distraction. Клеточный материал, предназначенный для использования, трижды отмывали от среды культивирования физиологическим раствором и помещали в физиологический раствор. В область distraction-ного регенерата клеточный материал вводили инъекционно в 1 мл физиологического раствора в количестве от 1 до 5 млн клеток (в зависимости от массы тела и возраста пациента) пятикратно с интервалом от 5 до 7 дней, при необходимости используя рентгенотелевизионную технику.

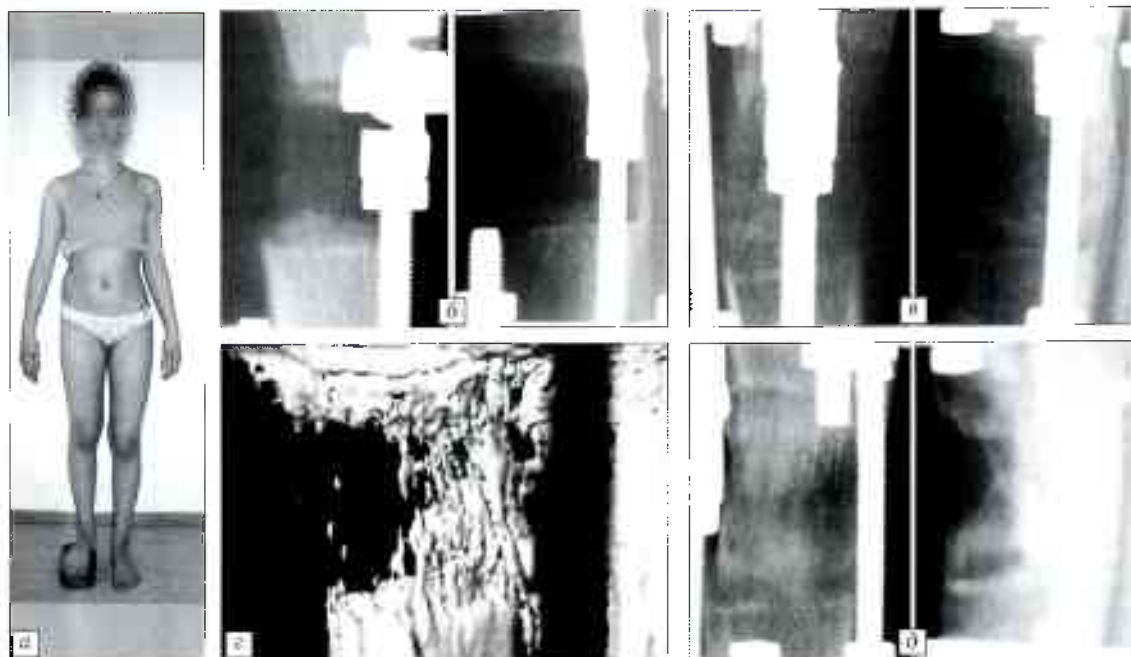
Срок демонтажа аппарата определяли на основании результатов клинико-рентгенологического исследования. Демонтажу предшествовала динамизация внешней конструкции в течение 1 мес.

Для количественной и качественной оценки продолжительности лечения использовали индекс фиксации и индекс остеосинтеза. Индекс фиксации рассчитывали как отношение продолжительности периода после стабилизации аппарата (в днях) к общей величине удлинения сегмента (в сантиметрах), индекс остеосинтеза — как отношение продолжительности периода лечения в аппарате (в днях) к величине удлинения (в сантиметрах).

