

СВОЙСТВА ДЕМИНЕРАЛИЗОВАННОГО КОСТНОГО МАТРИКСА ДЛЯ БИОИНЖЕНЕРИИ ТКАНЕЙ

И. А. КИРИЛОВА¹, В. Т. ПОДОРОЖНАЯ¹, Ю. П. ШАРКЕЕВ^{2,3}, С. В. НИКОЛАЕВ^{4,5},
А. В. ПЕНЕНКО^{6,7}, П. В. УВАРКИН², П. В. РАТУШНЯК⁵, В. В. ЧЕБОДАЕВА³,
Е. А. АНАСТАСИЕВА¹, С. К. ГОЛУШКО^{5,6}, А. В. КОРЕЛЬ¹

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им.Я.Л. Цивьяна» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Новосибирск, Россия

²Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физики прочности и материаловедения Сибирского отделения Российской академии наук, Томск, Россия

³Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Томский политехнический университет», Томск, Россия

⁴Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», Новосибирск, Россия

⁵Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт вычислительных технологий Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия

⁶Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

⁷Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт вычислительной математики и математической геофизики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия

Цель. Определение значимых для биоинженерии тканей физико-механических свойств деминерализованного костного матрикса губчатой и компактной кости человека

Материалы и методы. Перечислены методы исследования микроморфологических, пьезоэлектрических и транспортных свойств, адаптированные для измерения у материалов потенциальных матриц.

Результаты. Приведены результаты исследования физико-механических свойств деминерализованного костного матрикса губчатой и компактной кости человека. Показано, что деминерализованная губчатая кость обладает наилучшими характеристиками поровой системы для заселения матриц клетками. Предел прочности и модуль упругости образцов из деминерализованных головок бедренных костей, извлеченных в ходе первичного эндопротезирования тазобедренного сустава, изменяются в широких пределах. Модуль упругости изменялся от 50 до 250 МПа, а предел прочности – от 1,1 до 5,5 МПа.

Заключение. Были отработаны и/или адаптированы методы измерений микроморфологических, пьезоэлектрических и транспортных свойств у материалов потенциальных матриц. Показано, что у образцов материалов из кости человека данные характеристики, как правило, значительно варьируют. Исходя из этого, становится очевидным, что отработка протоколов методов измерения вышеперечисленных свойств является важной работой для создания технологии биоинженерии тканевых имплантатов для восстановительной хирургии.

Ключевые слова: деминерализованный костный матрикс, костная ткань, механические характеристики, имплантат, матрица, биоинженерия тканей.

PROPERTIES OF THE DEMINERALIZED BONE MATRIX FOR BIOENGINEERING OF TISSUE

I. A. KIRILOVA¹, V. T. PODOROZHNYAYA¹, YU. P. SHARKEEV^{2,3}, S. V. NIKOLAEV^{4,5},
A. V. PENENKO^{6,7}, P. V. UVARKIN², A. S. RATUSHNYAK⁵, V. V. CHEBODAIEVA³,
E. A. ANASTASIEVA¹, S. K. GOLUSHKO^{5,6}, A. V. KOREL¹

¹Federal State Institution «Scientific and Research Institute of Traumatology and Orthopedics named after YL Tsivyan» Ministry of Health of the Russian Federation, Novosibirsk, Russia

²Institute of Strength Physics and Materials Science of Siberian Branch of Russian Academy of Sciences Tomsk, Russia

³National Research Tomsk Polytechnic University, Tomsk, Russia

⁴The Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics of Siberian Branch of Russian Academy of

Sciences, Novosibirsk, Russia

⁵Institute of Computational Technologies of Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

⁶Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

⁷Institute of Computational Mathematics and Mathematical Geophysics of Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

The purpose. Determination of tissues of physico-mechanical properties of demineralized bone matrix of spongy and compact human bone important for bioengineering.

Material and Methods. The methods for studying micromorphological, piezoelectric and transport properties, adapted for measuring the materials of potential scaffolds.

Results. The results of studying the physico-mechanical properties of the demineralized bone matrix of spongy and compact human bones are presented. It is shown that the demineralized spongy bone possesses the best characteristics of the pore system for the colonization of matrix cells. The tensile strength and modulus of elasticity of samples from the demineralized heads of the femurs extracted during the initial hip arthroplasty vary widely. The modulus of elasticity varied from 50 to 250 MPa, and the ultimate strength was from 1.1 to 5.5 MPa.

