

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Новосибирский научно-исследовательский институт
травматологии и ортопедии им. Я. Л. Цивьяна»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

На правах рукописи



ПРЕДЕИН

ЮРИЙ АЛЕКСЕЕВИЧ

**ПЛАСТИКА ТРАВМАТИЧЕСКИХ ДЕФЕКТОВ
ВЕНТРАЛЬНЫХ ОТДЕЛОВ ПОЗВОНОЧНИКА
ОСТЕОТРАНСПЛАНТАТОМ:
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ**

14.01.15 – травматология и ортопедия

Диссертация
на соискание учёной степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук, профессор
В.В. Рерих

Новосибирск

2019

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	5
Глава 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	10
Глава 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	33
2.1 Материалы исследовательской работы.....	33
2.2 Модель эксперимента	35
2.3 Описание анестезиологического пособия	38
2.4 Методика оперативного вмешательства.....	40
2.4.1 Методика оперативного вмешательства для групп 1 и 2	40
2.4.2 Методика оперативного вмешательства для группы 3	43
2.4.3 Методика оперативного вмешательства для групп 4 и 5	45
2.5 Забор и хранение материалов	48
2.6 Методы исследования.....	48
2.6.1 Схема определения зон для исследования	49
2.6.2 Подготовка и рентгенологическое исследование препаратов	51
2.6.3 Подготовка материалов к морфологическому исследованию	54
2.6.4 Подготовка материалов к измерению микротвердости костной ткани по Виккерсу.....	54
2.6.5 Растровая электронная микроскопия со спектрометрическим анализом.....	56
2.7 Получение остеотрансплантата и его характеристика.....	57
2.8 Статистическая обработка данных.....	59
Глава 3 РЕЗУЛЬТАТЫ ВНУТРИГРУППОВЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	60
3.1 Результаты эксперимента в группе 1	60
3.1.1 Результаты МСКТ-контроля.....	60
3.1.2 Исследование рентгеноплотности костной ткани	63
3.1.3 Исследование морфологии костной ткани.....	65
3.1.4 Исследование микротвердости.....	68
3.1.5 Данные спектрометрии.....	69
3.2 Результаты эксперимента для группы 2	70

3.2.1	Результаты МСКТ-контроля.....	70
3.2.2	Исследование рентгеноплотности костной ткани.....	73
3.2.3	Исследование морфологии костной ткани.....	76
3.2.4	Исследование микротвердости.....	79
3.2.5	Данные спектрометрии.....	80
3.3	Результаты эксперимента для группы 3.....	81
3.3.1	Результаты МСКТ-контроля.....	81
3.3.2	Исследование рентгеноплотности костной ткани.....	84
3.3.3	Исследование морфологии костной ткани.....	87
3.3.4	Исследование микротвердости.....	90
3.3.5	Данные спектрометрии.....	91
3.4	Результаты эксперимента в группе 4.....	92
3.4.1	Результаты МСКТ-контроля.....	92
3.4.2	Исследование рентгеноплотности костной ткани.....	93
3.4.3	Исследование морфологии костной ткани.....	94
3.4.4	Исследование микротвердости.....	95
3.4.5	Данные спектрометрии.....	95
3.5	Результаты эксперимента в группе 5.....	96
3.5.1	Результаты МСКТ-контроля.....	96
3.5.2	Исследование рентгеноплотности костной ткани.....	97
3.5.3	Исследование морфологии костной ткани.....	99
3.5.4	Исследование микротвердости.....	99
3.5.5	Данные спектрометрии.....	100
Глава 4	МЕЖГРУППОВОЙ СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ РЕЗУЛЬТАТОВ ЭКСПЕРИМЕНТА.....	102
4.1	Сравнительный анализ и оценка результатов исследования в группах 1 и 2.....	102
4.2	Сравнительный анализ и оценка результатов исследования в группах 4 и 5.....	109

4.3 Сравнительный анализ результатов исследований тела позвонка в группах с применением остеотрансплантата и костного аутоотрансплантата.....	113
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	116
ВЫВОДЫ.....	122
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	123
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	124

ВВЕДЕНИЕ

В условиях технического прогресса и темпа жизни количество травматических повреждений костей неуклонно растет. В арсенале травматологов-ортопедов имеется большое количество различных конструкций, позволяющих купировать патологический процесс, но ценой обширных вмешательств. Замещение дефектов костной ткани, полученных в результате механических травм, врожденных аномалий или хирургических вмешательств, продолжает оставаться актуальной медицинской и социальной проблемой [51, 53, 58, 59, 62, 108, 178, 181, 219, 227, 248, 260, 262, 266, 269].

Костная ткань обладает достаточно высокой регенеративной способностью, но в случаях тяжелых травматических повреждений, особенно в участках, несущих нагрузку, это оказывается недостаточным для ее восстановления [10, 16, 92, 120, 190]. Так, дефекты костной ткани, возникающие при переломе тела позвонка, требуют реконструктивного хирургического вмешательства и имплантации различных материалов с целью восстановления формы тела позвонка и создания благоприятных условий для его консолидации [73, 112, 224].

Остеозамещающие материалы можно отнести к следующим группам: аутотрансплантат, аллотрансплантат, ксенотрансплантат, синтетические материалы, тканеинженерные конструкции и комбинация вышеуказанных материалов [4, 22, 25, 50]. С развитием тканеинженерных конструкций использование костных ауто-, алло- и ксенотрансплантатов, а также синтетических материалов постепенно отходит на второй план [4, 22, 25, 35, 50, 61, 103, 133]. Тканеинженерные конструкции в настоящее время являются одним из перспективных направлений реконструкции, репаративной регенерации тканей и органов. Задачей тканевой и клеточной инженерии является разработка методов создания тканевых конструкций, отвечающих ряду требований. Такие материалы должны полностью восполнять объем утраченной костной ткани, обладать высокой регенераторной способностью

за счет наличия остеогенных клеток, способных к пролиферации и формированию костной ткани. Кроме способности к пролиферации и дифференцировке, тканеинженерная конструкция должна обладать остеоиндуктивностью и иммунотолерантностью [3, 4, 22, 35, 50, 133].

Значительным недостатком тканеинженерных конструкций является проблема равномерного заселения, миграции и размещения клеток в объеме матрицы и отсутствие биодеградации вещества матрицы, так как от равномерного распределения клеток в объеме матрицы зависит их способность к адгезии, пролиферации, последующей дифференцировке и синтетической активности [3, 25, 35, 133].

Основным требованиям к пластическому материалу, указанным выше, отвечает остеотрансплантат – биологический пластический материал, полученный профессором А.М. Зайдман [20, 33]. Данный трансплантат изготовлен на основе клеток с направленной остеогенной дифференцировкой. Причем дифференцировка пластического материала в данном случае является эволюционно закрепленным механизмом формирования кости (мезенхима – хрящ – кость) как при регенерации, так и в эмбриогенезе. Основными структурными компонентами остеотрансплантата являются остеогенные клетки и предкостный матрикс, содержащий гидроксиапатит и коллаген I типа. Отличительной особенностью является наличие капилляров, выстланных эндотелеоцитами. Благодаря данным особенностям, остеотрансплантат быстро адаптируется в зоне пересадки и обладает потенциями к формированию дефинитивной костной ткани. Огромным преимуществом остеотрансплантата является отсутствие иммунной реакции при его применении.

Таким образом, проблема замещения травматических дефектов вентральных отделов позвоночника далека от разрешения, что обуславливает актуальность темы исследования. Анализ литературы позволяет сделать заключение, что ранее не применяли остеотрансплантат в экспериментальной модели на животном.

Цель исследования: совершенствование метода пластики ventральных отделов позвоночника с использованием остеотрансплантата.

Задачи исследования

1. Разработать *in vivo* экспериментальную модель применения остеотрансплантата при травматическом повреждении ventральных отделов позвоночника.

2. Изучить формирование костной ткани при пластическом замещении остеотрансплантатом в разработанных моделях – дефекте, переломе краниоventрального угла тела позвонка, травматическом повреждении межпозвонкового диска.

3. Изучить и сравнить качественные и прочностные характеристики костной ткани, образованной при пластическом замещении остеотрансплантатом и костным аутоотрансплантатом в разработанных моделях – дефекте костной ткани, переломе краниоventрального угла, травматическом повреждении межпозвонкового диска.

4. Сравнить формирование костной ткани при пластическом замещении остеотрансплантатом и костным аутоотрансплантатом в разных экспериментальных моделях.

Научная новизна исследования

1. Впервые разработана модель применения остеотрансплантата при травматическом повреждении ventральных отделов позвоночника в эксперименте на лабораторном животном.

2. Впервые изучен процесс формирования костной ткани при пластическом замещении остеотрансплантатом в разработанных моделях – дефекте, переломе краниоventрального угла тела позвонка, травматическом повреждении межпозвонкового диска.

3. Впервые изучен и проведен сравнительный анализ качественных и прочностных характеристик костной ткани, образованной при пластическом замещении остеотрансплантатом и костным аутоотрансплантатом в разработанных моделях его применения – дефекте костной ткани, переломе

краниоventрального угла, травматическом повреждении межпозвонкового диска.

4. Впервые проведен сравнительный анализ формирования костной ткани при пластическом замещении остеотрансплантатом и костным аутоотрансплантатом в разных экспериментальных моделях.

Практическая значимость работы

Разработана модель применения остеотрансплантата при пластическом замещении дефекта костной ткани, перелома краниоventрального угла, травматическом повреждении межпозвонкового диска.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Замещение травматического дефекта костной ткани на основе остеотрансплантата происходит по типу первичного ангиогенного остеогенеза независимо от типа повреждения тела позвонка.

2. Костная ткань на основе остеотрансплантата формируется в более ранние сроки, при этом превосходит по своим качественным и прочностным показателям образованную на основе костного аутоотрансплантата.

Апробация диссертации

Основные материалы и положения работы предложены и обсуждены на 8 российских конференциях, съездах, заседаниях научных обществ (2015–2018 гг.): VIII, IX, и X Всероссийских научно-практических конференциях молодых ученых с международным участием «Цивьяновские чтения» (Новосибирск, 2015, 2016 и 2017); заседаниях общества травматологов-ортопедов Новосибирской области (Новосибирск, 2016 и 2018); съезде травматологов Сибирского федерального округа «Научные достижения и современные технологии в Российской травматологии и ортопедии» (Омск, 2017); конференции молодых ученых Северо-Западного федерального округа «Актуальные вопросы травматологии и ортопедии» (Санкт-Петербург, 2017); VII Всероссийский симпозиум с международным участием «Актуальные вопросы тканевой и клеточной трансплантологии» (Астрахань, 2017).

Структура и объем диссертации

Диссертационная работа состоит из введения, четырех глав (обзора литературы, материала и методов исследования, результатов исследований, заключения), выводов, списка литературы, в котором приведены 272 источника, из них 45 отечественных и 227 зарубежных.

Диссертация изложена на 156 страницах машинописного текста, из них 32 страницы составляет список литературы, иллюстрирована 56 рисунками и 24 таблицами.

Личный вклад автора

Автором разработана модель использования остеотрансплантата, проведены эксперименты. Осуществлен забор и подготовка макро- и микропрепаратов с проведением исследований. Проанализирована литература по теме диссертации, проведена статистическая обработка данных. С участием автора разработан способ вентрального межтелового спондилодеза, получен патент на изобретение (Пат. 2651107, РФ, МПК А61В 17/56, А61F2/44, № 2017109284; заявл. 20.03.17; опубл. 18.04.2018, Бюл. № 11. – 8 с.).

Глава 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Для замещения дефектов костных тканей во всем мире в течение многих лет используются различные материалы для трансплантации [3, 4, 22, 25, 35, 36, 50, 61, 79]. Идеальный материал для пластического замещения костной ткани должен обладать следующими свойствами: остеокондуктивностью, остеоиндуктивностью, биосовместимостью, ревааскуляризироваться, резорбироваться без образования токсичных продуктов, ремоделироваться в органоспецифичную костную ткань [3, 22, 76, 184]. Характер остеогенеза, связь с окружающими его тканями и стабильность зависят от физико-химических свойств материала, его структуры и гистологического происхождения [20, 147].

По своему происхождению имеющиеся на данный момент материалы можно разделить на пять групп: аллогенные, аутогенные, ксеногенные, аллопластические (синтетические либо полученные из природных материалов), тканеинженерные конструкции. Помимо этого, остеопластические материалы подразделяются на инертные, остеоиндуктивные, остеокондуктивные, материалы для обеспечения направленной тканевой регенерации [22, 23, 40, 147].

Во все времена считалось, что золотым стандартом для остеопластики являются костные ауто трансплантаты, забор которых осуществляется из собственных тканей пациента, в связи с чем полностью исключаются основные иммунологические и большинство инфекционных осложнений при трансплантации [4, 5, 7, 22, 25, 35, 50, 59, 108]. Костные ауто трансплантаты обладают не только остеокондуктивными свойствами, но и обладают способностью индуцировать рост костной ткани в месте имплантации, в связи с наличием в них остеогенных клеток [25, 35, 40]. Однако костные ауто трансплантаты должны быть взяты непосредственно перед этапом замещения костного дефекта, что увеличивает время основного этапа операции. Кроме того, возможный объем костного ауто трансплантата весьма

ограничен и при его заборе, донор зачастую подвергается серьезным оперативным вмешательствам [4, 25, 50, 108].

По источникам литературы, в процессе перестройки костного аутотрансплантата выделяют три фазы: I – ползущее замещение, II – остеогенная регенерация, III – функциональная адаптация. В фазе I в трансплантате определяются деминерализованные очаги. Окружающая их кость сохраняет более высокую минеральную насыщенность. В фазе II на поверхности некротизирующихся и резорбирующихся костных структур путем оппозиционного остеогенеза формируется пластинчатая кость. Некоторое время она остается слабо минерализованной. При этом наблюдается постепенное замещение старых костных структур новыми. Образующаяся первичная кость имеет минерализацию на 10-13 % большую, чем в норме. В фазе III усиленная минерализация зон трансплантата определяется направлением действующей на него нагрузки [13]. Процесс замещения костного дефекта при использовании костного аутотрансплантата происходит по типу ползущего регенерата с резорбцией трансплантата и образованием на его месте регенерата. Постепенная интеграция клеток костной ткани в ткань трансплантата обусловлена регенераторным потенциалом клеток-предшественников, что влияет на скорость перестройки трансплантата и на то, произойдет ли она в целом, а также на минерализацию регенерата при перестройке, которая может носить постепенный или скачкообразный характер. Перестройка трансплантата сопровождается изменением его минерализации. Количество костного минерала в трансплантате сначала падает, а затем постепенно восстанавливается. Аналогичные процессы протекают и в воспринимающем трансплантат ложе [2].

Динамика минерализации и исследование прочностных параметров трансплантата при перестройке после костнопластических вмешательств освещены в небольшом числе работ. Информация о динамике прочностных

характеристик и минерализации искусственного вентрального блока позвонков в процессе его формирования практически отсутствует.

При изучении проблемы костной аутопластики нельзя пропустить большое количество осложнений, связанных с местом взятия костного аутотрансплантата. Самые распространенные среди выявленных осложнений – это хронические боли и расстройство чувствительности в области взятия трансплантата, что связано с повреждением подвздошно-пахового и кожного бедренного нервов. Среди возможных видов осложнений упоминаются также перелом кости (донорского места), развитие гематомы и ее инфицирование [5, 6, 52, 63, 77, 164, 213, 239]. Для замещения костного дефекта крыла подвздошной кости и уменьшения косметических последствий описываются такие способы, как пластика гребня крыла подвздошной кости протезом из пористой керамики, цементом с использованием спиц Киршнера, аллоимплантатом [72, 87, 154, 192, 267]. В некоторых случаях описаны казуистические виды осложнений при костной аутопластике: перенос опухолевой ткани вместе с трансплантатом в область пластики [128].

Помимо описанных проблем с местом взятия костного аутотрансплантата, существует проблема его физических характеристик, а именно его прочность. В ходе процесса перестройки костные аутотрансплантаты теряют свою прочность, что может впоследствии приводить к потере полученной коррекции деформации позвоночника [20, 22, 25]. Ретроспективный анализ результатов использования костных аутотрансплантатов из гребня крыла подвздошной кости для замещения костных дефектов при операциях на позвоночнике показывает, что 2,8 – 4,7 % осложнений получены в результате их отторжения с ложем, миграции из ложа позвоночника, лизиса, перелома и перестройки, костных аутотрансплантатов, которые потребовали проведения ревизионных операций [66, 67, 113, 153, 239, 257].

В попытках минимизировать осложнения, получаемые при костной пластике аутотрансплантатом, ученые пришли к использованию аллогенной

донорской кости, часто называемой гомотрансплантатом, от другого пациента или трупа [66, 67, 113, 239, 257]. Преимуществами аллопластических материалов являются возможность заблаговременной заготовки необходимого количества материала, разнообразие форм материала, снижение времени операции и практически неограниченное количество материала. Костный аллотрансплантат, как и аутоотрансплантат, сохраняет способность к перестройке в органоспецифическую костную ткань, хоть это и занимает более длительный период времени [22, 50, 113, 147, 239, 257].

Недостатками костных аллотрансплантатов являются медленная остеоинтеграция, высокая цена материала, риск передачи заболеваний от донора реципиенту. Сохранение в аллоимплантатах белковых компонентов донора может привести к аллергической и иммунной реакции у реципиента [22, 35, 50, 111]. Данные факторы значительно ограничивают применение аллокости в качестве имплантатов для пластики дефектов тел позвонков.

В попытках избавиться от осложнений при использовании алло- и ксенотрансплантатов их начали подвергать различным видам обработки, что непосредственно влияет на их механическую прочность и остеоиндуктивные свойства. При этом риск возникновения осложнений при использовании таких трансплантатов полностью не устраняется [3, 25, 40, 50, 51, 58, 61, 62, 67, 108, 113, 122, 147, 181, 184, 254, 260].

На сегодняшний день широкое распространение получили формализированная кость, неорганическая кость, лиофилизированная кость (FDBA), деминерализованная лиофилизированная кость (DFDBA) и замороженная кость трупного происхождения [1, 5, 7, 9, 19, 22, 26, 39, 152, 170, 177, 244].

При лиофильной сушке из обрабатываемой кости уничтожаются все клетки, удаляется около 95 % воды, но остается неизменной химическая структура кости и морфологическая природа. При пластическом замещении дефекта кости FDBA положительный результат операции составляет 60 %

[48, 127]. FDBA, созданная из трупного материала, обладает весьма низким остеогенным потенциалом [116]. Принято считать, что данные трансплантаты являются каркасом для образования новой кости, то есть имеют только свойство остеокондукции.

Положительные отзывы о результатах использования DFDBA объясняются наличием остеоиндуктивного потенциала у данного материала за счет сохранения в нем костных морфогенетических протеинов (BMPs) [11]. Однако DFDBA имеет ряд недостатков, а именно наличие донорской белковой ткани, являющейся для реципиента аллергеном, и низкая механическая прочность. Последний фактор не позволяет использовать данный пластический материал в виде фиксирующих имплантатов – только в виде остеогенной добавки [19, 22, 152, 170, 177]. Подготовка алло- и ксенотрансплантатов делает необходимым выполнение специальных процедур по взятию тканей и очень строгого отбора животных для безопасности пациентов, а также химической и физической обработки полученных материалов, что влияет на стоимость конечного продукта [1, 170]. Все это существенно ограничивает применение ауто-, алло- и ксенотрансплантатов.

Благодаря научному прогрессу были открыты биологические вещества, которые имеют высокий потенциал к стимуляции остеогенных клеток: инсулиноподобные факторы роста (Insulin-like growth factors – IGFs), трансформирующий фактор роста (Transforming growth factor – TGF- β), тромбоцитарный фактор роста (Platelet-derived growth factor – PDGF), костные морфогенетические белки (bone morphogenetic proteins – BMPs), фибробластический фактор роста (Fibroblast growth factor – FGF) [35, 40, 168, 191, 194, 215, 228].

Применение обогащенной тромбоцитами аутоплазмы (PRP – Platelet-Rich Plasma) стало одним из направлений в реконструктивно-восстановительной хирургии [42, 46, 55, 70, 95, 129, 130, 137, 138, 139, 146, 151, 162, 163, 167, 168, 169, 185, 196, 206, 220, 228]. В α -гранулах

тромбоцитов выявлено свыше 30 ростовых факторов, из которых наиболее значимы для регенерации кости PDGF, VEGF и TGF- β . Последний представляет собой большую группу белков, из них TGF- β 1 и морфогенетические белки кости модулируют клеточную пролиферацию и дифференцировку малодифференцированных клеток в остеобласты, увеличивают синтез внеклеточного матрикса кости и ингибируют его деградацию [54, 106, 182, 210, 231, 240, 247, 265].

На данный момент наиболее изученным из данных биологических веществ являются костные морфогенетические белки. Впервые при изучении деминерализованного костного матрикса было открыто качество, названное остеоиндукцией [24, 142]. BMPs являются трансмембранными димерными белками, которые были открыты Marshall R. Urist в 1965 г. [201] По современным научным данным, BMPs – это многофункциональные ростовые факторы, которые относятся к суперсемейству В-трансформирующего фактора роста. В настоящее время открыто 20 разновидностей BMPs, но только у BMP-2, -4, -6, -7 выявили значительные остеоиндуктивные свойства [12, 14, 24, 142].

Место расположения BMPs – внеклеточный соединительнотканый матрикс, содержащий остеопрогениторные и мезенхимные клетки. BMPs синтезируются остеобластами, хондроцитами и их предшественниками. BMPs воздействуют на рецепторы, располагающиеся на клеточной мембране, и оказывают большое воздействие на регулирование роста, дифференцировку и апоптоз различных типов клеток, включая остеобласты, эпителиальные и нервные клетки, хондробласты [24, 35, 142]. BMPs стимулируют увеличение числа клеток, ускоряют дифференцировку мезенхимальных стволовых клеток в остеобласты и хондробласты, увеличивают синтез остеокальцина, ускоряют синтез коллагена, повышают активность щелочной фосфатазы, стимулируют синтез внеклеточного матрикса и его последующую минерализацию [12, 35, 40, 142, 173]. Все виды клеток, которые участвуют в процессе синтеза костной ткани, являются клетками-мишенями для BMPs:

фибробласты, остеобласты, миобласты, нервные клетки, плюрипотентные мезенхимные стволовые клетки, маркеры костного метаболизма – остеопонин, остеокальцин, щелочная фосфатаза, остеоонектин [24, 40, 173, 210]. Остеогенез который осуществляется при помощи BMPs – это последовательная цепь событий со следующими главными стадиями: хемотаксис, быстрое деление мезенхимных остеопрогениторных клеток, дифференцировка мезенхимных стволовых клеток в хондробласты и формирование хряща, ангиогенез и синтез внеклеточного матрикса, замена хряща на костную ткань [142, 173]. Принимая участие в процессах хондрогенеза и остеогенеза, BMPs оказывают стимулирующее воздействие на образование костной ткани, делая это в последовательности схожей с эмбриональным морфогенезом [24, 40, 142, 173, 261].

Методами получения BMPs являются два технологических процесса – его биохимическая экстракция из деминерализованного костного матрикса, который являлся основным в 90-е годы прошлого столетия, и генно-инженерный синтез (rhBMPs), который активно используется в наше время [13, 21, 24, 261].

В качестве носителей для BMPs на сегодняшний день используются различные материалы, такие как деминерализованный костный матрикс, коллагеновые губки, хитозан, желатин, гидроксиапатит. Главной задачей носителей является не только доставка BMPs в место их биологического действия, но и сохранение этих остеоиндукторов в зоне воздействия в течение длительного периода времени, необходимого для формирования новой кости, а также пролонгированная диффузия BMPs в организме реципиента [12, 13, 24, 142, 210].

Лечебные свойства BMPs представляют большой интерес в клинической практике при консолидации переломов костей, профилактики остеопороза, лечении костных дефектов челюстей и аллокастной пластике костных дефектов [13, 14, 24, 98, 173, 208, 261]. Выявлены и отрицательные эффекты их применения [134, 233].

При планировании лечения необходимо учитывать такой фактор, как возраст реципиента, поскольку биологический потенциал многих факторов роста снижен. Остеоиндуктивная способность BMPs снижается как минимум в 2 раза у пожилых пациентов, а следовательно требует более высоких доз, чтобы вызвать ощутимый эффект образования костной ткани [126, 148].

Hustedt и коллеги [131, 132] в ретроспективном исследовании 23 пациентов с одномоментным вентральным вмешательством на трех уровнях обнаружили, что имплантация РЕЕК-кейджа с размещенным на нем rhBMPs-2 в количестве 1,05 мг/уровень приводит к положительному исходу оперативного лечения и отсутствию болевого синдрома в отдаленном послеоперационном периоде. Однако при этом выявлено эктопическое формирование кости у трех пациентов

RhBMPs-2, доставленный в костный дефект на рассасывающейся коллагеновой губке, а также с коллагеновым гелем, был использован для аугментации кисты верхней челюсти человека, при этом получены положительные результаты [85, 124, 160].

При использовании rhBMP-2 на коллагеновой губке ACS «Infuse» отмечена большая частота достижения костного сращения тел позвонков по сравнению с таковой при применении аутологичного трансплантата из гребня подвздошной кости. Сообщается о получении костного сращения в 94,5 % случаев из 143 больных, в 93,8 % из 67, в 99 % из 21, в 100 % у 49 пациентов. При этом отсутствовали осложнения, характерные для хирургического забора аутологичной кости, однако было замечено эктопическое формирование костной ткани, распространяющееся в мягкие ткани области операции [60, 86, 114, 235, 249].

BMPs показали многообещающие результаты при использовании на шейном и поясничном отделах позвоночника в эксперименте на животных моделях [13, 14, 24, 98, 173, 208, 261]. Не так давно исследователи сосредоточились на клинических испытаниях по применению BMPs с

имплантатами из сплава металлов при операциях на шейном отделе позвоночника [14, 91, 221, 259].

Baskin и коллеги [57] провели первое контролируемое проспективное рандомизированное исследование при вентральном межтеловом спондилодезе на шейном отделе позвоночника, сравнив действие rhBMP-2 с костным аутоотрансплантатом из гребня подвздошной кости. Все 33 пациента обеих групп обследованы в 24 мес., при этом выявлено, что группа с имплантацией rhBMP-2 имела более выраженный болевой синдром в шее ($P < 0,03$) и руках ($P < 0,03$), чем группа с использованием костного аутоотрансплантата, которая не имела никаких осложнений, относящихся к области спондилодеза, и при этом избежала статистически значимой боли ($P < 0,007$) в области взятия трансплантата [35, 57, 65, 91, 96, 134, 179, 217].

Невзирая на впечатляющие результаты реконструктивной хирургии в отношении создания имплантатов для замещения костной ткани, большинство материалов не совершенны. Тканевая инженерия становится одним из самых многообещающих методов для реконструкции дефектов твердых тканей, предлагая новые подходы в лечении. При помощи тканевой инженерии могут быть выращены ткани и органы для использования в клинической практике, для их создания используются собственные клетки пациента или иммунотолерантный «универсальный» источник клеток. Помимо этого, полученные при помощи тканевой инженерии клетки [17] могут быть использованы в организме пациента для стимуляции регенерации поврежденной ткани.

Использование мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток на носителях (скаффолдах) относят к тканевой инженерии и регенеративной медицине. Благодаря мультипотентным мезенхимальным стволовым клеткам, можно эффективно стимулировать процессы остеогенеза и восстановления тканей организма в целом [78, 97, 102, 141, 149].

В настоящее время проводятся экспериментальные работы по изучению способности к остеогенезу мультипотентных мезенхимальных

стволовых клеток, полученных из клеток периферической крови, надкостницы, различных синовиальных структур, субхондральной кости, костей свода черепа, связок и сухожилий, нервной ткани, слизистой оболочки полости рта, проводится оценка эмбриональных стволовых клеток, в том числе – амниотических, а также стволовых клеток зубных зачатков [109, 212].

В некоторых статьях отмечено, что мультипотентные мезенхимальные стволовые клетки из костного мозга и надкостницы по их остеогенной активности опережают клетки жировой ткани [121, 180], а также клетки периферической крови, так как костномозговые клетки содержат больше клеточных элементов CD105+, CD34+ и CD14+ [218].

Мультипотентные мезенхимальные стволовые клетки костного мозга человека были открыты А.Я. Фриденштейном [17, 41]. Позже их стали рассматривать как основной клеточный материал для регенерации костной ткани и природного источника для тканевой инженерии костной ткани [109, 161, 234, 264]. Мультипотентные мезенхимальные стволовые клетки показывают высокий пролиферативный потенциал, сохраняют нормальный кариотип и теломеразную активность при культивировании до 12-го пассажа [155, 209]. Под воздействием специфических индукторов мультипотентные мезенхимальные стволовые клетки могут дифференцироваться в клетки мезенхимных тканей. Дифференцировка мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток под воздействием TGF- β осуществляется в хондрогенном направлении [145, 175, 202]. При обогащении питательной среды для мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток аскорбиновой кислотой, дексаметазоном, β -глицерофосфатом они осуществляют дифференцировку в остеогенном направлении [18, 81, 156, 158]. Благоприятный исход лечения переломов с использованием мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток был получен во множестве экспериментов *in vivo* на моделях животных, включая коз, собак, грызунов, овец, после чего мультипотентные мезенхимальные стволовые

клетки были допущены к клиническим испытаниям, в которых положительно себя зарекомендовали [109, 222, 238]. В проведенных исследованиях было выявлено значительное действие мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток на замещение костных дефектов как источника клеточного пула, остеобластов, остеоцитов [81, 109]. Мультипотентные мезенхимальные стволовые клетки показали положительный эффект при использовании на животной модели острого инфаркта миокарда [116, 207], а также ишемического инсульта [223, 244], восстановлении мениска хряща [177, 186], и эффект был получен при восстановлении спинного мозга после его повреждения [69, 82, 256].

Zhou с коллегами [270] провел исследования на кроликах по восстановлению локтевого сустава с использованием мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток костного мозга. В серии с использованием мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток отмечен выраженный остеогенез и быстрая регенерация костной ткани по сравнению с серией без их использования [144, 270].

Мультипотентные мезенхимальные стволовые клетки из костного мозга показали прекрасные результаты, однако они имеют свои недостатки, такие как возможность генетических нарушений под воздействием УФ-излучения, нарушение репликации ДНК, значительная гетерогенность состава клеточной культуры, токсическое воздействие. Важно отметить, что сама процедура по забору материала, то есть пункция костного мозга, весьма болезненна для донора и зачастую может быть связана с инфекционными осложнениями. По сравнению с мультипотентными мезенхимальными стволовыми клетками костного мозга получение стромальных клеток жировой ткани является более простым, за счет этого имеется возможность их получения в большем количестве для дальнейшей дифференцировки в остеогенном направлении. В литературе встречаются данные, что мультипотентные мезенхимальные стволовые клетки, полученные из жировой ткани, имеют схожий цитофенотипический профиль с

мультипотентными мезенхимальными стволовыми клетками костного мозга, обладают сравнимым потенциалом в отношении формирования костной ткани [68, 83, 93, 118, 123, 136, 157, 159, 165, 200, 209, 223, 245, 253].

Cowan [80] исследовал регенеративную способность стромальных клеток жировой ткани и мультипотентные мезенхимальные стволовые клетки костного мозга в эксперименте *in vivo* на мышах при дефекте кости у мыши, который замещался матриксом из полимолочной кислоты в сочетании с гидроксиапатитом, заселенным клеточной культурой. В эксперименте было выявлено, что дефект в обеих группах полностью замещался костной тканью спустя 12 недель после операции [56, 84,80].

В настоящее время проводятся исследования, посвященные изучению остеогенной функции при трансплантации мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток, полученных из плаценты, пуповинной крови, пупочного канатика, амниотической жидкости, Вартонова студня, плодных оболочек [123, 136, 223, 253]. Несомненным плюсом использования данных источников является простой способ забора ткани, который не требует проведения инвазивных процедур, и значительное количество получаемого материала. Не менее важным качеством мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток, полученных из неонатальных тканей, является то, что они имеют большую способность к дифференциации, пролиферативный потенциал и продолжительность жизни [123, 135, 223, 253].

Stockmann с коллегами [226] в эксперименте оценивал остеогенный потенциал мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток из жировой ткани, костного мозга и надкостницы свиньи *in vitro*, дифференцированных в остеобластические клетки, которые были заселены на скаффолды из коллагена, после чего ими замещался костный дефект черепа. Через 90 дней с момента имплантации, независимо от источника мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток, выявлена сформированная костная ткань, которая была схожа по своей структуре и свойствам [159, 204, 226].

Значимость мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток в замещении дефектов костной ткани доказана множеством удачных экспериментов, однако не прекращаются споры о выборе донорской ткани для получения мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток, которые будут способны к остеогенной дифференцировке. Помимо этого, в статьях ведутся споры, какие клетки лучше применять для трансплантации: аутогенные или аллогенные. В литературе имеются данные, что, руководствуясь гистосовместимостью, лучше применять клетки аутогенного происхождения [101, 119]. При этом исследования, проводимые в отношении иммунного статуса мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток, показывают, что они не иммуногенны [155, 241]. Wei с соавт. [258] в своих исследованиях выявили, что мультипотентные мезенхимальные стволовые клетки жировой ткани и костного мозга не выделяют антигенов для развития иммунной реакции организма [262].

Возраст донора не оказывает отрицательного влияния на свойства и характеристику мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток в экспериментах *in vivo*, однако отмечается, что повышение возраста донора приводит к снижению числа мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток в организме [75]. Также выявлено, что оксидативный стресс и повреждение генома активируют механизм супрессии факторов роста, что приводит к снижению активности мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток [90]. Локализация забора мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток может привести к различию в морфологии, с учетом этого нужно предварительно проводить тестирование на дифференцировку в нужном направлении [71, 226].

Мультипотентные мезенхимальные стволовые клетки обладают несомненными преимуществами по сравнению с другими пластическими материалами, однако введение клеток в виде суспензии в область пластического замещения дефекта малоэффективно, в связи с чем возникает проблема поиска идеального скаффолда для мультипотентных

мезенхимальных стволовых клеток трансплантируемых в область реципиентного ложа. Трансплантация мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток на скаффолде в область пластического замещения дефекта является важным этапом операции, от которого напрямую зависит исход лечения, а также насколько полно клетки попадут в реципиентное ложе, сохранят ли способность к остеогенезу, приживутся ли на носителе и насколько хорошо будут обеспечены питательной средой. По данным литературы, для качественного остеосинтеза на границе имплантата и реципиентного ложа необходимо обеспечить большую концентрацию мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток [24, 49, 272]. Учитывая данные факторы, напрямую зависящие от скаффолда, его выбор для заселения культурой клеток является важным этапом при создании тканеинженерной конструкции.

При изучении литературы были обнаружены данные о том, что имплантация больших по протяженности тканеинженерных конструкций может приводить к нарушению трофики пересаженных клеток – это критический этап всей технологии. Поскольку в область костной раны вносятся жизнеспособные клетки, то без должного кровоснабжения можно ожидать гибель клеток. Имплантаты больших размеров в условиях *in vivo* испытывают дефицит кровоснабжения, в результате чего клетки, находящиеся на периферии имплантата и более плотно контактирующие с ложем, получают большее количество кислорода и питательных веществ, чем клетки, находящиеся в центральной части, как результат этого можно ожидать гибель клеток в центральной части [4, 35, 50, 108, 272].

Folkman с коллегами [100] доказал, что клетки, отдалённые от гемомикроциркуляторного русла более чем на 200–500 мкм, гибнут в ходе эксперимента, а костный матрикс замещается волокнистой соединительной тканью [47, 100].

В последнее время всё большее внимание уделяется модели артериовенозной петли, состоящей из артериального и венозного сосудов,

искусственно анастомозированных аутовеной с помощью микрохирургической техники. Артериовенозная петля, помещённая в центральную часть трансплантата, является источником осевой васкуляризации, в результате чего изнутри образуется новая капиллярная сеть – внутренняя васкуляризация, что в сочетании с ангиогенезом с периферии – внешняя васкуляризация обеспечивает адекватное кровоснабжение и, таким образом, открывает значительные перспективы в решении проблемы повышения выживаемости клеток, входящих в состав графтов [110, 174].

При замещении незначительных по размеру дефектов данная технология обещает быть успешной, однако пластику крупных костных дефектов будет необходимо выполнять только в специализированных высокотехнологичных стационарах, способных реализовать микрохирургическую технику и комплексный биотехнологический подход, чтобы избежать гибели центральной колонии клеток.

Как уже говорилось выше, одной из главных задач для успешного замещения костного дефекта и осуществления жизнедеятельности мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток является разработка и выбор оптимального трехмерного носителя (скаффолда). Строение костной ткани представляет собой сложную структуру [3, 14, 18, 19, 25, 35, 40, 42, 50, 51, 79, 108, 111, 151, 178, 193, 224, 239, 268], в связи с этим скаффолд должен обладать следующими свойствами:

1) биосовместимостью и биорезорбируемостью, скорость резорбции должна быть равна скорости остеогенеза;

2) поры скаффолда должны соединяться друг с другом и образовывать единую полостную систему – это необходимо для поступления питательных веществ и кислорода ко всем слоям клеток в скаффолде, а также отведения продуктов жизнедеятельности;

3) достаточной механической прочностью, чтобы адекватно выдерживать оказываемую на скаффолд нагрузку;

4) поверхность скаффолда должна быть адгезивной, способствовать дифференцировке и размножению клеток.

В настоящее время для создания скаффолдов в тканевой инженерии используют три группы биоматериалов: керамику, синтетические и природные полимеры. Каждая из этих групп биоматериалов имеет специфические преимущества и, само собой, недостатки, поэтому использование композитных скаффолдов, состоящих из комбинации различных материалов, становится все более распространенным явлением [22, 35, 50, 268].

В группу биокерамик входят инертные и полуинертные материалы, имеющие керамическую природу. На сегодняшний день достаточно активно используются имплантаты из различных видов керамики, таких как гидроксиапатит, трикальций фосфат, биоактивные стекла различного состава, кораллы, алюмооксидная и циркониевая керамика [22, 35, 50, 268].

Керамические каркасы, как правило, характеризуются высокой механической жесткостью (модуль Юнга), очень низкой эластичностью и твердой хрупкой поверхностью. По отношению к нативной кости керамические скаффолды обладают превосходной биосовместимостью из-за их химического и структурного сходства. По итогам экспериментальных исследований было выявлено, что материалы из керамики отвечают основным требованиям, предъявляемым к биоматериалам и основным характеристикам, определяющим их лечебную результативность, – отсутствие токсического воздействия на ткани реципиента и биологическая совместимость. Они обладают биоинертностью, то есть способностью в течение продолжительного времени сохранять неизменность своего состава и структуры благодаря тому, что отсутствует системное и локальное воздействие на ложе и организм реципиента в целом [88, 89, 189, 237, 251, 271].

Первыми стали применять имплантаты из корундовой керамики на основе оксида алюминия. Преимуществами этого материала были низкий

коэффициент термического расширения, химическая инертность, низкий коэффициент теплопроводности, низкая плотность, а главным недостатком этого материала была очень низкая механическая прочность, склонность к образованию трещин, низкая ударная вязкость, излишняя твердость при использовании в мягких тканях, ввиду малой механической прочности материал очень тяжело обрабатывался. Поэтому их использование было ограничено [45].

В последнее время на передовые позиции вышел новый класс биоматериалов, таких как биоактивные керамики на основе кальция и фосфора – кальций-фосфатная керамика [15, 31, 29, 45, 183, 197]. Кальций-фосфатная керамика превосходит биоинертную корундовую керамику в первую очередь химическим составом, который близок к природному гидроксипатиту [8, 28, 29]. Одним из важных свойств гидроксипатита как представителя кальций-фосфатной керамики является его изоморфность. Не менее важным свойством большинства биоактивных керамик является то, что этот материал способен к биодеградации (растворению). В результате биодеградации освобождаются ионы, которые образуют химическую связь между имплантатом и минеральным компонентом кости. Биодеградация кальций-фосфатной керамики происходит как путем растворения, так и клеточно-опосредованной резорбции, связанной с остеокластами, макрофагами, которые адгезируют к поверхности биоматериала и запускают процессы резорбции. Процесс химического растворения в том числе обеспечивает биодеградацию керамики за счет понижения pH микроокружения имплантата. Это процесс можно наблюдать в костном дефекте после операции [15, 28, 29, 31, 45, 183, 197].