Оценка качества жизни пациента включала следующие критерии: болевой синдром, остаточное неравенство длины конечностей после лечения, амплитуда движений в смежных с удлиненным сегментом суставах, мышечная сила и форма удлиненного сегмента.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

У пациентов группы «А» (контроль) через 1 мес после операции величина distraction составляла 2–2,5 см. Рентгенологически регенерат был представлен слабыми точечными тенями, расположенными преимущественно вблизи концов костных фрагментов. По интенсивности тени были близки к окружающим кость мягким тканям. Через 2 мес distraction в большинстве случаев заканчивалась, величина ее составляла от 3,5 до 5,5 см. На рентгенограммах удлиняемого сегмента (рис. 3, б) область distraction была представлена уже продольными тенями, интенсивность которых была выше, чем у окружающих мягких тканей, но не достигала плотности губчатого вещества кости и не имела трабекулярного сетчатого рисунка. Тени локализовались как вблизи концов костных фрагментов, так и в проекции задней полуокружности distractionного диастаза на всем протяже-



**Рис. 3.** Пациентка С. 13 лет с врожденным неравием длины нижних конечностей (разница в длине 4,5 см). Группа «А» (контроль).

а — внешний вид пациентки до операции; б — рентгенограммы в прямой и боковой проекции, дистрационный регенерат через 2 мес после операции; в — рентгенограммы, г — компьютерная томограмма (3D реконструкция), дистрационный регенерат через 4 мес после операции; д — рентгенограммы в прямой и боковой проекции, дистрационный регенерат через 6 мес после операции.

нии. В передней полуокружности оксификация регенерата шла медленнее, что визуально воспринималось как «дефект» регенерата (до 30% случаев). Это можно объяснить нарушением целостности надкостницы по передней поверхности кости при выполнении остеотомии. В ряде случаев такие «дефекты» регенерата занимали до 35% его ширины.

На рентгенограммах, выполненных через 4 мес, признаки хорошей оксификации дистрационных регенератов отмечались у 40% пациентов группы «А». Все пространство между костными фрагментами было представлено интенсивными тенями, сопоставимыми с теневым изображением губчатого вещества кости. Вместе с тем имелись участки просветления листовидной формы, характеризующие низкую степень оксификации. «Дефект» регенерата в передней полуокружности дистрационного диастаза становился менее выраженным, составлял не более 20% поперечника кости и сохранялся до 6 мес (рис. 3, в, д). У 4 пациентов мы наблюдали «арочные» регенераты.

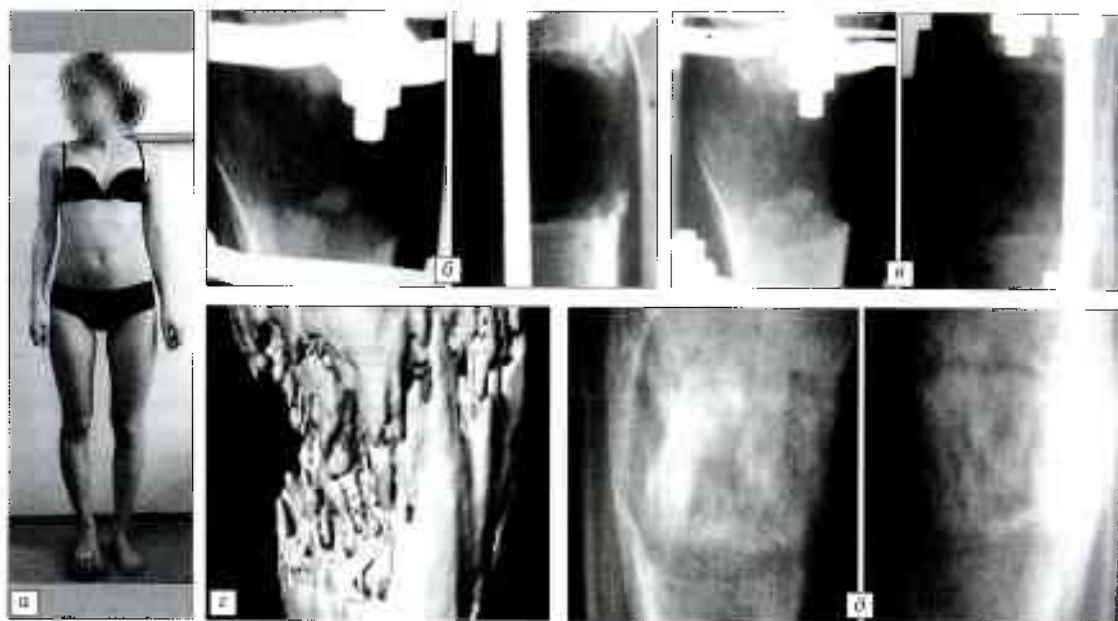
При выполнении компьютерной томографии у некоторых пациентов группы «А» спустя 2 мес после операции на горизонтальных КТ-срезах, проведенных через регенерат, отмечалось небольшое количество сформированных элементов регенераторной костной ткани, располагавшихся в основном ближе к задней полуокружности области дис-