Conclusion. Methods for measuring micromorphological, piezoelectric and transport properties for materials of potential matrices were developed and / or adapted. It is shown that in the samples of materials from the human bone, these characteristics, as a rule, vary considerably. Proceeding from this, it becomes obvious that the development of protocols of measurement methods of the above listed properties is an important work for the creation of technology of bioengineering of tissue implants for reconstructive surgery.

Keywords: demineralized bone matrix, bone tissue, mechanical characteristics, implant, matrix, bioengineering of tissues.

Введение

Проблема восстановления анатомической целостности и функции костной ткани до сих пор остается актуальной задачей [1-3]. Характер регенераторных процессов в значительной мере определяется свойствами материалов, используемых для заполнения дефектов кости. Современный уровень медицины трудно представить без биологических имплантатов, с помощью которых выполняются реконструктивные хирургические вмешательства в травматологии и ортопедии [4-8, 16, 17], челюстно-лицевой хирургии [9-10], костной онкологии [7]. Поиск новых материалов и способов воздействия на остеогенез с целью формирования органотипического регенерата с помощью костно-пластических материалов (КПМ) является актуальным для современной медицины. В настоящее время в различных областях хирургии начинают использовать КПМ, приготовленные из костной ткани донора, которая, в свою очередь, может быть различной по строению: губчатой, кортикальной, губчато-кортикальной. Перспективными в качестве способа предварительной химической обработки аллогенной костной ткани оказались деминерализация и депротеинизация, которые позволяют получить деминерализованную костную ткань, лишенную минерального компонента, и депротеинизированную костную ткань,

лишенную органического компонента [11,12]. В то же время предварительная химическая обработка может привести к изменению структуры и свойств нативной аллогенной костной ткани, а следовательно, и ее биологического поведения при имплантации в живой организм.

Чтобы обеспечить запросы практической хирургии, необходимы биоинженерные конструкции, пригодные для замещения значительных по площади костных дефектов. Такие конструкции должны обладать следующими свойствами: сохранение физических и анатомических особенностей донорской кости, высокой прочностью, быстрой фиксацией в зоне имплантации и регенераторным потенциалом. Этим требованиям может удовлетворять только жесткая/упругая матрица, содержащая костные клетки реципиента, способные делиться, дифференцироваться и синтезировать межклеточный матрикс, поддерживать жизнеспособность клеток [13-17].

Одной из современных тенденций биоинженерии тканей является заселение матриц полипотентными клетками с последующим управляемым инкубированием протоимплантата [18].

В процессе инкубирования полипотентные клетки должны дифференцироваться и формировать тканевый имплантат, годный для имплантации. Для этого можно использовать управляемое воздействие на клетки физико-химическими сигналами, которые, как показано к настоящему вре-

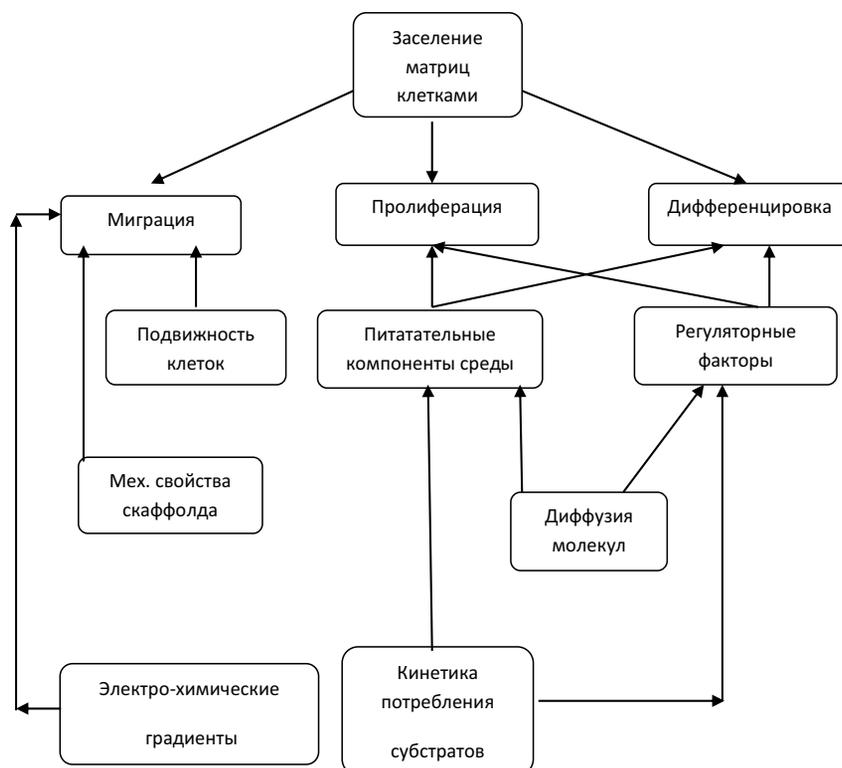


Рисунок 1. Схема процесса заселения матрицы клетками при биоинженерии имплантатов

мени, включают широкий спектр воздействий от специфических транскрипционных факторов до механических свойств матриц. Чтобы реализовать такую технологию биоинженерии имплантатов, необходимо всякий раз на входе технологического процесса измерять физико-механические свойства используемой заготовки для матрицы.