Пористость и размеры пор – это те структурные характеристики керамики, которые оказывают наибольшее влияние на процессы образования костной ткани вблизи керамики и непосредственно в ее порах. На сегодняшний день имеются данные, что оптимальный размер пор для остеокондукции должен составлять от 100 до 600 мкм. В эксперименте

выявлено, что размер пор от 100 до 600 мкм и общая пористость 90 % являются благоприятными для врастания сосудов и проникновения клеток вглубь имплантата. Размер пор – одна из характеристик, которая влияет на передвижение клеток внутрь имплантата, их фиксацию к материалу, распространение внутри и по поверхности имплантата, а также на транспорт метаболитов и питательных веществ. Пористость – показатель, определяющий максимальную клеточную массу, которая может быть размещена в имплантате. Немаловажной является и внутренняя архитектура имплантата. Поры, соединяющиеся друг с другом, представляют каналы, которые пронизывают имплантат, что позволяет сосудам прорасти внутрь него и тем самым минимизировать мертвое пространство имплантата. Однако высокий процент пористости зачастую ухудшает физические характеристики, поскольку напрямую влияет прочность имплантата [28, 29, 74, 88, 94, 166, 188, 189, 252].

Kamitakahara с коллегами [140] в своих исследованиях гидроксиапатита, применяемых в травматологии, установили, что при замещении обширных костных полостей гидроксиапатита интенсивный остеогенез отмечается на поверхности имплантата и вблизи нее. По мере погружения в глубину дефекта интенсивность образования костной ткани снижается, что впоследствии приводит к гибели клеток и образованию соединительной ткани в центре имплантата, в то время как по периферии имплантат прорастает костной тканью [198].

Взаимодействие остеогенных клеток с керамикой имеет большое значение для регенерации костной ткани, так как керамика усиливает дифференцировку остеобластов и их пролиферацию. Различные виды керамики использовали в травматолого-ортопедической практике для заполнения костных дефектов и для нанесения покрытий на поверхности металлического имплантата для улучшения интеграции имплантата с ложем реципиента. Тем не менее их клиническое применение для тканевой инженерии было ограничено из-за их хрупкости, трудности моделирования, а

также в связи с тем, что молодая кость, образованная в пористой сети гидроксиапатита, не может выдержать механических нагрузок, необходимых для ее ремоделирования в органоспецифическую костную ткань [15, 31, 45, 183, 197].

В литературе имеются данные о том, что объем имплантируемой керамики не должен превышать 3 % всей костной массы скелета, если же площадь имплантата больше 25 % площади окружающей его кости, то развиваются дистрофические и деструктивные изменения в окружающих керамический имплантат тканях [15, 31, 45, 183, 193, 197].

Таким образом, трудоемкость изготовления имплантатов из керамики, их хрупкость ограничивает использование в высоконагружаемых зонах позвоночника, что является факторами, снижающими использование керамических имплантатов в качестве пластического материала.

Многочисленные синтетические полимеры использовались в попытке производить скаффолды, включая полистирол, поли-L-молочную кислоту (PLLA), полигликолевую кислоту (PGA) и поли-DL-лактид-ко-гликолид и гликолевую кислоты (PLGA). Эти материалы показали большой успех, поскольку они могут быть изготовлены с адаптированной архитектурой, и их характеристики биodeградации можно регулировать путем изменения самого полимера или состава отдельного взятого полимера, но при этом они имеют недостатки, один из них – риск отторжения из-за низкой биологической активности. Кроме того, процесс биodeградации PLLA и PGA происходит с выделением диоксида углерода, в результате чего снижается местный pH, что может привести некрозу тканей в ложе [104, 105, 199].

В последние годы в качестве материала для изготовления имплантатов активно начали использовать РЕЕК, который относится к семейству линейных ароматических полимеров – полиакрилэфиркетонов. Превосходные свойства материала – биосовместимость, сопротивление, жесткость и эластичность сравнимы с аналогичными показателями для аутологичной кости. РЕЕК характеризуется отличной химической

устойчивостью к кислотам и коррозии, высокой биосовместимостью, отсутствием аллергических реакций, проницаемостью для излучения при рентгеновском и КТ-исследовании, отсутствием артефактов при проведении МРТ. Сочетание прочности, жесткости, упругости без потери механических свойств на протяжении всего времени после имплантации делают РЕЕК перспективной альтернативой другим материалам. Основным недостатком РЕЕК – отсутствие биодеградации и пористости имплантатов, изготовленных из этого материала, образование блоков при их использовании происходит за счет наличия остеокондуктивного материала внутри имплантатов [115, 150, 205, 214, 242, 243].

Третьим часто используемым подходом является использование биологических материалов для изготовления скаффолдов. Биологические материалы, такие как коллаген, различные протеогликаны и хитозан, использовали в производстве скаффолдов для тканевой инженерии. Скаффолды на основе природных полимеров обладают большей биологической активностью в отличие от синтетических полимеров, что способствуют лучшей адгезией и росту клеток. Кроме того, они также являются биодеградируемыми, что позволяет клеткам производить свой внеклеточный матрикс и постепенно заменять деградируемый скаффолд. Но при таких существенных плюсах скаффолды из биологических материалов имеют не менее значимый минус, такой как плохие механические свойства, что ограничивает их применение в травматолого-ортопедических операциях [88, 143, 263].

Идеальный биоматериал для тканевой инженерии должен быть механически прочным, саморассасывающимся, биосовместимым, способствовать прикреплению, пролиферации и дифференцировки клеток. Кроме того, он должен деградировать с заданной скоростью. Эта цель еще не достигнута. Для разработки нового композитного скаффолда необходимо взвесить все преимущества и недостатки потенциальных биоматериалов.

В связи с активным развитием регенеративной медицины в последнее время проводится множество исследований по замещению дефектов тканей организма клеточными трансплантатами, имеющими свое трехмерное строение и форму. В Новосибирском НИИТО был изобретен трехмерный хондротрансплантат, который представляет собой хондробласты, извлеченные из позвоночника новорожденного поросенка, культивированные в питательной среде. Дифференцировку клеток в хондрогенном направлении подтверждали морфологическими методами. Структурно-функциональная характеристика хондротрансплантата представляет собой хондробласты различной степени дифференцировки и внеклеточный матрикс. Внеклеточный матрикс хондротрансплантата был представлен агреканом, коллагеном I и II типов, в клетках и матриксе были выявлены хондроитинсульфаты, а также фибронектин [35].

Группой ученых проведен эксперимент по имплантации трехмерного хондротрансплантата в дефект тела позвонка для оценки регенерации костной ткани с его использованием. По данным, полученным через 6 мес. после имплантации, макроскопически границы костного дефекта тела позвонка не определяются, на его месте однородная костная ткань, по гистологическим данным дефект заполнен органоспецифической зрелой костной тканью, у которой межбалочные промежутки заполнены миелоидным мозгом. В контрольной группе за тот же период наблюдения на месте дефекта в теле позвонка сформирована грубая фиброзная ткань с редко расположенными костными структурами и сосудами [35, 195]. Все сказанное позволяет сделать вывод, что трехмерный хондротрансплантат обладает высокими регенераторными потенциями, которые реализуются за счет пролиферативной активности, которая присуща эмбриональному хрящу.

Недостатком трехмерного хондротрансплантата является то, что он не обладает достаточными прочностными свойствами, поэтому неприменим для регенерации значительных по площади дефектов костной ткани, однако *in vivo* данные ранее не оценивались. Кроме того, к недостаткам трехмерного

хондротрансплантата следует отнести необходимость дополнительной фиксации зоны трансплантации, что, безусловно, увеличивает объем хирургического вмешательства [20, 33]. Следующей ступенью является создание остеотрансплантата, который был опробован в нашей работе.

Резюме

Поиск идеального материала для пластического замещения дефектов костной ткани, обладающего остеокондуктивностью, остеоиндуктивностью, биосовместимостью, способностью реваскуляризоваться, резорбироваться без образования токсичных продуктов, ремоделироваться в органоспецифичную костную ткань, ведется до сих пор [3, 7, 22, 76, 184].

Даже использование костного аутооттрансплантата, приравненного к золотому стандарту при костной пластике, имеет недостатки и послеоперационные осложнения. Несмотря на полную совместимость трансплантата как биологического материала, его забор является значительным негативным моментом, который клинически отражается на всем послеоперационном и реабилитационном периоде. В качестве решения этой проблемы предлагается использование аллотрансплантата, синтетических материалов, однако тут же возникает вопрос их совместимости как пластического материала, имеется риск развития аллергической и иммунной реакции у реципиента, что значительно ограничивает применение таких имплантатов. Скаффолды – носители таких клеточных продуктов тканевой инженерии, как мультипотентные мезенхимальные стволовые клетки, IGF, TGF- β , PDGF, BMP, FGF, могут быть использованы в организме пациента для стимуляции регенерации поврежденной ткани, но с большой осторожностью. Ярким примером является BMP, применение которого способно вызвать неконтролируемую клеточную пролиферацию в области образования регенерата.

В связи с вышесказанным нами было предложено использование остеотрансплантата как более эффективного метода остеопластики для заполнения дефектов костной ткани тел позвонков. С учетом преимуществ и

недостатков предшественников, остеотрансплантат имеет многообещающий потенциал в лечении дефектов костной ткани и требует дальнейшего изучения.

Глава 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Материалы исследовательской работы

Экспериментальная работа осуществлялась согласно этическим нормам, регламентирующим эксперименты на животных в соответствии с международными и российскими нормативно-правовыми документами («Европейская конвенция о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях: EST № 123» от 18 марта 1986 г., Страсбург, 1986; «Об утверждении правил лабораторной практики: приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации» № 267 от 19.06.2003 г., ГОСТ 10993-2-2011).

С целью изучения остеогенеза на основе остеотрансплантата и сравнения его с процессом остеогенеза на основе костного аутооттрансплантата проведено исследование на 20 мини-пигах весом от 15 до 18 кг в возрасте 6 мес. (таблица 1). Выполнялась имплантация остеотрансплантата и костного аутооттрансплантата в различных моделях дефекта костной ткани тел поясничных позвонков лабораторных животных. Применены материалы: остеотрансплантат, костный аутооттрансплантат, имплантат и пластина из биоинертного материала. Данные виды материалов и их сочетание имплантировали лабораторному животному в зависимости от принадлежности к группе.

Из указанного количества животных было сформировано 5 однородных групп, которые отличались видом выполненного им оперативного вмешательства и используемым пластическим материалом.

Пластическим материалом в группах 1, 3 и 4 служил остеотрансплантат, выращенный в *in vitro* условиях, а в группах 2 и 5 применяли костный аутооттрансплантат, полученный интраоперационно при формировании дефектов тел позвонков и обработке межтеловых промежутков, который по своей структуре представлял кортикально-

губчатую кость, измельчаемую кусачками до фрагментов размером около 2 мм.

Таблица 1 – Структура и состав эксперимента (мини-пиги, n = 20)

Модель эксперимента	Номер группы	Имплантируемый материал	Сроки наблюдения, сут.	Количество препаратов
Дефект тела позвонка	1	Остеотрансплантат	14	2
			30	4
			90	12
			180	2
	2	Костный аутооттрансплантат	14	2
			30	4
			90	12
			180	2
Перелом краниоventрального угла	3	Остеотрансплантат	14	2
			30	4
			90	12
			180	2
Травматическое повреждение межпозвонкового диска	4	Кейдж, заполненный остеотрансплантатом	90	12
	5	Кейдж, заполненный костным аутооттрансплантатом	90	12

Сразу по окончании оперативного вмешательства лабораторным животным проводили контрольную рентгенографию поясничного отдела позвоночника в прямой и боковой проекциях. Животных в до- и послеоперационном периоде содержали в одинаковых условиях, на сходных рационах питания.

В ходе эксперимента вели ежедневный мониторинг жизненных показателей. В течение первых трех суток после операции животные были вялыми, преимущественно лежали, отсутствовал аппетит. В последующие дни активность животных увеличивалась. К концу первой недели состояние

животных полностью восстанавливалось, поведение становилось обычным. Заживление послеоперационной раны у всех животных осуществлялось первичным натяжением. В последующие сроки наблюдения поведение животных ничем не отличалось от поведения здоровых животных того же вида.

По истечении срока наблюдения животное выводили из эксперимента, блоком извлекали поясничный отдел позвоночника, упаковывали в герметичный пластиковый пакет и в течение 1–2 ч доставляли для проведения исследований.

2.2 Модель эксперимента

Для сравнительного анализа замещения травматических дефектов костным ауто трансплантатом и остеотрансплантатом сформировано три модели.

Модель дефекта тела поясничного позвонка представлена группами 1 и 2.

Группа 1 – кортикальный дефект тела поясничного позвонка $0,5 \times 0,5$ см, заполненный остеотрансплантатом (рисунок 1).



Рисунок 1 – Модель дефекта тела поясничного позвонка

Дефект сформирован на вентральной части тела L3 позвонка при помощи бора диаметром 5 мм, который погружали в тело позвонка на глубину 5 мм, – таким образом, получен дефект с ровными краями и дном.

Такой размер обеспечил прилегание остеотрансплантата к краям реципиентного ложа.

Группа 2 (контроль) – кортикальный дефект тела поясничного позвонка 0,5×0,5 см, заполненный костным аутоотрансплантатом (рисунок 1). Дефект сформирован в теле L1 позвонка аналогичным группе 1 способом. Сформированный кортикальный дефект заполнен полученной при его формировании кортикально-губчатой костной крошкой, которую укладывали в полученный костный дефект.

Модель оскольчатого проникающего перелома тела поясничного позвонка представлена группой 3.

Группа 3 – оскольчатый проникающий перелом, в диастаз между фрагментами помещен остеотрансплантат (рисунок 2).

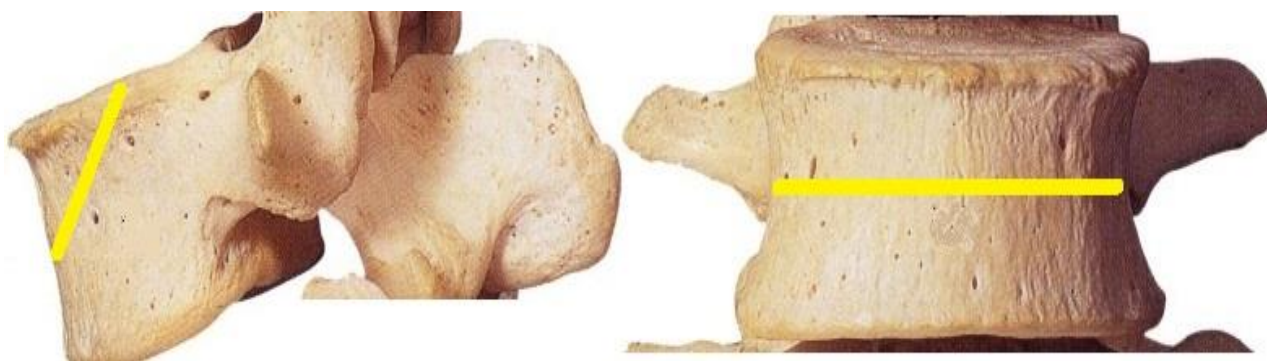


Рисунок 2 – Модель оскольчатого проникающего перелома тела поясничного позвонка

Оскольчатый проникающий перелом тела L6 позвонка сформирован при помощи остеотома, который вколачивается по диагонали от середины вентрального отдела тела позвонка к середине краниальной замыкательной пластинки; отсеченный фрагмент приподнят, тем самым сформирована полость в теле позвонка, в которую проникли фрагменты пульпозного ядра, после чего сформированный дефект рыхло заполнен остеотрансплантатом.

Модель травматического повреждения межпозвонкового диска представлена группами 4 и 5.

Группа 4 – выполняли вентральный межтеловой спондилодез с использованием остеотрансплантата (рисунок 3).

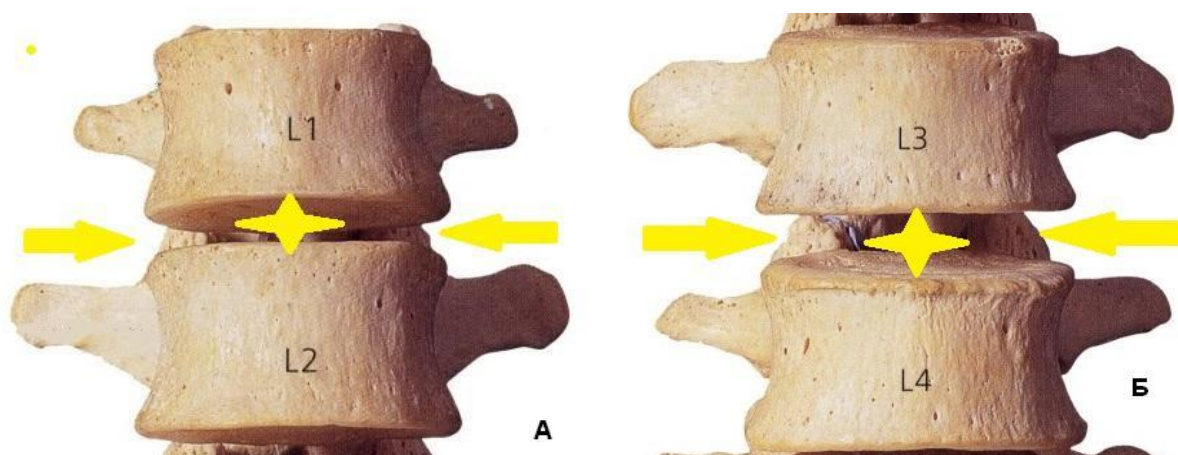


Рисунок 3 – Вентральный межтеловой спондилодез с применением остеотрансплантата (А) и костного аутоотрансплантата (Б)

Моделирование травматического повреждения межпозвонкового диска выполняли следующим образом: после выделения вентральных отделов позвоночника на уровне L1–L2 производили рассечение передней продольной связки, фиброзного кольца по всему его периметру, затем для визуализации увеличения мобильности сегмента позвоночнику придавалось положение экстензии, при котором смоделированный дефект диска увеличивался по высоте. После устранения экстензии дефект исчезал. Следующим этапом проводили подготовку межтелового промежутка для проведения межтелового спондилодеза (описание выполнения межтелового спондилодеза приведено в разделе 2.4.3 диссертации).

При проведении эксперимента учитывали особенности биомеханики позвоночника мини-пига. У квадрипедальных животных преобладает воздействие на передние структуры поясничного отдела позвоночника растягивающих напряжений над сжимающими. Это ведет к выраженной подвижности в зоне трансплантации в сравнении с интактными уровнями позвоночника, особенно на ранних стадиях формирования блока. В связи с этим для предупреждения подобного явления потребовалось фиксировать

сегмент позвоночника, подвергшийся оперативному вмешательству. Для решения данной задачи и создания дополнительной стабильности на уровне вентрального спондилодеза выполняли фиксацию смежных позвонков пластиной на четырех винтах. Пластину устанавливали по передней поверхности вентральных отделов смежных к имплантату тел позвонков, тем самым устраняли растягивающие напряжения и получали дополнительную фиксацию области спондилодеза.

Группа 5 (контроль) – выполняли вентральный межтеловой спондилодез с использованием костного аутооттрансплантата (рисунок 3).

Аналогичным способом осуществляли травматическое повреждение межпозвонкового диска на уровне L3–L4 в контрольной группе, с последующей операцией межтелового спондилодеза, где вместо остеотрансплантата в биоинертный имплантат укладывали костный аутооттрансплантат в виде кортикально-губчатой крошки (описание выполнения межтелового спондилодеза приведено в разделе 2.4.3 диссертации).

2.3 Описание анестезиологического пособия

На предварительном этапе, за 12 ч до предполагаемого вмешательства, животное переставали кормить и переводили на водную диету. Производили осмотр ветеринарным врачом, который подтверждал удовлетворительное состояние животного, о чем производили запись в экспериментальной истории болезни.

Утром в день операции ветеринарный врач выполнял премедикацию комбинацией препаратов. Дозировку в каждом конкретном случае выбирали исходя из веса животного. Заснувшее животное тщательно мыли, выбривали щетину на ушах, грудной клетке, на внутренней поверхности бедра и на хвосте, взвешивали. Переносили на операционный стол и закрепляли в положении на спине. В краевую вену уха устанавливали периферический катетер для инъекций подходящего размера, к грудной клетке прикрепляли

датчики для электрокардиографии. Плетизмографический датчик для контроля насыщения периферической крови кислородом крепили на хвост. Для контроля артериального давления в левую бедренную артерию пункционным способом устанавливали катетер, через который присоединяли систему инвазивного контроля давления. Все критически важные витальные параметры – пульс, артериальное давление, температуру в глотке, ЭКГ, насыщение крови кислородом фиксировали в режиме реального времени системой мониторинга IntelliVue MP40 (Phillips, Германия). Динамику данных вносили в наркозную карту экспериментального животного с периодичностью 15 мин. После этого внутривенно вводили миорелаксант и выполняли интубацию трахеи трубкой диаметром 7–8 мм. Раздували obtурирующую манжету, подсоединяли аппарат искусственной вентиляции легких Julian (Draeger, Германия), начинали принудительную вентиляцию 100 % кислородом, содержащим 5 % (по объему) севофлурана с частотой 12–14 циклов в минуту. Дыхательный объем подбирался индивидуально в зависимости от веса животного. Через установленный ранее периферический катетер проводили инфузионную поддержку кровообращения кристаллоидными и коллоидными растворами. Объем инфузии определялся врачом-ветеринаром согласно весоростовым показателям и данным объективного мониторинга витальных функций экспериментального животного. При необходимости для контроля диуреза устанавливали мягкий мочевого катетер.

По окончании операции удаляли артериальный катетер, контролировали отсутствие кровотечения. Прекращали инсуфляцию севорана, периодически проверяли появление у животного периферических рефлексов и спонтанного дыхания. При появлении дыхания аппарат ИВЛ переводили в режим поддерживающей вентиляции. После восстановления собственного дыхания у экспериментального животного убирали эндотрахеальную трубку и перемещали его в вольер. В течение трех суток после операции животное получало курс антибиотикотерапии цефазолином

(1 г 2 раза в сутки) и нестероидные противовоспалительные препараты для обезболивания.

2.4 Методика оперативного вмешательства

Все экспериментальные исследования на животных проводили в условиях специализированной ветеринарной операционной под наркозом, с соблюдением правил асептики и антисептики.

2.4.1 Методика оперативного вмешательства для групп 1 и 2

Мини-пига укладывали в положении на спине (рисунок 4). Доступ левосторонний косой внебрюшинный. Послойно рассекали кожу, клетчатку и боковые мышцы живота (рисунок 5). После рассечения поперечной фасции путем тупого расслоения забрюшинной клетчатки достигали передней поверхность поясничного отдела позвоночника. Локализовали и обнажали переднюю поверхность тел поясничных позвонков ориентировочно L2–L3–L4 со смежными межпозвонковыми дисками (рисунок 6). В теле L3 позвонка сверлом диаметром 5 мм формировали дефект глубиной 5 мм и шириной 5 мм (рисунок 7), в который в группе 1 помещали остеотрансплантат, выращенный *in vitro*, размером около 5 мм (рисунок 8). При этом сформированный дефект был в полном объеме заполнен пластическим материалом.



Рисунок 4 – Укладка мини-пига на операционном столе

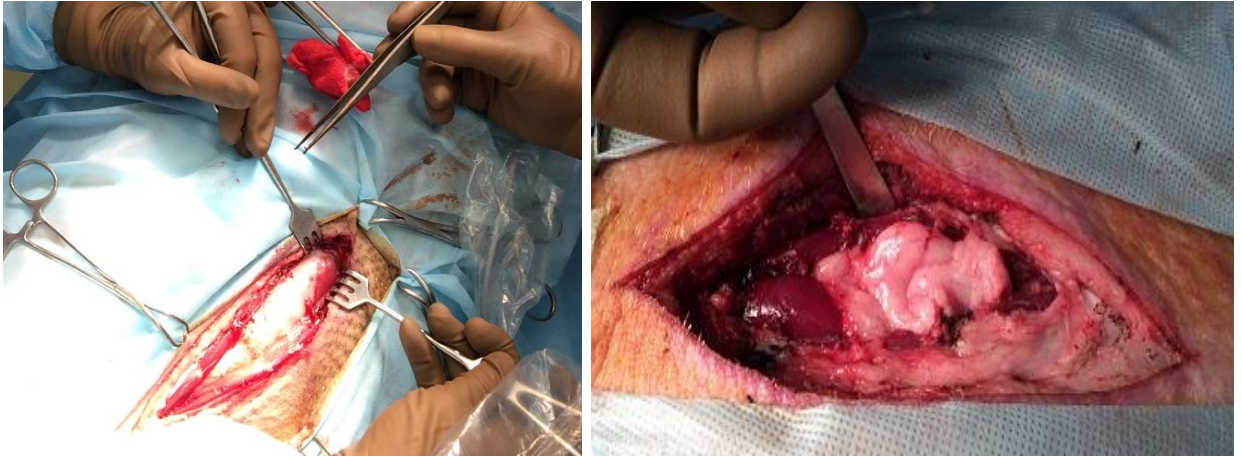


Рисунок 5 – Левосторонний внебрюшинный доступ к телам позвонков



Рисунок 6 – Выделение ventральной поверхности тел поясничных позвонков

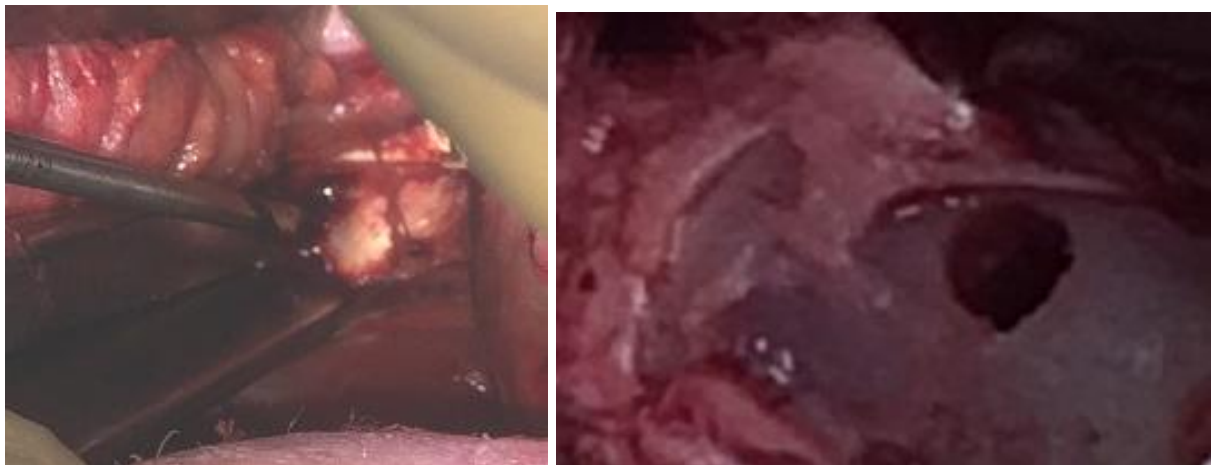


Рисунок 7 – Формирование сверлом дефекта в теле позвонка



Рисунок 8 – Остеотрансплантат в чашке Петри и помещенный в дефект тела позвонка

Местно трансплантации сверху закрывали гемостатической губкой во избежание миграции остеотрансплантата. Спицей Киршнера 1,6 мм осуществляли маркировку зоны трансплантации.

В теле L1 позвонка сверлом с диаметром 5 мм формировали дефект глубиной 5 мм и шириной 5 мм, в который в группе 2 рыхло укладывали костный аутоотрансплантат, полученный при формировании дефектов в телах L1 и L3 позвонков и представляющий собой кортикально-губчатую кость, измельченную до фрагментов размером 2 мм (рисунок 9).



Рисунок 9 – Костный аутоотрансплантат в дефекте тела позвонка

Место трансплантации сверху закрывали гемостатической губкой во избежание миграции остеотрансплантата. Спицей Киршнера 1,6 мм осуществляли маркировку зоны трансплантации. Рану послойно ушивали, после чего обрабатывали ветеринарным полимерным антисептическим составом, содержащим окись алюминия, распыляя его из баллона до формирования однородной пленки (рисунок 10).



Рисунок 10 – Ушитая и обработанная антисептиком рана

2.4.2 Методика оперативного вмешательства для группы 3

Мини-пига укладывали в положении на спине (рисунок 4). Доступ левосторонний косой внебрюшинный. Послойно рассекали кожу, клетчатку и боковые мышцы живота (рисунок 5). После рассечения поперечной фасции путем тупого расслоения забрюшинной клетчатки достигали передней поверхности поясничного отдела позвоночника. Локализовали и обнажали переднюю поверхность тел поясничных позвонков ориентировочно L5–L6 со смежными межпозвонковыми дисками (рисунок 6).

На середине тела L6 позвонка, под углом 30° к вентральной вертикальной пластинке, устанавливали остеотом, после чего отсекали краниовентральный угол, при этом в полученный диастаз между краниовентральным углом и телом позвонка попадали фрагменты пульпозного ядра (рисунок 11).

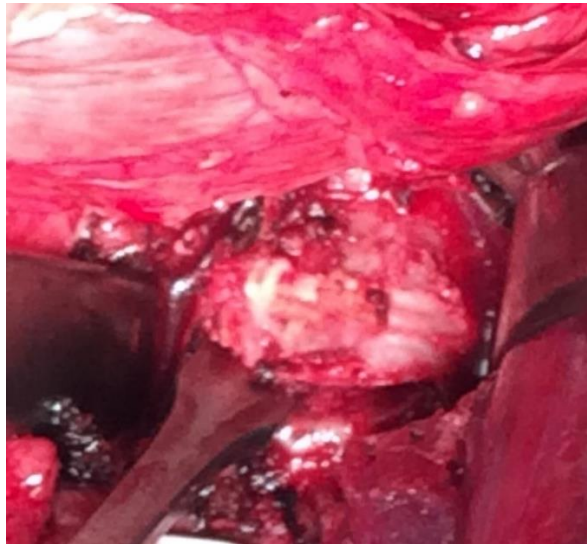


Рисунок 11 – Отсечение краниоventрального угла тела позвонка

Затем в диастаз между телом позвонка и отсеченным фрагментом рыхло укладывали остеотрансплантат, выращенный *in vitro*, размером 5×5 мм, до полного заполнения полученного дефекта (рисунок 12).



Рисунок 12 – Остеотрансплантат в области перелома

Место трансплантации сверху закрывали гемостатической губкой во избежание миграции остеотрансплантата. Спицей Киршнера 1,6 мм осуществляли маркировку зоны трансплантации. Рану послойно ушивали. Место кожного разреза обрабатывали ветеринарным полимерным

антисептическим составом, содержащим окись алюминия, распыляя его из баллона до формирования однородной пленки (рисунок 10).

2.4.3 Методика оперативного вмешательства для групп 4 и 5

Мини-пига укладывали в положении на спине (рисунок 4). Доступ левосторонний косой внебрюшинный. Послойно рассекали кожу, клетчатку и боковые мышцы живота (рисунок 5). После рассечения поперечной фасции путем тупого расслоения забрюшинной клетчатки достигали передней поверхности поясничного отдела позвоночника. Локализовали и обнажали переднюю поверхность тел поясничных позвонков ориентировочно L1–L2–L3–L4–L5–L6 со смежными межпозвонковыми дисками (рисунок 6). Выполняли манипуляции по созданию травматического повреждения межпозвонкового диска на уровне L1–L2, затем при помощи костной ложки и костных щипцов осуществляли тотальную дискэктомию в пределах задней продольной связки с частичной резекцией задних лимбов смежных тел позвонков. Выполняли зачистку замыкательных пластинок смежных тел позвонков до состояния кровавой росы (рисунок 13).

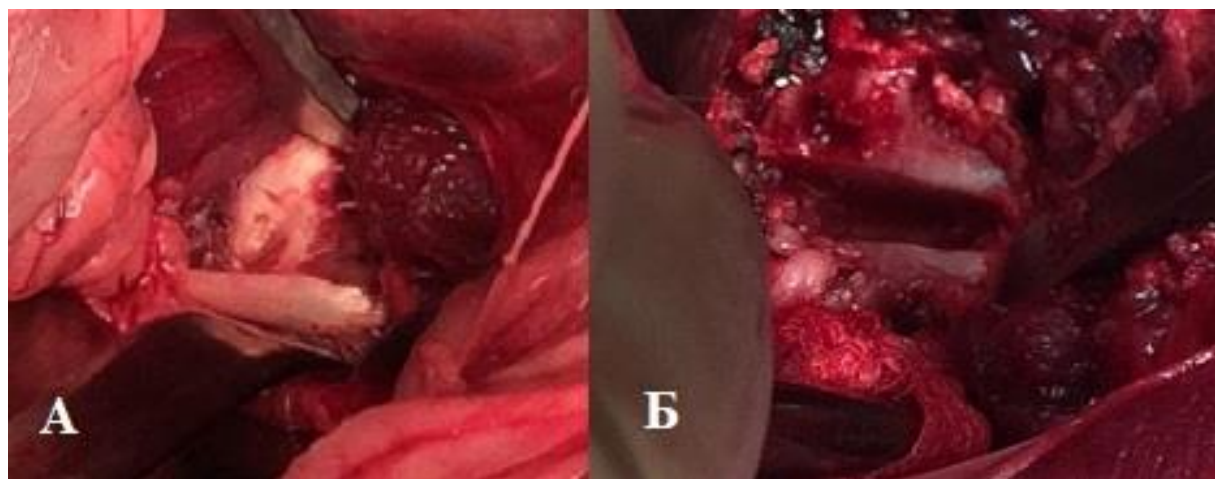


Рисунок 13 – Удаление межпозвонкового диска: А – межпозвонковый диск; Б – межпозвонковый диск удален, замыкательные пластинки зачищены

Поочередно осуществляли подбор подходящего шаблона имплантата, использовали шаблоны 5×12 мм и 6×12 мм, в связи со схожими размерами и возрастом всех мини-пиггов. В центральное отверстие импланта рыхло укладывали 4 остеотрансплантата, выращенных *in vitro*. В подготовленное межтеловое пространство в положении экстензии внедряли имплантат с уложенными внутрь остеотрансплантатами (рисунок 14).



Рисунок 14 – Имплантат заполнен остеотрансплантатом и помещен в межтеловой промежуток

Оценивали стабильность установки имплантата, для этого пытались сместить его пинцетом. На переднюю поверхность позвоночника на уровне L1–L2 приложен шаблон пластины, через отверстия шаблона при помощи шила последовательно сформировано 4 канала в смежных телах позвонков. Шаблон пластины извлечен, приложена пластина, через отверстие пластины установлен винт в тело позвонка до контакта его шляпки с пластиной (рисунок 15). Таким же образом введены все остальные винты.

Подобным образом осуществлен вентральный межтеловой спондилодез на уровне L3–L4 с той разницей, что межтеловой имплантат рыхло заполняли костным аутоотрансплантатом, полученным при обработке межтеловых промежутков и представляющим собой кортикально-губчатую кость, измельченную до фрагментов размером 2 мм (рисунок 16).



Рисунок 15 – Пластина, установленная по вентральной поверхности тел
ПОЗВОНКОВ

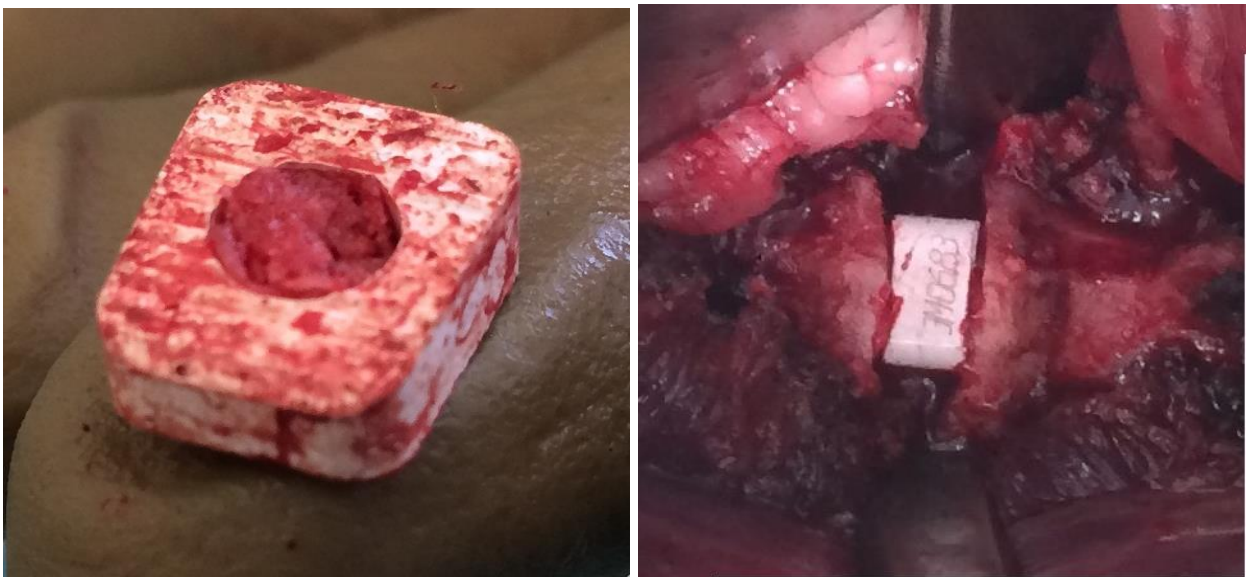


Рисунок 16 – Имплантат заполнен костным аутографтом и помещен в
межтеловой промежуток

Рану послойно ушивали. Место кожного разреза обрабатывали ветеринарным полимерным антисептическим составом, содержащим окись алюминия, распыляя его из баллона до формирования однородной пленки (рисунок 10).

2.5 Забор и хранение материалов

Послеоперационное наблюдение проводили в сроки 14, 30, 90 и 180 суток. По окончании периода наблюдения выполняли эвтаназию лабораторных животных. В указанные сроки изымали препарат, включая область имплантации пластического материала, в модели травматического повреждения межпозвонкового диска осуществляли забор смежных с имплантацией тел позвонков. При помощи пилы Джигли или кусачек Дальгрена отсекали задние структуры на уровне корней дуг. Длина образца соответствовала длине участка позвоночника, на котором проводился эксперимент, а ширина составляла сагиттальный диаметр тел позвонков. Препараты герметизировали в полиэтиленовых пакетах для доставки к месту проведения исследований. Перед проведением исследования материал извлекали из полиэтиленового пакета.

2.6 Методы исследования

В работе были использованы следующие методы исследования:

- МСКТ (с целью определения формирования костного блока и рентгеноплотности костной ткани); место проведения исследования – Новосибирский НИИТО;
- морфологическое (выявляли структуру костной ткани регенерата и его клеточный состав); место проведения исследования – Новосибирский НИИТО;
- определение микротвердости костной ткани по Виккерсу (прочностных свойств регенерата и тела позвонка); место проведения исследования – лаборатория Новосибирского государственного технического университета;
- растровая электронная микроскопия со спектрометрическим анализом (анализ минеральной насыщенности регенерата и тела позвонка);

место проведения исследования – лаборатория Новосибирского государственного технического университета.

2.6.1 Схема определения зон для исследования

При всех видах исследований оценивали три области – центральную (R_1) и периферическую (R_2) зоны трансплантата и зону, прилегающую к области имплантации (R_3). Для определения зоны исследования область имплантации ограничивали окружностью, радиус которой был разделен на две равные части ($R_{1,2} = R_{\text{общ}}/2$), где $R_1 = R_2$. При этом $R_1 = R_2 = R_3$. Исследования проводили в окружностях с диаметром величиной, равной $R_{1,2,3}$ (рисунок 17).

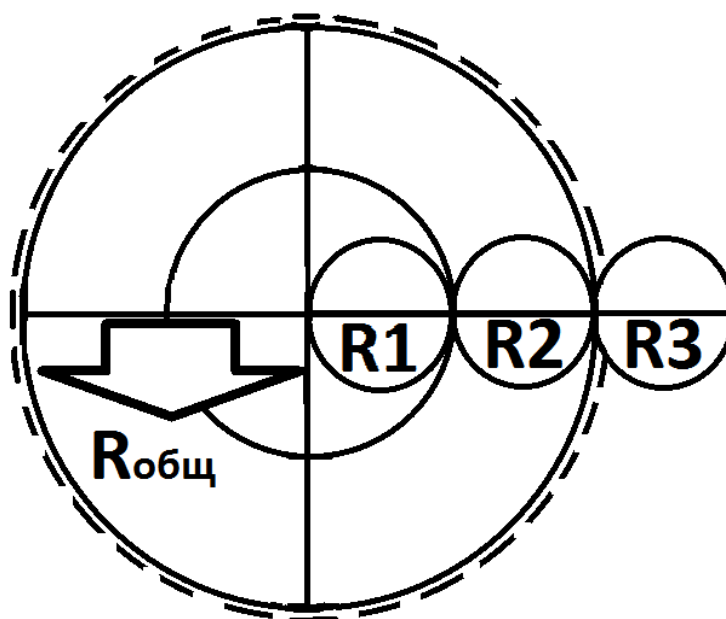


Рисунок 17 – Схема определения зоны исследования

Схема для распределения зон исследования при разных моделях операции: группы 1 и 2 (рисунок 18), группа 3 (рисунок 19), группы 4 и 3 (рисунок 20).