тракции. Эти элементы рыхло заполняли поперечник томографического среза. Кортикальные пластинки в этот период не были сформированы. Через 4 мес компьютерная томография выполнялась для оценки непрерывности кортикального слоя вновь сформированной кости. В группе «А» кортикальный слой не был сформирован полностью ни у одного пациента (рис. 3, г).

При ультразвукографии у 30% больных группы «А» отмечено наличие анаэхогенных участков в формирующихся регенератах, что отражало отсутствие оксификации.

По данным УЗИ, индекс резистентности кровотока в группе «А» через 2 мес после операции составлял  $0,57 \pm 0,05$ , что указывало на магистральный тип кровоснабжения в области формирующегося регенерата, периферический кровоток не был развит. Аналогичная тенденция прослеживалась и через 4 мес — индекс резистентности равнялся  $0,63 \pm 0,04$ . Спустя 6 мес он также оставался высоким —  $0,65 \pm 0,12$ . У большинства пациентов данной группы значение индекса резистентности кровотока свидетельствовало о недостаточном развитии капиллярной сети в области дистракции.

При оценке остеосинтеза у пациентов группы «А» получены следующие показатели: индекс фиксации варьировал от 40,6 до 43,8 дия/см, индекс остеосинтеза — от 50,7 до 55,9 дня/см. Срок лече-



**Рис. 4.** Пациентка Э. 14 лет с врожденным неравенством длины нижних конечностей (разница в длине 4 см). Группа «Б» (клеточная терапия).

а — внешний вид пациентки до операции; б — рентгенограммы: в прямой и боковой проекции: дистракционный регенерат через 2 мес после операции; в — рентгенограммы; г — компьютерная томограмма (3D реконструкция): дистракционный регенерат через 4 мес; д — рентгенограммы: дистракционный регенерат через 5,5 мес после операции (аппарат демонтирован).

ния (нахождения в аппарате) составлял от 7,5 до 11 мес (в среднем 9,25 мес).

У пациентов группы «Б» (клеточная терапия) через 1 мес после операции удлинение сегмента конечности составляло от 2 до 2,2 см. На рентгенограммах регенерат был представлен слабыми точечными тенями, локализовавшимися преимущественно вблизи концов дистального и проксимального костных фрагментов. В центральных отделах и по передней полуокружности области дистракционного диастаза признаки оссификации отсутствовали. Через 2 мес удлинение сегмента составляло от 3 до 5 см. Рентгенологически (рис. 4, б) регенераты имели низкую плотность, были неоднородными, участки более интенсивной оссификации располагались вблизи концов костных фрагментов, эксцентрично, ближе к задней полуокружности области дистракционного диастаза. В центральной части регенератов присутствовал рентгенонегативный участок, воспринимаемый как «дефект» регенерата.

После проведения клеточной терапии у пациентов данной группы на рентгенограммах, выполненных через 4 мес после операции, регенераты были представлены интенсивными тенями, заполнявшими всю дистракционную область. Выраженных участков просветления в них не определялось. По плотности рентгеновских теней формирующиеся регенераты были сопоставимы с проксималь-

ным и дистальным костными фрагментами. Однако трабекулярность регенераторной кости еще не была выражена, кортикальные пластинки не сформированы (рис. 4, в). В срок 5,5 мес отмечалось существенно улучшение рентгенологической картины оссификации регенератов. Интенсивные рентгеновские тени заполняли всю область дистракции между проксимальным и дистальным фрагментами удлиняемой кости. На площади более 3/4 регенерата был сформирован трабекулярный сетчатый рисунок кости. По плотности рентгеновских теней регенераты были сопоставимы с неповрежденной костью. Непрерывность кортикальных пластинок отмечалась на всем протяжении сформированной кости. У некоторых пациентов в регенератах определялись участки повышенной рентгенологической плотности (рис. 4, д).