В работе приводится аргументация для выбора характеристик заготовки, подлежащих измерению, и использованные для этих измерений методы.

Настоящее исследование необходимо для дальнейшего изучения влияния физико-химических свойств деминерализованного костного матрикса на клетки остеогенного и хондрогенного рядов с целью управления процессами их пролиферации, дифференцировки и таксиса при заселении матриц в задачах регенеративной медицины.

Выбор характеристик материала для матрицы

Выбранные характеристики мотивированы нашим пониманием процесса заселения матриц клетками при биоинженерии имплантатов (рис. 1). Именно заселение и есть результат миграции,

пролиферации и дифференцировки клеток. Миграция зависит от подвижности клеток, свойств матрицы, её механики, геометрии, химического состава поверхностей и т.д. Пролиферация и дифференцировка зависят от концентрации питательных и регуляторных компонентов среды, а распределение уровня концентраций компонентов среды определяется диффузией молекул и потреблением их клетками.

Мы предполагаем, что такой процесс заселения матрицы можно реализовать, научившись управлять функционированием клеток, используя знания о регуляции экспрессии генов (рис. 2).

На настоящий момент нас интересовали следующие контуры регуляции экспрессии генов.

1. Регуляция морфогенами (регуляторными молекулами, находящимися в среде).
2. Регуляция электрическими потенциалами и микротоками.
3. Регуляция механическими напряжениями и деформациями.

На основе выше перечисленных положений в работе были поставлены следующие задачи.

1. Получить матрицы из деминерализованной кости человека, провести эксперименты по изучению диффузии веществ внутри таких ма-

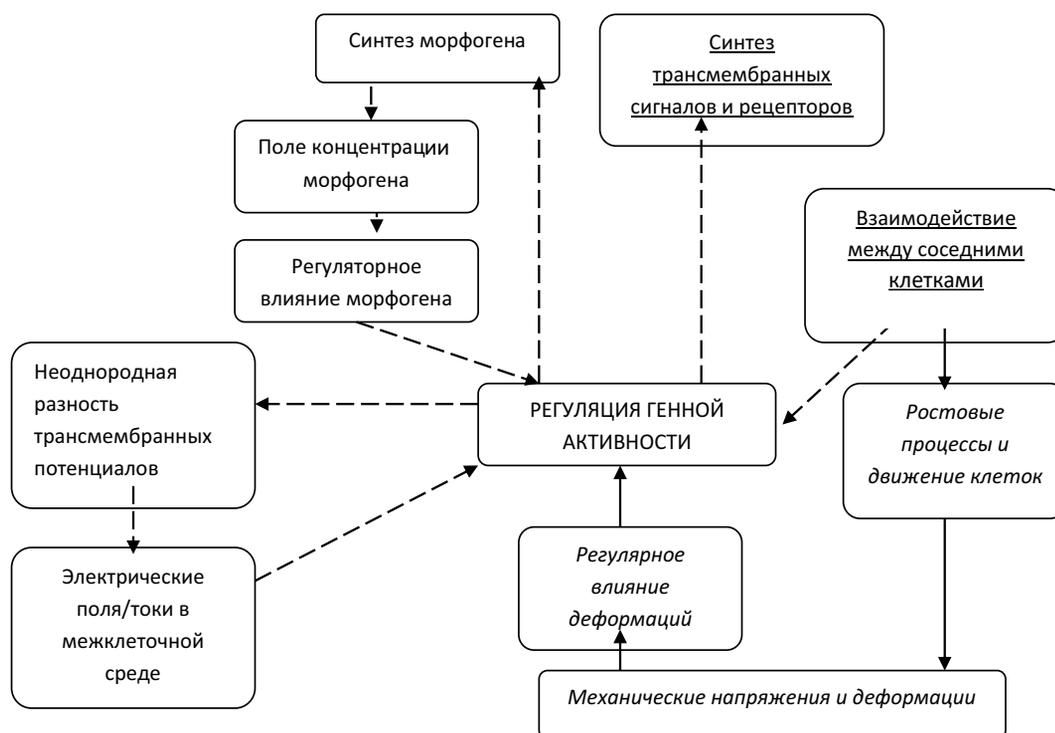


Рисунок 2. Контуры регуляции активности генов

триц, построить модели транспортных процессов.