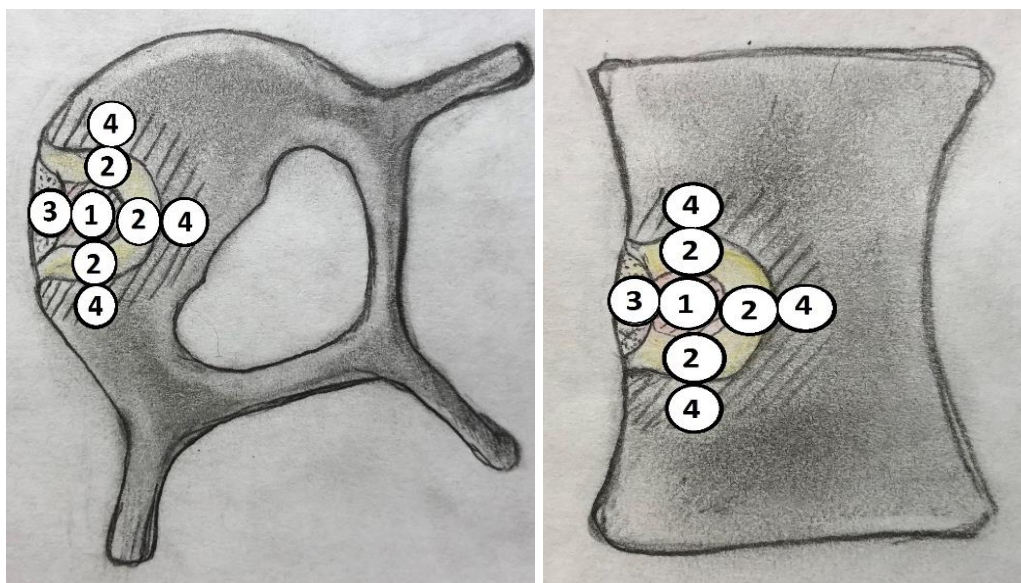


Рисунок 18 – Области проведения измерений при замещении дефекта тела позвонка в группах 1 и 2: 1 – центр регенерата; 2 – край регенерата, прилегающий к ложу; 3 – край регенерата, не прилегающий к ложу; 4 – край реципиентного ложа, прилегающий к регенерату

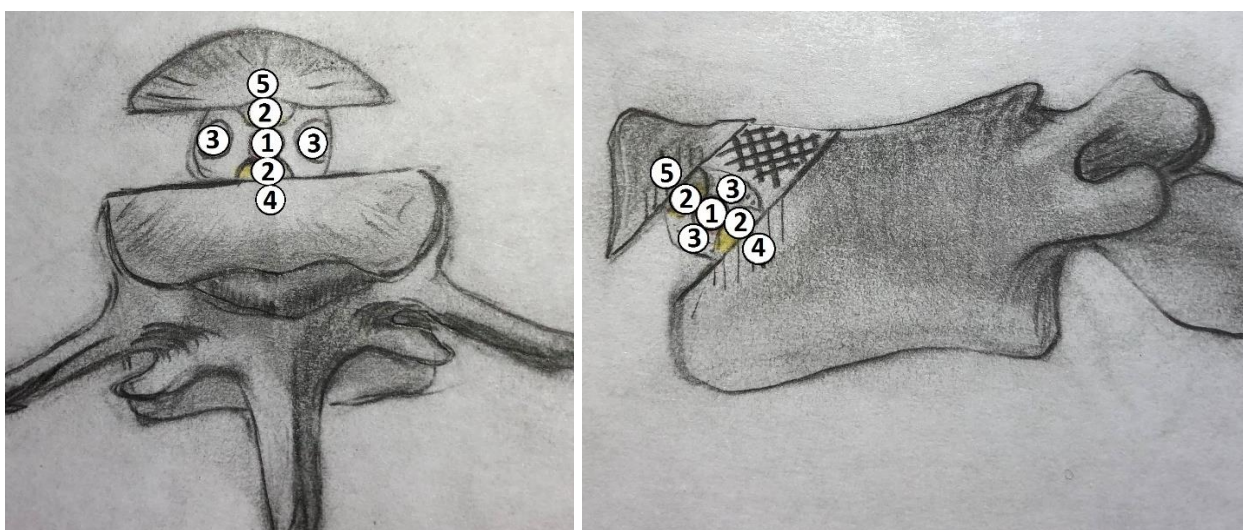


Рисунок 19 – Области проведения измерений при переломе краниоventрального угла тела позвонка в группе 3: 1 – центр регенерата; 2 – край регенерата, прилегающий к ложу; 3 – край регенерата, не прилегающий к ложу; 4 – край тела позвонка, прилегающий к регенерату; 5 – край краниоventрального угла, прилегающий к регенерату

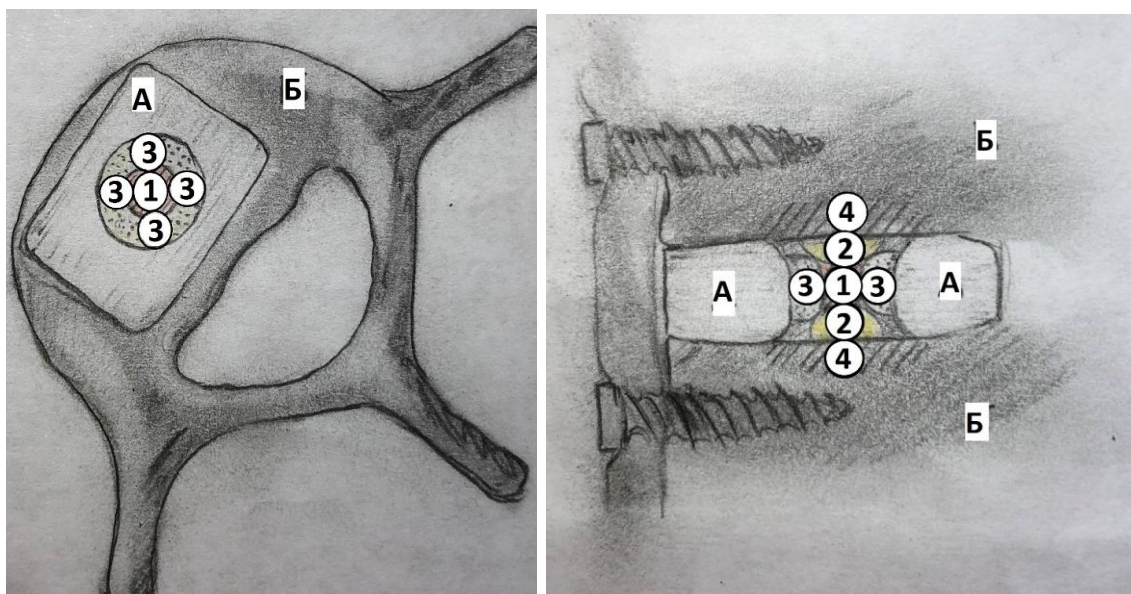


Рисунок 20 – Области проведения измерений при вентральном межтеловом спондилодезе в группах 4 и 5: А – имплантат, Б – тело позвонка; 1 – центр регенерата; 2 – край регенерата, прилегающий к телу позвонка; 3 – край регенерата, прилегающий к имплантату; 4 – край тела позвонка, прилегающий к регенерату

2.6.2 Подготовка и рентгенологическое исследование препаратов

Каждый из образцов был экспонирован дважды: сразу после операции с целью контроля правильности выполнения манипуляции проводили рентгенологическое исследование при помощи электронно-оптического преобразователя (ЭОП), а после выведения животного из эксперимента проводили мультиспиральную компьютерную томографию (МСКТ) на аппарате Toshiba (Япония). Полученные сканы использовали для изучения визуально выявляемых изменений при регенерации тел позвонков.

На сегодняшний день наиболее эффективным при исследовании костной ткани считается метод МСКТ. Метод рентгеновской КТ позволяет получить послойное изображение в трехмерной плоскости исследуемого участка костной ткани в объемном соотношении 1:1. Он основан на регистрации энергии пучка рентгеновского излучения, прошедшего через объект под различными углами при вращении трубки

высококочувствительными датчиками, которые преобразуют полученную информацию в электрические сигналы. МСКТ позволяет с высокой точностью определять характеристики исследуемой области, что имеет значение при оценке интеграции остеозамещающих материалов [38, 185, 248].

Для количественной визуальной оценки плотности структур организма по методу МСКТ используется шкала Хаунсфилда (шкала денситометрических показателей, HU), которая представляет собой шкалу ослабления рентгеновского излучения по отношению к дистиллированной воде [30, 37, 43, 194, 216]. При оценке состояния костной ткани и формировании регенерата необходимо учитывать такой фактор, как плотность костной ткани, которая может свидетельствовать о ее минерализации, наибольшее количество исследований по качеству кости с определением ее плотности методом МСКТ проведено в стоматологии [107, 176].

В работе Ribeiro-Rotta et al. [203] проанализировано 488 исследований по изучению качества кости. В статьях предложены различные определения и системы классификации для характеристики костной ткани и протоколов экспертизы. В большей части работ применена система классификации Misch [203, 172]. Несколько публикаций описывают качество костной ткани в соответствии с Trisi [236].

Данные, полученные при МСКТ, оценивали по нескольким классификациям. По классификации Tap оценивали интеграцию пластического материала в реципиентное ложе, анализ серии снимков проводили в аксиальной и сагиттальной проекциях. По классификации Misch количественно оценивали качество костной ткани.

Классификация Misch [171, 172, 203] является наиболее подходящей для количественной оценки полученных материалов в единицах Хаунсфилда (HU) и дает описательную характеристику:

- 1) $D1 \geq 1250$ HU – толстый слой компактной кости, отмечается слабое кровоснабжение;
- 2) $D2 = 850-1250$ HU – толстая кость, но с пористым компактным слоем и выраженным губчатым, хорошее кровоснабжение;
- 3) $D3 = 350-850$ HU – тонкая кость с пористым компактным слоем, рыхлой структурой губчатого слоя, с хорошим кровоснабжением;
- 4) $D4 \leq 350$ HU – рыхлое губчатое вещество.

Для оценки формирования регенерата используются различные классификации, основанные на рентген-признаках [64, 232]. Во всех классификациях оценивается зона контакта пластического материала с реципиентным ложем в зависимости от наличия сращения.

При использовании биологических материалов для пластического замещения дефекта, наиболее современной и подходящей оценкой данных эксперимента является классификация Tan [232]:

- 1) полное слияние – предполагает полное слияние трансплантата и ложа, при этом прослеживается непрерывность как губчатой, так и кортикальной кости;
- 2) частичное слияние – объединение трансплантата и ложа по периферии, однако в центральной части прослеживается линия продолжающейся перестройки;
- 3) однополярное несращение – предполагает несращение трансплантата и ложа в краниальной или каудальной части, при этом отмечается слияние трансплантата и ложа в другой части;
- 4) биполярное несращение – предполагает несращение как на каудальной, так и на краниальной границе трансплантата и ложа, резорбцию трансплантата.

Данные, полученные при МСКТ, оценивали по нескольким параметрам. По классификации Tan оценивали интеграцию пластического материала в реципиентное ложе, анализ серии снимков проводили в

аксиальной и сагиттальной проекциях. По классификации Misch количественно оценивали качество костной ткани в единицах NU.

2.6.3 Подготовка материалов к морфологическому исследованию

Забор материалов для гистологических исследований осуществляли путем блоковой резекции тел позвонков вне пределов имплантации. Забранные тела позвонков очищали от мягких тканей, подготавливали к световой микроскопии путем фиксации, декальцинации и окрашивания.

Фиксацию проводили путем экспозиции препаратов в забуференном (рН = 7,4) 10% растворе формалина в течение трех суток, с последующей дофиксацией в течение суток в растворе, одна часть которого состояла из 1,5 % раствора параформа, а вторая – из 1,5 % раствора глутарового альдегида.

Препараты, подлежащие световой микроскопии, декальцинировали в трилоне «Б» и окрашивали гематоксилином-эозином по Ван-Гизону.

2.6.4 Подготовка материалов к измерению микротвердости костной ткани по Виккерсу

Одной из общепринятых методик изучения прочностных параметров кости является определение ее твердости – способности кости противостоять внедрению в нее какого-либо тела. Твердость кости определяется стандартными методами Бринелля и Роквелла. Более тонким методом является определение микротвердости по Виккерсу.

Микротвердость кости – интегральное свойство, связанное с кристаллохимической структурой костного апатита, количественным и качественным составом органического матрикса и неорганической фазы кости. Высокая точность измерений обеспечивается применением в качестве индентора алмазной пирамидки. С приложением нагрузки происходит врезывание боковых граней пирамидки в кость. Это исключает влияние упругости на величину измеряемых диагоналей отпечатка индентора.

Исследование проводили на аппарате ПМТ-3 (рисунок 20). Индентором служила алмазная пирамидка с углом при вершине 136° . Груз на инденторе – 10 г (0,0981 н), (ГОСТ 9450-60).



Рисунок 20 – Устройство ПМТ-3 для измерения микротвердости по Виккерсу

Для исследования препарат готовили следующим образом. Поверхность, подлежащую исследованию, шлифовали на водостойкой абразивной бумаге с постепенно уменьшающимся калибром зерен при постоянном смачивании образца изотоническим раствором хлорида натрия. Окончательную полировку поверхности проводили на плотной лощеной бумаге. В процессе шлифования межтрабекулярные пространства оказывались заполненными детритом, так что после окончания обработки поверхность препарата представлялась абсолютно гладкой. Исследование проводили в отраженном свете с объективом $F = 23,2$, $A = 0,17$, окуляром $\times 15$. На каждом из участков исследовали микротвердость 3–4 трабекул. Число исследовавшихся трабекул определяли плотностью их расположения в изучаемой области.

Собственно методика исследования микротвердости по Виккерсу состоит в следующем. Избранную трабекулу при помощи микрометрических винтов выводят в центр поля зрения, после чего столик микроскопа

разворачивают на 180° , избранный участок оказывается точно под пирамидкой индентора. Индентор приводят в рабочее положение, под действием груза он погружается в кость. Экспозиция кости под грузом во всех случаях была стандартной – 2 сек. После подъема индентора столик возвращали в исходное положение. Величину диагоналей полученного отпечатка измеряли окуляр-микрометром АМ9-2М. Масштаб измерений определяли по эталонному препарату. Расчеты производили по формуле Виккерса:

$$H_v = 1,8544 \times p/d^2,$$

где H – микротвердость, p – нагрузка на индентор, d – диагональ отпечатка индентора. В качестве значения d при расчете микротвердости вводили среднюю арифметическую по величинам диагоналей отпечатков индентора на трабекулах изучаемого участка. Полученные данные заносили в таблицу и анализировали.

2.6.5 Растровая электронная микроскопия со спектрометрическим анализом

На основании большого числа исследований была показана связь степени минерализации костной ткани и ее прочности. Анализ минеральной насыщенности кости направлен на определение содержания в ней Са и Р как основных компонентов костной ткани, преимущественно представленной кристаллами гидроксиапатита [229], химический состав, которого соответствует формуле $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$. Он проводится либо химическими методами, либо с использованием спектроскопии. Учитывая наибольшую точность при исследовании, был выбран метод спектрометрии.

Для электронной микроскопии проводили дегидратацию путем экспозиции в растворах спирта с возрастающей концентрацией. Дегидратированные препараты заливали эпоксидной смолой и направляли на подготовку к электронной микроскопии. Срезы препарата для исследований

изготовлены на станке для малодеформационного резания металлов и керамик Minitom (Struers, Дания) при скорости вращения диска 60 об/мин. Плоскость распила пересекала область имплантации, таким образом был осуществлен доступ для изучения границы «кость – пластический материал». Образцы толщиной 10–15 мм были закреплены на предметных столиках с помощью токопроводящего углеродного скотча, затем в напылительной установке Q150T ES (Quorum Technologies, Великобритания) был нанесен слой золота толщиной 10 нм.

Подготовленные препараты с имплантатами были анализированы на сканирующем электронном микроскопе Carl Zeiss EVO50 (Carl Zeiss AG, Германия). Структурные исследования проводили при ускоряющем напряжении 5 кВ в режиме регистрации вторичных электронов.

2.7 Получение остеотрансплантата и его характеристика

Основой для создания остеотрансплантатов служили хондротрансплантаты, изготовленные из культивированных хондробластов, извлеченных в стерильных условиях из позвоночника новорожденного мини-пига. Выделение клеток из ткани, культивирование хондробластов, формирование хондротрансплантата осуществляли согласно методикам, указанным в патентах (Пат. № 2285039 РФ: МПК C12N 5/06. – № 2004120645; заявл. 06.07.2004; опубл. 10.10.2006, Бюл. № 28. Пат. № 2392973 РФ: МПК A61L27/38 – № 2008103109/15; заявл. 28.01.2008; опубл. 27.06.2010, Бюл. № 18.).

В стерильных условиях ламинарного шкафа выделили межпозвонковые диски позвоночника. Материал дважды промывали раствором фосфатного буфера и измельчали в чашке Петри скальпелем. Кусочки переносили в пробирки с раствором 1,5 % коллагеназы в среде RPMI-1640 с добавлением 20 % FBS, инкубировали в течение 12 ч. Далее суспензию дважды промывали от коллагеназы раствором фосфатного буфера. Клетки ресуспензировали в PBS. Жизнеспособность клеток оценивали с помощью красителя

трипанового синего в счетной камере Горяева. Выделенные хондробласты культивировали в условиях инкубатора при 37 °С при 90 % влажности и 5 % CO₂ в чашках Петри в культуральной среде RPMI-1640 с добавлением 20 % FBS и гентамицином 1 г/л в течение 3–4 недель. Далее производили пассирование клеток с помощью смеси растворов 0,25 % трипсина и 0,02 % раствора ЭДТА. Клетки центрифугировали при 2000 об/мин в течение 10 мин. Клеточный агрегат культивировали в 6-луночной планшете с питательной средой и 10 % FBS. Направленную остеогенную дифференцировку осуществляли на основе хондротрансплантата при помощи остеоиндуктивной среды на основе DMEM-F12 с 15 % FBS, стрептомицином, пенициллином, амфотерицином В и индукторами остеогенной дифференцировки клеток: 10 мМ/л 6-глицерофосфата, 100 нМ/л дексаметазона и 0,2 мМ/л аскорбиновой кислоты по методу, описанному в патенте (Пат. № 2574942 РФ: МПК А61L27/24, А61L27/38, А61K35/28, А61P19/00. – № 2014145384/15; заявл. 11.11.2014; опубл. 10.02.2016, Бюл. № 4.) Остеогенную дифференцировку клеток остеотрансплантата подтверждали методами традиционной морфологии, электронной микроскопии, иммуногистохимии, соответствующими антителами. В результате получили остеотрансплантаты округлой формы и размером около 5 мм в диаметре.

Остеотрансплантат по своей структуре представляет собой конгломерат остеогенных клеток и матрикс, содержащий тканеспецифические белки предкостной ткани, минеральные компоненты в виде матричных пузырьков и кальцификатов, щелочной фосфатазы и сосудистой эндотелиальной выстилки. Подобная структурная композиция остеотрансплантата, по существу, является аналогом эмбриональной костной ткани.

В остеотрансплантате иммуногистохимически была выявлена экспрессия коллагена I типа, фибронектина, остеоонектина, CD44 и изолектина В4, фактора Виллебранта – маркеров эндотелиальных клеток. В центральной части трансплантата в единичных клетках экспрессировался

коллаген II типа, агрекан, что является признаком продолжающегося процесса трансдифференцировки.

Упаковку остеотрансплантатов для транспортировки в операционную вивария осуществляли стерильно в ламинарном шкафу. В стерильных условиях остеотрансплантаты поштучно укладывали в пластиковые пробирки с добавлением 2 мл питательной среды. Пробирки помещали в термосумку с постоянным поддержанием температуры 36°C.

2.8 Статистическая обработка данных

Показатели, собранные в ходе исследования, были представлены с использованием описательной статистики. Ввиду малого размера выборок ($n = 20$), интервальные переменные представлены в виде непараметрических статистик, для чего были рассчитаны медианы и квартили.

Сравнение групп по количественным показателям проведено при помощи непарного рангового непараметрического критерия Манна – Уитни.

В случае одной пары сравнений различия считали статистически значимыми при уровне значимости менее установленного значения 0,05. В случае множественных сравнений различия считали значимыми при учете поправки Бонферрони: для пяти пар сравнения пороговый уровень альфа принимали равным $0,05/5 = 0,01$; для шести пар сравнений пороговый уровень альфа принимали равным $0,05/6 = 0,008333$; для семи пар сравнений альфа принимали равным $0,05/7 = 0,00714$.

Статистический анализ был проведен с использованием программного обеспечения IBM SPSS Statistics (версия 21.0).

Глава 3 РЕЗУЛЬТАТЫ ВНУТРИГРУППОВЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

При выполнении контрольных исследований во всех полученных материалах от лабораторных животных визуализировались установленные метки (фрагмент спицы) над реципиентным ложем, место выполнения имплантации пластического материала.

В группах 1, 2 и 3 рентгенологическое и гистологическое исследование проводили в сроки 14, 30, 90 и 180 сут, при этом было выявлено значительное отличие полученных результатов. В группе 1 произошла перестройка остеотрансплантата, в группе 2 процесс формирования костной ткани на основе костного аутоотрансплантата все еще продолжался, в группе 3 произошла консолидация перелома. Учитывая выявленные особенности регенерации костной ткани в срок 90 сут, были дополнительно проведены исследования микротвердости и электронная микроскопия со спектрометрическим анализом. В связи с выявленными данными при исследовании материалов в группах 1, 2 и 3, было принято решение о выполнении полного объема запланированных исследований в группах 4 и 5 только в срок 90 сут.

3.1 Результаты эксперимента в группе 1

Оценены результаты эксперимента для группы животных с операцией: формирования костного дефекта тела позвонка и пластическим замещением дефекта остеотрансплантатом.

3.1.1 Результаты МСКТ-контроля

Через 14 сут во всех препаратах этого срока определялся костный дефект округлой формы по вентральной поверхности тел позвонков размером 5×5 мм. Края дефекта имели ровные, контуры четкие. Остеотрансплантат прилегал к краям дефекта, его структура и контуры в реципиентном ложе определялись слабо. Признаки слияния

остеотрансплантата и реципиентного ложа отсутствовали, что соответствовало 4-му типу по классификации Тап. (рисунок 21).

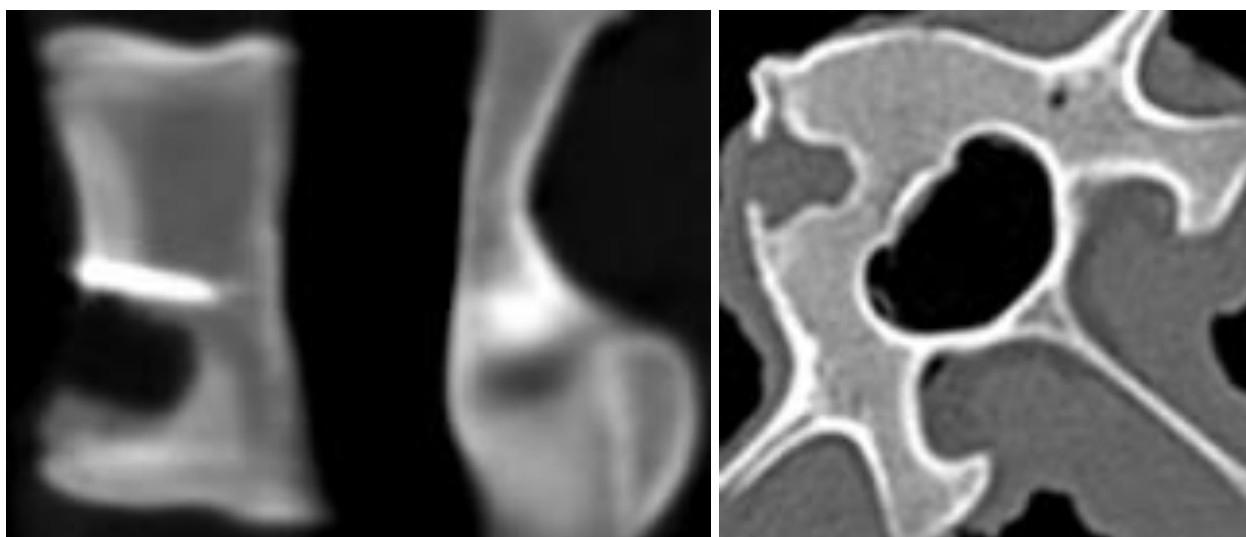


Рисунок 21 – МСКТ позвонка с дефектом костной ткани, замещенным остеотрансплантатом в срок 14 сут

Через 30 сут остеотрансплантат располагался в центральной части костного дефекта и плотно прилегал к его краям. Структура остеотрансплантата определялась как неоднородная, с преобладанием участков уплотнения над участками разрежения. В реципиентном ложе, контактирующем с трансплантатом, значительных изменений структуры выявлено не было. Контуры остеотрансплантата и реципиентного ложа визуально определялись. В препаратах этого срока уже определялось частичное слияние трансплантата с ложем, что соответствовало 3-му типу по классификации Тап (рисунок 22).

Через 90 сут дефект костной ткани тела позвонка был заполнен однородной костной тканью. Структура костной ткани на месте остеотрансплантата определялась как однородная, была подобна структуре реципиентного ложа, контуры реципиентного ложа и остеотрансплантата не определялись. Отчетливо выявлялось слияние костных трабекул трансплантата с трабекулами реципиентного ложа по всей площади дефекта, что соответствовало 1-му типу по классификации Тап (рисунок 23).

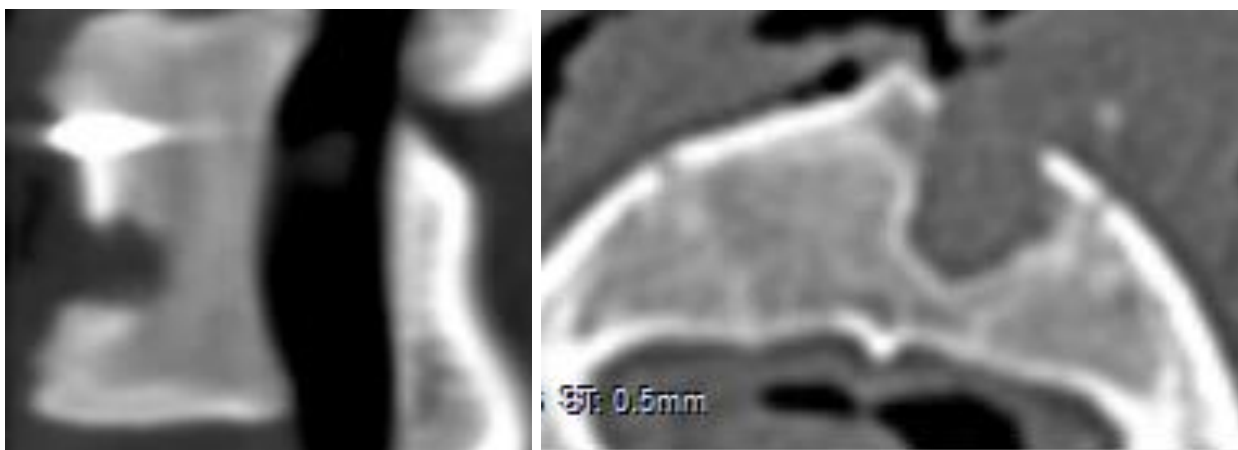


Рисунок 22 – МСКТ позвонка с дефектом костной ткани, замещенным остеотрансплантатом в срок 30 сут

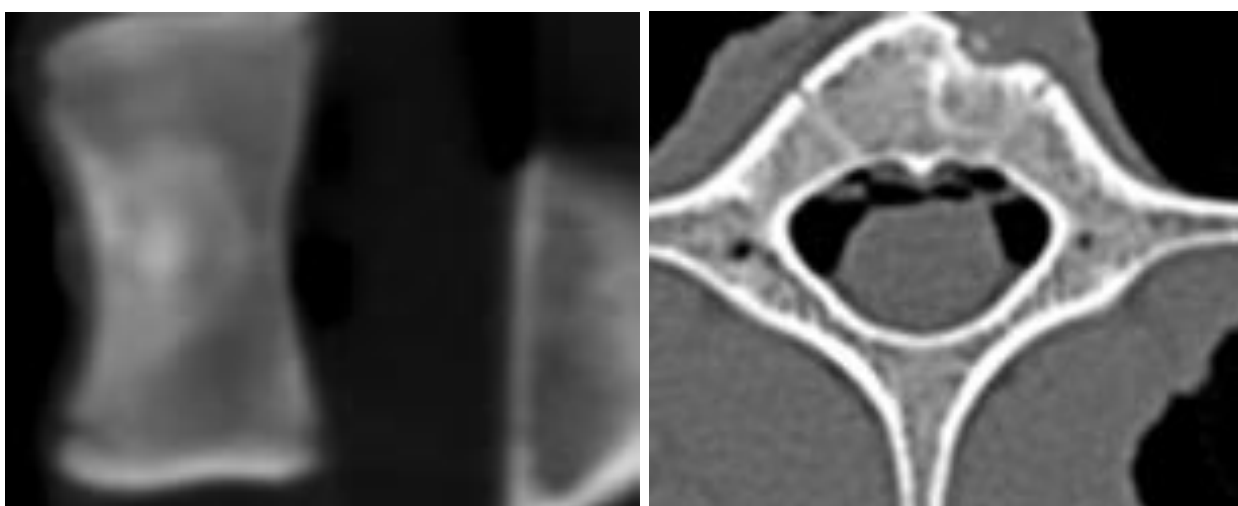


Рисунок 23 – МСКТ позвонка с дефектом костной ткани, замещенным остеотрансплантатом в срок 90 сут

Через 180 сут область бывшего дефекта была заполнена костной тканью с общей однородной трабекулярной структурой. В области пластического замещения сформировалась однородная органоспецифическая костная ткань, отмечалась полная интеграция с реципиентным ложем, была хорошо выражена единая вентральная компактная пластинка на месте пластического замещения дефекта тела позвонка. Гетеротопической оссификации в области пластического замещения не выявлено. Стадия

образования регенерата соответствовала 1-му типу по классификации Тап (рисунок 24).

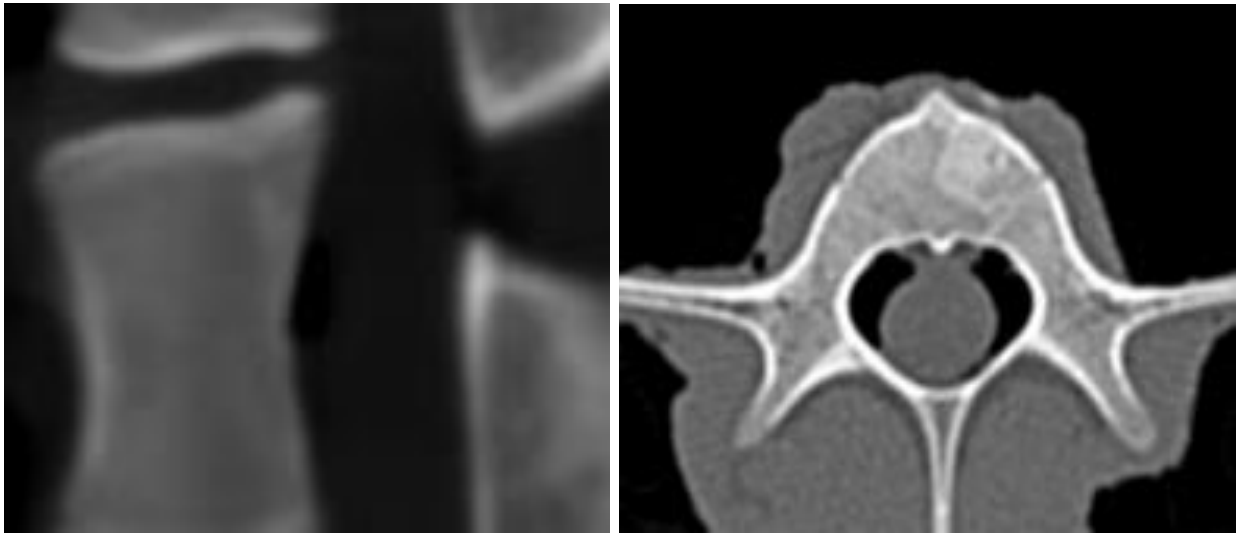


Рисунок 24 – МСКТ позвонка с дефектом костной ткани, замещенным остеотрансплантатом в срок 180 сут

3.1.2 Исследование рентгеноплотности костной ткани

Через 14 сут во всех точках остеотрансплантата данные рентгеноплотности костной ткани были минимальными и не соответствовали костной ткани. Так, для 1-й точки полученное значение составило 184 HU (таблица 2), что сходно с таковыми значениями внутри трансплантата во 2-й и 3-й точках, при этом значимых различий выявлено не было ($P > 0,0083$; $P > 0,0083$ с учетом поправки Бонферрони соответственно). Наибольшее значение имела 4-я точка – 1072 [1043; 1100] HU, что в среднем в 5,81 раза превышает значения, полученные в остальных точках; данное различие оценено как статистически значимое ($P < 0,0083$ с учетом поправки Бонферрони). Общий показатель рентгеноплотности остеотрансплантата – 184 [161; 208] HU, что соответствовало 4-му типу по классификации Misch.

Таблица 2 – Данные исследования рентгеноплотности костной ткани в группе 1

Наименование показателя	Через 14 сут (n = 2)	Через 30 сут (n = 4)	Через 90 сут (n = 12)	Через 180 сут (n = 2)
Точка 1, HU	184 [166; 203]*	370 [326; 418]*	1029 [986; 1082]	1061 [1025; 1131]
Точка 2, HU	184 [169; 213]*	375 [351; 415]*/**	1069 [998; 1108]	1084 [1055; 1102]
Точка 3, HU	185 [150; 211]*	342 [308; 361]*/***	1031 [981; 1097]	1064 [1029; 1143]
Общий показатель, HU	184 [161; 208]*	370 [326; 418]*	1047 [993; 1105]	1068 [1037; 1118]
Точка 4, HU	1072 [1043; 1100]	1009 [975; 1082]	1072 [998; 1161]	1074 [1064; 1100]
Тип по классификации Misch (регенерат)	4	3	2	2
Тип по классификации Misch (позвонок)	2	2	2	2

Данные представлены в виде $Me [Q25; Q75]$. Результаты оценены с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни с поправкой Бонферрони как статистически значимые ($P < 0,008333$): * – результат является статистически значимым по отношению к 4-й точке; ** – результат является статистически значимым внутри трансплантата по отношению к 3-й точке; *** – результат является статистически значимым внутри трансплантата по отношению ко 2-й точке

Через 30 сут, оценивая рентгеноплотность для группы 1 эксперимента, отмечали равномерное изменение рентгеноплотности остеотрансплантата независимо от расположения точки относительно реципиентного ложа. Внутри трансплантата, между 2-й и 3-й точками, разрыв значений составил 0,91 раза (таблица 2), что является статистически значимым различием ($P < 0,008333$ с учетом поправки Бонферрони). В то же время разрыв между значениями в 1-й точке и значениями во 2-й и 3-й точке, составивший 0,98 и 0,92 соответственно, признан незначимым различием ($P > 0,008333$; $P > 0,008333$ с учетом поправки Бонферрони). Максимальные значения рентгеноплотности выявлены в точке 4 – 1009 [975; 1082] HU, данные рентгеноплотности значительно выше, чем в точках 1, 2 и 3, в 2,72 раза, 2,69 раза и 2,95 раза соответственно ($P < 0,008333$ с учетом поправки

Бонферрони). Подтверждает полученные результаты то, что общий показатель рентгеноплотности остеотрансплантата – 370 [326; 418] HU, соответствующий 3-му типу по классификации Misch, в 2,73 раза был ниже показателя рентгеноплотности тела позвонка ($P < 0,008333$ с учетом поправки Бонферрони).

Через 90 сут показатели рентгеноплотности остеотрансплантата в контрольных точках (1, 2 и 3) трансплантата достигли показателей плотности костной ткани тела позвонка в точке 4 – 1072 [998; 1161] HU ($P > 0,008333$; $P > 0,008333$; $P > 0,008333$ соответственно с учетом поправки Бонферрони; таблица 2). Общий показатель рентгеноплотности остеотрансплантата – 1047 [993; 1105] HU также значимых различий с показателем плотности тела позвонка не имел ($P > 0,008333$ с учетом поправки Бонферрони), соответствовал 2-му типу по классификации Misch.

Через 180 сут рентгеноплотность области пластического замещения остеотрансплантатом в точках 1, 2 и 3 соответствовала показателям рентгеноплотности тела позвонка 4 – 1074 [1064; 1100] HU ($P > 0,008333$, $P > 0,008333$, $P > 0,008333$ соответственно с учетом поправки Бонферрони; таблица 2). Рентгеноплотность остеотрансплантата соответствовала костной ткани тела позвонка. В подтверждение общий показатель рентгеноплотности остеотрансплантата – 1068 [1037; 1118] HU незначительно отличался от точки 4, всего на 6 HU, являлся также статистически не значимым ($P > 0,008333$ с учетом поправки Бонферрони) и соответствовал 2-му типу по классификации Misch.

3.1.3 Исследование морфологии костной ткани

Через 14 сут после пластики зона бывшего дефекта была представлена примитивными костными структурами трабекулярного строения. Костные трабекулы окружены остеобластами, местами многорядными. В центральных отделах структура костных трабекул имела более зрелый характер, они более структурированы, но это примитивная грубоволокнистая костная ткань с

неравномерным расположением остеобластов внутри костных балок. Между образованными и формирующимися костными структурами располагалась рыхлая соединительная (остеогенная) ткань и разной зрелости сосуды. На периферии в области дефекта костной ткани примитивные костные структуры тесно прилегали к реципиентному ложу, наблюдалось соединение сформированных костных балок с деформированными в результате формирования дефекта отломками костных балок реципиента. Гемопоэтическая ткань в регенерате отсутствовала (рисунок 25).

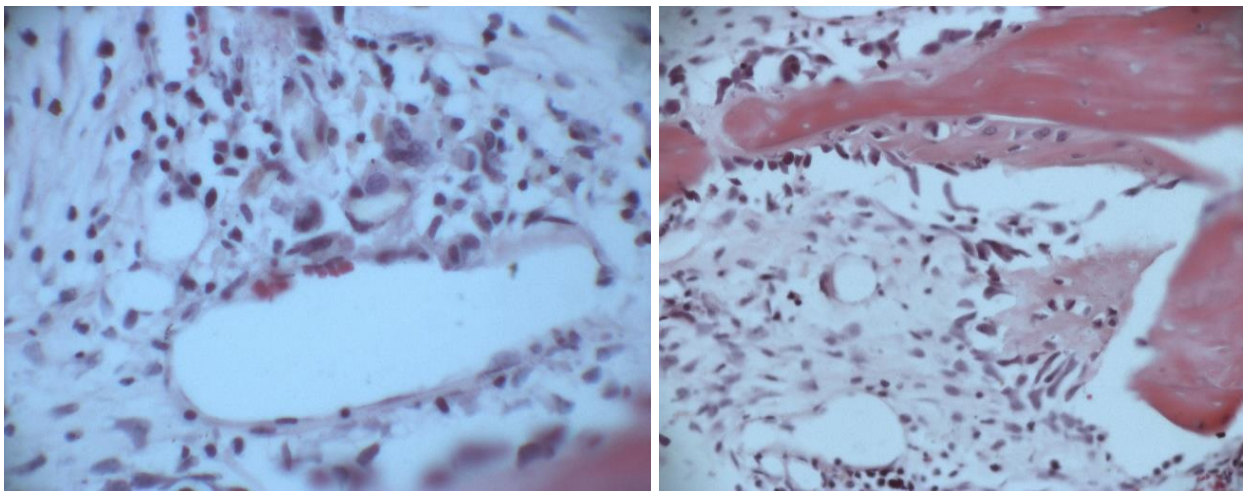


Рисунок 25 – Данные световой микроскопии при регенерации дефекта тела позвонка на основе остеотрансплантата (группа 1); срок 14 сут после имплантации; окраска гематоксилин-эозином, x200

Через 30 сут зона бывшего дефекта заполнена молодой костной тканью балочного строения. На границе остеотрансплантата с реципиентным ложем произошла полная интеграция пластического материала путем формирования контактов между балками обоих образований. Вместе с тем активный остеогенез продолжался: костные трабекулы окружены остеобластами, в некоторых участках располагавшихся все еще многослойно. В межбалочных пространствах располагалась сосудистая сеть и рыхлая соединительная ткань, миелоидный костный мозг отсутствовал. В центральных отделах остеотрансплантата костная ткань была менее структурирована, на

периферии трабекулы располагались регулярно. Из трансплантата в область реципиентного ложа внедрялась остеогенная ткань, и на поверхности костных отломков, образованных при формировании дефекта, откладывалась костная ткань (рисунок 26).