Компьютерная томография проводилась пациентам группы «Б» выборочно через 2 и 4 мес после операции. Спустя 2 мес на горизонтальных КТ-срезах, проведенных через регенерат, отмечались точечные участки оссификации, расположенные по всему поперечнику томографического среза. Кортикальные пластинки в этот срок не были сформированы. Через 4 мес выявлялась выраженная оссификация дистракционных регенератов, прослеживалась непрерывность кортикального слоя вновь сформированной кости до 2/3 ее длины (рис. 4, з).

При ультрасонографии через 2 мес после операции эконегативных участков в регенератах не определялось. Регенераты были однородны на всем протяжении. В срок 4 мес непрерывность регенератов сохранялась, оксификация проявлялась увеличением количества экзопозитивных элементов, костномозговой канал еще не был сформирован, кортикальные пластинки восстановлены в среднем на 2/3 длины регенератов.

Состояние периферического кровотока в области дистракционного регенерата у пациентов группы «Б» (как и в контрольной группе) оценивалось при помощи УЗДГ с последующим расчетом индекса резистентности кровотока. Через 2 мес после операции индекс резистентности составлял  $0,35 \pm 0,04$ , через 4 мес —  $0,41 \pm 0,05$ , через 5,5–6 мес —  $0,5–0,65$ . Значения этого показателя в сроки 2 и 4 мес свидетельствовали о благоприятных условиях для более высоких (по сравнению с контролем) темпов созревания дистракционных регенератов.

Показатели остеосинтеза в группе «Б» составляли: индекс фиксации — от 28,9 до 30,5 дня/см, индекс остеосинтеза — от 34,2 до 38,6 дня/см. Продолжительность лечения (нахождения в аппарате) в этой группе варьировала от 4,5 до 6,5 мес (в среднем 5,5 мес) (рис. 4, 6).

После снятия аппарата тугоподвижность в коленном суставе отмечалась у большинства пациентов обеих групп. При удлинении бедра, помимо натяжения мышц и капсульно-связочного аппарата, это было обусловлено прохождением спиц и стержней через мягкотканый массив и фиксацией его к кости, а при удлинении голени — наличием верхней опоры аппарата Илизарова в области сустава. После курса реабилитации, проводившейся в среднем в течение 2 мес, объем движений у всех пациентов обеих групп восстанавливался. У пациентов группы «Б» (клеточная терапия) восстановление функции коленного сустава протекало быстрее и занимало в среднем до 1,5 мес, что было связано с меньшей продолжительностью фиксации конечности в дистракционном аппарате.

Через 1 год у всех пациентов обеих групп на рентгенограммах констатированы признаки полного восстановления структуры вновь образованной кости с формированием костномозгового канала. При ультрасонографии отмечена сохраняющаяся непрерывность кортикальных пластинок. Эхографическая структура мышечных волокон в области дистракции не отличалась от структуры выше и ниже расположенных участков мышц. Проведения повторных оперативных вмешательств по пластике регенерата не потребовалось ни в одном случае. Ни у одного пациента неравенства длины нижних конечностей не отмечено. Болевой синдром во всех случаях отсутствовал.