2. Изучить механические свойства матриц. На основе литературного анализа выбрать подходящие модели механики материала.

3. Провести эксперименты по изучению пьезоэлектрических свойств матриц, чтобы использовать их для модуляции жесткости матрикса в экспериментах с клетками.

4. Разработать метод вычисления коэффициентов диффузии компонентов среды в материале матриц.

Материалы и методы

Материалом для исследования механических и пьезоэлектрических свойств для матриц служили образцы срединных распилов из головок бедренных костей (n=6), резецированных в ходе первичного эндопротезирования тазобедренного сустава у пациентов с коксартрозом. Возраст пациентов – доноров костной ткани составил от 46 до 67 лет, средний возраст – 55,8. А для изучения транспортных свойств дополнительно использовались слои гидрогелей толщиной 100 – 200 мкм.

В соответствии с утвержденным алгоритмом у доноров костного материала осуществлялся забор крови для обследования на инфекционные агенты (сифилис, ВИЧ, гепатиты В и С). При отрицательных результатах обследования

материал поступал в обработку. Осуществлялся радиальный распил ГБК с шагом 0,4-0,5 см, из срединного фрагмента выпиливался образец размерами 1,0x3,0см. Весь костный материал доноров подвергался промывке очищенной проточной водой, обезжириванию спирт-эфиром и деминерализации в 0,6 Н растворе HCl.

Морфология и механика

Микротвердость измерялась по ГОСТ 9450-76 на микротвердомере марки Duramin 5 (Дания). При измерениях применялась нагрузка 245 мН. Также производилось измерение нанотвердости на приборе “Nano Hardness Tester” NHT-S-AX-000X (Германия) в соответствии с международным стандартом ISO 14577-4:2007 при нагрузке на индентор 10 мН. Измерения микротвердости и нанотвердости производились по методу восстановленного отпечатка путем вдавливания алмазной четырехгранной пирамидой Виккерса с углом 136° между противоположными гранями. Значения микротвердости и нанотвердости определяется делением нагрузки P на площадь поверхности отпечатка F (1):

$$HV = \frac{P}{F} = \frac{2P \sin \alpha/2}{d^2} = 1,8544 \frac{P}{d^2}, (1)$$

где d – диагональ отпечатка.

При измерении нанотвердости на приборе «Nano Hardness Tester» NHT-S-AX-000X (Германия) проводилась также регистрация модуля Юнга.

Исследования на трёхточечный изгиб проводились на универсальной настольной электромеханической испытательной машине Instron 3369 (США, «Instron») по ГОСТ 14019-80 при скорости нагружения 0,1 мм/мин и максимальной нагрузке 2 кН. Образцы для испытаний на трёхточечный изгиб имели следующие размеры 10 x 30 x 4 мм³.

Морфологию костного материала исследовали на металлографическом инвертированном микроскопе «Альтами МЕТ 1МТ» (Россия, Санкт-Петербург) методами светлого и тёмного полей, а также по методу поляризации. Пористость костной ткани оценивалась по макроскопическим изображениям, полученным посредством макрофотосъёмки исследуемых объектов. Общая пористость (Π) рассчитывалась как отношение суммарной длины отрезков, попадающих на поры, к общей длине секущих линий и выражается следующей формулой:

$$\Pi = \frac{\sum l}{\sum L_1} 100\% \quad , (2)$$

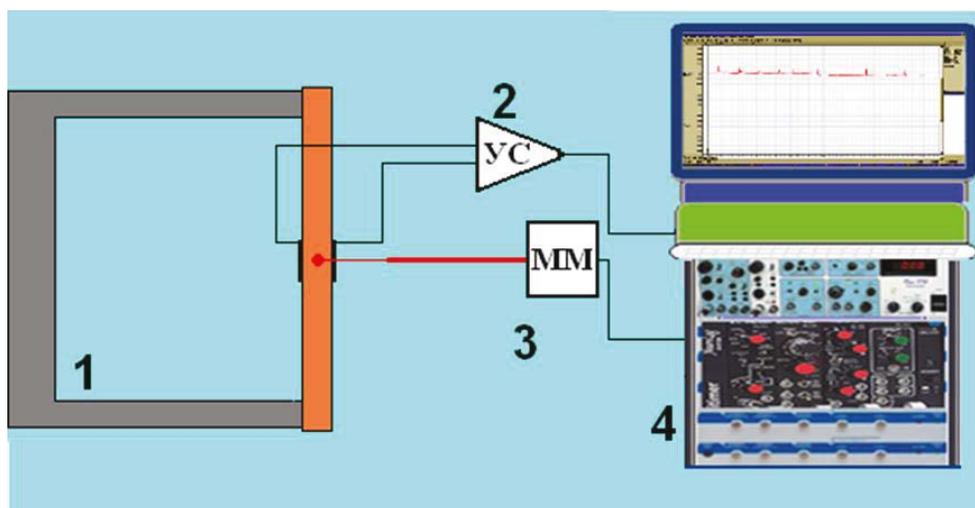


Рисунок 3. Макет экспериментальной установки для измерения пьезоэлектрических свойств кости

Транспортные свойства материала Метод FRAP

Для изучения транспортных свойств материала можно использовать метод, состоящий в том, что в изучаемый материал внедряют среду с флуоресцирующим веществом, и некоторую область обесцвечивают интенсивным излучением лазера. Затем наблюдают, как восстанавливается

где L_1 – общая длина секущих в условных единицах измерительного прибора, l – длина секущих, попадающих на поры.

В работе для определения элементного состава костного материала использовали последовательный волнодисперсионный рентгенофлуоресцентный спектрометр Lab Center XRF-1800 (Япония).

Пьезоэлектрические свойства

Для измерения пьезоэлектрических свойств нами был сделан макет экспериментальной установки (рис.3) и осуществлена запись пьезоэлектрических потенциалов с образца компактной деминерализованной аллокости. Форма и амплитуда пьезоэлектрических потенциалов зависят от плотности образца (определяемой влажностью) и величины нагрузки. Косвенная оценка влажности осуществлялась измерением электропроводности участка образца, расположенного под электродами.

Структурно функциональная схема аппаратно-программного измерительного комплекса состоит из измерительной ячейки (1) с образцом, предварительного усилителя-согласователя (2), манипулятора (3) и измерительно-управляющего комплекса (4).

флуоресценция в этой области за счет взаимной диффузии «отбеленных» и «активных» молекул. Такой метод называется «восстановление флуоресценции после фотоотбеливания» (Fluorescent Recovery after Photobleaching -FRAP) По скорости этого восстановления можно оценить коэффициент диффузии флуоресцирующего вещества в изучаемой среде в матриксе материала, решая соответствующую обратную задачу. Эксперимен-

тально процедура FRAP проводилась на образцах толщиной порядка 100 мкм. Поэтому для моделирования процесса восстановления была использована двумерная нестационарная диффузионная модель с постоянным коэффициентом диффузии. Этот коэффициент подбирался исходя из минимума отклонения между реальными и смоделированными снимками интенсивности флуоресценции в последовательные моменты времени. За начало отсчета времени принимался момент начала восстановления флуоресценции. Соответствующий снимок использовался в качестве начальных данных. Для поиска коэффициента использовался стандартный метод «золотого сечения». С учетом вышесказанного был построен алгоритм, позволяющий оценивать коэффициент диффузии среды по данным обесцвечивания. С помощью

построенного алгоритма обработаны результаты ряда экспериментов с различными средами и различными уровнями обесцвечивания.

Результаты измерения поступали в виде набора снимков в известные последовательные моменты времени. На рис. 4 показана зависимость средней интенсивности флуоресценции «области интереса» от времени. За начало отсчета модельного времени принята точка минимума кривой, соответствующей средней интенсивности по обесцвеченной области (голубая кривая на рис. 4), в предположении, что это момент окончания процесса обесцвечивания. Соответственно в качестве начальных данных использовали снимок в момент окончания обесцвечивания. Последующие снимки служили для решения обратной задачи о поиске коэффициента диффузии (рис.5).

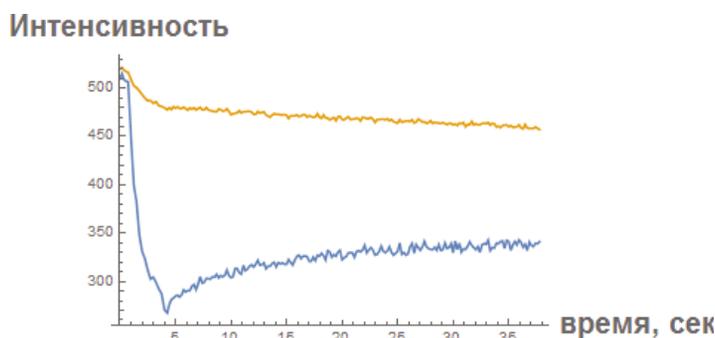


Рисунок 4. Зависимость средней интенсивности от времени эксперимента. Желтая кривая – средняя по всей области, голубая – по обесцвеченной