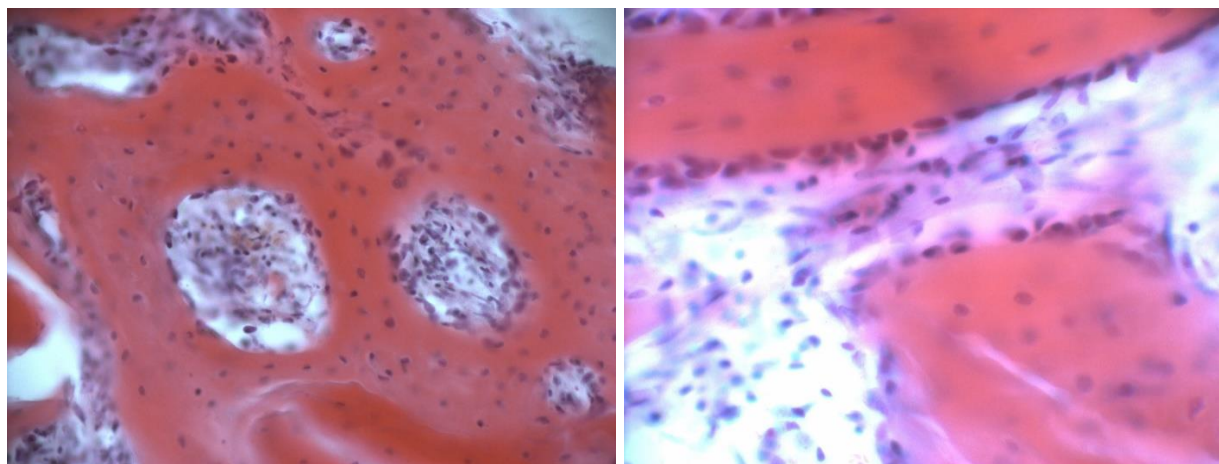


Рисунок 26 – Данные световой микроскопии при регенерации дефекта тела позвонка на основе остеотрансплантата (группа 1); срок 30 сут после имплантации; окраска гематоксилин-эозином, x200

Через 90 сут зона дефекта заполнена костной тканью балочного строения. Границы между бывшим дефектом и сформированным регенератом не определялись. Костные структуры в центральных отделах дефекта находились в состоянии перестройки. Остеобласты располагались нерегулярно, но равномерно распределялись внутри костных трабекул. Между костными трабекулами располагался красный костный мозг. Произошла полная регенерация дефекта органоспецифической костной тканью (рисунок 27).

По данным контроля, через 180 сут зону бывшего дефекта установить не удалось. Произошла полная интеграция регенерата с реципиентным ложем (рисунок 28).

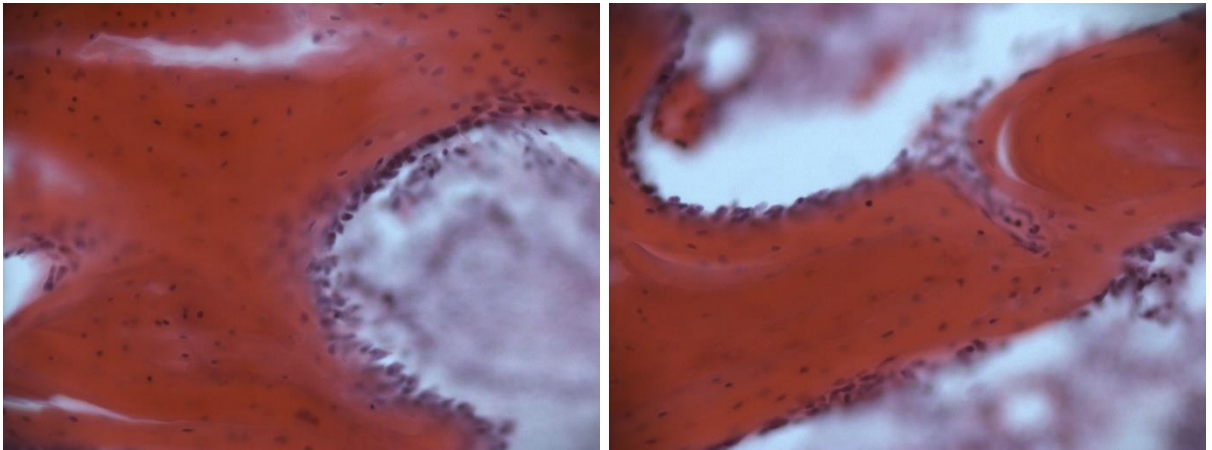


Рисунок 27 – Данные световой микроскопии при регенерации дефекта тела позвонка на основе остеотрансплантата (группа 1); срок 90 сут после имплантации; окраска гематоксилин-эозином, x200

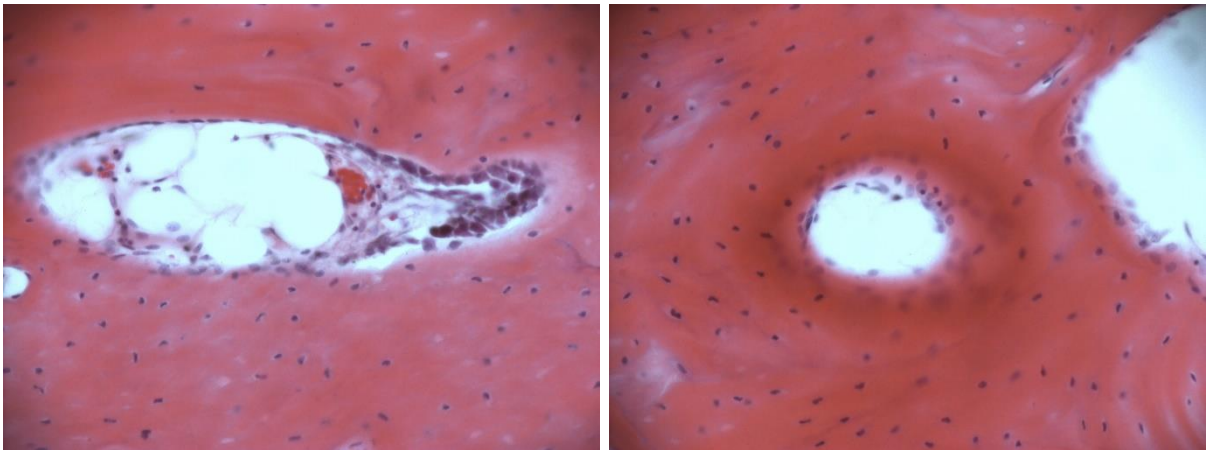


Рисунок 28 – Данные световой микроскопии при регенерации дефекта тела позвонка на основе остеотрансплантата (группа 1), срок 180 сут после имплантации; окраска гематоксилин-эозином, x200

3.1.4 Исследование микротвердости

Показатели микротвердости (HV) одинаковы во всех точках остеотрансплантата, где разница в среднем между точками 1, 2 и 3 составила 0,53 HV ($P > 0,008333$, $P > 0,008333$, $P > 0,008333$ с учетом поправки Бонферрони между точками 1 и 2, 1 и 3, 2 и 3 соответственно). Микротвердость регенерата в этот срок отличалась от микротвердости тела позвонка в среднем в 1,02 раза (на 2,63 HV) в пользу точки 4 ($P > 0,008333$,

$P > 0,008333$, $P > 0,008333$ с учетом поправки Бонферрони для точек 1, 2 и 3 соответственно). Общие показатели в 1,03 раза (2,95 HV) ниже таковых для тела позвонка ($P > 0,008333$ с учетом поправки Бонферрони), что свидетельствует об одинаковой микротвердости тела позвонка и регенерата (таблица 3).

Таблица 3 – Данные исследования микротвердости костной ткани в группе 1

Срок имплантации	Точка 1, HV	Точка 2, HV	Точка 3, HV	Общий показатель, HV	Точка 4, HV
90 сут (n = 12)	89,3 [87,1;93,1]	88,5 [86,8; 90,8]	88,9 [86,9; 92,6]	88,95 [86,8; 93,10]	91,9 [89,1; 94,1]

Данные представлены в виде Me [Q25; Q75]. Результаты оценены с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни с поправкой Бонферрони как статистически значимые ($P < 0,008333$)

3.1.5 Данные спектрометрии

При изучении данных спектрометрии значения Ca/P показателям остеотрансплантата между точками 1, 2 и 3 существенных различий не имели ($P > 0,008333$, $P > 0,008333$, $P > 0,008333$ с учетом поправки Бонферрони между точками 1 и 2, 1 и 3, 2 и 3 соответственно), что может говорить о равномерно протекающем процессе минерализации во всех зонах остеотрансплантата. Также к 90 сут не имелось существенных различий между показателями трансплантата и телом позвонка ($P > 0,008333/0,008333$, $P > 0,008333/0,008333$, $P > 0,008333/0,008333$ с учетом поправки Бонферрони для точек 1, 2, 3 и общих показателей соответственно; таблица 4).

Таблица 4 – Данные исследования спектрометрии костной ткани в группе 1

Наименование показателя	Через 90 сут (n = 12)	
	Спектрометрия Са, %	Спектрометрия Р, %
Точка 1	17,72 [16,22;18,72]	13,95 [13,16; 15,1]
Точка 2	17,75 [16,59; 18,57]	14,08 [12,71; 15,84]
Точка 3	17,09 [15,81; 18,2]	14,16 [12,71; 15,23]
Общий показатель	17,44 [16,22; 18,57]	14,07 [12,94; 15,24]
Точка 4	18,17 [17,32; 19,42]	14,54 [13,39; 16,71]

Данные представлены в виде Me [Q25; Q75] (n = 12). Результаты оценены с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни с поправкой Бонферрони как статистически значимые (P < 0,008333)

3.2 Результаты эксперимента для группы 2

Оценены результаты эксперимента для группы животных в случае с операцией формирования костного дефекта тела позвонка и его пластическим замещением костным аутотрансплантатом.

3.2.1 Результаты МСКТ-контроля

Через 14 сут четко определялись границы реципиентного ложа и костного аутотрансплантата, который полностью заполнял его и плотно прилегал к краям. Структуры костного аутотрансплантата и реципиентного ложа однородны по всей их площади. Слияния не отмечалось. Состояние трансплантата соответствовали 4-му типу по классификации Тап (рисунок 29).

Через 30 сут костный аутотрансплантат полностью заполнял реципиентное ложе. Контуры пластического материала и ложа стали менее четкими, неровными. Структура костного аутотрансплантата приобрела неоднородность, с преобладанием участков разрежения над участками уплотнения по периферии и появлением редких участков разрежения в центральной части.

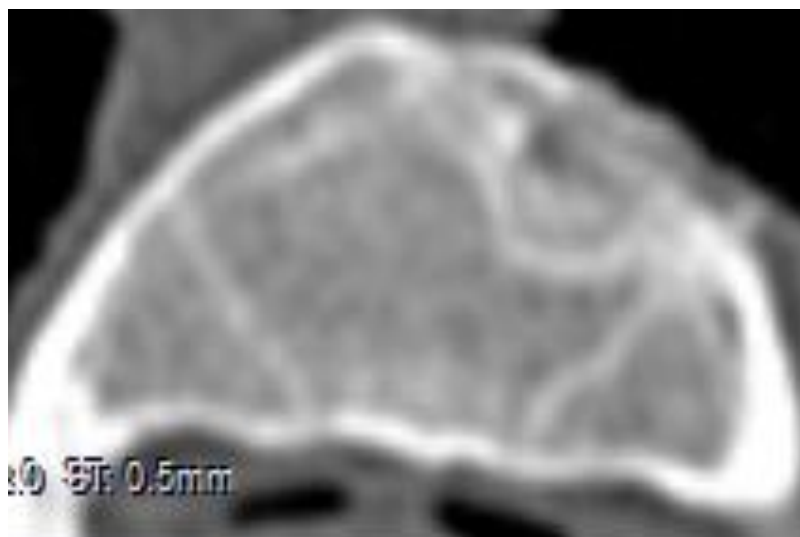


Рисунок 29 – МСКТ позвонка с дефектом костной ткани, замещенным костным аутографтом в срок 14 сут

Данная картина может означать активно протекающую резорбцию преимущественно по периферии костного аутографта и начало процесса резорбции в его центральной части. Слияния графта с реципиентным ложем не отмечалось, что соответствовало 4-му типу по классификации Тап (рисунок 30).

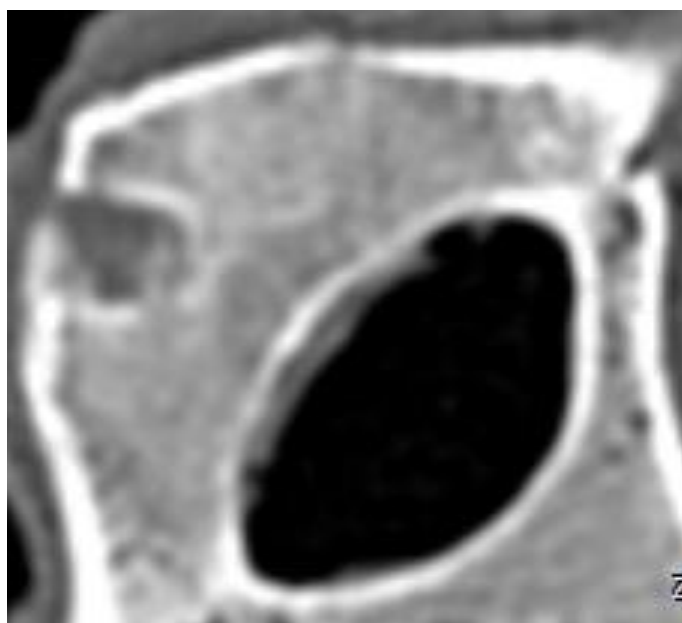


Рисунок 30 – МСКТ позвонка с дефектом костной ткани, замещенным костным аутографтом в срок 30 сут

Через 90 сут костный ауто трансплантат заполнял все реципиентное ложе, их контуры в местах слияния не дифференцировались по причине слияния. Структура костного ауто трансплантата оставалась неоднородной, в центральной части зоны разрежения преобладали над зонами уплотнения. Произошло слияние трансплантата с ложем по периферии, но в центральной части процессы резорбции и остеогенеза в данный срок продолжают. Стадия формирования регенерата соответствовала 2-му типу по Тап (рисунок 31).

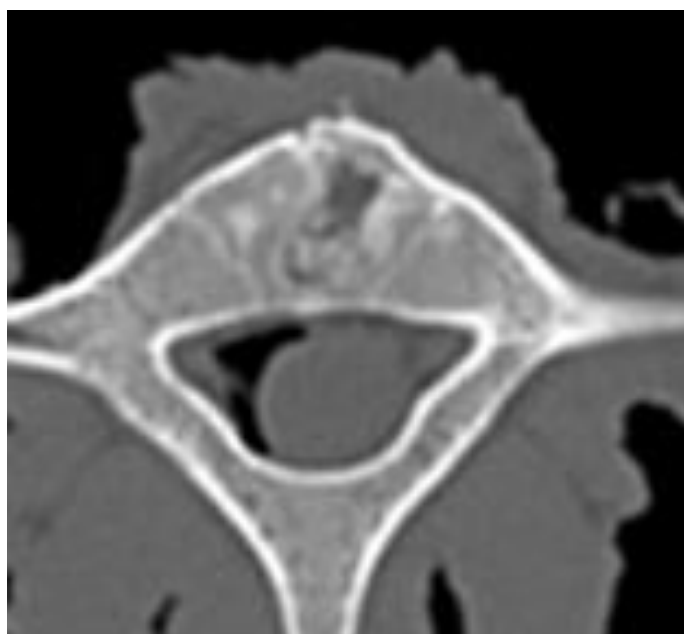


Рисунок 31 – МСКТ позвонка с дефектом костной ткани, замещенным костным ауто трансплантатом в срок 90 сут

Через 180 сут контуры трансплантата и реципиентного ложа не дифференцировались. Вентральный конур тела позвонка в области бывшего дефекта неровный за счет образованной костной мозоли. Структура регенерата однородна, прослеживался переход трабекул из ложа в трансплантат, что соответствовало 1-му типу по классификации Тап (рисунок 32).



Рисунок 32 – МСКТ позвонка с дефектом костной ткани, замещенным костным ауто трансплантатом в срок 180 сут

3.2.2 Исследование рентгеноплотности костной ткани

Через 14 сут в области пластического замещения костным ауто трансплантатом в точках 1, 2 и 3 данные рентгеноплотности соответствуют костной ткани, с равнозначными показателями во всех областях ($P > 0,008333$, $P > 0,008333$, $P > 0,008333$ с учетом поправки Бонферрони между точками 1 и 2, 1 и 3, 2 и 3 соответственно; таблица 5),

Максимальные значения рентгеноплотности выявлены в точке 4 – 1065 [993; 1104] HU, которая соответствует телу позвонка, в среднем выше показателей внутри трансплантата в 2,02 раза ($P < 0,008333$ с учетом поправки Бонферрони) для всех точек. По отношению к общему показателю рентгеноплотности костного ауто трансплантата, соответствующему 3-му типу по классификации Misch для зоны регенерата, данные в точке 4 оказались в 2,00 раза выше ($P < 0,008333$ с учетом поправки Бонферрони).

Таблица 5 – Данные исследования рентгеноплотности костной ткани в группе 2

Наименование показателя	Через 14 сут (n = 2)	Через 30 сут (n = 4)	Через 90 сут (n = 12)	Через 180 сут (n = 2)
Точка 1, HU	543 [491; 599]*	514 [465; 551] */**/**	610 [586; 654] */**/**	1064 [1008; 1124]
Точка 2, HU	508 [392; 581]*	374 [352; 449]*	908 [870; 936]*/**	1082 [1049; 1107]
Точка 3, HU	532 [436; 596]*	443 [356; 492]*	761 [715; 809] */**	1071 [1029; 1133]
Общий показатель, HU	532 [458; 596]*	449 [369; 508]*	761 [638; 898]*	1071 [1029; 1119]
Точка 4, HU	1065 [993; 1104]	922 [877; 986]	973 [912; 1075]	1044 [1020; 1127]
Тип по классификации Misch (регенерат)	3	3	3	2
Тип по классификации Misch (позвонок)	2	2	2	2

Данные представлены в виде Me [Q25; Q75]. Результаты оценены с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни с поправкой Бонферрони как статистически значимые ($P < 0,008333$): * – результат является статистически значимым по отношению к 4-й точке; ** – результат является статистически значимым внутри трансплантата по отношению к 3-й точке; *** – результат является статистически значимым внутри трансплантата по отношению ко 2-й точке, что достоверно свидетельствует об отсутствии процесса перестройки трансплантата и является статистически значимым различием ($P = 0,00000000000001$; $P = 0,00000000000001$; $P = 0,00000000000001$ соответственно по отношению к точке 4)

Через 30 сут отмечается наибольшее снижение рентгеноплотности костного аутотрансплантата в точке 2 – 374 [352; 449] HU (таблица 5), при этом незначительное снижение относительно срока 14 сут выявлено в точках 1 – 514 [465; 551] HU и 3 – 443 [356; 492] HU. Статистически выделяется точка 1, соответствующая центру пластического материала, ее показатели менее всего снизились с момента контроля на 14-е сут, значения в среднем выше в 1,27 раз таковых в точках 2 и 3 ($P < 0,008333$, $P < 0,008333$ с учетом поправки Бонферрони соответственно). Определяется незначительное изменение рентгеноплотности в теле позвонка 4 – 922 [877; 986] HU.

Значения в точке 4 в среднем в 2,11 раза превышают значения точек 1, 2 и 3 ($P < 0,008333$ с учетом поправки Бонферрони во всех случаях), в 2,05 раза выше общего показателя трансплантата ($P < 0,008333$ с учетом поправки Бонферрони). Полученные результаты показывают преобладание процессов резорбции по периферии трансплантата и менее выраженный процесс перестройки костной ткани в центральной части.

Через 90 сут во всех точках костного аутоотрансплантата проявляется увеличение его рентгеноплотности относительно срока 30 сут с максимальным значением в точке 2 – 908 [870; 936] HU ($P < 0,008333$ относительно значений внутри трансплантата с учетом поправки Бонферрони; таблица 4), которая достигла показателя тела позвонка в точке 4 – 973 [912; 1075] HU, однако их статистические различия все еще оставались значимыми ($P < 0,008333$ с учетом поправки Бонферрони). Наименьшие значения определяются в точках 1 – 610 [586; 654] HU и 3 – 761 [715; 809] HU, в среднем в 1,44 раза меньше таковых в точке 4 ($P < 0,008333$ $P < 0,008333$ с учетом поправки Бонферрони соответственно). При этом внутри трансплантата показатели точки 1 значительно, в среднем на 225 HU, ниже, чем во 2-й и 3-й точках ($P < 0,008333$, $P < 0,008333$ с учетом поправки Бонферрони, соответственно). Распределение рентгеноплотности с ее увеличением в точке 2 соответствует формированию костной ткани, идентичной телу позвонка в зоне, прилегающей к реципиентному ложу, и в центральной части костного аутоотрансплантата, а также в зоне, не контактирующей с ложем. Таким образом, можно сказать, что созревание регенерата продвигается от периферии к центру. Значимость различий подтверждается отношением между общим показателем рентгеноплотности костного аутоотрансплантата и показателями рентгеноплотности в теле позвонка, которые в 1,28 раза выше ($P < 0,008333$ с учетом поправки Бонферрони).

Через 180 сут рентгеноплотность области имплантации костного аутоотрансплантата в точках 1, 2 и 3 имеет подобные значения ($P > 0,008333$,

$P > 0,008333$, $P > 0,008333$ с учетом поправки Бонферрони между точками 1 и 2, 1 и 3, 2 и 3 соответственно; таблица 4) и соответствует показателям рентгеноплотности тела позвонка в точке 4 – 1044 [1020; 1127] НУ ($P > 0,008333$, $P > 0,008333$, $P > 0,008333$ с учетом поправки Бонферрони для точек 1, 2 и 3 соответственно). К этому сроку выявлена сформированная костная ткань во всех исследуемых зонах. Общий показатель рентгеноплотности костного аутотрансплантата 1071 [1029; 1119] НУ, что уже соответствует 2-му типу по классификации Misch для всех исследуемых зон; по отношению к точке 4 различия статистически незначимы ($P > 0,008333$ с учетом поправки Бонферрони).

3.2.3 Исследование морфологии костной ткани

Через 14 сут в области пластического замещения после операции определяли безостеоцитные костные фрагменты, которые имели как губчатое, так и компактное строение и полностью заполняли дефект в теле позвонка. По всей площади аутотрансплантата костные фрагменты связаны между собой нитями фибрина, их края неровные, зазубренные. Костные балки реципиентного ложа и костного аутотрансплантата безостеоцитные, местами подвергались остеокластической резорбции. Встречались участки организующейся гематомы (рисунок 33).

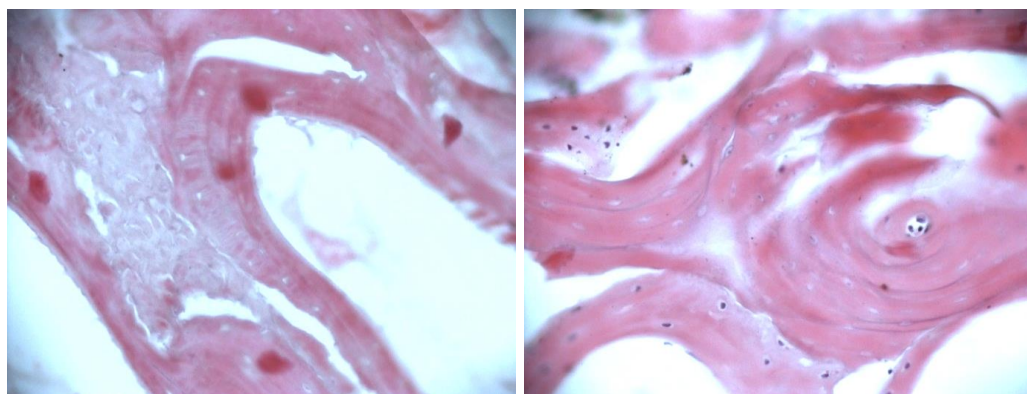


Рисунок 33 – Данные световой микроскопии при регенерации дефекта тела позвонка на основе костного аутотрансплантата (группа 2); срок 14 сут после имплантации; окраска гематоксилин-эозином, x200

Через 30 сут в зоне замещения дефекта все еще видны частично лизированные путем остеокластической резорбции значительные участки костного аутотрансплантата. Резорбция более активно происходит по периферии. В центральной части костные балки также подвержены остеокластической резорбции, однако процесс менее выражен. Часть лизированных фрагментов костного аутотрансплантата представлена в виде свободных фрагментов, окруженных соединительной тканью. По периферии на поверхности резорбирующихся трабекул формировалась молодая костная ткань. Межбалочные промежутки заполнены соединительной тканью с большим количеством сосудов.

Вдоль всей поверхности реципиентного ложа уже сформирована широкая сеть новообразованных грубоволокнистых трабекул, которые распространяются от периферии в центр трансплантата. Они образуют обширную сеть, в которой местами замурованы небольшие фрагменты разрушающейся кости. В петлях этой сети сформированные молодые костные балки спаяны с фрагментами трансплантата (рисунок 34).

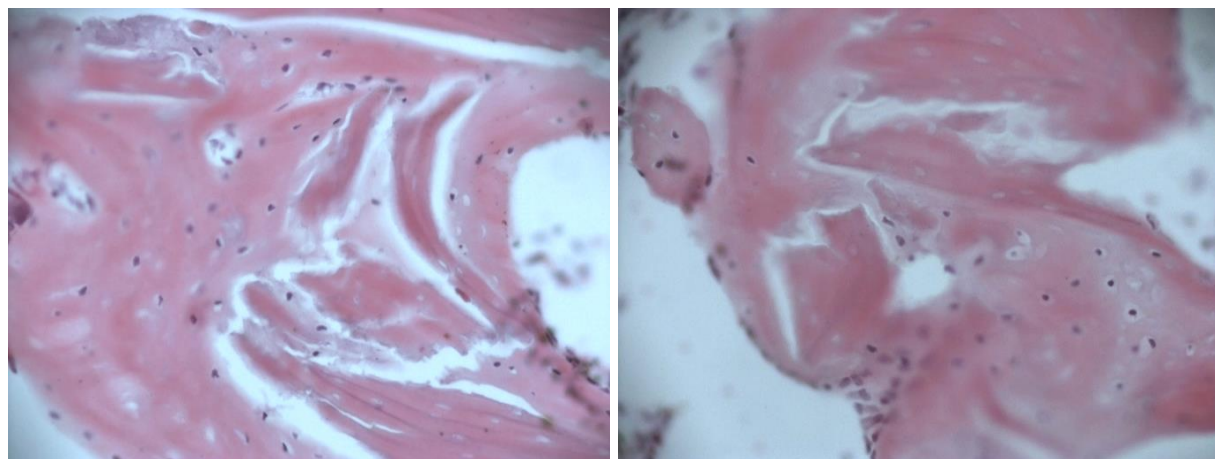


Рисунок 34 – Данные световой микроскопии при регенерации дефекта тела позвонка на основе костного аутотрансплантата (группа 2); срок 30 сут после имплантации; окраска гематоксилин-эозином, x200

Через 90 сут на вентральной поверхности тела позвонка отмечалось формирование кортикальной пластинки из грубоволокнистой кости с

широкими балками и многочисленными сосудами в них. В центральной зоне трансплантата фрагменты костного ауто трансплантата, костные балки, располагались в соединительной ткани. Встречались и фрагменты вновь образованной костной ткани, которая сформировалась на периферии в области реципиентного ложа и тесно прилегала к области дефекта костной ткани. Пространство между молодыми костными балками по периферии заполнено костным мозгом и сосудами. На стыке реципиентного ложа и трансплантата, продолжался активный остеогенез. В центральной части продолжались процессы резорбции и остеогенеза.

Морфологическая картина в срок 90 сут свидетельствует об отсутствии органоспецифической костной ткани в зоне костной ауто трансплантации (рисунок 35).

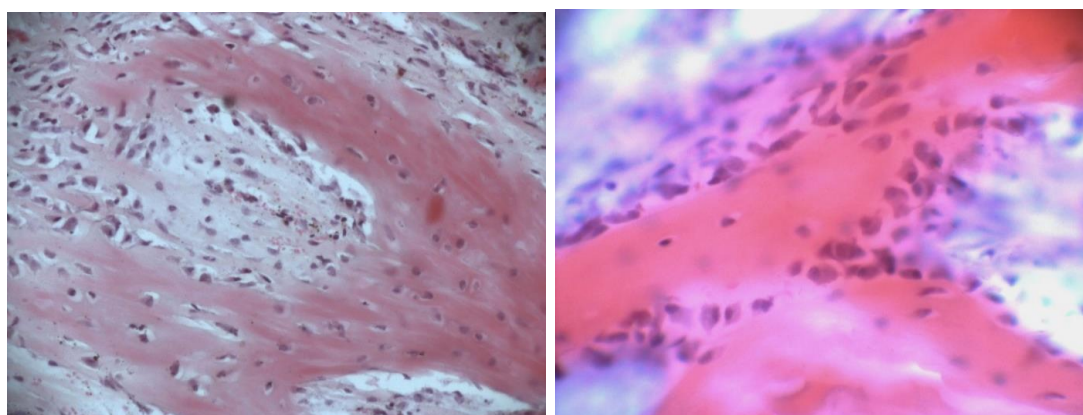


Рисунок 35 – Данные световой микроскопии при регенерации дефекта тела позвонка на основе костного ауто трансплантата (группа 2); срок 90 сут после имплантации; окраска гематоксилин-эозином, x200

Через 180 сут по вентральной поверхности тела позвонка в области дефекта сформирована кортикальная пластинка, по строению идентичная кортикальной пластинке тела позвонка, но отличающаяся от нее большей толщиной. Граница между реципиентным ложем и костным ауто трансплантатом нивелирована. Внутри бывшего дефекта образован массив костных балок органоспецифического строения, переходящих из тела

позвонка в область пластического замещения. Костномозговые пространства выполнены миелоидным костным мозгом (рисунок 36).

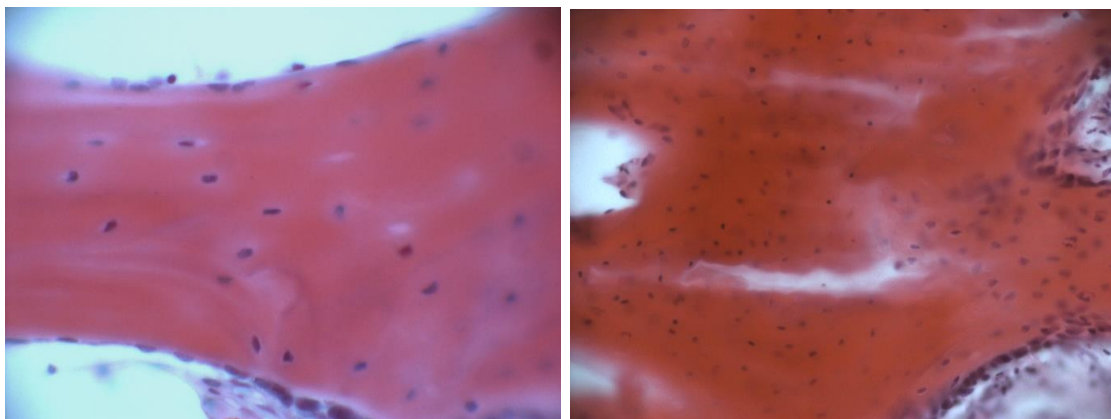


Рисунок 36 – Данные световой микроскопии при регенерации дефекта тела позвонка на основе костного аутотрансплантата (группа 2); срок 180 сут после имплантации; окраска гематоксилин-эозином, x200

3.2.4 Исследование микротвердости

В срок 90 сут с момента операции максимальные значения микротвердости отмечаются в точке 4 – 81,8 [80; 83,4] HV (таблица 6), которая обозначает тело позвонка. Следующая по показателям точка 2 имеет с точкой 4 различие лишь на 2,5 HV ($P > 0,008333$ с учетом поправки Бонферрони).

Таблица 6 – Данные исследования микротвердости костной ткани в группе 2

Срок наблюдения	Точка 1, HV	Точка 2, HV	Точка 3, HV	Общий показатель, HV	Точка 4, HV
90 сут (n = 12)	64,7 [59,1; 67,4] */**/**	79,3 [72,4; 82,1] */**	69,9 [67,3; 74,9] */**	71,00 [65,70; 76,30] *	81,8 [80; 83,4]

Данные представлены в виде Me [Q25; Q75]. Результат оценен с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни с поправкой Бонферрони как статистически значимый ($P < 0,008333$): * – результат является статистически значимым по отношению к 4-й точке; ** – результат является статистически значимым внутри трансплантата по отношению к 3-й точке; *** – результат является статистически значимым внутри трансплантата по отношению ко 2-й точке

Минимальные значения выявлены в точках 1 – 64,7 [59,1; 67,4] HV и 3 – 69,9 [67,3; 74,9] HV, которые находятся на равном удалении от реципиентного ложа. Эти величины не соответствуют микротвердости тела позвонка, что свидетельствует о продолжающемся процессе формирования костной ткани в точках, отдаленных от костного ложа ($P < 0,008333$; $P < 0,008333$ соответственно с учетом поправки Бонферрони). Регенерация дефекта тела позвонка в данном случае происходит от питающего реципиентного ложа к центральной части костного аутотрансплантата, в связи с чем показатель микротвердости в центральной точке наименее выражен по отношению к точкам 2 и 3 ($P < 0,008333$ $\$$ $P < 0,008333$ соответственно с учетом поправки Бонферрони).

3.2.5 Данные спектрометрии

При исследовании показателей Ca/P в срок 90 сут с момента операции выявлено, что по мере отдаления точек от реципиентного ложа отмечается их уменьшение, таким образом, наименьшее количество Ca/P выявлено в точке 1 – 9,89 [9,11; 10,91]/ 6,89 [5,81; 8,03] % и 3 – 11,51 [10,84; 12,89]/7,36 [6,79; 8,25] % (таблица 7).

Таблица 7 – Данные исследования спектрометрии костной ткани в группе 2

Наименование показателя	Через 90 сут (n = 12)	
	Спектрометрия Ca, %	Спектрометрия P, %
Точка 1	9,89 [9,11; 10,91]*/**/***	6,89 [5,81; 8,03]*/**/***
Точка 2	14,79 [13,86; 15,21]*/**	10,97 [10,42; 11,74]*/**
Точка 3	11,51 [10,84; 12,89]*/**/***	7,36 [6,79; 8,25]*/**/***
Общий показатель	12,53 [10,02; 13,57]*	8,03 [6,89; 10,42]*
Точка 4	16,61 [15,19; 17,47]	13,87 [12,52; 14,9]

Данные представлены в виде $Me [Q25; Q75]$. Результаты оценены с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни с поправкой Бонферрони как статистически значимые ($P < 0,008333$): * – результат является статистически значимым по отношению к 4-й точке; ** – результат является статистически значимым внутри трансплантата по отношению к 3-й точке; *** – результат является статистически значимым внутри трансплантата по отношению ко 2-й точке

Наибольшее значение Ca/P костного аутотрансплантата выявлено в точке 2 – 14,79 [13,86; 15,21]/ 10,97 [10,42; 11,74] %, которая контактирует непосредственно с реципиентным ложем. В теле позвонка эти значения равны точке 4 – 16,61 [15,19; 17,47]/ 13,87 [12,52; 14,9] %. Полученные данные указывают на значительную неравномерность процесса минерализации на основе костного аутотрансплантата ($P < 0,008333$ во всех случаях – полученные различия статистически значимые, кроме отношения 1-й точки к 3-й при спектрометрии P, где $P > 0,008333$ с учетом поправки Бонферрони).

3.3 Результаты эксперимента для группы 3

Исследованы показатели эксперимента для группы животных в случае с операцией формирования оскольчатого проникающего перелома и помещением в диастаз между фрагментами остеотрансплантата.

3.3.1 Результаты МСКТ-контроля

Через 14 сут отмечается перелом краниоventрального угла тела позвонка. Структура и контуры остеотрансплантата в реципиентном ложе определяются слабо. Выявляется незначительная резорбция по линии перелома. Остеотрансплантат прилегает к телу позвонка и отломку, признаков их слияния нет, что соответствует 4-му типу по классификации Тап (рисунок 37).



Рисунок 37 – МСКТ позвонка с переломом краниоventрального угла и пластикой остеотрансплантатом (группа 3) в срок 14 сут

Через 30 сут остеотрансплантат визуализируется более четко, чем в предыдущий срок наблюдения. Структура остеотрансплантата неоднородная, с преобладанием участков уплотнения над участками разрежения. Определяется частичное слияние трансплантата и реципиентного ложа. В области перелома сохраняются незначительные признаки резорбции. Отсеченный фрагмент не резорбирован. В препаратах этого срока определяется частичное слияние трансплантата с ложем, что соответствует 3-му типу по классификации Тап (рисунок 38).

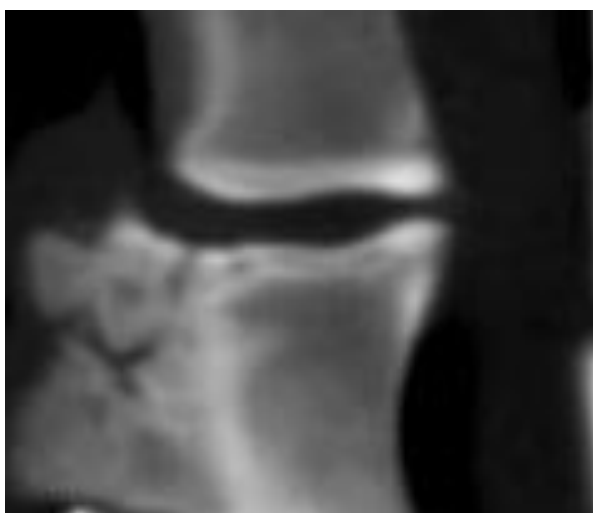


Рисунок 38 – МСКТ позвонка с переломом краниоventрального угла и пластикой остеотрансплантатом (группа 3) в срок 30 сут

Через 90 сут контуры трансплантата и реципиентного ложа не определяются, краниоventральный угол консолидирован с телом позвонка. В области бывшей линии перелома и остеотрансплантата визуализируется сформированная однородная по своей структуре костная ткань, идентичная костной ткани позвонка. Отчетливо определяется переход трабекул из краниоventрального угла в тело позвонка, которые проходят через область пластического замещения перелома. Как замыкательная пластинка, так и ventральный контур ровные, без дефектов. Межпозвоночный диск по высоте соответствует соседним дискам, признаки дегенерации отсутствуют.

Структура регенерата соответствует 2-му типу по классификации Тап (рисунок 39).

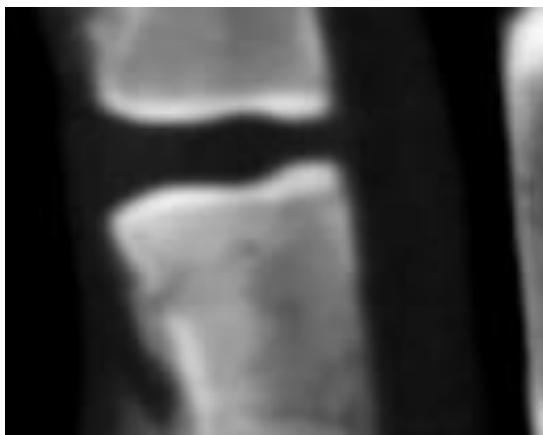


Рисунок 39 – МСКТ позвонка с переломом краниоventрального угла и пластикой остеотрансплантатом (группа 3) в срок 90 сут

Через 180 сут область перелома краниоventрального угла представлена однородным массивом спонгиозной костной ткани с общей трабекулярной сетью. Краниальная замыкательная пластинка и кортикальная кость ventрального контура позвонка представляют собой единый комплекс. Межпозвонокковый диск сохранен, не дегенерирован. Отмечаются остеофиты по ventральной поверхности смежных тел позвонков. Образование регенерата соответствует 1-му типу по классификации Тап (рисунок 40).