Сокращение сроков фиксации удлиняемой конечности в аппарате у пациентов группы «Б» позволило раньше приступить к реабилитации и

раньше восстановить функцию конечности. При обследовании больных группы «Б» через 3 года выявлена полноценная функция оперированной конечности. Пациенты не предъявляли жалоб на дискомфорт, боли в области оперированного сегмента. Мышечной гипотрофии удлинённых сегментов не отмечено. Пациенты полностью удовлетворены результатом лечения. Неравенства длины конечностей не выявлено. Пирогенных и аллергических реакций во время проведения клеточной терапии и в отдаленном периоде у пациентов не наблюдалось.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные результаты убедительно свидетельствуют о выраженном стимулирующем влиянии клеточной терапии на формирование и созревание дистракционных регенератов у детей при хирургической коррекции неравенства длины конечностей. Стимулирующий эффект проявлялся прежде всего в значительном сокращении сроков оксификации формирующихся дистракционных регенератов удлиняемой конечности по сравнению с таковыми в группе контроля, что позволило раньше демонтировать дистракционный аппарат и, следовательно, исключить возможные осложнения, связанные с длительной фиксацией. Более раннее освобождение оперированной конечности от внешних фиксирующих конструкций, в свою очередь, давало возможность более раннего начала полной осевой нагрузки и реабилитации. В результате функциональное восстановление конечности у пациентов, получавших клеточную терапию, опережало таковое у пациентов контрольной группы, что положительно сказывалось на качестве жизни и последующей социальной адаптации детей.

Целесообразность стимуляции дистракционных регенератов при выполнении хирургической коррекции неравенства длины конечностей врожденного характера показана в ряде работ [2, 4, 9]. Для ускорения остеорепаляции авторы использовали как ревааскуляризирующие остеоперфорации, так и пластику регенерата ауто- и аллокостью, в том числе эмбриональной. Сроки лечения при этом сокращались на 15–20% при коррекции неравенства длины от 3,5 до 6 см. Однако ряд факторов и медико-социальных аспектов ограничивают и затрудняют применение технологий, связанных с использованием аллогенных материалов. Выполнение аутопластики, в частности трансплантатом из крыла подвздошной кости, наносит ребенку дополнительную операционную травму. Пластика регенерата ауто- (алло-) костью требует осуществления повторного операционного доступа к области дистракции, что не улучшает трофику сегмента.

При использовании аутологических СККМ таких проблем и трудностей не возникает. Стимуляция остеорепаляции может проводиться в амбулаторном режиме после выписки пациентов из стационара посредством транскутаных инъекций. По-

добная форма введения не требует обезболивания, а невысокая плотность еще незрелого distractionного регенерата благоприятствует выполнению процедуры. Использование ориентиров на рентгенограммах в большинстве случаев позволяет проводить инъекции без рентгенотелевизионной техники.

СККМ были применены для стимуляции репаративного остеогенеза в ряде исследований [10]. Однако эти клетки помещались в область костных повреждений в иммобилизованном виде, т.е. на различных матрицах (скаффолдах). Как правило, сама матрица (например деминерализованный костный матрикс) могла быть достаточно эффективным стимулятором репаративного остеогенеза. В такой ситуации оценить (выделить) вклад матрицы и клеток в остеорепарацию (в качестве стимуляторов) практически невозможно. Кроме того, трансплантированные на матрице клетки оказывались в очаге воспаления со всеми его неблагоприятными для СККМ характеристиками (ацидоз, гипоксия, наличие многочисленных литических ферментов, выделяющихся при распаде лейкоцитов). Рассчитывать на то, что эти клетки, культивированные до их трансплантации в идеальных условиях, выживут, дифференцируются в остеогенные и начнут полноценно функционировать в очаге воспаления, чрезвычайно трудно.

В то же время, как было показано ранее в эксперименте, инъекции взвеси аутологичных СККМ в костные дефекты после завершения стадии послеоперационного воспаления стимулировали остеогенез, приводя к восстановлению поврежденной кости даже при критических дефектах, не восстанавливающихся самопроизвольно [6]. Такой подход лег в основу применения аутологичных СККМ для стимуляции distractionных регенератов при выполнении хирургической коррекции неравенства длины конечностей врожденного характера у детей. Учитывая, что в distractionных регенератах с 3–4-й недели практически отсутствуют указанные выше неблагоприятные факторы, связанные с послеоперационным воспалением, и имеет место собственный (возможно, недостаточно выраженный) остеогенез, имплантированные аутологичные СККМ в микроокружении деминерализованной волокнистой основы могли проявить свои потенциальные возможности, направленные на оптимизацию репаративного остеогенеза [3]. Реализация этих возможностей могла происходить в нескольких вариантах. Во-первых, аутологичные СККМ, будучи клетками-предшественниками соединительнотканых