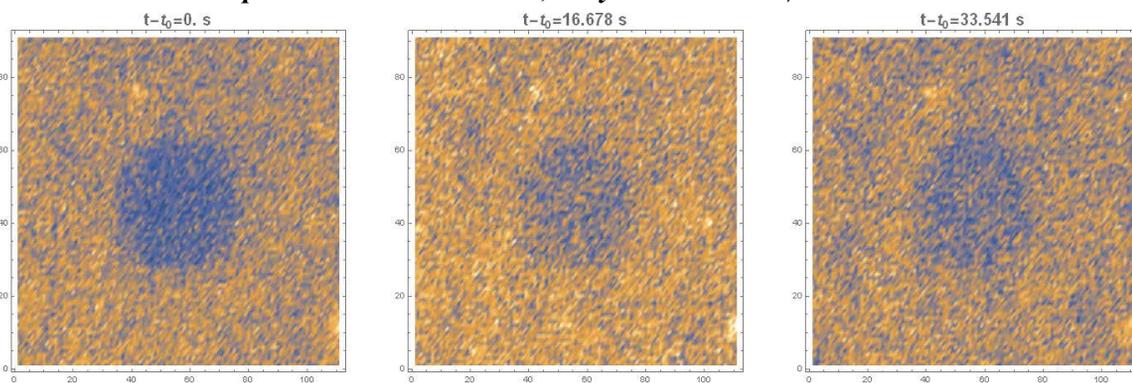


Рисунок 5. Интенсивность в последовательные моменты времени после окончания обесцвечивания

Численный алгоритм решения обратной задачи по вычислению коэффициента диффузии по экспериментальным данным, аналогичным вышесказанному, приведен в работе [19].

Результаты и обсуждение

Морфология и механика. Макроскопические образцы губчатой и компактной деминерализо-

ванной кости одного размера, равного 1,0x3,0 см, отличались морфологией поверхности (рис. 6).

Морфология всех образцов костной ткани представлена пористой структурой. Поры расположены во всем объеме ткани. На рис.7 показаны оптические изображения фрагмента костной ткани, полученные с различными фокальными глубинами, позволяющими оценивать внутренние поры образца (рис.8).

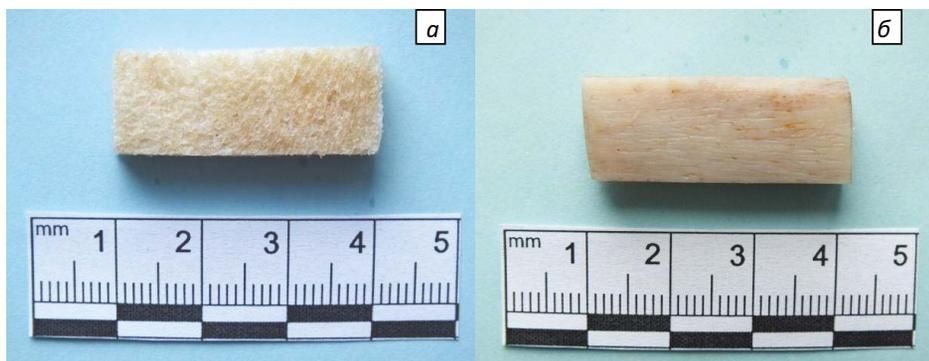


Рисунок 6. Изображения образцов костной ткани: *a* – деминерализованная костная ткань головки бедренной кости (ДКТ-ГБК), *b* – деминерализованная костная ткань кортикальная (ДКТ – кортикальная)

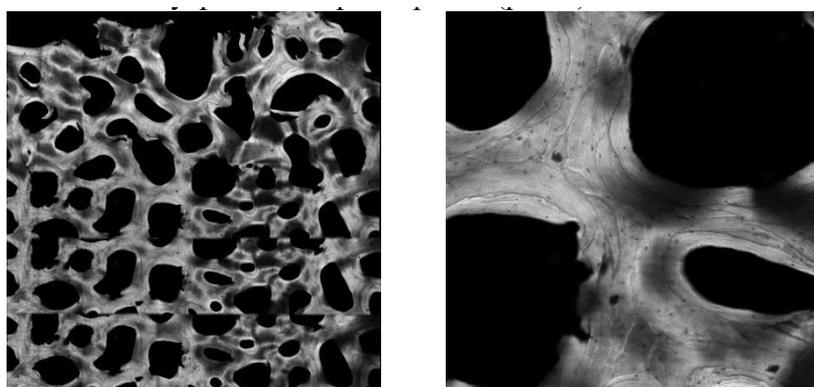


Рисунок 7. Оптические изображения образца губчатой деминерализованной костной ткани