Рисунок 40 – МСКТ позвонка с переломом краниоventрального угла и пластикой остеотрансплантатом (группа 3) в срок 180 сут

3.3.2 Исследование рентгеноплотности костной ткани

В момент контроля на 14-е сут данные распределились следующим образом: показатели рентгеноплотности костной ткани во всех точках остеотрансплантата между собой имели статистически не значимые различия, не превышающие 8 HU ($P > 0,00714$, $P > 0,00714$, $P > 0,00714$ с учетом поправки Бонферрони между точками 1 и 2, 1 и 3, 2 и 3 соответственно), говорящие об относительной однородности рентгеноплотности внутри трансплантата (таблица 8).

Таблица 8 – Данные исследования рентгеноплотности костной ткани в группе 3

Наименование показателя	Через 14 сут (n = 2)	Через 30 сут (n = 4)	Через 90 сут (n = 12)	Через 180 сут (n = 2)
Точка 1, HU	173 [157;199]*	387 [344;423]*	1009 [941;1090]	1074 [1022;1155]
Точка 2, HU	181 [158;205]*	410 [347; 434]*	1076 [987;1140]	1090 [1030;1130]
Точка 3, HU	182 [157; 202]*	384 [345; 444]*	1020 [983;1082]	1083 [1035;1121]
Общий показатель, HU	180 [157; 200]*	397 [349; 434] *	1041 [972; 1098]	1083 [1035;1128]
Точка 4, HU	1079 [1046;1127]	1030 [987; 1058]	1075 [1004;1124]	1056 [1031;1130]
Точка 5, HU	1067 [982;1092]	1002 [975; 1027]	1065 [1022;1173]	1080 [1048; 1110]
Тип по классификации Misch (регенерат)	4	3	2	2
Тип по классификации Misch (позвонок)	2	2	2	2
Тип по классификации Misch (отломок)	2	2	2	2

Данные представлены в виде $Me [Q25; Q75]$. Результаты оценены с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни с поправкой Бонферрони как статистически значимые ($P < 0,00714$): * – результат является статистически значимым по отношению к 4-й точке.

По отношению к телу позвонка данные точек 1, 2 и 3 в среднем были в 6,04 раза ниже показателя в точке 4 – 1079 [1046;1127] HU ($P < 0,00714$ с учетом поправки Бонферрони для каждой точки); полученные различия

свидетельствуют о несоответствии рентгеноплотности остеотрансплантата костной ткани. В подтверждение общий показатель рентгеноплотности регенерата 180 [157; 200] HU, соответствующий на момент первого контроля 4-му типу по классификации Misch, имел показатели значительно ниже, с разницей в 5,99 раза по отношению к телу позвонка в точке 4 ($P < 0,00714$ с учетом поправки Бонферрони).

Отдельно рассмотрены различия рентгеноплотности между 4-й и 5-й точками, соответствующей отломку тела позвонка. Так, на сроке 14 сут с момента операции различия оказались статистически незначимыми, составившими лишь 10 HU ($P > 0,00714$ с учетом поправки Бонферрони).

На момент контроля на 30-е сут отмечалось повышение рентгеноплотности остеотрансплантата в сравнении с 14 сут. При этом выявлено, что расположение области относительно реципиентного ложа не влияет на выраженность течения процесса формирования костной ткани, что подтверждается отсутствием статистически значимых различий между 1-й, 2-й и 3-й точками ($P > 0,00714$, $P > 0,00714$, $P > 0,00714$ с учетом поправки Бонферрони, между 1-й и 2-й, 1-й и 3-й, 2-й и 3-й точками соответственно) (таблица 8). Однако при этом имеется незначительная тенденция во 2-й точке к опережению по показателям рентгеноплотности других точек остеотрансплантата, если оценить показатели последующих наблюдений. Наибольшее значение рентгеноплотности определялось в точке 4 – 1030 [987;1058] HU, что в среднем в 2,62 превышало таковые значения в зоне остеотрансплантата. С показателями тела позвонка сравнили общий показатель рентгеноплотности регенерата – 397 [349; 434] HU, соответствующий уже 3-му типу по классификации Misch в отличие от 14 сут. Данные общей плотности регенерата в 2,89 раз были значимо ниже таковых в точке 4 ($P < 0,00714$ с учетом поправки Бонферрони). Это подтверждает корректность полученных при описанном выше раздельном анализе показателей точек 1, 2 и 3, для которых в парах сравнения различия являются статистически незначимыми.

Между 4-й и 5-й точками на сроке 30 сут разница в показателях составила 28 HU ($P > 0,00714$ с учетом поправки Бонферрони), что больше, чем при контроле на 14-е сут.

Контроль на 90-е сут показал, что данные рентгеноплотности остеотрансплантата продолжают синхронно увеличиваться с незначительным преобладанием в точке 2 – 1076 [987; 1140] HU над точками 1 – 1009 [941; 1090] HU, 3 – 1020 [983; 1082] HU ($P > 0,00714$, $P > 0,00714$ соответственно с учетом поправки Бонферрони; таблица 8). Различия в точках 1 и 3 регенерата отличались лишь на 11 HU ($P > 0,00714$ с учетом поправки Бонферрони). Все значения рентгеноплотности остеотрансплантата в 1-й, 2-й и 3-й точке к 90-м сут соответствовали показателям костной ткани тела позвонка в точке 4 – 1075 [1004; 1124] HU ($P > 0,00714$, $P > 0,00714$, $P > 0,00714$ соответственно с учетом поправки Бонферрони). Выявленные значения рентгеноплотности показывают уравнивание показателей остеотрансплантата и тела позвонка, что говорит о завершенном процессе формирования костной ткани. Такие выводы подтверждаются в сравнении общего показателя рентгеноплотности регенерата 1041 [972; 1098] HU, соответствующего 2-му типу по классификации Misch, с показателями тела позвонка, где различие в 1,03 раза является незначительным ($P > 0,00714$ с учетом поправки Бонферрони).

Показатели рентгеноплотности отломка по сравнению с телом позвонка на 90-е сут исследования выровнялись, разница между ними после предыдущего контроля на 30-е сут сократилась в 2,8 раза и составила 10 HU ($P > 0,00714$ с учетом поправки Бонферрони).

При финальном контроле на 180-е сут эксперимента данные рентгеноплотности остеотрансплантата в точках 1, 2 и 3 соответствовали показателям рентгеноплотности тела позвонка – 1056 [1031; 1130] HU и в среднем даже незначительно превышали снизившиеся на 19 HU значения в точке 4 на 26,33 HU, то есть в 1,03 раза ($P > 0,00714$, $P > 0,00714$, $P > 0,00714$ соответственно с учетом поправки Бонферрони; таблица 8). Между собой показатели в зоне трансплантата статистически значимых различий не имели

($P > 0,00714$, $P > 0,00714$, $P > 0,00714$ с учетом поправки Бонферрони, между 1-й и 2-й, 1-й и 3-й, 2-й и 3-й точками соответственно). Общий показатель рентгеноплотности регенерата составил 1083 [1035; 1128] HU, что соответствует 2-му типу по классификации Misch; по отношению к телу позвонка разница в 1,03 раза признана статистически незначимой ($P > 0,00714$ с учетом поправки Бонферрони).

Показатели в зоне отломка и области тела позвонка имели несколько большие различия, чем при предыдущем контроле 24 HU ($P > 0,00714$ с учетом поправки Бонферрони).

3.3.3 Исследование морфологии костной ткани

Через 14 сут область перелома краниоventрального угла подвержена остеокластической резорбции, костные балки неровные, зазубренные, связаны нитями фибрина. В зону пластического замещения из остеотрансплантата внедряются новообразованные костные балки, остеогенные клетки, которые соединяют разрушенные структурные элементы реципиентного ложа. По периферии костной балки определялось скопление остеобластов, расположенных в несколько рядов, что может свидетельствовать об активном процессе остеогенеза, протекающем в области пластического замещения. Молодая костная ткань представлена хаотично расположенными остеобластами внутри балки, которые замурованы в лакунах, видны и пустые лакуны, в процессе остеогенеза некоторые из остеобластов лизированы. В промежутках между образующими костными структурами располагаются сосуды и остеогенная ткань. Единая сеть сосудов различного калибра, заполненная элементами крови, объединяет в единое целое фрагмент краниоventрального угла, остеотрансплантат, тело позвонка (рисунок 41).

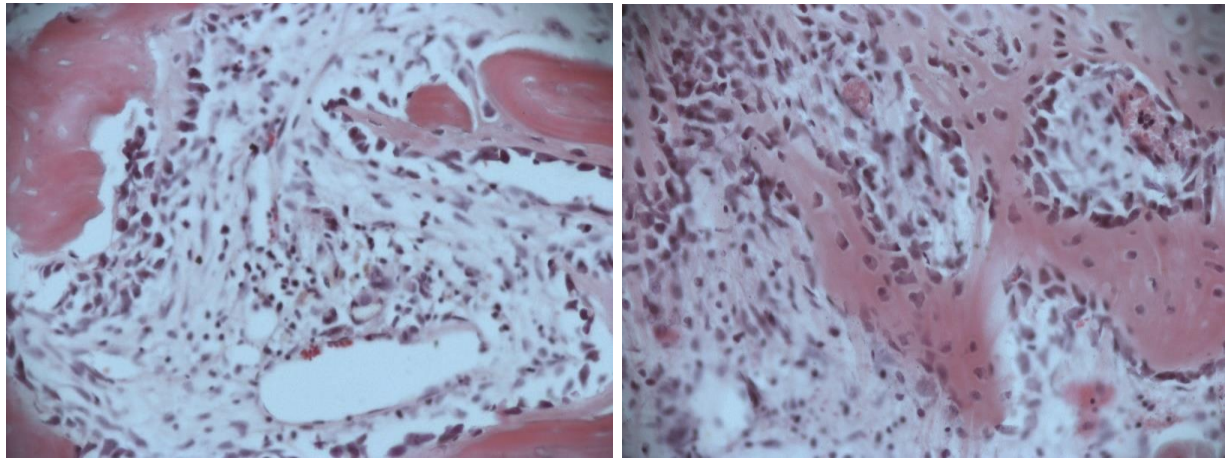


Рисунок 41 – Данные световой микроскопии при переломе краниоventрального угла и пластике остеотрансплантатом (группа 3); срок 14 сут после имплантации; окраска гематоксилин-эозином, x200

Через 30 сут зона перелома, замещенная остеотрансплантатом, выполнена сформированной молодой грубоволокнистой костной тканью, в которой большое количество хаотично расположенных остеобластов, замурованных в лакунах, а также отсутствие четких линий склеивания. Между балками располагается миелоидный костный мозг, преостеогенная ткань. Остеобласты располагаются в несколько рядов вокруг костных балок, что свидетельствует о продолжающемся активном процессе остеогенеза. Выявляются преостеобласты – клетки треугольной формы с округлым ядром. Между костными балками выявляется преостеогенная ткань: соединительная ткань с большим количеством клеток, коммитированных к остеогенезу. Костная ткань и кровеносные сосуды внедряются в прилежащий гиалиновый хрящ, запуская процесс остеогенеза (рисунок 42).

Через 90 сут в области перелома краниоventрального угла тела позвонка сформирована костная ткань балочного строения, элементы остеотрансплантата явно не дифференцированы. Отмечается сплошной переход как костных балок, так и сосудов, следующих из тела позвонка через область пластического замещения в краниоventральный угол.

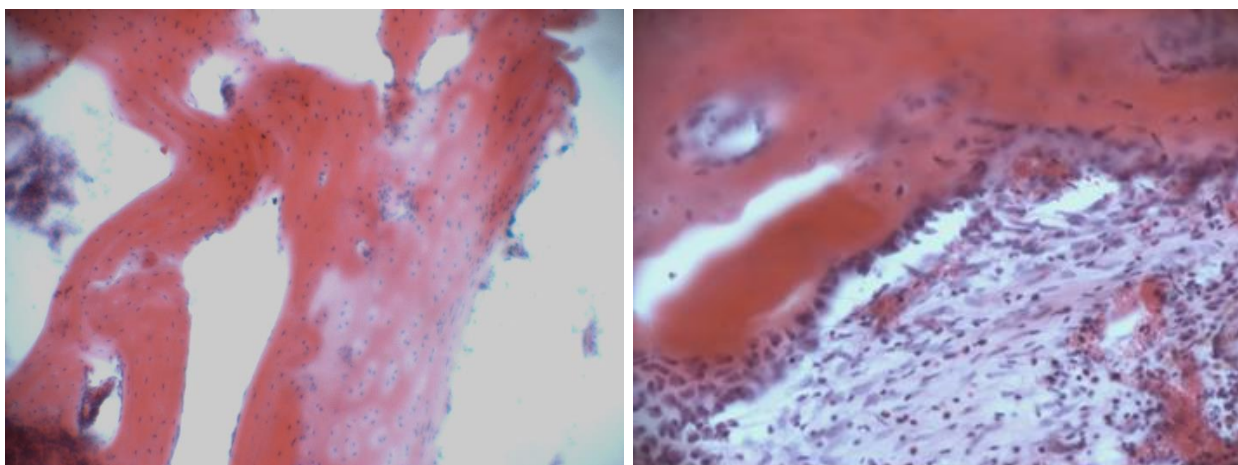


Рисунок 42 – Данные световой микроскопии при переломе краниоventрального угла и пластике остеотрансплантатом (группа 3); срок 30 сут после имплантации; окраска гематоксилин-эозином, x200

Трабекулы образовали петлистую сеть с тенденцией к продольной направленности. Обращает на себя внимание утолщение ventральной компактной пластинки. Внутри костных балок равномерно располагаются остеобласты и отсутствуют линии склеивания. Вокруг костных балок располагаются остеобласты, что свидетельствует о формировании органоспецифической костной ткани в зоне бывшего перелома. Пространство между костными балками заполнено миелоидным костным мозгом (рисунок 43).

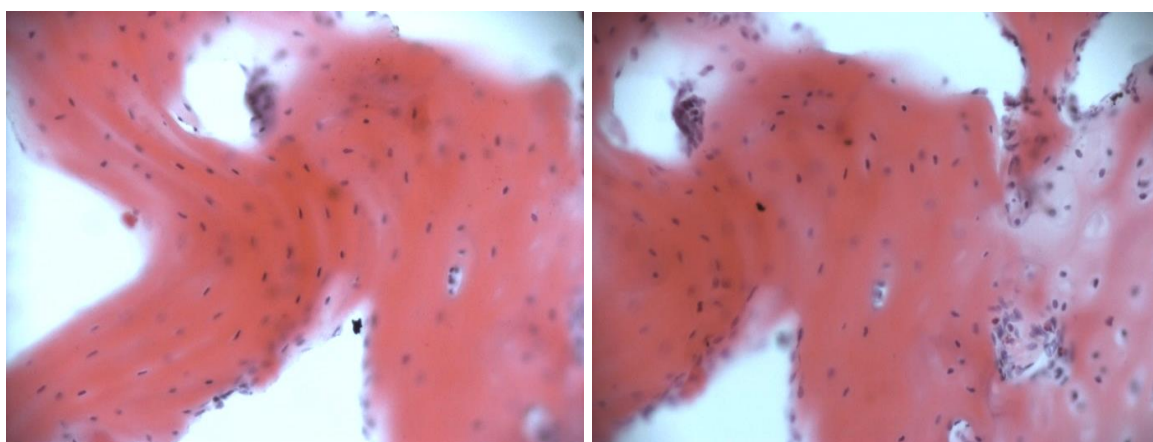


Рисунок 43 – Данные световой микроскопии при переломе краниоventрального угла и пластике остеотрансплантатом (группа 3); срок 90 сут после имплантации; окраска гематоксилин-эозином, x200

Через 180 сут в области перелома определялся переход костных трабекул и сосудов из тела позвонка в краниоventральный угол, остеотрансплантат не дифференцировался. Область пластического замещения представлена губчатой костью, костные балки имели продольное ориентирование. Межбалочные пространства заполнены миелоидным костным мозгом. Вентральная кортикальная пластинка имела неравномерную толщину. Признаков соединительной ткани выявлено не было (рисунок 44).

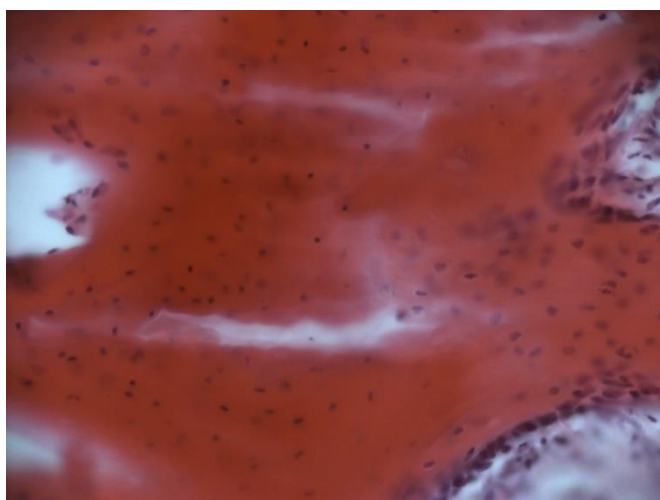


Рисунок 44 – Данные световой микроскопии при переломе краниоventрального угла и пластике остеотрансплантатом (группа 3); срок 180 сут после имплантации; окраска гематоксилин-эозином, x200

3.3.4 Исследование микротвердости

В срок 90 сут с момента операции схожие данные получены из всех точек остеотрансплантата и достоверно соответствуют костной ткани тела позвонка в точке 4 ($P > 0,00714$, $P > 0,00714$, $P > 0,00714$ с учетом поправки Бонферрони для точек 1, 2 и 3 соответственно). Микротвердость бывшего отломка по своему показателю также достоверно соответствует костной ткани тела позвонка, что может означать консолидацию перелома и восстановление адекватного кровоснабжения отсеченного фрагмента ($P > 0,00714$ с учетом поправки Бонферрони; таблица 9)

Таблица 9 – Данные исследования микротвердости костной ткани в группе 3

Наименование показателя	Через 90 сут (n = 12)
Точка 1, HV	87,8 [85,2; 90,9]
Точка 2, HV	87,8 [85,2; 91,4]
Точка 3, HV	87,1 [85,1; 90,8]
Общий показатель, HV	87,9 [85,2; 91,1]
Точка 4, HV	88,3 [84,6;92,1]
Точка 5, HV	88,0 [86,0; 90,2]

Данные представлены в виде $Me [Q25; Q75]$. Результаты оценены с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни с поправкой Бонферрони как статистически значимые ($P < 0,00714$)

3.3.5 Данные спектрометрии

Данные спектрометрии в группе 3 эксперимента через 90 сут представлены в таблице 10.

Таблица 10 – Данные исследования спектрометрии костной ткани в группе 3 через 90 сут (n = 12)

Наименование показателя	Спектрометрия Са, %	Спектрометрия Р, %
Точка 1	16,66 [15,78; 17,27]	12,97 [12,80;13,35]
Точка 2	16,90 [16,48; 17,24]	13,03 [12,38; 13,71]
Точка 3	16,63 [15,97; 17,14]	12,70 [12,06; 13,18]
Общий показатель	16,67 [16,31; 17,20]	12,9 [12,49; 13,48]
Точка 4	17,11 [16,52; 17,66]	14,61 [13,04; 15,40]
Точка 5	17,04 [16,74; 17,56]	14,63 [13,84; 15,66]

Данные представлены в виде $Me [Q25; Q75]$. Результаты оценены с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни с поправкой Бонферрони как статистически значимые ($P < 0,00714$)

При изучении данных спектрометрии показатели Са/Р тела позвонка в точке 4 и краниоventрального угла в точке 5 оказались равными

($P > 0,00714/0,00714$ с учетом поправки Бонферрони). При этом количество Ca/P остеотрансплантата в точках 1, 2, 3 не имеет значимых различий показателей по отношению к телу позвонка ($P > 0,00714/0,00714$ с учетом поправки Бонферрони). Разница значений Ca/P внутри области пластического замещения остеотрансплантатом оценена как незначимая ($P > 0,00714/0,00714$, $P > 0,00714/0,00714$, $P > 0,00714/0,00714$ с учетом поправки Бонферрони, между точками 1 и 2, 1 и 3, 2 и 3 соответственно).

Данные, полученные спектрометрией Ca/P из контрольных областей остеотрансплантата, тела позвонка и краниоventрального угла, не имели между собой существенных различий, что может говорить о равномерно протекающем процессе минерализации во всех исследуемых зонах ($P > 0,00714/0,00714$ с учетом поправки Бонферрони для всех точек).

3.4 Результаты эксперимента в группе 4

Оценены результаты эксперимента для группы животных в случае с травматическим повреждением межпозвонкового диска и выполнением операции ventрального межтелового спондилодеза с использованием остеотрансплантата

3.4.1 Результаты МСКТ-контроля

Через 90 сут с момента операции кейдж определялся в межтеловом промежутке, область спондилодеза фиксирована пластиной, которая располагалась по ventральной поверхности смежных тел позвонков. Граница «остеотрансплантат – кейдж» и «кейдж – тело позвонка» выглядела однородной, врастания кейджа в замыкательные пластинки и в остеотрансплантат не отмечалось. Со стороны ложа имплантат окружен диффузной зоной склероза.

В центральной части кейджа располагалось отверстие, в котором визуализировался остеотрансплантат, контуры остеотрансплантата и реципиентного ложа в области их слияния неразличимы. Отмечалась

однородность структуры как остеотрансплантата, так и реципиентного ложа в области их контакта. Произошла спонгизация остеотрансплантата по всей площади.

Выявлен переход балочной структуры из остеотрансплантата в смежные тела позвонков, что свидетельствует об образовании единого спонгиозного костного блока в области спондилодеза и формировании единой трабекулярной костной сети. Данная картина соответствует 1-му типу по классификации Тап (рисунок 45).

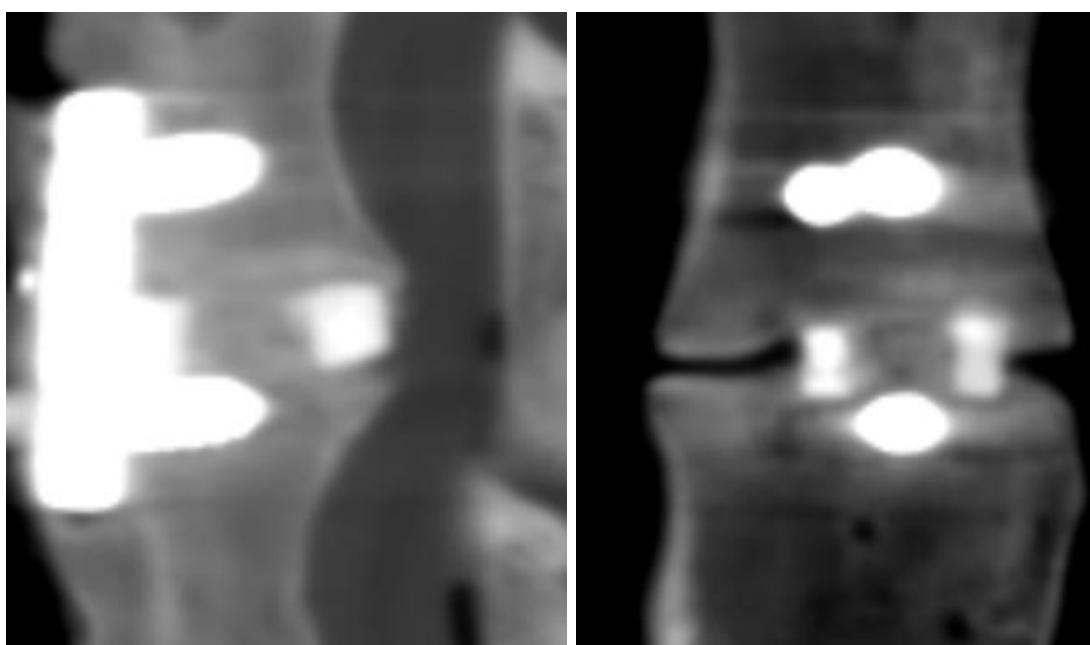


Рисунок 45 – МСКТ вентрального межтелового спондилодеза с использованием остеотрансплантата в группе 4 в срок 90 сут

3.4.2 Исследование рентгеноплотности костной ткани

Показатели рентгеноплотности костной ткани в группе 4 эксперимента через 90 сут представлены в таблице 11.

Данные рентгеноплотности остеотрансплантата, полученные в точках 1, 2 и 3, соответствуют таковым в области тела позвонка – 1067 [1058; 1191] HU ($P > 0,008333$; $P > 0,008333$; $P > 0,008333$ с учетом поправки Бонферрони). Общий показатель рентгеноплотности всех точек

остеотрансплантата к 90-м сут соответствовал 2-му типу по классификации Misch; по отношению к 4-й точке значительных различий не выявлено ($P > 0,008333$ с учетом поправки Бонферрони).

Таблица 11 – Данные исследования рентгеноплотности костной ткани в группе 4 (n = 12)

Наименование показателя	Показатель рентгеноплотности через 90 сут
Точка 1, HU	1080 [1036; 1115]
Точка 2, HU	1096 [1025; 1138]
Точка 3, HU	1030 [984; 1106]
Общий показатель, HU	1078,50 [1012; 1115]
Точка 4, HU	1067 [1058; 1191]
Тип по классификации Misch (регенерат)	2
Тип по классификации Misch (позвонок)	2
Тип по классификации Tap	1

Данные представлены в виде $Me [Q25; Q75]$. Результаты оценены с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни с поправкой Бонферрони как статистически значимые ($P < 0,008333$).

3.4.3 Исследование морфологии костной ткани

В зоне бывшего пластического замещения сформирована органоспецифичная костная ткань. Между костными структурами располагался красный костный мозг (рисунок 46).

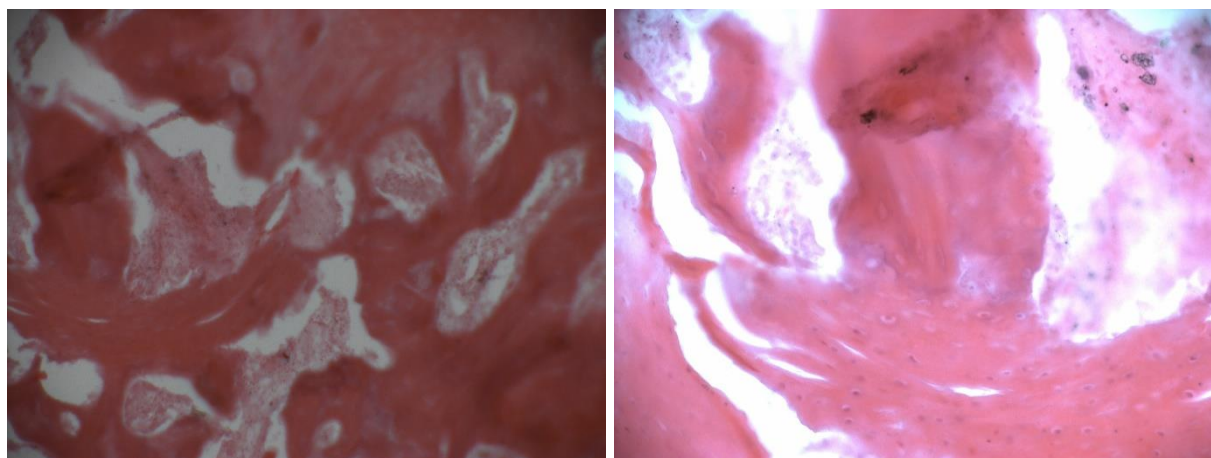


Рисунок 46 – Данные световой микроскопии при вентральном межтеловом спондилодезе с использованием остеотрансплантата в группе 4 через 90 сут после имплантации; окраска гематоксилин-эозином, x 200

3.4.4 Исследование микротвердости

Показатели микротвердости в группе 4 эксперимента были схожи по своим величинам во всех точках трансплантата и соответствовали костной ткани тела позвонка ($P > 0,008333$; $P > 0,008333$; $P > 0,008333$ с учетом поправки Бонферрони), что говорит о равномерно протекающем процессе минерализации во всех частях остеотрансплантата не зависимо от близости точки к реципиентному ложу. Данные подтверждаются тем, что между собой точки трансплантата также варьировали незначительно ($P > 0,008333$; $P > 0,008333$; $P > 0,008333$ с учетом поправки Бонферрони, между точками 1 и 2, 1 и 3, 2 и 3 соответственно; таблица 12).

Таблица 12 – Данные исследования микротвердости костной ткани в группе

4

Срок имплантации	Точка 1, HV	Точка 2, HV	Точка 3, HV	Общий показатель, HV	Точка 4, HV
90 сут (n = 12)	88 [86; 90,2]	88,8 [86,2; 90,2]	87,6 [84,8; 91,5]	88,10 [85,00; 90,35]	90,9 [88,3; 94,2]

Данные представлены в виде Me [Q25; Q75]. Результаты оценены с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни с поправкой Бонферрони как статистически значимые ($P < 0,008333$)

3.4.5 Данные спектрометрии

При изучении данных спектрометрии Са в группе 4 эксперимента для точек области пластического замещения (1, 2 и 3) количество Са было приближено к таковому в зоне тела позвонка, что может говорить о завершенности процесса формирования костного блока ($P > 0,008333$; $P > 0,008333$; $P > 0,008333$ с учетом поправки Бонферрони). Оценка отличий между общим показателем и точкой 4 свидетельствует об их статистической не значимости ($P > 0,008333$ с учетом поправки Бонферрони). С помощью сравнения показателей Са внутри трансплантата было выявлено, что процесс

регенерации идет равномерно ($P > 0,008333$; $P > 0,008333$; $P > 0,008333$ с учетом поправки Бонферрони, между точками 1 и 2, 1 и 3, 2 и 3 соответственно).

При изучении данных спектрометрии P статистически значимые различия по отношению к телу позвонка не наблюдались для всех точек ($P > 0,008333$; $P > 0,008333$; $P > 0,008333$ с учетом поправки Бонферрони) (таблица 13).

Таблица 13 – Данные исследования спектрометрии костной ткани в группе 4

Наименование показателя	Через 90 сут (n = 12)	
	Спектрометрия Са, %	Спектрометрия Р, %
Точка 1	17,2 [16,87;17,69]	14,25 [12,74;15,68]
Точка 2	17,3 [16,87; 17,69]	15,85 [15,44; 16,15]
Точка 3	17,02 [15,52; 17,56]	14,77 [13,79; 15,19]
Общий показатель	17,11 [16,65; 17,60]	14,94 [13,75; 15,64]
Точка 4	17,44 [17,13; 17,76]	15,31 [14,67; 15,76]

Данные представлены в виде $Me [Q25; Q75]$. Результаты оценены с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни с поправкой Бонферрони как статистически значимые ($P < 0,008333$)

3.5 Результаты эксперимента в группе 5

Представлены результаты эксперимента для группы 5 в случае с травматическим повреждением межпозвонкового диска и выполнением операции вентрального межтелового спондилодеза с использованием костного аутооттрансплантата

3.5.1 Результаты МСКТ-контроля

Через 90 сут с момента операции кейдж определялся в межтеловом промежутке, область спондилодеза фиксирована пластиной, которая располагается по вентральной поверхности смежных тел позвонков. Граница «костный аутооттрансплантат – кейдж» и «кейдж – тело позвонка» выглядела однородной, врастания кейджа в замыкательные пластинки и в

остеотрансплантат не отмечалось. Со стороны ложа имплантат окружен диффузной зоной склероза. Структура трансплантата неоднородна. В области контакта костного аутоотрансплантата с телами смежных позвонков зоны уплотнения преобладали над зонами разряжения. В зоне контакта костного аутоотрансплантата и смежных тел позвонков отмечался переход балочной структуры из тел позвонков в костный аутоотрансплантат. В центральной части костного аутоотрансплантата выявлена обширная зона разряжения, что может свидетельствовать о продолжающемся процессе остеогенеза. Структура реципиентного ложа в области контакта с костным аутоотрансплантатом однородна. Образования костного блока к этому сроку не отмечалось, что соответствует 2-му типу по классификации Тап (рисунок 47).

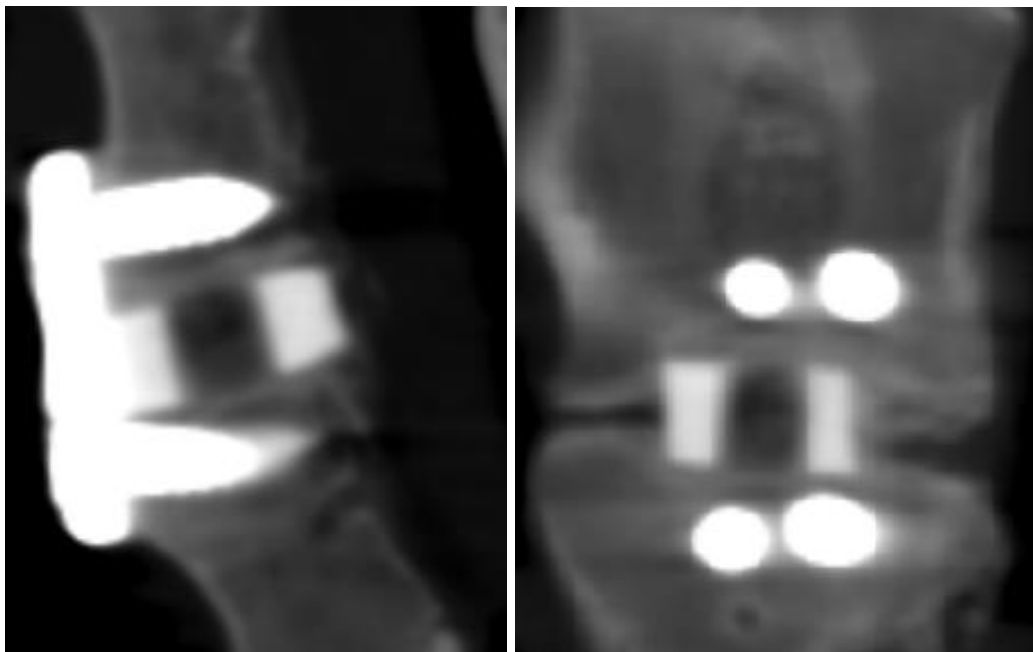


Рисунок 47 – МСКТ вентрального межтелового спондилодеза с использованием костного аутоотрансплантата в группе 5 в срок 90 сут

3.5.2 Исследование рентгеноплотности костной ткани

Плотность костного аутоотрансплантата в группе 5 эксперимента через 90 сут с момента операции неоднородна: имеются значимые различия для

точек 1 и 3 по отношению ко 2-й точке, ($P < 0,008333$; $P < 0,008333$; $P < 0,008333$ соответственно с учетом поправки Бонферрони); но между точками 1 и 3 достоверных различий не имеется ($P > 0,008333$ с учетом поправки Бонферрони; таблица 14).

Таблица 14 – Данные исследования плотности костной ткани в группе 5

Наименование показателя	Показатель рентгеноплотности через 90 сут (n = 12)
Точка 1, HU	657 [581; 702]*/***
Точка 2, HU	890 [838; 943]*/**
Точка 3, HU	686 [602; 783]*/***
Общий показатель, HU	711 [622; 864,5]*
Точка 4, HU	950 [904; 1015]
Тип по классификации Misch (регенерат)	3
Тип по классификации Misch (позвонок)	2
Тип по классификации Tan	2

*Данные представлены в виде Me [Q25; Q75]. Результаты оценены с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни с поправкой Бонферрони как статистически значимые ($P < 0,008333$): * – результат является статистически значимым по отношению к 4-й точке; ** – результат является статистически значимым внутри трансплантата по отношению к 3-й точке; *** – результат является статистически значимым внутри трансплантата по отношению ко 2-й точке*

По отношению к телу позвонка показатели точек 1, 2 и 3 в среднем были в 1,3 раза ниже (206 HU) ($P < 0,008333$; $P < 0,008333$; $P < 0,008333$ с учетом поправки Бонферрони, для точек 1, 2 и 3 соответственно). Сравнение точки 4 с общими показателями трансплантата также не превышало 1,34 раза (239 HU) ($P < 0,008333$ с учетом поправки Бонферрони).

Данные, полученные в эксперименте, свидетельствуют о продолжающемся формировании костной ткани от периферии к центру костного аутооттрансплантата по типу ползущего замещения. Образования костного блока к этому сроку не отмечается, что соответствует 2-му типу по классификации Tan и D3 по классификации Misch.

3.5.3 Исследование морфологии костной ткани

Через 90 сут с момента операции в группе 5 эксперимента в области костной аутотрансплантации определялись редкие костные включения, которые не контактировали между собой. В центральной части выявлены значительные не рассосавшиеся фрагменты костного аутотрансплантата, в них вращали костные балки. Данная морфологическая картина говорит о том, что в центральной части продолжается формирование костного блока (рисунок 48).

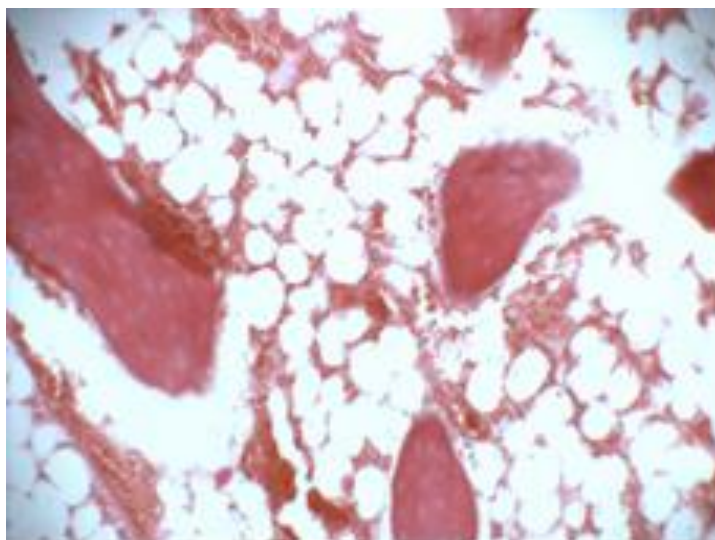


Рисунок 48 – Данные световой микроскопии при вентральном межтеловом спондилодезе с использованием аутотрансплантата в группе 5 через 90 сут после имплантации; окраска гематоксилин-эозином, х 200

3.5.4 Исследование микротвердости

В группе 5 эксперимента через 90 сут внутри трансплантата по отношению ко 2-й точке, имеющей непосредственный контакт с ложем, наблюдается значительное увеличение микротвердости в среднем в 1,27 раза, 16,6 HV ($P < 0,008333$; $P < 0,008333$ с учетом поправки Бонферрони для точек 1 и 3 соответственно; таблица 15). Значения в области тела позвонка в среднем в 1,22 раза (13,73 HV) превышают таковые для трансплантата

$P < 0,008333$; $P < 0,008333$; $P < 0,008333$ с учетом поправки Бонферрони для точек 1, 2 и 3 соответственно).

Таблица 15 – Данные исследования микротвердости костной ткани
в группе 5

Срок имплантации	Точка 1, HV	Точка 2, HV	Точка 3, HV	Общий показатель, HV	Точка 4, HV
90 сут (n = 12)	61,4 [56,1; 65,6] */****	78,5 [73,8; 82,6] */**	62,5 [58,8; 64,1] */****	64,5 [59,2; 76,1] *	81,2 [78,7; 85,9]

*Данные представлены в виде Me [Q25; Q75]. Результаты оценены с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни с поправкой Бонферрони как статистически значимые ($P < 0,008333$): * – результат является статистически значимым по отношению к 4-й точке; ** – результат является статистически значимым внутри трансплантата по отношению к 3-й точке; *** – результат является статистически значимым внутри трансплантата по отношению ко 2-й точке*

Общие показатели в 1,26 раза (16,7 HV) ниже показателей тела позвонка ($P < 0,008333$ с учетом поправки Бонферрони). Это свидетельствует о продолжающемся процессе формирования костной ткани в точках, отдаленных от реципиентного ложа, соответственно можно говорить об отсутствии полноценного костного блока.

3.5.5 Данные спектрометрии

Оценивая данные эксперимента в группе 5, полученные спектрометрией Ca/P, можно наблюдать сходную картину, что и при оценке микротвердости группы 5 – показатели в точке 2 в среднем в 1,38/1,47 раза превышают таковые в точках 1 и 3 ($P < 0,008333$ с учетом поправки Бонферрони). Данные указывают на неравномерность протекания процесса при формировании костного блока по типу ползущего замещения (таблица 16). Относительно тела позвонка все полученные значения спектрометрии Ca/P в среднем в 1,31/1,39 раза (в среднем на 3,18%/3,02%) отличаются от

точек 1, 2 и 3; данное различие признано достоверным почти для всех точек ($P < 0,008333/0,008333$; $P < 0,008333/ P > 0,008333$; $P < 0,008333/0,008333$ с учетом поправки Бонферрони для точек 1, 2 и 3 соответственно). Исключение составляет точка 2 при спектрометрии P, для которой разница с телом позвонка оказалась минимальной (0,61 %) и статистически не значимой ($P > 0,008333$).