дифферонов (в том числе остеобластического), могли дифференцироваться в остеогенные клетки, дополнив собой пул местных первичных остеобластов, участвующих в построении первичной (ретикuloфиброзной) костной ткани [1, 7]. Во-вторых, часть имплантированных СККМ могла погибнуть и далее выступать в роли фидера для оставшихся культивированных и резидентных остеогенных клеток, способствуя их более активной жизнедеятельности. К сожалению, пока нет достоверных данных о судьбе клеток, выводимых в регенераты. Тем не менее, результаты их применения, представленные в настоящей работе, позволяют сделать вывод о перспективности их дальнейшего использования для стимуляции репаративной костной регенерации — с учетом закономерностей ее течения и особенностей каждого конкретного случая.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Денисов-Николевский Ю.И., Миронов С.П., Омеляненко Н.П., Матвейчук И.В. Актуальные проблемы теоретической и клинической ортоаартологии. М., 2005.
2. Зеленецкий И.Е., Глебов А.Ю., Вольвач Ю.И. Лечение детей с ортопедической патологией методом чрескостного остеосинтеза //Травма. — 2008. — Т. 9, № 2. — С. 189–192.
3. Камлюцкий В.Г., Гринь В.К., Оксменц В.М. и др. Механизмы влияния мезенхимальных стволовых клеток на репаративный остеогенез //Травма. — 2009. — Т. 10, № 2. — С. 123–133.
4. Малахов О.А., Кожевников О.В. Неравенство длины нижних конечностей (клиническая картина, диагностика, лечение). М., 2008.
5. Меркулов В.Н., Дороскин А.И., Омеляненко Н.П. Нарушение консолидации костей при переломах у детей и подростков. Методы диагностики и лечения. — М., 2009.
6. Омеляненко Н.П., Малахов О.А., Сулик Г.Т. и др. Исследование влияния эмбриональной костной ткани на репаративную регенерацию кости //Бюл. эксперим. биол. — 2000. — X 10. — С. 469–474.
7. Омеляненко Н.П., Слуцкий Л.И. Сосудистая ткань (гистофизиология и биохимия). — М., 2009.
8. Остеосинтез: Руководство для врачей /Под ред. С.С. Ткаченко. — Л., 1987.
9. Петров М.А. Прогнозирование и лечение нарушений репаративного остеогенеза у детей: Дис. ... канд. мед. наук. — М., 2007.
10. Щепкина Е.А., Круляков П.В., Солович Л.Н. и др. Трансплантация аутогенных мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток на деминерализованном костном матриксе при лечении ложных суставов длинных трубчатых костей //Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. — 2007. — Т. 2, № 3. — С. 67–74.

**Сведения об авторах:** Миронов С.П. — акад. РАН и РАМН, доктор мед. наук, директор ЦИТО, Омеляненко Н.П. — профессор, доктор мед. наук, руководитель лаборатории соединительной ткани с группой клинической генетики; Кожевников О.В. — доктор мед. наук, зав. 10-м травматолого-ортопедическим легким отделением; Ильина В.К. — канд. мед. наук, ведущий науч. сотр. лаборатории соединительной ткани с группой клинической генетики; Иванова А.В. — канд. мед. наук, ведущий науч. сотр. 10-го травматолого-ортопедического детского отделения; Карпов И.Н. — канд. мед. наук, старший науч. сотр. отделения лучевой диагностики; Лазарева В.А. — аспирант ЦИТО.  
Для контактов: Омеляненко Николай Петрович. 127299, Москва, ул. Приорова, дом 10, ЦИТО. Тел.: (495) 450-42-31; (8) 916-174-73-02. E-mail: omel156@yandex.ru