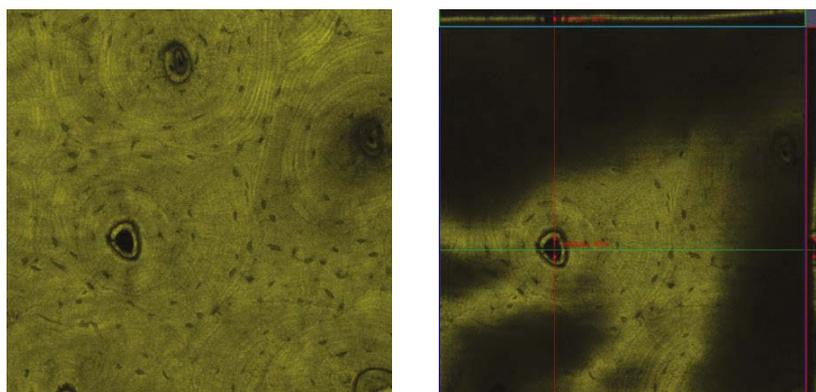


Рисунок 8. Оптические изображения образца кортикальной деминерализованной костной ткани

Морфология образцов компактной кости представлена редко расположенными Гаверсовыми каналами размером 20 мкм. Расстояние между Гаверсовыми каналами варьирует от 100 до 150 мкм, пористость компактной костной ткани практически отсутствует.

Структура губчатой деминерализованной кости имеет пористость 50% и выше со средним диаметром пор, наиболее приемлемым для заселения матриц клетками. На рис. 9 представлены гистограммы распределения пор по размерам

для губчатой деминерализованной кости для исследованных образцов. Все распределения имеют один максимум, положение которого несколько меняется от образца к образцу. Средняя пористость составила 52 % для 1 и 2 образцов, 55 % для 3, 4 и 5 образцов и 67 % для 6 образца.

Данные литературы [4,6] указывают на то, что для заселения матриц остеобластами, которые имеют значительный размер в дифференцированном виде, до 30 μm , предпочтительнее использовать образцы с размером пор от 250 μm

и более. Изучение микрофотографий показало, что в губчатой кости органический матрикс имеет поры размерами до 0,5 миллиметра, и бедно

представлены поры, размерами от десятка до ста микрометров (рис.9).