Таблица 16 – Данные исследования спектрометрии костной ткани в группе 5

Наименование показателя	Через 90 сут (n = 12)	
	Спектрометрия Ca, %	Спектрометрия P, %
Точка 1	10,03 [9,2; 10,8]*/***	7,39 [6,21; 7,91]*/***
Точка 2	14,18 [13,09; 15,39]*/**	11,29 [10,13; 11,96]**
Точка 3	10,46 [9,78; 11,18]*/***	7,97 [6,93; 8,66]*/***
Общий показатель	12,58 [9,65; 14,62]*	10,18 [7,48; 11,41]*
Точка 4	14,74 [14,02; 16,87]	11,9 [11,03; 12,42]

*Данные представлены в виде Me [Q25; Q75]. Результаты оценены с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни с поправкой Бонферрони как статистически значимые ($P < 0,008333$): * – результат является статистически значимым по отношению к 4-й точке; ** – результат является статистически значимым внутри трансплантата по отношению к 3-й точке; *** – результат является статистически значимым внутри трансплантата по отношению ко 2-й точке*

Глава 4 МЕЖГРУППОВОЙ СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ РЕЗУЛЬТАТОВ ЭКСПЕРИМЕНТА

Сравнительный анализ результатов эксперимента проводили для групп 1 и 2, 4 и 5. В первой паре выполняли сравнение результатов замещения костного дефекта тела позвонка для остеотрансплантата и костного аутоотрансплантата. Для групп 4 и 5 проводили оценку результатов вентрального межтелового спондилодеза для остеотрансплантата и костного аутоотрансплантата. Группу 3 эксперимента не оценивали по отношению к остальным, так как целью было доказать консолидацию перелома тела позвонка в сравнении с литературными данными.

4.1 Сравнительный анализ и оценка результатов исследования в группах 1 и 2

На сроке 14 сут значимые различия были выявлены для остеотрансплантата и костного аутоотрансплантата во всех точках замещенного участка кости (таблица 17). При этом в случае использования костного аутологичного материала рентгеноплотность была выше в среднем в 2,86 раза, что в среднем составило 343,33 HU ($P < 0,008333$; $P < 0,008333$; $P < 0,008333$ с учетом поправки Бонферрони для точек 1, 2 и 3 между группами соответственно). Общие показатели также имели между собой достоверные различия в 2,89 раза ($P < 0,008333$ с учетом поправки Бонферрони). Плотность тела позвонка для групп 1 и 2 отличалась незначительно – лишь на 7 HU ($P > 0,008333$ с учетом поправки Бонферрони).

Таблица 17 – Результаты сравнения плотности костной ткани в группах 1 и 2

Срок наблюдения в группах		Точка 1, НУ	Точка 2, НУ	Точка 3, НУ	Общий показатель, НУ	Точка 4, НУ	Классификация Misch		Классификация Tan
							транс-плантат	позвонок	
14 сут	1	184 [166; 203]*	184 [169; 213]*	185 [150; 211]*	184 [161; 208]*	1072 [1043;1100]	4	2	4
	2	543 [491; 599]*	508 [392; 581]*	532 [436; 596]*	532 [458; 596]*	1065 [993; 1104]	3	2	4
30 сут	1	370 [326; 418]*	375 [351; 415]	342 [308; 361]*	370 [326; 418]*	1009 [975; 1082]*	3	2	3
	2	514 [465; 551]*	374 [352; 449]	443 [356; 492]*	449 [369; 508]*	922 [877; 986]*	3	2	4
90 сут	1	1029 [986; 1082]*	1069 [998; 1108]*	1031 [981; 1097]*	1047 [993; 1105]*	1072 [998; 1161]*	2	2	1
	2	610 [586; 654]*	908 [870; 936]*	761 [715; 809]*	761,00 [638; 898]*	973 [912; 1075]*	3	2	2
180 сут	1	1061 [1025; 1131]	1084 [1055; 1102]	1064 [1029; 1143]	1068 [1037; 1118]	1074 [1064; 1100]	2	2	1
	2	1064 [1008; 1124]	1082 [1049; 1107]	1071 [1029; 1133]	1071 [1029; 1119]	1044 [1020; 1127]	2	2	1

Данные представлены в виде Me [Q25; Q75] (n=22). Результаты оценены с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни с поправкой Бонферрони как статистически значимые ($P < 0,008333$): * – результат является статистически значимым по отношению к соответствующим значениям другой группы

Через 30 сут от начала эксперимента разница в значениях остеотрансплантата и костного аутоотрансплантата нивелировалась для точки 2 и составляла 3 НУ ($P > 0,008333$ с учетом поправки Бонферрони). Для остальных точек трансплантата различия по-прежнему оставались значительными, в среднем эти значения костного аутоотрансплантата превышали таковые для остеотрансплантата в 1,34 раза (107,5 НУ), что ниже, чем на 14-е сут ($P < 0,008333$; $P < 0,008333$ с учетом поправки Бонферрони для точек 1 и 3 между группами соответственно). Выявленные данные свидетельствуют о начале процесса резорбции в периферической части костного аутоотрансплантата и увеличении плотности остеотрансплантата, которая доказывает наличие активного формирования костной ткани. Общие показатели не отличались более чем в 1,21 раза в пользу костного аутоотрансплантата ($P < 0,008333$ с учетом поправки Бонферрони).

Для значений тела позвонка проявились математически значимые различия в сторону нарастания плотности в 1,09 раза (87 НУ) для точки 4 остеотрансплантата ($P < 0,008333$ с учетом поправки Бонферрони).

На 90-е сут исследования выявляются статистически значимые результаты во всех точках трансплантата. При этом в среднем различия составило 1,41 раза (283,3 НУ) в пользу уже не костного аутоотрансплантата, как в предыдущий контрольный срок, а остеотрансплантата ($P < 0,008333$; $P < 0,008333$; $P < 0,008333$ с учетом поправки Бонферрони, для точек 1, 2 и 3 между группами соответственно). Данные подтверждались общими показателями, отличавшимися в 1,38 раза (286,5 НУ) в пользу остеотрансплантата ($P < 0,008333$ с учетом поправки Бонферрони). Показатели тела позвонка отличались между группами в 1,1 раза /99 НУ ($P > 0,008333$ с учетом поправки Бонферрони).

Через 180 сут показатели во всех точках исследуемых зон сравнивались, не выявлено каких-либо значимых различий как для трансплантата ($P > 0,008333$; $P > 0,008333$; $P > 0,008333$ с учетом поправки Бонферрони для точек 1, 2 и 3 между группами соответственно), так и для тела позвонка

($P > 0,008333$ с учетом поправки Бонферрони). Общие показатели группы 1 и группы 2 также без существенной разницы ($P > 0,008333$ с учетом поправки Бонферрони). Разница для точки 4 математически составляет к 180-м сут 30 НУ ($P > 0,008333$ с учетом поправки Бонферрони).

Так, для групп 1 и 2 удалось схематично представить скорость формирования костной ткани по показателям рентгеноплотности, распределение которых, как показано выше. При пластическом замещении дефекта (группы 1 и 2) через 30 сут выявленные данные свидетельствуют о начале резорбции в периферической части костного аутотрансплантата и увеличении плотности остеотрансплантата, которая доказывает активную минерализацию. Для значений тела позвонка проявились математически значимые различия в сторону нарастания плотности в пользу остеотрансплантата ($P < 0,008333$). Описанное различие нивелируется к 180-м сут (рисунок 49).

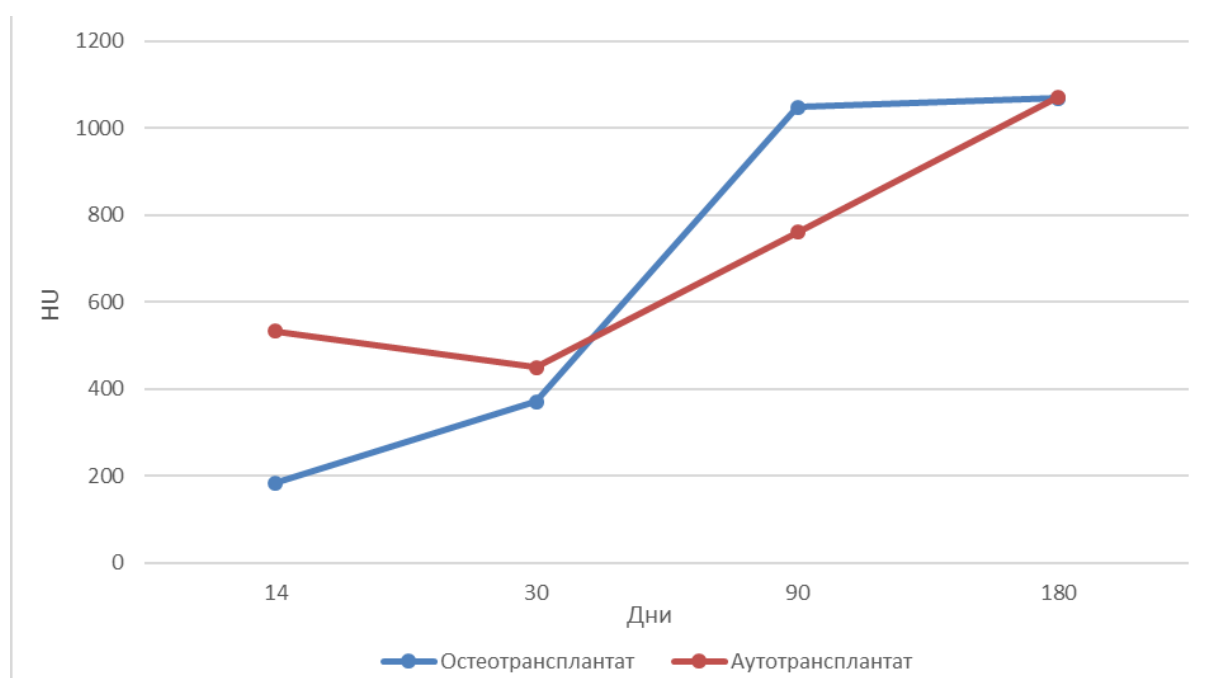


Рисунок 49 – Данные сравнения плотности костной ткани в группах 1 и 2

Показатели, приведенные на рисунке 49, подтверждаются морфологическим исследованием, в котором наблюдается идентичная динамика формирования костной ткани.

При оценке микротвердости в случае замещения остеотрансплантатом и костным аутоотрансплантатом выявлены значимые различия для всех точек между группами. Так, отличие для точек 1, 2 и 3 в среднем составило 1,23 раза (15,7 HV) в пользу группы 1, что достоверно ($P < 0,008333$; $P < 0,008333$; $P < 0,008333$ с учетом поправки Бонферрони для точек 1, 2 и 3 между группами соответственно; таблица 18, рисунок 50).

Таблица 18 – Данные сравнения микротвердости костной ткани в группах 1 и 2

Наименование показателя	Через 90 сут	
	1 (n = 12)	2 (n = 12)
Точка 1	89,3 [87,1;93,1]*	64,7 [59,1; 67,4] *
Точка 2	88,5 [86,8; 90,8]*	79,3 [72,4; 82,1] *
Точка 3	88,9 [86,9; 92,6]*	69,9 [67,3; 74,9] *
Общий показатель	88,95 [86,8; 93,1]*	71,0 [65,7; 76,3]*
Точка 4	91,9 [89,1; 94,1]*	81,8 [80; 83,4]*

Данные представлены в виде $Me [Q25; Q75]$. Результаты оценены с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни с поправкой Бонферрони как статистически значимые ($P < 0,008333$): * – результат является статистически значимым по отношению к соответствующим значениям другой группы



Рисунок 50 – Данные сравнения микротвердости костной ткани в группах 1 и 2

Общие показатели отражали такой же результат сравнения: группы различались в 1,25 (17,95 HV) в пользу остеотрансплантата ($P < 0,008333$ с учетом поправки Бонферрони). Между точками тела позвонка превышение показателей микротвердости для группы 1 составило 1,12 раза (10,1 HV) ($P < 0,008333$ с учетом поправки Бонферрони) и соотносится с результатами, полученными при исследовании рентгеноплотности.

Об отличиях между остеотрансплантатом и костным аутоотрансплантатом говорят данные, полученные при исследовании спектрометрии Ca/P (таблица 19). Для всех точек имелись межгрупповые математически достоверные отличия в пользу остеотрансплантата, в среднем составившие 1,49/1,74 раз – 5,46/5,66% для Ca и P ($P < 0,008333/0,008333$; $P < 0,008333/0,008333$; $P < 0,008333/0,008333$ с учетом поправки Бонферрони для точек 1, 2 и 3 между группами соответственно). Результаты подтверждаются при сравнении общих показателей, для которых различия также статистически значимы ($P < 0,008333$ с учетом поправки Бонферрони как для Ca, так и для P). Полученные данные свидетельствуют о более быстрой минерализации остеотрансплантата (рисунки 51, 52), нежели костного аутоотрансплантата.

Следует отметить, что различие при спектрометрии Ca в теле позвонка между группами составило 1,09 раза (1,56 %) в пользу группы 1, что, оказалось статистически значимым ($P < 0,008333$ с учетом поправки Бонферрони). Однако в случае спектрометрии P превышение показателей группы 1 по отношению к группе 2 в 1,04 раза (0,67 %) математически признано незначимым ($P > 0,008333$ с учетом поправки Бонферрони). Клинически и при морфологическом исследовании данные изменения не проявлялись, но мы посчитали необходимым отметить их в результатах для последующих исследований.

Таблица 19 – Результаты сравнения спектрометрии костной ткани в группах 1 и 2 через 90 сут

Наименование показателя	Спектрометрия Са		Спектрометрия Р	
	1 (n = 12)	2 (n = 12)	1 (n = 12)	2 (n = 12)
Точка 1, %	17,72 [16,22;18,72]*	9,89 [9,11; 10,91]*	13,95 [13,16; 15,1]*	6,89 [5,81; 8,03]*
Точка 2, %	17,75 [16,59; 18,57]*	14,79 [13,86; 15,21]*	14,08 [12,71; 15,84]*	10,97 [10,42; 11,74]*
Точка 3, %	17,09 [15,81; 18,2]*	11,51 [10,84; 12,89]*	14,16 [12,71; 15,23]*	7,36 [6,79; 8,25]*
Общий показатель, %	17,44 [16,22; 18,57]*	12,53 [10,02; 13,57] *	14,07 [12,94; 15,24]*	8,03 [6,89; 10,42]*
Точка 4, %	18,17 [17,32; 19,42]*	16,61 [15,19; 17,47]*	14,54 [13,39; 16,71]	13,87 [12,52; 14,9]

Данные представлены в виде $Me [Q25; Q75]$. Результаты оценены с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни с поправкой Бонферрони как статистически значимые ($P < 0,008333$): * – результат является статистически значимым по отношению к соответствующим значениям другой группы

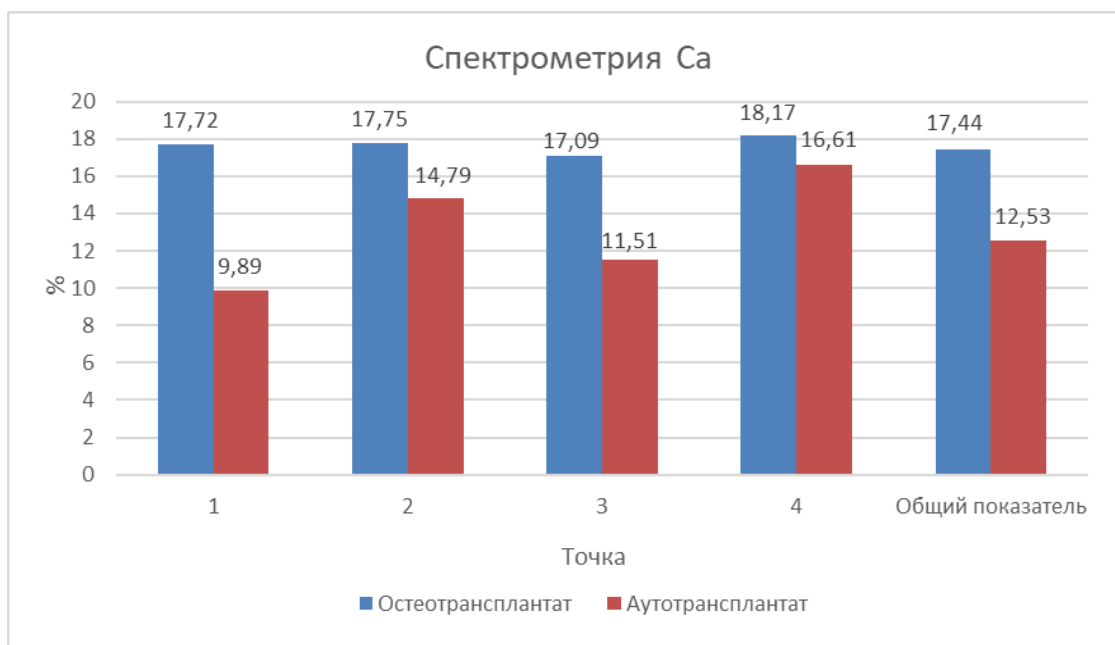


Рисунок 51 – Данные сравнения спектрометрии Са костной ткани в группах 1 и 2

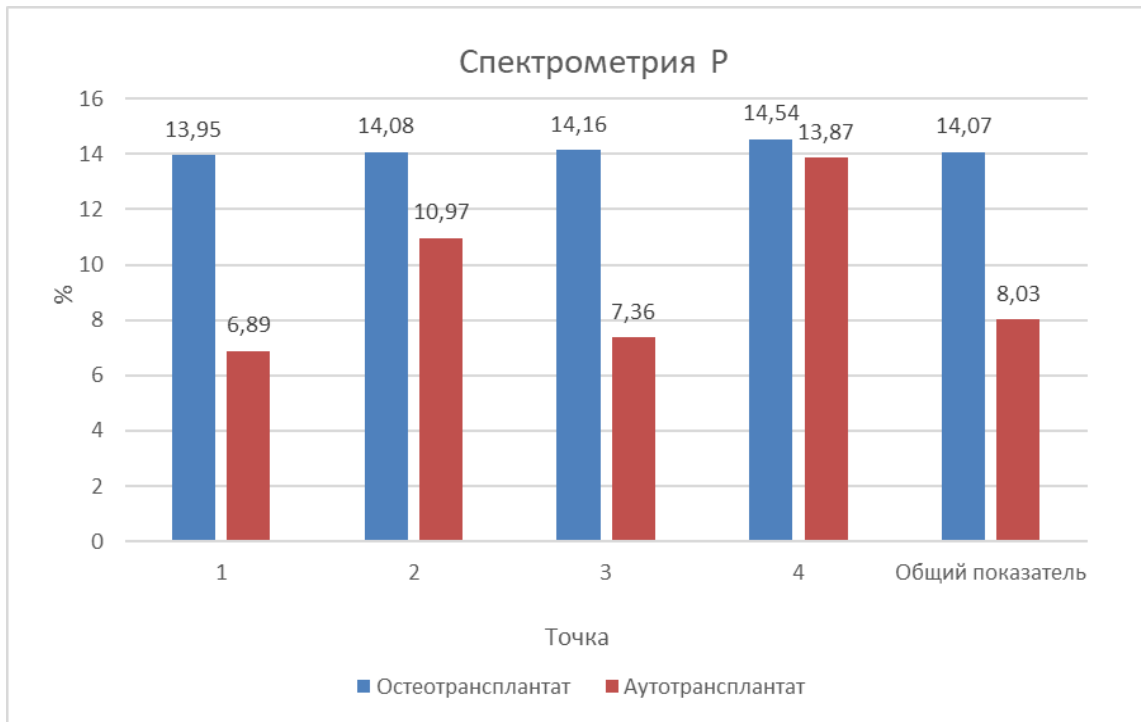


Рисунок 52 – Данные сравнения спектрометрии Р костной ткани в группах 1 и 2

4.2 Сравнительный анализ и оценка результатов исследования в группах 4 и 5

Сравнительный анализ результатов в группах 4 и 5 проводили с целью оценки процессов остеогенеза в условиях вентрального межтелового спондилодеза с использованием остеотрансплантата (группа 4) и костного аутоотрансплантата (группа 5). В процессе статистической обработки выявлено, что полученные данные имеют значимые отличия между группами для каждой точки при каждом проведенном исследовании.

Для рентгеноплотности среднее различие внутри пластического материала в пользу остеотрансплантата составило 1,46 раз (324,33 HU) ($P < 0,008333$; $P < 0,008333$; $P < 0,008333$ с учетом поправки Бонферрони для точек 1, 2 и 3 между группами соответственно), различие общих показателей – в 1,52 (367,5 HU) раза ($P < 0,008333$ с учетом поправки Бонферрони; таблица 20, рисунок 53).

Таблица 20 – Результаты исследования плотности костной ткани
в группах 4 и 5

Наименование показателя	Через 90 сут	
	4 (n = 12)	5 (n = 12)
Точка 1, НУ	1080 [1036; 1115]*	657 [581; 702]*
Точка 2, НУ	1096 [1025; 1138]*	890 [838; 943]*
Точка 3, НУ	1030 [984; 1106] *	686 [602; 783]*
Общий показатель, НУ	1078 [1012; 1115]*	711 [622; 864,5]*
Точка 4, НУ	1067 [1058; 1191]*	950 [904; 1015]*
Тип по классификации Misch (регенерат)	2	3
Тип по классификации Misch (позвонок)	2	2
Тип по классификации Tap	1	2

Данные представлены в виде $Me [Q25; Q75]$. Результаты оценены с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни с поправкой Бонферрони как статистически значимые ($P < 0,008333$): * – результат является статистически значимым по отношению к соответствующим значениям другой группы

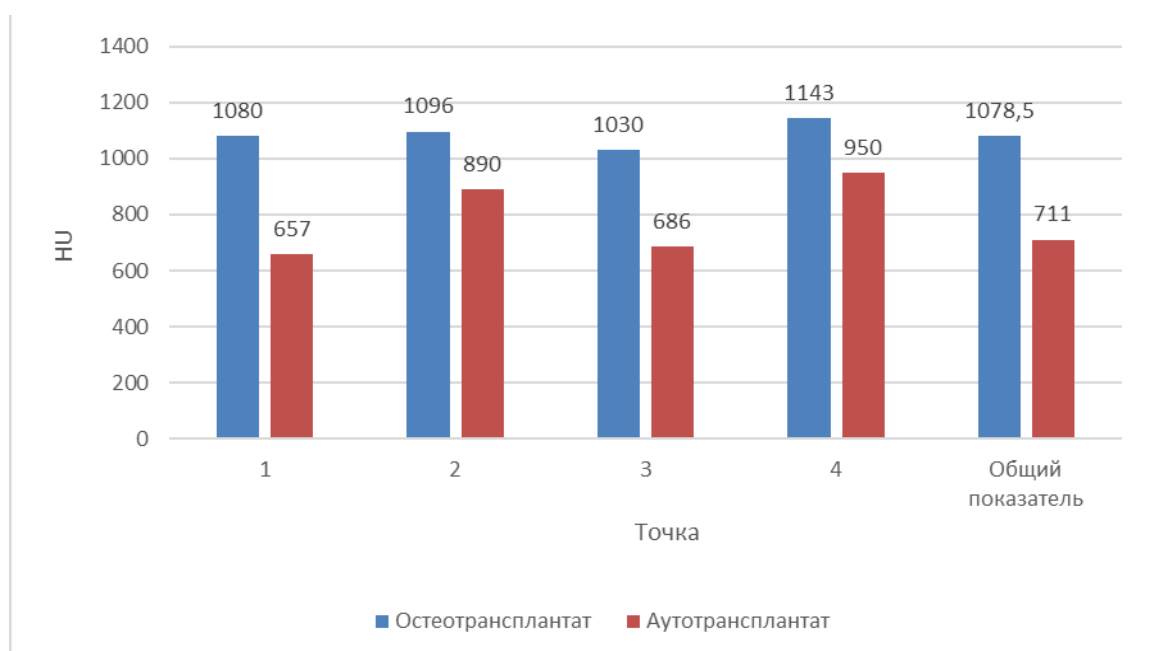


Рисунок 53 – Данные сравнения рентгеноплотности костной ткани
в группах 4 и 5

Показатели микротвердости внутри регенерата в случае с остеотрансплантатом в среднем оказались в 1,32 раза (20,67 HV) выше, чем

для костного аутотрансплантата ($P < 0,008333$; $P < 0,008333$; $P < 0,008333$ с учетом поправки Бонферрони для точек 1, 2 и 3 между группами соответственно). Схожие результаты наблюдались и для общих показателей, где значения группы 4 превышают в 1,37 раза (23,6 HV) таковые для группы 5 ($P < 0,008333$ с учетом поправки Бонферрони; таблица 21, рисунок 54).

Таблица 21 – Результаты сравнения микротвердости костной ткани в группах 4 и 5

Наименование показателя	Через 90 сут	
	4 (n = 12)	5 (n = 12)
Точка 1, HV	88,0 [86; 90,2]*	61,4 [56,1; 65,6]*
Точка 2, HV	88,8 [86,2; 90,2]*	78,5 [73,8; 82,6]*
Точка 3, HV	87,6 [84,8; 91,5]*	62,5 [58,8; 64,1]*
Общий показатель, HV	88,10 [85,00; 90,35]*	64,5 [59,2; 76,1]*
Точка 4, HV	90,9 [88,3; 94,2]*	81,2 [78,7; 85,9]*

Данные представлены в виде $Me [Q25; Q75]$. Результаты оценены с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни с поправкой Бонферрони как статистически значимые ($P < 0,01$): * – результат является статистически значимым по отношению к соответствующим значениям другой группы

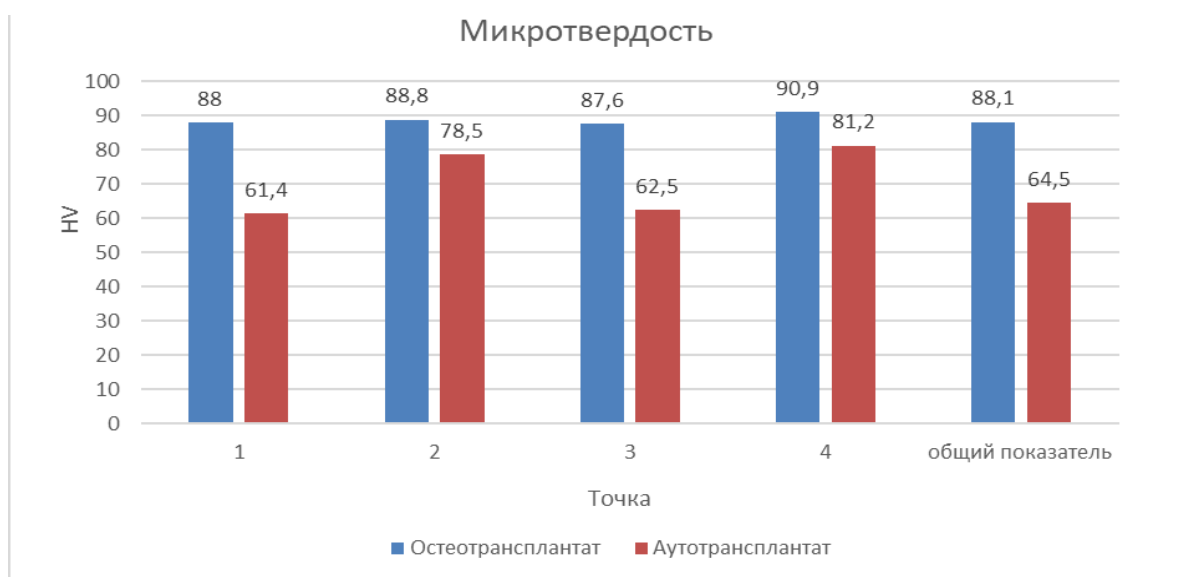


Рисунок 54 – Данные сравнения микротвердости костной ткани в группах 4 и 5

Во всех точках имеются межгрупповые математически достоверные отличия в пользу группы 4, в среднем составившие 1,46/1,32 раз (324,33/20,67 %) для Са и Р ($P < 0,008333/0,008333$; $P < 0,008333/0,008333$; $P < 0,008333/0,008333$ с учетом поправки Бонферрони для точек 1, 2 и 3 между группами соответственно). Результаты подтверждаются при сравнении общих показателей, для которых различия также статистически значимы ($P < 0,008333$ как для Са, так и для Р; таблица 22, рисунки 55, 56).

Таблица 22 – Результаты сравнения спектрометрии костной ткани в группах 4 и 5 через 90 сут

Наименование показателя	Спектрометрия Са		Спектрометрия Р	
	4 (n = 12)	5 (n = 12)	4 (n = 12)	5 (n = 12)
Точка 1, %	17,2 [16,87;17,69]*	10,03 [9,2; 10,8]*	14,25 [12,74;15,68]*	7,39 [6,21; 7,91]*
Точка 2, %	17,3 [16,87; 17,69]*	14,18 [13,09; 15,39]*	15,85 [15,44; 16,15]*	11,29 [10,13; 11,96]*
Точка 3, %	17,02 [15,52; 17,56]*	10,46 [9,78; 11,18]*	14,77 [13,79; 15,19]*	7,97 [6,93; 8,66]*
Общий показатель, %	17,11 [16,65; 17,60]*	12,58 [9,65; 14,62]*	14,94 [13,75; 15,64]*	10,18 [7,48; 11,41]*
Точка 4, %	17,44 [17,13; 17,76]*	14,74 [14,02; 16,87]	15,31 [14,67; 15,76]*	11,9 [11,03; 12,42]*

Данные представлены в виде $Me [Q25; Q75]$. Результаты оценены с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни с поправкой Бонферрони как статистически значимые ($P < 0,008333$): * – результат является статистически значимым по отношению к соответствующим значениям другой группы

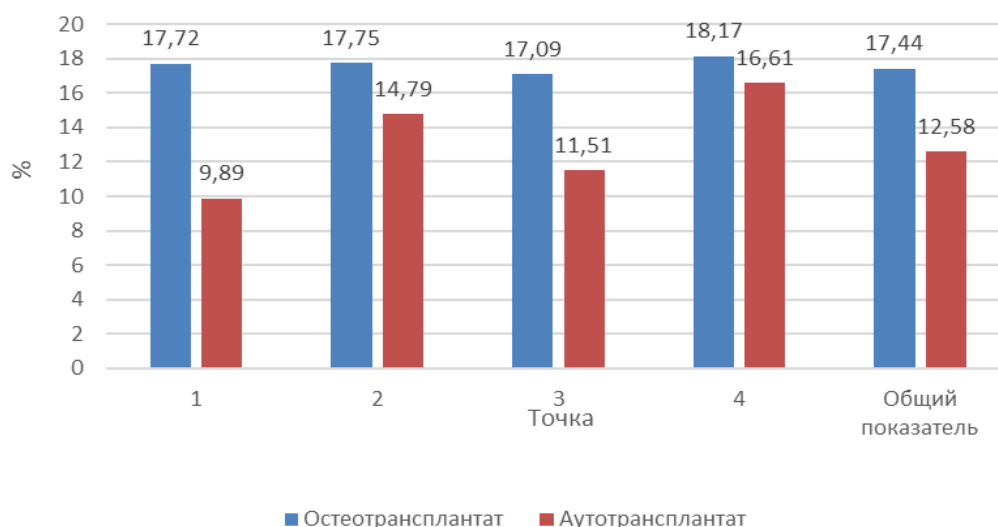


Рисунок 55 – Данные сравнения спектрометрии Са костной ткани в группах 4 и 5

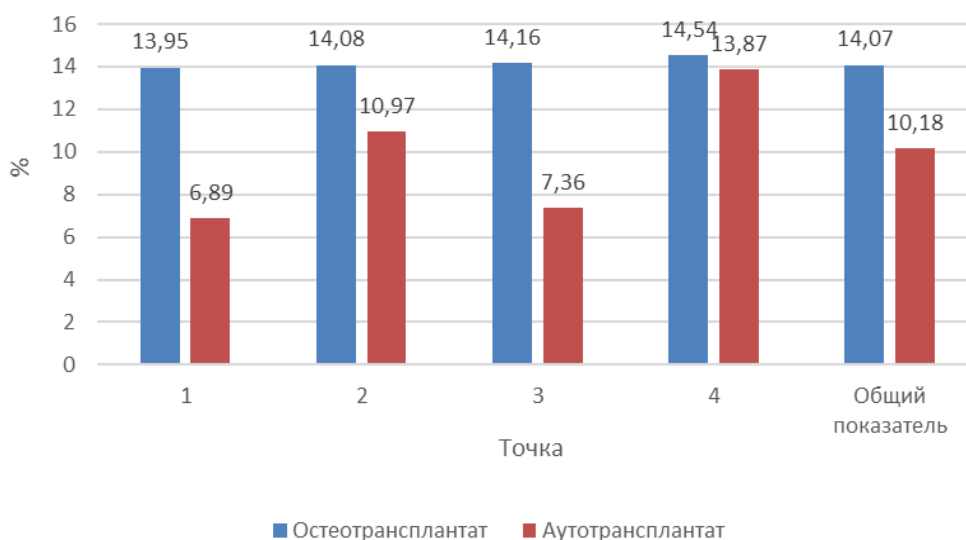


Рисунок 56 – Данные сравнения спектрометрии P костной ткани в группах 4 и 5

Важно отметить, что показатели для тела позвонка также имеют значимые различия при каждом проведенном исследовании сравниваемых групп. Рентгеноплотность достоверно выше в 1,2 раза (193 HU) в образцах со спондилодезом, выполненным остеотрансплантатом ($P < 0,008333$ с учетом поправки Бонферрони). Показатели микротвердости группы 4 превышают таковые для группы 5 в 1,12 (9,7 HV) раз ($P < 0,008333$ с учетом поправки Бонферрони). Данные, полученные при спектрометрии Ca/P, свидетельствуют о большем содержании данных элементов в 1,18/1,29 раза (2,7 %/3,41 %) в случае с выполнением спондилодеза остеотрансплантатом, а не костным аутоотрансплантатом ($P < 0,008333/0,008333$ с учетом поправки Бонферрони).

4.3 Сравнительный анализ результатов исследований тела позвонка в группах с применением остеотрансплантата и костного аутоотрансплантата

Для точки 4, соответствующей реципиентному ложу, показатели в случае применения остеотрансплантата (группы 1, 3 и 4) распределились следующим образом (таблица 23) – сравниваемые значения

рентгеноплотности в указанных группах отличались между собой в среднем на 17,33 НУ, при этом значимых различий выявлено не было ($P > 0,05$). Результаты микротвердости также не имели значимого различия между указанными группами и в среднем отличались на 2,4 НВ ($P > 0,05$). Показатели спектрометрии Са/Р, в среднем отличались между группами на 0,71%/0,51% соответственно, не имели статистически значимых различий ($P > 0,05$).

Таблица 23 – Результаты сравнения точки 4 в группах 1, 3 и 4 через 90 сут

Наименование показателя		Группа 1	Группа 3	Группа 4
Рентгеноплотность, HU		1072 [998; 1161]	1075 [1004; 1124]	1067 [1058; 1191]
Микротвердость, HV		91,9 [89,1; 94,1]	88,3 [84,6; 92,1]	90,9 [88,3; 94,2]
Спектрометрия, %	Са	18,17 [17,32; 19,42]	17,11 [16,52; 17,66]	17,44 [17,13; 17,76]
	Р	14,54 [13,39; 16,71]	14,61 [13,04; 15,40]	15,31 [14,67; 15,76]

Данные представлены в виде Me [Q25; Q75]. Результаты оценены с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни с поправкой Бонферрони как статистически значимые ($P < 0,05$)

Для точки 4, обозначающей реципиентное ложе, в случае заполнения дефекта аутооттрансплантатом (таблица 24) показатели рентгеноплотности отличались в среднем на 23 НУ, что является статистически незначимым различием ($P > 0,05$). Значения микротвердости между 2 и 4 группами в среднем отличались на 0,6 НВ, статистически значимых различий выявлено не было ($P > 0,05$). В случае спектрометрии Са/Р значимых различий также не зарегистрировано, а средние отличия составили 1,87%/1,97% соответственно ($P > 0,05$).

Опираясь на результаты проведенных для точки 4 межгрупповых сравнений в группах 1–5 по изучаемым параметрам реципиентного ложа (для групп с применением остеотрансплантата и костного аутооттрансплантата), можно говорить об отсутствии статистически значимых различий по всем параметрам и, следовательно, о групповой однородности этих параметров.

Таким образом, результаты, полученные из точек пластического материала, могут быть оценены между собой по исследуемым критериям.

Таблица 24 – Результаты сравнения точки 4 в группах 2 и 5 через 90 сут

Наименование показателя		Группа 2	Группа 5
Рентгеноплотность, HU		950 [904; 1015]	973 [912; 1075]
Микротвердость, HV		81,2 [78,7; 85,9]	81,8 [80; 83,4]
Спектрометрия, %	Са	14,74 [14,02; 16,87]	16,61 [15,19; 17,47]
	Р	11,9 [11,03; 12,42]	13,87 [12,52; 14,9]

Данные представлены в виде Me [Q25; Q75]. Результаты оценены с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни с поправкой Бонферрони как статистически значимые ($P < 0,05$)

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Все пластические материалы, в том числе тканеинженерные конструкции, используемые при замещении дефектов тел позвонков, имеют свои недостатки, поиск идеального остеопластического материала по сей день остается актуальной проблемой. В ходе диссертационного исследования были оценены качественные характеристики остеотрансплантата как пластического материала для замещения дефектов в условиях травматического повреждения вентральных отделов позвоночника. С целью изучения формирования костной ткани на основе остеотрансплантата и сравнения его с костным аутоотрансплантатом проводилось исследование *in vivo*. Материалом для эксперимента были выбраны мини-пиги весом от 15 до 18 кг, так как анатомические особенности и тела позвонков позволяли смоделировать тип операции и дефекта необходимого размера.

Применение остеотрансплантата и костного аутоотрансплантата было оценено при различных моделях травматических повреждений вентральных отделов позвоночника. Во всех группах исследования с использованием остеотрансплантата наглядные значимые результаты были достигнуты к 90-м сут от начала эксперимента. В ходе работы было выявлено, что показатели рентгеноплотности и микротвердости прямо пропорциональны друг другу.

Остеотрансплантат был исследован в группах 1, 3 и 4, где выполняли различные типы операций. В случае с формированием костного дефекта тела позвонка и его последующим пластическим замещением остеотрансплантатом (группа 1) рентгеноплотность и микротвердость к сроку 90 сут в точках внутри регенерата соответствовала таковой в области тела позвонка. Такие же результаты были получены и в модели травматического повреждения межпозвонкового диска с выполнением вентрального межтелового спондилодеза остеотрансплантатом (группа 4): данные рентгеноплотности и микротвердости точек внутри регенерата не отличаются от данных тела позвонка. Такое распределение параметров в

разных моделях операции говорит о формировании органоспецифической костной ткани в срок 90 сут и равномерном течении процесса во всем объеме пластического замещения не зависимо от расположения точки относительно реципиентного ложа. Этот вывод подтверждается результатами, полученными и в условиях перелома краниоventрального угла поясничного позвонка (группа 3). В этом случае рентгеноплотность также продолжала синхронно увеличиваться прямо пропорционально значениям микротвердости, с незначительным преобладанием в периферических точках. При этом все значения этих параметров в точках 1, 2 и 3 к 90-м сут соответствовали показателям костной ткани тела позвонка, что говорит о консолидации перелома и восстановлении адекватного кровоснабжения в отсеченном фрагменте.

Таким образом, учитывая полученные данные, в том числе морфологическое исследование, мы выявили, что формирование костной ткани в области пластического замещения происходило для остеотрансплантата не зависимо от модели повреждения.

С помощью спектрометрии нами была оценена минерализация остеотрансплантата. Значения Са/Р внутри трансплантата между точками в каждой группе указывали на то, что процесс остеорепарации идет равномерно во всех точках и соответствует телу позвонка в срок 90 сут. А при оценке значений конкретной точки в условиях различной модели повреждения выявлено следующее: имеется прямо пропорциональная связь между показателями рентгеноплотности и микротвердости; остеотрансплантат сохраняет скорость минерализации вне зависимости от смоделированного дефекта и выполненного вмешательства. Данные спектрометрии Са и Р в группах 1, 3 и 4 для каждой точки находились на одном уровне.

Рассматривая в отдельности данные, полученные при использовании костного аутоотрансплантата в различных моделях повреждения, провели сравнение групп 2 и 5. В случае с пластическим замещением дефекта тела

позвонка (группа 2) различия рентгеноплотности между трансплантатом и телом позвонка к 90-м сут оставались статистически значимыми. Похожие результаты получены и для модели травматического повреждения межпозвонкового диска с выполнением вентрального спондилодеза костным ауто трансплантатом. В обеих группах имелось неравномерное распределение рентгеноплотности, с ее увеличением в периферической зоне, прилегающей к реципиентному ложу, и меньшие показатели рентгеноплотности в точках 1 и 3, что может говорить о незавершенном процессе формирования костной ткани в центральной части костного ауто трансплантата и в зоне, не контактирующей с ложем.

Процесс образования костной ткани в случае применения костного ауто трансплантата происходил в три фазы, первая из которых – ползущее замещение [13]. Это напрямую влияло на срок формирования костной ткани. В случае с применением остеотрансплантата процесс образования костной ткани проходил равномерно во всем объеме пластического замещения благодаря наличию остеогенных клеток и матрикса, содержащего тканеспецифические белки предкостной ткани, минеральные компоненты в виде матричных пузырьков и кальцификатов, щелочной фосфатазы, и капилляры с эндотелиальной выстилкой [20], что позволило обеспечить быструю адаптацию в зоне пересадки. С помощью примененных методов исследования было подтверждено, что на основе остеотрансплантата формируется органоспецифическая костная ткань, аналогичная ткани реципиента.

При изучении результатов применения остеотрансплантата ни у одного животного не было выявлено эктопического формирования костной ткани, которое было описано в литературе, как одно из неблагоприятных явлений при применении rhBMPs-2 [86, 131, 132, 235, 249].

Можно сказать о преимуществе остеотрансплантата над мультипотентными мезенхимальными стволовыми клетками при замещении костных дефектов, поскольку через 90 сут в случае с применением

мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток образованная костная ткань имела отличия по своим свойствам и структуре от костной ткани реципиента [4, 100, 108, 159, 204, 226]. В нашем случае при пластическом замещении остеотрансплантатом через 90 сут сформирована органоспецифическая костная ткань, идентичная по своим качественным и прочностным показателям костной ткани тела позвонка реципиента. Помимо этого, способ производства остеотрансплантата гарантирует, что в результате будет получен материал, схожий по морфогенетическому ряду с областью его имплантации.

Для группы 2, как и для группы 5, показатели микротвердости изменялись прямо пропорционально рентгеноплотности. Учитывая, что такую же зависимость мы наблюдали и в случае с использованием остеотрансплантата, можно говорить о связи этих параметров.

Показатели микротвердости в данных моделях эксперимента не соответствуют таковой для тела позвонка, что свидетельствует о продолжающемся процессе формирования костной ткани. Как и для рентгеноплотности, отчетливо видно распределение значений с нарастанием от периферии к центру. В группах 2 и 5 показатель микротвердости в центральной зоне трансплантата наименее выражен по отношению к остальным зонам.

Таким образом, для костного аутоотрансплантата проявляется динамика формирования костной ткани, которая не связана с моделью повреждения.

Минерализация в костном аутоотрансплантате, оцененная с помощью спектрометрии Са/P, происходит неравномерно. Для групп 2 и 5 в срок 90 сут получены данные, демонстрирующие значимые различия точек трансплантата по отношению к телу позвонка, значимую разницу между точками внутри костного аутоотрансплантата. При этом важно, что в каждой точке в обеих группах показатели находились на одном уровне, то есть можно говорить о независимости скорости минерализации костного аутоотрансплантата от модели дефекта. Данные свидетельствуют о

продолжающемся процессе формирования костной ткани, минерализация происходит неравномерно, от периферии к центру костного ауто трансплантата, по типу ползущего замещения, морфологически определяется отсутствие полноценного костного блока.

Оценка данных остеотрансплантата и костного ауто трансплантата в различных условиях показала, что регенераторный потенциал имплантатов сохранялся вне зависимости от повреждения. При этом наглядно видно, что данные, полученные с использованием остеотрансплантата, значительно превосходят таковые при применении костного ауто трансплантата, что оценивается при сравнении групп 1 и 2, 4 и 5 в 4-й главе диссертационной работы.

При оценке микротвердости в случае замещения остеотрансплантатом и костным ауто трансплантатом выявлены значимые различия для всех точек между группами, что коррелирует с результатами, полученными при исследовании рентгеноплотности.

Об отличиях в скорости минерализации регенерата между остеотрансплантатом и костным ауто трансплантатом говорят данные, полученные при исследовании спектрометрии Ca/P, они свидетельствуют о более быстрой минерализации остеотрансплантата, нежели костного ауто трансплантата.

По данным эксперимента, не отмечалось формирования ложного сустава, резорбции пластического материала, аллергической реакции и других осложнений, свойственных применению костных как алло-, так ауто трансплантатов [66, 67, 113, 153, 239, 257] при выполнении вентрального спондилодеза.

Одной из проблем применения мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток является выбор скаффолда при замещении костных дефектов, а также предотвращение некроза клеток в центральной части пластического материала [24, 49, 272, 110, 174]. При использовании остеотрансплантата было выявлено равномерное созревание пластического

материала, что, в свою очередь, может говорить о его равномерной васкуляризации благодаря структурным составляющим, таким как капилляры с эндотелиальной выстилкой [20].

В процессе статистической обработки результатов после выполнения вентрального межтелового спондилодеза с использованием остеотрансплантата (группа 4) и костного аутоотрансплантата (группа 5) выявлено, что полученные данные имеют значительные различия в пользу остеотрансплантата для каждого измерения при каждом проведенном исследовании.

Таким образом, все результаты коррелируют с происхождением имплантата. Остеотрансплантат проявил себя как материал, имеющий больший регенераторный потенциал, нежели костный аутоотрансплантат.

ВЫВОДЫ

1. Разработанные модели травматического повреждения вентральных отделов позвоночника обеспечивают формирование органоспецифической костной ткани на основе остеотрансплантата.

2. Применение остеотрансплантата для замещения травматических дефектов вентральных отделов позвоночника приводит к формированию костной ткани, данный процесс протекает равномерно во всех исследуемых зонах, без статистически значимых различий ($P < 0,008333$ для каждого диагностического критерия с учетом поправки Бонферрони), и в срок 90 дней является завершённым ($P < 0,008333$ для каждого диагностического критерия с учетом поправки Бонферрони).

3. Количественные показатели, отражающие качество (рентгеноплотность, Ca, P), и прочностные показатели (HV) костной ткани, образованной на месте остеотрансплантата во всех травматических моделях, соответствуют костной ткани тела позвонка в срок 90 сут с момента операции ($P < 0,008333$ для каждого диагностического критерия с учетом поправки Бонферрони), при этом сформированная костная ткань на основе остеотрансплантата превосходит по данным показателям костную ткань, сформированную на месте костного аутооттрансплантата ($P < 0,008333$ для каждого диагностического критерия с учетом поправки Бонферрони).

4. Формирование костной ткани при использовании остеотрансплантата в качестве пластического материала происходит по типу ангиогенного остеогенеза не зависимо от модели травматического повреждения вентральных отделов позвоночника, а при использовании костного аутооттрансплантата формирование костной ткани происходило по типу ползущего замещения.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

КТ	компьютерная томография;
МРТ	– магнитно-резонансная томография;
МСКТ	– мультиспиральная компьютерная томография;
BMPs	– bone morphogenetic proteins – костные морфогенетические белки;
DFDBA	– decalcified freeze dried bone allograft – деминерализованный лиофилизированный костный аллотрансплантат;
FDBA	– Freeze dried bone allograft – лиофилизированный костный аллотрансплантат;
FGF	– Fibroblast growth factor – фибробластический фактор роста;
IGFs	– Insulin – like growth factors – инсулиноподобные факторы роста;
PDGF	– Platelet-derived growth factor – тромбоцитарный фактор роста;
PGA	– Polyglycolic acid – полигликолевая кислота;
PLGA	– Poly-lactic- co-glycolic acid – поли-лактид-ко-гликолевая кислота;
PLLA	– Poly-L-lactic acid – поли-L-молочная кислота;
PRP	– Platelet-Rich Plasma – обогащенная тромбоцитами плазма;
PEEK	– Polyetheretherketone – полиэфирэфиркетон;
rhBMPs	– Recombinant human bone morphogenetic proteins – рекомбинантные человеческие костные морфогенетические белки;
TGF- β	– Transforming growth factor – трансформирующий фактор роста;
VEGF	– Vascular Endothelial Growth Factor – фактор роста эндотелия сосудов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аванесян, Р. А. Экспериментально-лабораторное исследование методов консервирования биотрансплантатов / Р. А. Аванесян, А. Д. Ивлева // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 4. – С. 342–342.
2. Аврунин А. С. и др. Параметры метаболизма минерального матрикса костной ткани //Остеопороз и остеопатии. – 2000. – Т. 4. – С. 2-4.
3. Александрова, С. А. Методологические подходы создания тканеинженерных конструкций для восстановления дефектов костной и хрящевой тканей (опыт института цитологии РАН) / С. А. Александрова, Ю. А. Нащекина, Н. В. Цупкина // Клеточные культуры. – 2016. – С. 95.
4. Анастасиева, Е. А. Использование ауто- и аллотрансплантатов для замещения костных дефектов при резекциях опухолей костей (обзор литературы) / Е. А. Анастасиева, М. А. Садовой, А. А. Воропаева, И. А. Кирилова // Травматология и ортопедия России. – 2017. – Т. 23, № 3. – С. 148–155.
5. Ардашев И. П. и др. Биоконпозиционный и костнопластический материалы при формировании межпозвонкового костного блока //Гений ортопедии. – 2010. – №. 1. – С. 12-18.
6. Ардашев И. П. и др. Возможные осложнения после взятия аутотрансплантата из крыла подвздошной кости //Современные технологии в травматологии и ортопедии. М. – 1999. – С. 191-192.
7. Ардашев И. П. и др. Современное состояние вопроса о костнопластических материалах, стимулирующих остеогенез //Вестник новых медицинских технологий. – 2011. – Т. 18. – №. 4.
8. Архипенко В. И. и др. Экспериментальное обоснование эффективности применения погружных металлоконструкций с биоактивным покрытием из природного наноструктурного кальций-фосфатного комплекса для чрескостного остеосинтеза //Современная наука: актуальные проблемы

теории и практики. Серия: Естественные и технические науки. – 2016. – №. 6. – С. 93-97.

9. Балан, И. Процессы регенерации тканей при полной аллопластике дефектов костей у животных / И. Балан // *Stiinta Agricola*. – 2017. – № 1. – С. 68–71.

10. Бруско, А. Т. Современные представления о стадиях репаративной регенерации костной ткани при переломах / А. Т. Бруско, Г. В. Гайко // *Вісник ортопедії, травматології та протезування*. – 2014. – № 2. – С. 5–8.

11. Булатов А. А., Калинин А. В., Савельев В. Н. Современные способы изготовления, стерилизации и консервации деминерализованных трансплантатов (обзор литературы) // *Травматология и ортопедия России*. – 2005. – №. 1. – С. 55-59.

12. Бычков, А. И. Изучение остеоиндуктивной активности рекомбинантного морфогенетического белка кости (rhBMP-2) в составе остеопластического материала на основе деминерализованного матрикса в эксперименте / А. И. Бычков, М. Э. Долинер, А. И. Ситдикова // *Российская стоматология*. – 2015. – Т. 8, № 1. – С. 15–17.

13. Васильев, Р. Г. Использование клеточной терапии и тканевой инженерии для восстановления дефектов костной ткани: биотехнологические аспекты и клинические результаты / Р. Г. Васильев [и др.] // *Проблемы остеології*. – 2015. – Т. 18, № 2. – С. 12–22.

14. Вишневский, А. А. Перспективы применения титановых имплантатов с заданными остеогенными свойствами / А. А. Вишневский, В. В. Казбанов, М. С. Баталов // *Хирургия позвоночника*. – 2016. – Т. 13, № 1. – С. 50–58.

15. Грищенко, Д. Н. Биоактивная керамика на основе оксидов металлов / Д. Н. Грищенко, М. А. Медков // *XX Менделеевский съезд по общей и прикладной химии*. – Екатеринбург, 2016. – С. 422–422.

16. Дедух, Н. В. Регенерация кости при сахарном диабете 2 типа (экспериментальное исследование) / Н. В. Дедух, А. А. Сыкал // Проблемы остеологии. – 2015. – Т. 18, № 4. – С. 12–18.
17. Деев Р. В. и др. Пути развития клеточных технологий в костной хирургии // Травматология и ортопедия России. – 2008. – № 1. – С. 65-75.
18. Деркачев, В. С. Мезенхимальные стволовые клетки в регенерации дефектов костной ткани / В. С. Деркачев [и др.] // Actualscience. – 2016. – Т. 2, № 10. – С. 37–39.
19. Джангалиев, Д. Т. Особенности костной пластики при дефектах нижней челюсти / Д. Т. Джангалиев, Г. Б. Оразаева, Д. В. Гончаров // Инновации в науке. – 2017. – № 10. – С. 48–50.
20. Зайдман, А. М. Регенерация костной ткани нижней челюсти методом тканевой инженерии / А. М. Зайдман, Н. А. Иванова, О. С. Косарева [и др.] // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 6-0. – С. 119.
21. Карягина, А. С. Оптимизация получения активной формы rhBMP-2 в гетерологичной системе экспрессии с помощью микробиологических и молекулярно-генетических подходов / А. С. Карягина, И. С. Бокша, Т. М. Грунина [и др.] // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. – 2016. – Т. 34, № 4. – С. 132–137.
22. Кирилова, И. А. Сравнительная характеристика материалов для костной пластики: состав и свойства / И. А. Кирилова, М. А. Садовой, В. Т. Подорожная // Хирургия позвоночника. – 2012. – № 3. – С. 72–83.
23. Кириченко, В. Н. Влияние остеопластических материалов на течение восстановительных процессов в отдаленные сроки после хирургического лечения пародонтита / В. Н. Кириченко, С. Г. Безруков, Н. В. Марченко // Крымский терапевтический журнал. – 2013. – № 1. – С. 46–49.
24. Костив, Р. Е. Трофические факторы роста костной ткани, их морфогенетическая характеристика и клиническое значение / Р. Е. Костив,

С. Г. Калиниченко, Н. Ю. Матвеева // Тихоокеанский медицинский журнал. – 2017. – № 1. – С. 10–16.

25. Лекишвили, М. В. Костнопластические остеоиндуктивные материалы в травматологии и ортопедии / М. В. Лекишвили, Е. Д. Склянчук, В. С. Акатов [и др.] // Гений ортопедии. – 2015. – № 4. – С. 61–67.

26. Мазуренко, А. Н. Передний спондилодез поясничного отдела позвоночника / А. Н. Мазуренко // Здоровье для всех. – 2015. – С. 115–120.

27. Малыгина, М. А. Применение богатой тромбоцитами плазмы при заболеваниях и повреждениях опорно-двигательного аппарата / М. А. Малыгина, Н. В. Боровкова, О. М. Сахарова, И. Н. Пономарев // Трансплантология. – 2017. – Т. 9, № 4. – С. 325–334.

28. Марков А. А. и др. Изучение остеорегенеративных свойств различных видов имплантатов с натуральным кальций-фосфатным покрытием в эксперименте // Научный форум. Сибирь. – 2015. – №. 1. – С. 137-138.

29. Марков А. А. и др. Результаты изучения влияния синтетического биоактивного кальций-фосфатного покрытия титановых имплантатов на репаративную регенерацию костной ткани // Медицинская наука и образование Урала. – 2016. – Т. 17. – №. 2. – С. 33-36.

30. Маткин, А. Е. О проблематике анализа и компьютерной обработки МРТ изображений / А. Е. Маткин, В. С. Урсова // Современные тенденции развития науки и технологий. – 2016. – С. 78.

31. Медков, М. А. Биоактивная керамика на основе диоксида циркония / М. Медков [и др.] // Химическая технология. – 2015. – Т. 16, № 10. – С. 585–589.

32. Москалёв, А. В. Особенности биологии трансформирующего ростового фактора β и иммунопатология / А. В. Москалёв, А. С. Рудой, А. В. Апчел [и др.] // Вестник Российской военно-медицинской академии. – 2016. – № 2. – С. 206-216.

33. Пат. 2392973 Российская Федерация, МПК А61L 27/38. Способ получения трехмерного хондротрансплантата / А. М. Зайдман, И. И. Ким, М. А. Садовой; заявитель и патентообладатель ФГУ ННИИТО Росмедтехнологий. - № 2008103109/15; заявл. 28.01.2008; опубл. 27.06.2013, Бюл. № 18. – 11 с.

34. Пат. 2530622 Российская Федерация, МПК А61L27/24, А61К35/28, А61Р19/10. Биотрансплантат для восстановления объема костной ткани при дегенеративных заболеваниях и травматических повреждениях костей и способ его получения / И. Ю. Чаусская, А. Ю. Дробышев, Е. В. Парфенова [и др.]; Моск. гос. ун-т им. М.В. Ломоносова, ООО «Генная и клеточная терапия». – № 2012107674/15; заявл. 01.03.2012; опубл. 10.10.2014, Бюл. № 28. – 13 с.

35. Предеин, Ю. А. Костные и клеточные имплантаты для замещения дефектов кости / Ю. А. Предеин, В. В. Рерих // Современные проблемы науки и образования. – 2016. – № 6. – С. 132.

36. Сергеев К. С. Межтеловой спондилодез с использованием углеродных наноструктурных имплантатов при травмах позвоночного столба (клинические рекомендации) //Тюмень: ТГМА. – 2014.

37. Силин, А. Ю. Физические основы некоторых методов лучевой диагностики / А. Ю. Силин, В. Н. Федорова, А. Н. Русскова [и др.]. Международный журнал экспериментального образования. – 2016. – № 6-1. – С. 81.

38. Слетов, А. А. Сравнительный анализ эффективности визуальных методов диагностики у пациентов с остеонекрозами и асептическими остеомиелитами челюстных костей / А. А. Слетов, А. В. Жидовинов, Р. А. Можейко [и др.] // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. – 2017. – № 1. – С. 78–81.

39. Таиров, У. Т. Реконструктивно-восстановительные операции при дефектах и деформациях нижней челюсти / У. Т. Таиров, Ш. М. Джумаев // Наука, новые технологии и инновации. – 2016. – № 7. – С. 88–94.

40. Урузбаев, Р. М. Регенеративные свойства тканей и органов, факторы ускорения репаративных процессов (обзор литературы) / Р. М. Урузбаев [и др.] // Медицинская наука и образование Урала. – 2017. – Т. 18, № 1. – С. 171–178.
41. Фриденштейн А. Я. Стволовые остеогенные клетки костного мозга // Онтогенез. – 1991. – Т. 22. – №. 2. – С. 189-197.
42. Цуман, В. Г. Создание костной ткани *in vivo* при помощи стволовых клеток костного мозга / В. Г. Цуман // Детская хирургия. – 2015. – Т. 19, № 2. – С. 34–38.
43. Щеголькова, А. С. Применение серой шкалы для сегментации результатов компьютерной рентгеновской томографии / А. С. Щеголькова // Современные тенденции развития науки и технологий. – 2016. – С. 135.
44. Щелкунова, Е. И. Регенерация искусственного перелома тела позвонка при использовании трехмерного остеотрансплантата / Е. И. Щелкунова [и др.] // ББК 54.58 я431 Ц58. – С. 932. Источник? Указать 3-х авторов [и др.]
45. Яременко, Д. А. Вклад академика АА Коржа в развитие отечественной ортопедии, травматологии и протезирования (к 90-летию со дня рождения) / Д. А. Яременко, С. Д. Шевченко // Ортопедия, травматология и протезирование. – 2014. – № 2. – С. 106-111.
46. Acar, A. H. Micro-computed tomography and histomorphometric analysis of the effects of platelet-rich fibrin on bone regeneration in the rabbit calvarium / A. H. Acar, Ü. Yolcub, M. Gül // Archives of Oral Biology. – 2015. – Vol. 60, № 4. – P. 606-614.
47. Ahn, J.-S. Efficiency and Safety of Demineralized Bone Matrix for Posterolateral Fusion / J.-S. Ahn, H.-J. Lee, E. Park [et al.] // Journal of the Korean Orthopaedic Association. – 2016. – Vol. 51, № 3. – P. 207–213.
48. Aichelmann - Reidy M. E., Heath C. D., Reynolds M. A. Clinical evaluation of calcium sulfate in combination with demineralized freeze-dried bone

allograft for the treatment of human intraosseous defects //Journal of periodontology. – 2004. – T. 75. – №. 3. – C. 340-347.

49. Al-Mohrej, O. A. Current view of bone regeneration using mesenchymal stem cells / O. A. Al-Mohrej, N. K. Al-Ayedh, A. Y. Al-Awlah, N. S. Al-Kenani // Journal of Orthopaedics and Allied Sciences. – 2016. – Vol. 4, № 1. – P. 1.

50. Anastasieva, E. A. Analysis of the results of replacement of large bone defects in the patients who underwent segmental bone resection for tumor / E. A. Anastasieva [et al.] // AIP Conference Proceedings. – 2017. – Vol. 1882, № 1. – Art. 020002.

51. Apicella, A. Innovative Biomaterials in Bone Tissue Engineering and Regenerative Medicine / A. Apicella, D. Apicella, J. Syed, R. Aversa // MSCs and Innovative Biomaterials in Dentistry. – [S. l.]: Springer, 2017. – P. 63–84.

52. Armaghani, S. J. The evaluation of donor site pain after harvest of tricortical anterior iliac crest bone graft for spinal surgery: a prospective study / S. J. Armaghani, J. L. Even, E. K. Zern [et al.] // Spine. – 2016. – Vol. 41, № 4. – P. e191–e196.

53. Asghari, F. Biodegradable and biocompatible polymers for tissue engineering application: a review / F. Asghari, M. Samiei, K. Adibkia [et al.] // Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology. – 2017. – Vol. 45, № 2. – P. 185–192.

54. Azevedo, H. S. Biomimetic supramolecular designs for the controlled release of growth factors in bone regeneration / H. S. Azevedo, I. Pashkuleva // Advanced Drug Delivery Reviews. – 2015. – Vol. 94. – P. 63–76.

55. Badran, Z. Platelet concentrates for bone regeneration: current evidence and future challenges / Z. Badran, M.-N. Abdallah, J. Torres, F. Tamimi // Platelets. – 2017. – P. 1–8.

56. Barbarisi, A. Regenerative Medicine: Current and Potential Applications / A. Barbarisi, F. Rosso // Biotechnology in Surgery. – Springer, Milano, 2011. – P. 75–94.

57. Baskin D. S. et al. A prospective, randomized, controlled cervical fusion study using recombinant human bone morphogenetic protein-2 with the CORNERSTONE-SR™ allograft ring and the ATLANTIS™ anterior cervical plate // *Spine*. – 2003. – T. 28. – №. 12. – C. 1219-1224.

58. Bastami, F. Induced pluripotent stem cells as a new gateway for bone tissue engineering: a systematic review / F. Bastami, N. Pantea, M. Hamidreza [et al.] // *Cell Proliferation*. – 2017. – Vol. 50, № 2. Doi: <https://doi.org/10.1111/cpr.12321>.

59. Bedian, L. Bio-based materials with novel characteristics for tissue engineering applications – a review / L. Bedian, A. M. Villalba-Rodríguez, G. Hernández-Vargas [et al.] // *International Journal of Biological Macromolecules*. – 2017. – Vol. 98. – P. 837–846.

60. Ben Amara, H. Influence of rhBMP-2 on guided bone regeneration for placement and functional loading of dental implants: a radiographic and histologic study in dogs / H. Ben Amara, J. Lee, J.-J. Kim, K.-T. Koo // *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*. – 2017. – Vol. 32, № 6. – P. e265–e276.

61. Bertolai, R. Bone graft and mesenchymal stem cells: clinical observations and histological analysis / R. Bertolai, C. Catelani, A. Aversa [et al.] // *Clinical Cases in Mineral and Bone Metabolism*. – 2015. – Vol. 12, № 2. – P. 183.

62. Bose, S. Effect of chemistry on osteogenesis and angiogenesis towards bone tissue engineering using 3D printed scaffolds / S. Bose, S. Tarafder, A. Bandyopadhyay // *Annals of biomedical engineering*. – 2017. – Vol. 45, № 1. – P. 261–272.

63. Bouaicha, S. Histological remodeling of demineralized bone matrix allograft in posterolateral fusion of the spine-an ex vivo study / S. Bouaicha, B. von Rechenberg, G. Osterhoff [et al.] // *BMC Surgery*. – 2013. – Vol. 13, № 1. – P. 58.

64. Bridwell K. H. et al. Anterior fresh frozen structural allografts in the thoracic and lumbar spine. Do they work if combined with posterior fusion and instrumentation in adult patients with kyphosis or anterior column defects? // *Spine*. – 1995. – T. 20. – №. 12. – C. 1410-1418.
65. Burkus, J. K. Clinical and radiographic outcomes in patients undergoing single-level anterior cervical arthrodesis: a prospective trial comparing allograft to a reduced dose of rhBMP-2 / J. K. Burkus, R. F. Dryer, P. M. Arnold [et al.] // *Clinical Spine Surgery*. – 2017. – Vol. 30, № 9. – P. e1321–e1332.
66. Buser, Z. Bone grafting and spinal fusion options / Z. Buser, A. Jakoi, B. Katbanna [et al.] // *Essentials of Spinal Stabilization*. – [S. l.], 2017. – P. 453–470.
67. Buser, Z. Synthetic bone graft versus autograft or allograft for spinal fusion: a systematic review / Z. Buser, D. S. Brodke, J. A. Youssef [et al.] // *Journal of Neurosurgery: Spine*. – 2016. – Vol. 25, № 4. – P. 509–516.
68. Busser, H. Isolation and characterization of human mesenchymal stromal cell subpopulations: comparison of bone marrow and adipose tissue / H. Busser, M. Najjar, G. Raicevic [et al.] // *Stem Cells and Development*. – 2015. – Vol. 24, № 18. – P. 2142–2157.
69. Caron, I. A new three dimensional biomimetic hydrogel to deliver factors secreted by human mesenchymal stem cells in spinal cord injury / I. Caron, F. Rossi, S. Papa [et al.] // *Biomaterials*. – 2016. – Vol. 75. – P. 135–147.
70. Chakar, C. Vertical bone regeneration with deproteinised bovine bone mineral or biphasic calcium phosphate in the rabbit calvarium: effect of autologous platelet lysate / C. Chakar, E. Soffer, N. Cohen [et al.] // *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. – 2015. – Vol. 26, № 1. – P. 23.
71. Chamberlain G. et al. Concise review: mesenchymal stem cells: their phenotype, differentiation capacity, immunological features, and potential for homing // *Stem cells*. – 2007. – T. 25. – №. 11. – C. 2739-2749.
72. Chau, A. M. T. Reconstruction versus no reconstruction of iliac crest defects following harvest for spinal fusion: a systematic review: a review / A. M. T.

Chau, L. L. Xu, R. Van der Rijt, H. Y. Johnny // *Journal of Neurosurgery: Spine*. – 2012. – Vol. 16, № 6. – P. 565–572.

73. Chen, C. Safety and efficacy studies of vertebroplasty, kyphoplasty, and mesh-container-plasty for the treatment of vertebral compression fractures: preliminary report / C. Chen, D. Li, Z. Wang [et al.] // *PloS One*. – 2016. – Vol. 11, № 3. – P. e0151492.

74. Chen, Y. Enhanced effect of β -tricalcium phosphate phase on neovascularization of porous calcium phosphate ceramics: in vitro and in vivo evidence / Y. Chen, J. Wang, X. D. Zhu [et al.] // *Acta Biomaterialia*. – 2015. – Vol. 11. – P. 435–448.

75. Choudhery M. S. et al. Donor age negatively impacts adipose tissue-derived mesenchymal stem cell expansion and differentiation // *Journal of Translational Medicine*. – 2014. – T. 12. – C. 8.

76. Cicciù, M. Real Opportunity for the Present and a Forward Step for the Future of Bone Tissue Engineering / M. Cicciù // *Journal of Craniofacial Surgery*. – 2017. – Vol. 28, № 3. – P. 592–593.

77. Clarke, A. Morbidity associated with anterior iliac crest bone graft harvesting in children undergoing orthopaedic surgery: a prospective review / A. Clarke, M. J. Flowers, A. G. Davies [et al.] // *Journal of Children's Orthopaedics*. – 2015. – Vol. 9, № 5. – P. 411–416.

78. Clines G. A. Prospects for osteoprogenitor stem cells in fracture repair and osteoporosis // *Current Opinion in Organ Transplantation*. – 2010. – T. 15. – №. 1. – C. 73-78.

79. Costa, P. F. Advanced tissue engineering scaffold design for regeneration of the complex hierarchical periodontal structure / P. F. Costa, C. Vaquette, Q. Zhang [et al.] // *Journal of Clinical Periodontology*. – 2014. – Vol. 41, № 3. – P. 283–294.

80. Cowan C. M. et al. Adipose-derived adult stromal cells heal critical-size mouse calvarial defects // *Nature Biotechnology*. – 2004. – T. 22. – №. 5. – C. 560-568.

81. Croes, M. Proinflammatory mediators enhance the osteogenesis of human mesenchymal stem cells after lineage commitment / M. Croes, F. C. Oner, M. C. Kruyt [et al.] // *PloS One*. – 2015. – Vol. 10, № 7. – P. e0132781.
82. Dasari, V. R. Mesenchymal stem cells in the treatment of spinal cord injuries: a review / V. R. Dasari, K. K. Veeravalli, D. H. Dinh // *World Journal of Stem Cells*. – 2014. – Vol. 6, № 2. – P. 120–133.
83. Davies, O. G. A comparison of the in vitro mineralisation and dentinogenic potential of mesenchymal stem cells derived from adipose tissue, bone marrow and dental pulp / O. G. Davies, P. R. Cooper, R. M. Shelton [et al.] // *Journal of Bone and Mineral Metabolism*. – 2015. – Vol. 33, № 4. – P. 371–382.
84. Dayem, A. A. The potential of nanoparticles in stem cell differentiation and further therapeutic applications / A. A. Dayem, H. Y. Choi, G.M. Yang [et al.] // *Biotechnology Journal*. – 2016. – Vol. 11, № 12. – P. 1550–1560.
85. De Freitas, R. M. Alveolar ridge and maxillary sinus augmentation using rhbmp-2: a systematic review / R. M. De Freitas, R. Spin-Neto, E. Marcantonio [et al.] // *Clinical implant dentistry and related research*. – 2015. – Vol. 17. – P. e192–201.
86. De Queiroz Fernandes, J. Bone regeneration with recombinant human bone morphogenetic protein 2: a systematic review / J. de Queiroz Fernandes, V. N. de LimaJoão, P. Bonardi [et al.] // *Journal of Maxillofacial and Oral Surgery*. – 2016. – P. 1–6.
87. De Ruitter, A. Micro-structured calcium phosphate ceramic for donor site repair after harvesting chin bone for grafting alveolar clefts in children / A. de Ruitter, E. Dik, R. Van Es [et al.] // *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery*. – 2014. – Vol. 42, № 5. – P. 460–468.
88. Deepthi, S. An overview of chitin or chitosan/nano ceramic composite scaffolds for bone tissue engineering / S. Deepthia, J. Venkatesanb, Se-Kwon Kim [et al.] // *International Journal of Biological Macromolecules*. – 2016. – Vol. 93. – P. 1338–1353.

89. Denry, I. Design and characterization of calcium phosphate ceramic scaffolds for bone tissue engineering / I. Denry, L. T. Kuhn // *Dental Materials*. – 2016. – Vol. 32, № 1. – P. 43–53.
90. Denu R. A., Hematti P. Effects of Oxidative Stress on Mesenchymal Stem Cell Biology // *Oxidative medicine and cellular longevity*. – 2016. – T. 2016. – C. 2989076.
91. Doria, C. Role of Materials in Cervical Spine Fusion / C. Doria, M. Gallo // *Cervical Spine*. – [S. l.], 2016. – P. 159–171.
92. Drüeke, T. B. Changing bone patterns with progression of chronic kidney disease / T. B. Drüeke, Z. A. Massy // *Kidney International*. – 2016. – Vol. 89, № 2. – P. 289–302.
93. Du, W. J. Mesenchymal stem cells derived from human bone marrow and adipose tissue maintain their immunosuppressive properties after chondrogenic differentiation: role of HLA-G / W. J. Du [et al.] // *Stem Cells and Development*. – 2016. – Vol. 25, № 19. – P. 1454–1469.
94. Ducheyne, P. Bioactive Ceramics / P. Ducheyne // *Comprehensive Biomaterials*. – 2015. – Vol. 1. – P. 157.
95. Ehrenfest, D. M. D. Classification of platelet concentrates (Platelet-Rich Plasma-PRP, Platelet-Rich Fibrin-PRF) for topical and infiltrative use in orthopedic and sports medicine: current consensus, clinical implications and perspectives / D. M. D. Ehrenfest, I. Andia, M.A. Zumstein [et al.] // *Muscles, Ligaments and Tendons Journal*. – 2014. – Vol. 4, № 1. – P. 3–9.
96. El Bialy, I. Formulation, delivery and stability of bone morphogenetic proteins for effective bone regeneration / I. El Bialy, W. Jiskoot, M. R. Nejadnik // *Pharmaceutical Research*. – 2017. – Vol. 34, № 6. – P. 1152–1170.
97. El Tamer M. K., Reis R. L. Progenitor and stem cells for bone and cartilage regeneration // *Journal of tissue engineering and regenerative medicine*. – 2009. – T. 3. – №. 5. – C. 327-337.
98. Fan, J. Delivery of phenamil enhances BMP-2-induced osteogenic differentiation of adipose-derived stem cells and bone formation in calvarial

defects / J. Fan, C. S. Im, Z.-K. Cui [et al.] // *Tissue Engineering. Part A.* – 2015. – Vol. 21, № 13/14. – P. 2053–2065.

99. Feng, L. Bone regeneration combining platelet rich plasma with engineered bone tissue / L. Feng, W. Chang, B. Tian [et al.] // *Journal of Biomaterials and Tissue Engineering.* – 2017. – Vol. 7, № 9. – P. 841–847.

100. Folkman J., Hochberg M. Self-regulation of growth in three dimensions // *Journal of Experimental Medicine.* – 1973. – T. 138. – №. 4. – C. 745-753.

101. Gao, F. Mesenchymal stem cells and immunomodulation: current status and future prospects / F. Gao, S. M. Chiu, D. A. Motan [et al.] // *Cell Death & Disease.* – 2017. – Vol. 7, № 1. – P. e2062.

102. Galle J. et al. Mesenchymal stem cells in cartilage repair: state of the art and methods to monitor cell growth, differentiation and cartilage regeneration // *Current medicinal chemistry.* – 2010. – T. 17. – №. 21. – C. 2274-2291.

103. García-Gareta, E. Osteoinduction of bone grafting materials for bone repair and regeneration / E. García-Gareta, M. J. Coathup, G. W. Blunn // *Bone.* – 2015. – Vol. 81. – P. 112–121.

104. Gathani, K. M. Scaffolds in regenerative endodontics: a review / K. M. Gathani, S. S. Raghavendra // *Dental Research Journal.* – 2016. – Vol. 13, № 5. – P. 379.

105. Godavitarne C. Biodegradable materials / C. Godavitarne, A. Robertson, J. Peters, B. Rogers // *Orthopaedics and Trauma.* – 2017. – Vol. 31, № 5. – P. 316-320.

106. Goerke, S. M. Endothelial progenitor cells from peripheral blood support bone regeneration by provoking an angiogenic response / S. M. Goerke, J. Obermeyer, J. Plaha [et al.] // *Microvascular Research.* – 2015. – Vol. 98. – P. 40–47.

107. Gomes de Oliveira R. C. et al. Bone tissue microarchitectural characteristics at dental implant sites. Part 1: Identification of clinical - related parameters // *Clinical oral implants research.* – 2012. – T. 23. – №. 8. – C. 981-986.

108. Gordeladze, J. O. Bone Tissue Engineering: State of the Art, Challenges, and Prospects / J. O. Gordeladze, H. J. Haugen, S. P. Lyngstadaas, J. E. Reseland // Tissue engineering for artificial organs: regenerative medicine, smart diagnostics and personalized medicine. – [S. l.], 2017. – P. 525–551.

109. Grayson, W. L. Stromal cells and stem cells in clinical bone regeneration / W. L. Grayson, B. A. Bunnell, E. Martin [et al.] // Nature Reviews. Endocrinology. – 2015. – Vol. 11, № 3. – P. 140–150.

110. Griffin, K. S. Evolution of bone grafting: bone grafts and tissue engineering strategies for vascularized bone regeneration / K. S. Griffin, K. M. Davis, T. O. McKinley [et al.] // Clinical Reviews in Bone and Mineral Metabolism. – 2015. – Vol. 13, № 4. – P. 232–244.

111. Guerado, E. Challenges of bone tissue engineering in orthopaedic patients / E. Guerado, E. Caso // World Journal of Orthopedics. – 2017. – Vol. 8, № 2. – P. 87–98.

112. Guo, J. B. Surgical versus non-surgical treatment for vertebral compression fracture with osteopenia: a systematic review and meta-analysis / J. B. Guo, Y. Zhu, B.-L. Chen [et al.] // PloS One. – 2015. – Vol. 10, № 5. – P. e0127145.

113. Gupta, A. Bone graft substitutes for spine fusion: a brief review / A. Gupta, N. Kukkar, K. Sharif [et al.] // World Journal of Orthopedics. – 2015. – Vol. 6, № 6. – P. 449.

114. Gupta, S. Biology of spine fusion and application of osteobiologics in spine surgery / S. Gupta, V. Mohan, M. C. Gupta // Bone Morphogenetic Proteins: Systems Biology Regulators. – [S. l.]: Springer, 2017. – P. 229–247.

115. Guyer, R. D. Evaluating osseointegration into a deeply porous titanium scaffold: a biomechanical comparison with PEEK and allograft / R. D. Guyer, D. Richard, J.-J. Abitbol [et al.] // Spine. – 2016. – Vol. 41, № 19. – P. e1146-e1150.

116. Habibovic P., de Groot K. Osteoinductive biomaterials—properties and relevance in bone repair // *Journal of tissue engineering and regenerative medicine*. – 2007. – T. 1. – №. 1. – C. 25-32.

117. Han, J. Iron oxide nanoparticle-mediated development of cellular gap junction crosstalk to improve mesenchymal stem cells' therapeutic efficacy for myocardial infarction / J. Han, B. Kim, J. Y. Shin [et al.] // *ACS Nano*. – 2015. – Vol. 9, № 3. – P. 2805–2819.

118. Hardouin, P. Bone marrow adipose tissue: to be or not to be a typical adipose tissue? / P. Hardouin, T. Rharass, S. Lucas // *Frontiers in Endocrinology*. – 2016. – Vol. 7, № 85. – P. 1.

119. Hare, J. M. Randomized comparison of allogeneic versus autologous mesenchymal stem cells for nonischemic dilated cardiomyopathy: POSEIDON-DCM trial / J. M. Hare, L. D. Darcy, A. C. Rieger [et al.] // *Journal of the American College of Cardiology*. – 2017. – Vol. 69, № 5. – P. 526–537.

120. Harris, P. E. Metabolic bone disease / P. E. Harris, P. M. G. Bouloux // *Endocrinology in Clinical Practice*. – [S. l.], 2014. – P. 243.

121. Hayashi O. et al. Comparison of osteogenic ability of rat mesenchymal stem cells from bone marrow, periosteum, and adipose tissue // *Calcified tissue international*. – 2008. – T. 82. – №. 3. – C. 238-247.

122. Henning, C. Comparative study of subtalar arthrodesis after calcaneal fracture malunion with autologous bone graft or freeze-dried xenograft / C. Henning, G. Poglia, M. A. Leie [et al.] // *Journal of Experimental Orthopaedics*. – 2015. – Vol. 1, № 2. – P. 1–9.

123. Heo, J. S. Comparison of molecular profiles of human mesenchymal stem cells derived from bone marrow, umbilical cord blood, placenta and adipose tissue / J. S. Heo, Y. H.-S. Choi, K. Hyun, O. Kim // *International Journal of Molecular Medicine*. – 2016. – Vol. 37, № 1. – P. 115–125.

124. Herford, A. S. Immediate distraction osteogenesis: the sandwich technique in combination with rhBMP-2 for anterior maxillary and mandibular

defects / A. S. Herford, R. Tandon, T. W. Stevens, E. Stoffella // *Journal of Craniofacial Surgery*. – 2013. – Vol. 24, № 4. – P. 1383–1387.

125. Hiasa, K. et al. Preoperative computed tomography-derived bone densities in hounsfield units at implant sites acquired primary stability / K. Hiasa, Y. Abe, Y. Okazaki [et al.] // *ISRN Dent*. – 2011. – Vol. 2011. – P. 678–729.

126. Hoffmann, M. Recombinant human bone morphogenetic protein-2 (rhBMP-2) in posterolateral lumbar spine fusion: complications in the elderly / M. Hoffmann, C. B. Jones // *The Spine Journal*. – 2011. – Vol. 11, № 10. – P. S61–S62.

127. Holtzclaw D. et al. The safety of bone allografts used in dentistry: a review // *The Journal of the American Dental Association*. – 2008. – T. 139. – №. 9. – C. 1192–1199.

128. Holzapfel, B. M. Tissue engineering and regenerative medicine in musculoskeletal oncology / B. M. Holzapfel, W. Ferdinand, C. M. Laure [et al.] // *Cancer and Metastasis Reviews*. – 2016. – Vol. 35, № 3. – P. 475–487.

129. Horimizu, M. Synergistic effects of the combined use of human - cultured periosteal sheets and platelet - rich fibrin on bone regeneration: An animal study / M. Horimizu, T. Kubota, T. Kawase [et al.] // *Clinical and Experimental Dental Research*. – 2017. – Vol. 3, № 4. – P. 134–141.

130. Huang, L. Evaluation of bone regeneration following combination therapy with platelet-rich plasma and chitosan/hydroxyapatite / L. Huang [et al.] // *Journal of Biomaterials and Tissue Engineering*. – 2017. – Vol. 7, № 8. – P. 642–649.

131. Hustedt, J. W. Optimal aspiration volume of vertebral bone marrow for use in spinal fusion / J. W. Hustedt, K. A. Jegede, R. Badrinath [et al.] // *The Spine Journal*. – 2013. – Vol. 13, № 10. – P. 1217–1222.

132. Hustedt, J. W. The controversy surrounding bone morphogenetic proteins in the spine: a review of current research / J. W. Hustedt, D. J. Blizzard // *Yale journal of biology and medicine*. – 2014. – Vol. 87. – P. 549–561.

133. Jakoi, A. M. Autologous bone graft harvesting: a review of grafts and surgical techniques / A. M. Jakoi, J. A. Iorio, P. J. Cahill // *Musculoskeletal Surgery*. – 2015. – Vol. 99, № 3. – P. 171–178.

134. James, A. W. A review of the clinical side effects of bone morphogenetic protein-2 / A. W. James, G. LaChaud, J. Shen [et al.] // *Tissue Engineering. Part B: Reviews*. – 2016. – Vol. 22, № 4. – P. 284–297.

135. Jang, Y. S. Recombinant human BMP-2 enhances osteogenesis of demineralized bone matrix in experimental mastoid obliteration / Y. S. Jang, C. H. Choi, Y. B. Cho [et al.] // *Acta oto-laryngologica*. – 2014. – Vol. 134, № 8. – P. 785–790.

136. Jeon, Y. J. Comparative analysis of human mesenchymal stem cells derived from bone marrow, placenta, and adipose tissue as sources of cell therapy / Y. J. Jeon, J. Kim, J. H. Cho [et al.] // *Journal of Cellular Biochemistry* – 2016. – Vol. 117, № 5. – P. 1112–1125.

137. Jeon, Y. R. Scaffold free bone regeneration using platelet-rich fibrin in calvarial defect model / Y. R. Jeon, M. J. Kim, Y.O. Kim [et al.] // *Journal of Craniofacial Surgery*. – 2018. – Vol. 29, № 1. – P. 251–254.

138. Joo, M. W. The effect of autologous platelet-rich plasma on bone regeneration by autologous mesenchymal stem cells loaded onto allogeneic cancellous bone granules / M. W. Joo, S. J. Chung, S. H. Shin, Y.-G. Chung // *Cells Tissues Organs*. – 2017. – Vol. 203, № 6. – P. 327–338.

139. Jovani-Sancho, M. D. Platelet-rich plasma: a study of the variables that may influence its effect on bone regeneration / M. D. Jovani-Sancho, C. C. Cheth, M. Marqués-Mateo, M. Puche-Torres // *Clinical Implant Dentistry and Related Research*. – 2016. – Vol. 18, № 5. – P. 1051–1064.

140. Kamitakahara, M. Effect of silicate incorporation on in vivo responses of α -tricalcium phosphate ceramics / M. Kamitakahara, E. Tatsukawa, Y. Shibata [et al.] // *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. – 2016. – Vol. 27, № 5. – P. 97.

141. Kastrinaki M. C., Papadaki H. A. Mesenchymal stromal cells in rheumatoid arthritis: biological properties and clinical applications // *Current stem cell research & therapy*. – 2009. – T. 4. – № 1. – С. 61-69.

142. Katagiri, T. Bone morphogenetic protein-induced heterotopic bone formation: what have we learned from the history of a half century? / T. Katagiri, K. Osawa, T. Mizuta // *Japanese Dental Science Review*. – 2015. – Vol. 51, № 2. – P. 42–50.

143. Keane, T. J. The host response to allogeneic and xenogeneic biological scaffold materials / T. J. Keane, S. F. Badylak // *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*. – 2015. – Vol. 9, № 5. – P. 504–511.

144. Keramaris, N. C. Endothelial progenitor cells (EPCs) and mesenchymal stem cells (MSCs) in bone healing / N. C. Keramaris, S. Kaptanis, H. L. Moss [et al.] // *Current Stem Cell Research & Therapy*. – 2012. – Vol. 7, № 4. – P. 293–301.

145. Kim, J. TGF- β 1 conjugated chitosan collagen hydrogels induce chondrogenic differentiation of human synovium-derived stem cells / J. Kim, B. Lin, S. Kim [et al.] // *Journal of Biological Engineering*. – 2015. – Vol. 1, № 9. – P. 1–11.

146. Kim, T. H. Comparison of platelet-rich plasma (PRP), platelet-rich fibrin (PRF), and concentrated growth factor (CGF) in rabbit-skull defect healing / T. H. Kim, S.-H. Kim, G. K. Sandor, Y.-D. Kim // *Archives of Oral Biology*. – 2014. – Vol. 59, № 5. – P. 550-558.

147. Kirilova, I. A. New materials for bone grafting in view of current concepts / I. A. Kirilova, N. G. Fomichev, V. T. Podorozhnaya // *Hirurgia Pozvonocnika (Spine Surgery)*. – 2013, № S1. – P. 1–7.

148. Klatte-Schulz, F. Influence of age on the cell biological characteristics and the stimulation potential of male human tenocyte-like cells / F. Klatte-Schulz, S. Pauly, M. Scheibel [et al.] // *European Cells & Materials*. – 2012. – Vol. 24. – P. 74–89.

149. Koelling S., Miosge N. Stem cell therapy for cartilage regeneration in osteoarthritis //Expert opinion on biological therapy. – 2009. – T. 9. – №. 11. – С. 1399-1405.
150. Kumar, S. S. PEEK Composite scaffold preparation for load bearing bone implants / S. S. Kumar, R. Chhibber, R. Mehta // Materials Science Forum. – 2018. – Vol. 911. – P. 77–82.
151. Kwon, T. A novel technique for guided bone regeneration using platelet-rich plasma and osteogenic progenitor cells: literature-based rationale and case report / T. Kwon, P.C. Grieco, L. Levin, G. Intini // Quintessence international (Berlin, 1985). – 2016. – Vol. 47, № 3. – P. 233–240.
152. Lazarou, S. Primary alveolar cleft correction with calcium bone substitutes & FDBA / S. Lazarou // The Cleft Palate-Craniofacial Journal. – 2016. – Vol. 53, № 4. – P. e102.
153. Lee, J. K. Analysis of the fusion and graft resorption rates, as measured by computed tomography, 1 Year after posterior cervical fusion using a cervical pedicle screw / J. K. Lee, S. K. Jung, Y.-S. Lee [et al.] // World Neurosurgery. – 2017. – Vol. 99. – P. 171–178.
154. Lee, J. S. Modified iliac crest reconstruction with bone cement for reduction of donor site pain and morbidity after open wedge high tibial osteotomy: a prospective study / J. S. Lee, Y. J. Park, L. Wang [et al.] // Knee Surgery & Related Research. – 2016. – Vol. 28, № 4. – P. 277.
155. Li, C. Y. Comparative analysis of human mesenchymal stem cells from bone marrow and adipose tissue under xeno-free conditions for cell therapy / C. Y. Li, X. Y. Wu, J. B. Tong [et al.] // Stem Cell Research & Therapy. – 2015. – Vol. 6, № 1. – P. 55–55.
156. Li, T. MicroRNA expression profile of dexamethasone - induced human bone marrow-derived mesenchymal stem cells during osteogenic differentiation / T. Li, H. Li, Tangping Li [et al.] // Journal of Cellular Biochemistry. – 2014. – Vol. 115, № 10. – P. 1683–1691.

157. Li, X. Effect of substrate stiffness on the functions of rat bone marrow and adipose tissue derived mesenchymal stem cells in vitro / X. Li, Y. Huang, L. Zheng [et al.] // *Journal of Biomedical Materials Research. Part A.* – 2014. – Vol. 102, № 4. – P. 1092–1101.

158. Li, Z. Long non-coding RNA MEG3 inhibits adipogenesis and promotes osteogenesis of human adipose-derived mesenchymal stem cells via miR-140-5p / Z. Li, C. Jin, S. Chen [et al.] // *Molecular and Cellular Biochemistry.* – 2017. – Vol. 433, № 1/2. – P. 51–60.

159. Liao, H. T. Osteogenic potential: Comparison between bone marrow and adipose-derived mesenchymal stem cells / H. T. Liao, C. T. Chen // *World journal of stem cells.* – 2014. – Vol. 6, № 3. – P. 288–295.

160. Lin, G. H. Recombinant human bone morphogenetic protein 2 outcomes for maxillary sinus floor augmentation: a systematic review and meta - analysis / G. H. Lin, G. Lim, H. L. Chan [et al.] // *Clinical Oral Implants Research.* – 2016. – Vol. 27, № 11. – P. 1349–1359.

161. Linero, I. Paracrine effect of mesenchymal stem cells derived from human adipose tissue in bone regeneration / I. Linero, O. Chaparro // *PloS One.* – 2014. – Vol. 9, № 9. – P. e107001.

162. Liu, S. Bone Tissue Engineering: Scaffolds with Osteoinductivity for Bone Regeneration / S. Liu, C. Hu, Z. Ren // *BioMed Research International.* – 2017. – Vol. 2017. – Art. 1038476.

163. Lizio, G. Guided bone regeneration with Cad-cam titanium meshes for the reconstruction of three-dimensional alveolar defects. Preliminary results / G. Lizio, G. Corinaldesi, L. Ciocca [et al.] // *Clinical Oral Implants Research.* – 2015. – Vol. 26. – P. 267.

164. Loeffler, B. J. Prospective observational study of donor-site morbidity following anterior iliac crest bone-grafting in orthopaedic trauma reconstruction patients / B. J. Loeffler, J. F. Kellam, S. H. Sims, M. J. Bosse // *JBJS.* – 2012. – Vol. 94, № 18. – P. 1649–1654.

165. Lotfy, A. Characterization of mesenchymal stem cells derived from rat bone marrow and adipose tissue: a comparative study / A. Lotfy, F. Zahran, M. Salama, M. Sobh // *International Journal of Stem Cells*. – 2014. – Vol. 7, № 2. – P. 135–142.
166. Maji, K. Development of gelatin-chitosan-hydroxyapatite based bioactive bone scaffold with controlled pore size and mechanical strength / K. Maji, S. Dasgupta, B. Kundu, A. Bissoyi // *Journal of Biomaterials Science. Polymer Edition*. – 2015. – Vol. 26, № 16. – P. 1190–1209.
167. Marques, L. F. Platelet-rich plasma (PRP): methodological aspects and clinical applications / L. F. Marques, T. Stessuk, I. C. C. Camargo [et al.] // *Platelets*. – 2015. – Vol. 26, № 2. – P. 101–113.
168. Martin, V. Bone regeneration: Biomaterials as local delivery systems with improved osteoinductive properties / V. Martin, A. Bettencourt // *Materials Science & Engineering. C: Materials for Biological Applications*. – 2018. – Vol. 82. – P. 363–371.
169. Miron, R. J. Guided bone regeneration with platelet rich fibrin / R. J. Miron, M. A. Pikos, Y. Zhang, T. Fretwurst // *Platelet rich fibrin in regenerative dentistry: biological background and clinical indications: biological background and clinical indications*, one. – [S. l.]: Wiley-Blackwell, 2017. – P. 159–183.
170. Miron, R. J. Osteoinductive potential of a novel biphasic calcium phosphate bone graft in comparison with autographs, xenografts, and DFDBA / R. J. Miron, A. Sculean, Y. Shuang [et al.] // *Clinical Oral Implants Research*. – 2016. – Vol. 27, № 6. – P. 668–675.
171. Misch C. E. Bone character: second vital implant criterion // *Dent Today*. – 1988. – T. 7. – №. 5. – C. 39-40.
172. Misch C. E. The implant quality scale: a clinical assessment of the health--disease continuum // *Oral health*. – 1998. – T. 88. – №. 7. – C. 15.

173. Motamedian, S. R. Smart scaffolds in bone tissue engineering: a systematic review of literature / S. R. Motamedian, S. Hosseinpour, M. G. Ahsaie [et al.] // World Journal of Stem Cells. – 2015. – Vol. 7, № 3. – P. 657–668.
174. Moura, L. B. Autogenous non-vascularized bone graft in segmental mandibular reconstruction: a systematic review / L. B. Moura, de A. Carvalho, C. B. Xavier [et al.] // International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery. – 2016. – Vol. 45, № 11. – P. 1388–1394.
175. Murphy, M. K. TGF - β 1, GDF - 5, and BMP - 2 Stimulation induces chondrogenesis in expanded human articular chondrocytes and marrow - derived stromal cells / M. K. Murphy, D. J. Huey, J. C. Hu, K. A. Athanasiou // Stem Cells. – 2015. – Vol. 33, № 3. – P. 762–773.
176. Naitoh M. et al. Morphometric analysis of mandibular trabecular bone using cone beam computed tomography: an in vitro study //The International journal of oral & maxillofacial implants. – 2010. – T. 25. – №. 6. – C. 1093-1098.
177. Nakagawa, Y. Synovial mesenchymal stem cells promote healing after meniscal repair in microminipigs / Y. Nakagawa, T. Muneta, S. Kondo [et al.] // Osteoarthritis and Cartilage. – 2015. – Vol. 23, № 6. – P. 1007–1017.
178. Ng, J. Biomimetic approaches for bone tissue engineering / J. Ng, K. Spiller, J. Bernhard, G. Vunjak-Novakovic // Tissue Engineering. Part B: Reviews. – 2017. – Vol. 3, № 5. – P. 480–493.
179. Nguyen, V. BMP-2-induced bone formation and neural inflammation / V. Nguyen, C. A. Meyers, N. Yan [et al.] // Journal of Orthopaedics. – 2017. – Vol. 14, № 2. – P. 252–256.
180. Niemeyer P. et al. Comparison of mesenchymal stem cells from bone marrow and adipose tissue for bone regeneration in a critical size defect of the sheep tibia and the influence of platelet-rich plasma //Biomaterials. – 2010. – T. 31. – №. 13. – C. 3572-3579.
181. Noori, A. A review of fibrin and fibrin composites for bone tissue engineering / A. Noori, S. J. Ashrafi, R. Vaez-Ghaemi [et al.] // International Journal of Nanomedicine. – 2017. – Vol. 12. – P. 4937.

182. Omar, O. Revisiting the mechanisms of guided bone regeneration (gbr): The role of the membrane compartment in vivo / O. Omar [et al.] // *Clinical Oral Implants Research*. – 2015. – Vol. 26. – P. 13.

183. Oonishi, H. Degradation/resorption in bioactive ceramics in orthopaedics / H. Oonishi, H. Oomamiuda // *Handbook of Biomaterial Properties*. – New York: Springer, 2016. – P. 495–507.

184. Oryan, A. Bone regenerative medicine: classic options, novel strategies, and future directions / A. Oryan, S. Alidadi, A. Moshiri, N. Maffulli // *Journal of Orthopaedic Surgery and Research*. – 2014. – Vol. 9, № 1. – P. 18.

185. Oryan, A. Platelet-rich plasma for bone healing and regeneration / A. Oryan, S. Alidadi, A. Moshiri [et al.] // *Expert Opinion on Biological Therapy*. – 2016. – Vol. 16, № 2. – P. 213–232.

186. Ozeki, N. Synovial mesenchymal stem cells promote meniscus regeneration augmented by an autologous Achilles tendon graft in a rat partial meniscus defect model / N. Ozeki, T. Muneta, S. Matsuta [et al.] // *Stem Cells*. – 2015. – Vol. 33, № 6. – P. 1927–1938.

187. Parsa, A. Bone quality evaluation at dental implant site using multislice CT, micro - CT, and cone beam CT / A. Parsa, N. Ibrahim, B. Hassan [et al.] // *Clinical Oral Implants Research*. – 2015. – Vol. 26, № 1. – P. e1–7.

188. Perez, R. A. Role of pore size and morphology in musculo-skeletal tissue regeneration / R. A. Perez, G. Mestres // *Materials Science and Engineering: C*. – 2016. – Vol. 61. – P. 922–939.

189. Philippart, A. Toughening and functionalization of bioactive ceramic and glass bone scaffolds by biopolymer coatings and infiltration: a review of the last 5 years / A. Philippart, A. R. Boccaccini, C. Fleck [et al.] // *Expert Review of Medical Devices*. – 2015. – Vol. 12, № 1. – P. 93–111.

190. Picke, A. K. Bone defect regeneration and cortical bone parameters of type 2 diabetic rats are improved by insulin therapy / A. K. Picke, A. I. Gordaliza, G. M. Campbell [et al.] // *Bone*. – 2016. – Vol. 82. – P. 108–115.

191. Pigossi, S. C. Role of osteogenic growth peptide (OGP) and OGP (10–14) in bone regeneration: a review / S. C. Pigossi, S. Saska, M. C. Medeiros, R. M. Scarel-Caminaga // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2016. – Vol. 17, № 11. – P. 1885.

192. Pirris, S. M. A retrospective study of iliac crest bone grafting techniques with allograft reconstruction: do patients even know which iliac crest was harvested? Clinical article / S. M. Pirris, E. W. Nottmeier, S. Kimes, M. O'Brien // *Journal of Neurosurgery: Spine*. – 2014. – Vol. 21, № 4. – P. 595–600.

193. Pitto, R. P. Clinical faceoff: ceramic-on-ceramic THA: do the advantages outweigh the limitations? / R. P. Pitto // *Clinical Orthopaedics and Related Research*. – 2014. – Vol. 472, № 10. – P. 2927–2931.

194. Polo-Corrales, L. Scaffold design for bone regeneration / L. Polo-Corrales, M. Latorre-Esteves, J. E. Ramirez-Vick // *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*. – 2014. – Vol. 14, № 1. – P. 15–56.

195. Ponomarev, I. V. Effect of 3D chondrocyte culturing conditions on the formation of extracellular matrix in cartilage tissue-engineering constructs / I. V. Ponomarev, L. M. Kochneva, D. Barnewitz // *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. – 2014. – Vol. 156, № 4. – P. 548–555.

196. Qi, Y. Combining mesenchymal stem cell sheets with platelet-rich plasma gel/calcium phosphate particles: a novel strategy to promote bone regeneration / Y. Qi, L. Niu, T. Zhao [et al.] // *Stem Cell Research & Therapy*. – 2015. – Vol. 6, № 1. – P. 256.

197. Rahaman, M. N. Bioactive ceramics and glasses for tissue engineering / M. N. Rahaman // *Tissue Engineering Using Ceramics and Polymers*. (Second Edition). – [S. l.], 2014. – P. 67–114.

198. Rahaman, M. N. Osteoconductive and osteoinductive implants composed of hollow hydroxyapatite microspheres / M. N. Rahaman, W. Xiao, Y. Liu, B. S. Bal // *Advances in bioceramics and porous ceramics. VII: a collection of papers presented at the 38th International conference on advanced ceramics and*

composites, January 27–31, 2014, Daytona Beach, Florida. – [S. 1.]: John Wiley & Sons, 2015. – P. 65–79.

199. Ramot, Y. Biocompatibility and safety of PLA and its copolymers / Y. Ramota, M. Haim-Zadab, A. J. Dombb, A. Nyska // *Advanced Drug Delivery Reviews*. – 2016. – Vol. 107. – P. 153–162.

200. Rath, S. N. Adipose and bone marrow derived mesenchymal stem cells display different osteogenic differentiation patterns in 3D bioactive glass-based scaffolds / S. N. Rath, P. Noeaid, A. Arkudas [et al.] // *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*. – 2016. – Vol. 10, № 10. – P. e497–e509.

201. Reddi A. H. Marshall R. Urist: a renaissance scientist and orthopaedic surgeon // *JBJS*. – 2003. – T. 85. – C. 3–7.

202. Rey-Rico, A. Adapted chondrogenic differentiation of human mesenchymal stem cells via controlled release of TGF- β 1 from poly (ethylene oxide)-terephthalate/poly (butylene terephthalate) multiblock scaffolds / A. Rey-Rico, J. K. Venkatesan, J. Sohier [et al.] // *Journal of Biomedical Materials Research. Part A*. – 2015. – Vol. 103, № 1. – P. 371–383.

203. Ribeiro-Rotta R. F. et al. Ambiguity in bone tissue characteristics as presented in studies on dental implant planning and placement: a systematic review // *Clinical oral implants research*. – 2011. – T. 22. – №. 8. – C. 789-801.

204. Roberts, S. J. Uncovering the periosteum for skeletal regeneration: the stem cell that lies beneath / S. J. Roberts, N. Van Gastel, G. Carmeliet, F. P. Luyten // *Bone*. – 2015. – Vol. 70. – P. 10–18.

205. Roskies, M. Improving PEEK bioactivity for craniofacial reconstruction using a 3D printed scaffold embedded with mesenchymal stem cells / M. Roskies, J. O. Jordan, D. Fang [et al.] // *Journal of Biomaterials Applications*. – 2016. – Vol. 31, № 1. – P. 132–139.

206. Sakata, M. Bone regeneration of osteoporotic vertebral body defects using PRP and gelatin β -TCP sponges / M. Sakata, H. Tonomura, T. Itsuji [et al.] // *Tissue Engineering. Part A*. – 2017. Doi: 10.1089/ten.TEA.2017.0358.

207. Sanz-Ruiz, R. Rationale and design of a clinical trial to evaluate the safety and efficacy of intracoronary infusion of allogeneic human cardiac stem cells in patients with acute myocardial infarction and left ventricular dysfunction novelty and significance: the randomized multicenter double-blind controlled CAREMI / R. Sanz-Ruiz, A. C. Plasencia, L. R. Borlado [et al.] // *Circulation Research*. – 2017. – Vol. 121, № 1. – P. 71–80.

208. Schmidt-Bleek, K. BMPs in bone regeneration: less is more effective, a paradigm-shift / K. Schmidt-Bleek, B. M. Williea, P. Schwabe [et al.] // *Cytokine & Growth Factor Reviews*. – 2016. – Vol. 27. – P. 141–148.

209. Secunda, R. Isolation, expansion and characterization of mesenchymal stem cells from human bone marrow, adipose tissue, umbilical cord blood and matrix: a comparative study / R. Secunda, R. Vennila, A. M. Mohanashankar [et al.] // *Cytotechnology*. – 2015. – Vol. 67, № 5. – P. 793–807.

210. Senarath-Yapa, K. TGF Beta and BMP signaling pathways influence regenerative capacity of calvarial bones via cross-talk and modulation of apoptosis: the potential therapeutic role of small molecule inhibitors of TGF beta signaling / K. Senarath-Yapa, N. Meyer, S. Li [et al.] // *Plastic and Reconstructive Surgery*. – 2014. – Vol. 133, № 3S. – P. 65–66.

211. Shah, M. Comparative evaluation of platelet-rich fibrin with demineralized freeze-dried bone allograft in periodontal infrabony defects: a randomized controlled clinical study / M. Shah, J. Patel, D. Dave, S. Shah // *Journal of Indian Society of Periodontology*. – 2015. – Vol. 19, № 1. – P. 56-60.

212. Sharma R. R. et al. Mesenchymal stem or stromal cells: a review of clinical applications and manufacturing practices // *Transfusion*. – 2014. – T. 54. – №. 5. – C. 1418-1437.

213. Shin, S. R. Donor site morbidity after anterior iliac bone graft harvesting / S. R. Shin, P. III. Tornetta // *Journal of Orthopaedic Trauma*. – 2016. – Vol. 30, № 6. – P. 340–343.

214. Shuai, C. Polyetheretherketone/poly (glycolic acid) blend scaffolds with biodegradable properties / C. Shuai, P. Wu, Y. Zhong [et al.] // *Journal of Biomaterials Science. Polymer Edition.* – 2016. – Vol. 27, № 14. – P. 1434–1446.

215. Siddiqui, J. A. Physiological bone remodeling: systemic regulation and growth factor involvement / J. A. Siddiqui, N. C. Partridge // *Physiology.* – 2016. – Vol. 31, № 3. – P. 233–245.

216. Silva, I.M. et al. Bone density: comparative evaluation of Hounsfield units in multislice and cone-beam computed tomography / I. M. Silva, D. Q. Freitas, G. M. Ambrosano [et al.] // *Brazilian Oral Research.* – 2012. – Vol. 26, № 6. – P. 550–556.

217. Skeppholm, M. The Discover artificial disc replacement versus fusion in cervical radiculopathy – a randomized controlled outcome trial with 2-year follow-up / M. Skeppholm, L. Lindgren, T. Henriques [et al.] // *The Spine Journal.* – 2015. – Vol. 15, № 6. – P. 1284–1294.

218. Smiler D., Soltan M., Albitar M. Toward the identification of mesenchymal stem cells in bone marrow and peripheral blood for bone regeneration // *Implant dentistry.* – 2008. – T. 17. – №. 3. – C. 236-247.

219. Smith, B. T. Incorporation of fast dissolving glucose porogens into an injectable calcium phosphate cement for bone tissue engineering / B. T. Smith, M. Santoro, E. C. Grosfeld [et al.] // *Acta Biomaterialia.* – 2017. – Vol. 50. – P. 68–77.

220. Son, S.-R. Platelet-rich plasma encapsulation in hyaluronic acid/gelatin-BCP hydrogel for growth factor delivery in BCP sponge scaffold for bone regeneration / S.-R. Son, S. K. Sarkar, N-T. Ba Linh [et al.] // *Journal of Biomaterials Applications.* – 2015. – Vol. 29, № 7. – P. 988–1002.

221. Song, K. J. Current concepts of anterior cervical discectomy and fusion: a review of literature / K. J. Song, B. Y. Choi // *Asian Spine Journal.* – 2014. – Vol. 8, № 4. – P. 531–539.

222. Squillaro, T. Clinical trials with mesenchymal stem cells: an update / T. Squillaro, G. Peluso, U. Galderisi // *Cell Transplantation*. – 2016. – Vol. 25, № 5. – P. 829–848.

223. Stanko, P. Comparison of human mesenchymal stem cells derived from dental pulp, bone marrow, adipose tissue, and umbilical cord tissue by gene expression / P. Stanko, K. Kaiserova, V. Altanerova, C. Altaner // *Biomedical Papers of the Medical Faculty of the University Palacky*. – 2014. – Vol. 158, № 3. – P. 373–377.

224. Stauff, M. P. Vertebral compression fracture rules / M. P. Stauff, E. J. Carragee // *The Spine Journal*. – 2014. – Vol. 14, № 6. – P. 971–972.

225. Steinberg, G. K. Clinical outcomes of transplanted modified bone marrow-derived mesenchymal stem cells in stroke / G. K. Steinberg, D. Kondziolka, L. R. Wechsler [et al.] // *Stroke*. – 2016. – Vol. 47. – P. 1817–1824.

226. Stockmann P. et al. Guided bone regeneration in pig calvarial bone defects using autologous mesenchymal stem/progenitor cells—a comparison of different tissue sources // *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery*. – 2012. – T. 40. – №. 4. – C. 310-320.

227. Subhadrappa, N. Nanoceramics on osteoblast proliferation and differentiation in bone tissue engineering / N. Subhadrappa, S. Sai Niveethitha, S. Devendran [et al.] // *International Journal of Biological Macromolecules*. – 2017. – P. 67–74. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.01.089>.

228. Subhadrappa, N. Polymer coated mesoporous ceramic for drug delivery in bone tissue engineering // *International Journal of Biological Macromolecules* / N. Subhadrappa, A. Aathira, K. Abudhahir Mohamed, Moorthi Ambigapathi. – 2017. DOI: [10.1016/j.ijbiomac.2017.11.146](https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.11.146).

229. Šupová M. Problem of hydroxyapatite dispersion in polymer matrices: a review // *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. – 2009. – T. 20. – №. 6. – C. 1201-1213.

230. Tahriri, M. Growth factors for oral and maxillofacial regeneration applications / M. Tahriri, M. Rasoulianboroujeni, R. Bader [et al.] // *Biomaterials*

for Oral and Dental Tissue Engineering. – 2018. – P. 205–219. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100961-1.00013-X>.

231. Tajima, S. Direct and indirect effects of a combination of adipose-derived stem cells and platelet-rich plasma on bone regeneration / S. Tajima [et al.] // *Tissue Engineering. Part A*. – 2014. – Vol. 21, № 5/6. – P. 895–905.

232. Tan G. H. et al. CT-based classification of long spinal allograft fusion // *European Spine Journal*. – 2007. – T. 16. – №. 11. – C. 1875-1881.

233. Tannoury, C. A. Complications with the use of bone morphogenetic protein 2 (BMP-2) in spine surgery / C. A. Tannoury, H. S. An // *The Spine Journal*. – 2014. – Vol. 14, № 3. – P. 552–559.

234. Tatullo, M. The regenerative medicine in oral and maxillofacial surgery: the most important innovations in the clinical application of mesenchymal stem cells / M. Tatullo, M. Marrelli, F. Paduano // *International Journal of Medical Sciences*. – 2015. – Vol. 12, № 1. – P. 72–77.

235. Toth, J. M. Instrumented lumbar corpectomy and spinal reconstruction comparing rhBMP-2/Compression-Resistant Matrix, rhBMP-2/Absorbable Collagen Sponge/Ceramic Granules Mixture, and autograft in two different devices: a study in sheep / J. M. Toth, D. G. Schwartz, J. P. Mobasser, J. Williams // *Spine*. – 2016. – Vol. 41, № 6. – P. e313–e322.

236. Trisi P., Rao W. Bone classification: clinical-histomorphometric comparison // *Clinical oral implants research*. – 1999. – T. 10. – №. 1. – C. 1-7.

237. Trombetta, R. 3D printing of calcium phosphate ceramics for bone tissue engineering and drug delivery / R. Trombetta, J. A. Inzana, E. M. Schwarz [et al.] // *Annals of Biomedical Engineering*. – 2017. – Vol. 45, № 1. – P. 23–44.

238. Trounson, A. Stem cell therapies in clinical trials: progress and challenges / A. Trounson, C. McDonald // *Cell Stem Cell*. – 2015. – Vol. 17, № 1. – P. 11–22.

239. Tuchman, A. Iliac crest bone graft versus local autograft or allograft for lumbar spinal fusion: a systematic review / A. Tuchman, D. S. Brodke, J. A. Youssef [et al.] // *Global Spine Journal*. – 2016. – Vol. 6, № 06. – P. 592–606.

240. Turri, A. Guided bone regeneration is promoted by the molecular events in the membrane compartment / A. Turri, I. Elgaliad, F. Vazirisani [et al.] // *Biomaterials*. – 2016. – Vol. 84. – P. 167–183.

241. Ullah, I. Human mesenchymal stem cells-current trends and future prospective / I. Ullah, R. B. Subbarao, G. J. Rho // *Bioscience Reports*. – 2015. – Vol. 35, № 2. – P. e00191.

242. Vaezi, M. A novel bioactive PEEK/HA composite with controlled 3D interconnected HA network / M. Vaezi, S. Yang // *International Journal of Bioprinting*. – 2015. – Vol. 1, № 1. – P. 66-76.

243. Vaezi, M. Extrusion-based additive manufacturing of PEEK for biomedical applications / M. Vaezi, S. Yang // *Virtual and Physical Prototyping*. – 2015. – Vol. 10, № 3. – P. 123–135.

244. Vahabi, S. Osteoinductive Activity of DFDBA materials versus growth factors on gene expression of MG-63 cells: An in vitro study / S. Vahabi, M. Torshabi, M. Mohammadi // *Journal of Long-term Effects of Medical Implants*. – 2016. – Vol. 26, № 2. – P. 133–142.

245. Van Steenberghe, M. Improvement of mesh recolonization in abdominal wall reconstruction with adipose vs. bone marrow mesenchymal stem cells in a rodent model / M. Van Steenberghe, T. Schubert, Y. Guiot [et al.] // *Journal of Pediatric Surgery*. – 2017. – Vol. 52, № 8. – P. 1355–1362.

246. Van Velthoven, C. T. Mesenchymal stem cells attenuate Mri-identifiable injury, protect white matter, and improve long-term functional outcomes after neonatal focal stroke in rats / C. T. Van Velthoven, M. Dzierko, M. F. Wendland [et al.] // *Journal of Neuroscience Research*. – 2017. – Vol. 95, № 5. – P. 1225–1236.

247. Vasconcelos, D. M. Fibrinogen scaffolds with immunomodulatory properties promote in vivo bone regeneration / D. M. Vasconcelos, R. M. Gonçalves, C. R. Almeida [et al.] // *Biomaterials*. – 2016. – Vol. 111. – P. 163–178.

248. Vasyliiev, R. Tissue engineering-based approach for restoration of combat related critical sized bone defects / R. Vasyliiev, V. M. Oksymets, A. E. Rodnichenko [et al.] // *Cytotherapy*. – 2017. – Vol. 19, № 5. – P. S223–S224.

249. Wallace, S. C. De novo bone regeneration in human extraction sites using recombinant human bone morphogenetic protein-2/ACS: a clinical, histomorphometric, densitometric, and 3-dimensional cone-beam computerized tomographic scan evaluation / S. C. Wallace, M. A. Pikos, H. Prasad // *Implant dentistry*. – 2014. – Vol. 23, № 2. – P. 132–137.

250. Wang, D. MDCT evaluation of costal bone lesions: comparison of axial, multiplanar, and 3D volume-rendered images: a retrospective study / D. Wang, L. Li, J. He [et al.] // *Medicine*. – 2015. – Vol. 94, № 22. – P. e889.

251. Wang, J. Phage nanofibers induce vascularized osteogenesis in 3D printed bone scaffolds / J. Wang, M. Yang, Y. Zhu [et al.] // *Advanced Materials*. – 2014. – Vol. 26, № 29. – P. 4961–4966.

252. Wang, L. Effect of particle size on osteoinductive potential of microstructured biphasic calcium phosphate ceramic / L. Wang, D. Barbieri, H. Zhou [et al.] // *Journal of Biomedical Materials Research. Part A*. – 2015. – Vol. 103, № 6. – P. 1919–1929.

253. Wang, Q. Comparative analysis of human mesenchymal stem cells from fetal-bone marrow, adipose tissue, and Warton's jelly as sources of cell immunomodulatory therapy / Q. Wang, Q. Yang, Z. Wang [et al.] // *Human Vaccines & Immunotherapeutics*. – 2016. – Vol. 12, № 1. – P. 85–96.

254. Wang, T. Enhanced osseous integration of human trabecular allografts following surface modification with bioactive lipids / T. Wang, J. Krieger, C. Huang [et al.] // *Drug Delivery and Translational Research*. – 2016. – Vol. 6, № 2. – P. 96-104.

255. Wang, W. Human adipose-derived mesenchymal progenitor cells engraft into rabbit articular cartilage / W. Wang, Na He, C. Feng [et al.] // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2015. – Vol. 16, № 6. – P. 12076-12091.

256. Watanabe, S. Early transplantation of mesenchymal stem cells after spinal cord injury relieves pain hypersensitivity through suppression of pain - related signaling cascades and reduced inflammatory cell recruitment / S. Watanabe, K. Uchida, H. Nakajima [et al.] // *Stem Cells*. – 2015. – Vol. 33, № 6. – P. 1902–1914.
257. Weber, M H. Graft subsidence and revision rates following anterior cervical corpectomy: a clinical study comparing different interbody cages / M. H. Weber, M. Fortin, J. Shen [et al.] // *Clinical Spine Surgery*. – 2017. – Vol. 30, № 9. – P. e1239–e1245.
258. Wei, X. Mesenchymal stem cells: a new trend for cell therapy / X. Wei, X. Yang, Zhi-peng Han [et al.] // *Acta Pharmacologica Sinica*. – 2013. – Vol. 34, № 6. – P. 747–754.
259. Welch, J. Protein delivery with porous metallic structure: заяв. пат. 15/619767 CIIA / J. Welch, E. Vanderploeg, C. Wilson, J. Wozney. – 2017.
260. Westphal, I. Oxygen mapping: probing a novel seeding strategy for bone tissue engineering / I. Westphal, C. Jedelhauser, G. Liebsch [et al.] // *Biotechnology and Bioengineering*. – 2017. – Vol. 114, № 4. – P. 894–902.
261. Wu, M. TGF- β and BMP signaling in osteoblast, skeletal development, and bone formation, homeostasis and disease / M. Wu, G. Chen, Y. P. Li // *Bone Research*. – 2016. – Vol. 4. – P. 16009.
262. Wu, Q. Deriving osteogenic cells from induced pluripotent stem cells for bone tissue engineering / Q. Wu, K. Hu, B. Yang, P. Wang // *Tissue Engineering. Part B: Reviews*. – 2017. – Vol. 23, № 1. – P. 1–8.
263. Wu, S. Biomimetic porous scaffolds for bone tissue engineering / S. Wu, X. Liua, K. W. K. Yeung [et al.] // *Materials Science and Engineering. R: Reports*. – 2014. – Vol. 80. – P. 1–36.
264. Xie, Q. The role of miR-135-modified adipose-derived mesenchymal stem cells in bone regeneration / Q. Xie, Z. Wang, H. Zhou [et al.] // *Biomaterials*. – 2016. – Vol. 75. – P. 279–294.

265. Yin, F. Cartilage regeneration of adipose-derived stem cells in the TGF- β 1-immobilized PLGA-gelatin scaffold / F. Yin, J. Cai, W. Zen [et al.] // *Stem Cell Reviews and Reports*. – 2015. – Vol. 11, № 3. – P. 453–459.

266. Yorukoglu, A C. A concise review on the use of mesenchymal stem cells in cell sheet-based tissue engineering with special emphasis on bone tissue regeneration / A. C. Yorukoglu, A. E. Kiter, S. Akkaya [et al.] // *Stem Cells International*. – 2017. – Vol. 2017. Doi: <https://doi.org/10.1155/2017/2374161>.

267. Yu, S W. Kirschner wire and bone cement is a viable alternative to reconstruction of large iliac bone defects after strut bone graft harvesting / S. W. Yu, C.-H. Wu, J. J.-H. Yeh [et al.] // *Clinical Spine Surgery*. – 2017. – Vol. 30, № 7. – P. 308–313.

268. Zadpoor, A. A. Bone tissue regeneration: the role of scaffold geometry / A. A. Zadpoor // *Biomaterials Science*. – 2015. – Vol. 3, № 2. – P. 231–245.

269. Zhang, X. Y. Additively manufactured scaffolds for bone tissue engineering and the prediction of their mechanical behavior: a review / X. Y. Zhang, G. Fang, J. Zhou // *Materials*. – 2017. – Vol. 10, № 1. – P. 50.

270. Zhou W. et al. The performance of bone marrow mesenchymal stem cell–implant complexes prepared by cell sheet engineering techniques // *Biomaterials*. – 2010. – T. 31. – №. 12. – C. 3212-3221.

271. Zhou, Z. Printability of calcium phosphate: calcium sulfate powders for the application of tissue engineered bone scaffolds using the 3D printing technique / Z. Zhou, F. Buchanana, C. Mitchell, N. Dunnea // *Materials Science and Engineering: C*. – 2014. – Vol. 38. – P. 1–10.

272. Zigdon-Giladi, H. Recent advances in bone regeneration using adult stem cells / H. Zigdon-Giladi, U. Rudich, G. M. Geller, A. Evron // *World Journal of Stem Cells*. – 2015. – Vol. 7, № 3. – P. 630–640.