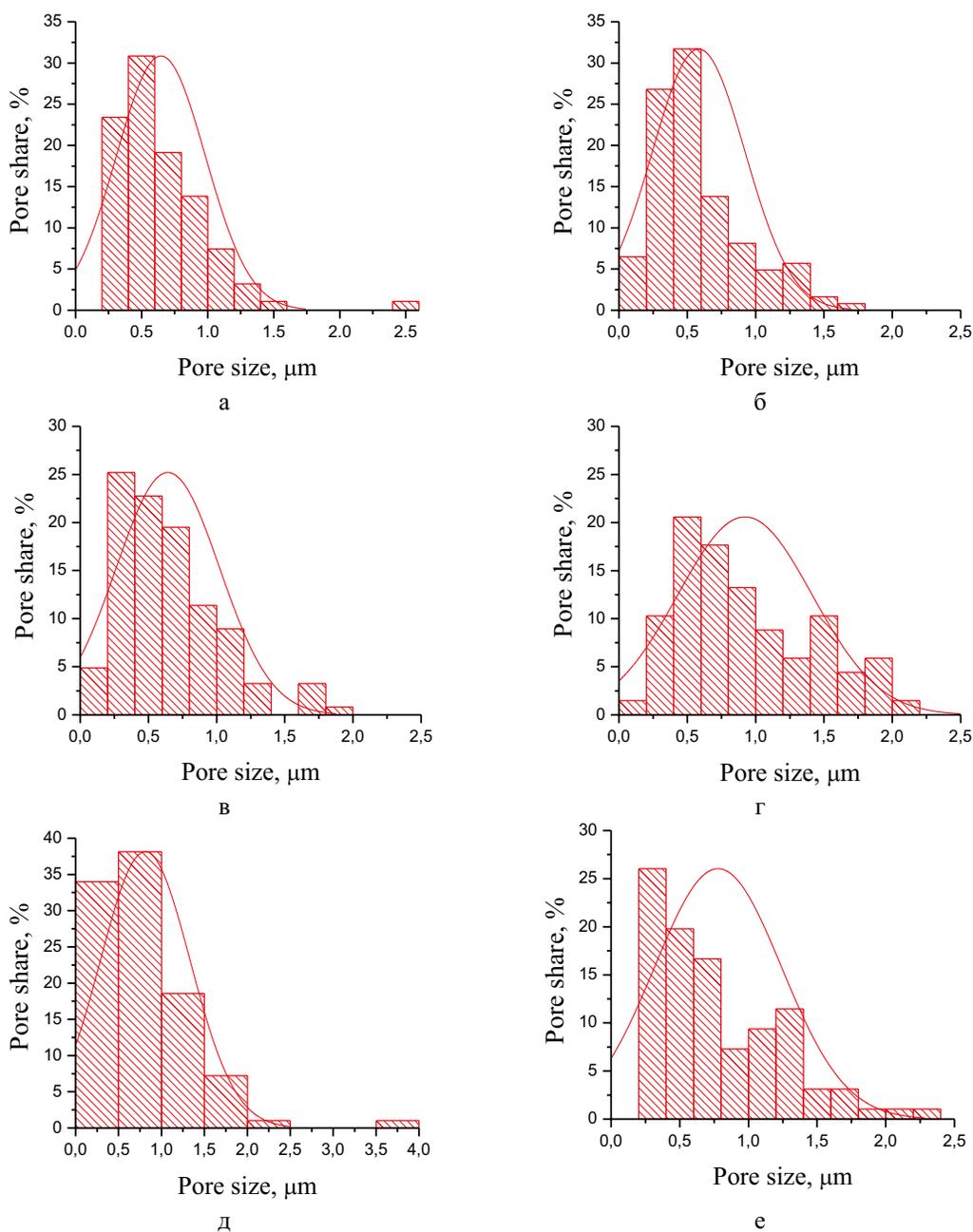


Рисунок 9. Распределение пор по размерам для деминерализованной трубчатой кости. Номер образца: а – 1, б – 2, в – 3, г – 4, д – 5, е – 6

В таблицах 1 и 2 приведены механические характеристики для деминерализованной губчатой и кортикальной костной ткани соответственно. Предел прочности для деминерализованной компактной кости изменялся в пределах от 1,1 до 5,5 МПа при предельной деформации до 16,0%. Модуль Юнга на изгиб изменялся от 49 до 248 МПа. В случае деминерализованной губчатой костной

ткани механические характеристики ниже. Так, предел прочности изменялся в пределах 1,1 – 5,5 МПа при максимальной предельной деформации 8,4 %. Модуль Юнга при изгибе изменялся от 3 до 50 МПа. Более низкие характеристики у губчатой костной ткани связаны с наличием каркасной пористой структуры при отсутствии таковой у компактной кости.

Таблица 1.

Механические характеристики деминерализованной кортикальной кости

Образец	Предел прочности (σ _B), МПа	Предельная деформация (ε), %	Модуль Юнга при изгибе (E), МПа
1	3,9	11,1	199
2	2,0	13,1	75
3	1,1	11,2	49
4	5,5	16	220
5	4,9	10,8	175
6	4,4	11,5	248

При сравнительной оценке механических характеристик деминерализованной кортикальной и губчатой кости с использованием U-критерий Манна-Уитни получили статистически значимые различия уровня всех признаков в сравниваемых группах ($p < 0,05$). По пределу прочности и предельной деформации U-критерий Манна-Уитни равен 5, а по модулю Юнга при изгибе U-критерий Манна-Уитни равен 1 при критическом значении при заданной численности сравниваемых групп 6.

Таблица 2.

Механические характеристики деминерализованной губчатой кости

Образец	Предел прочности (σ _B), МПа	Предельная деформация (ε), %	Модуль Юнга при изгибе (E), МПа
1	1,2	3,6	37
2	0,4	7,5	12
3	1,9	2,6	34
4	0,4	4,1	14
5	0,8	5,5	3
6	0,8	8,4	11
7	2,4	5,2	50

Пьезоэлектрические свойства. Проведены пилотные исследования потенциалов на электродах при создании нагрузки на образец. Форма и амплитуда сигналов зависела от степени жесткости образца, которая определялась его влажностью. Косвенная оценка влажности осуществлялась измерением электропроводности участка образца, расположенного под электродами.

Примеры регистрируемых сигналов представлены на рис. 10 и 11.

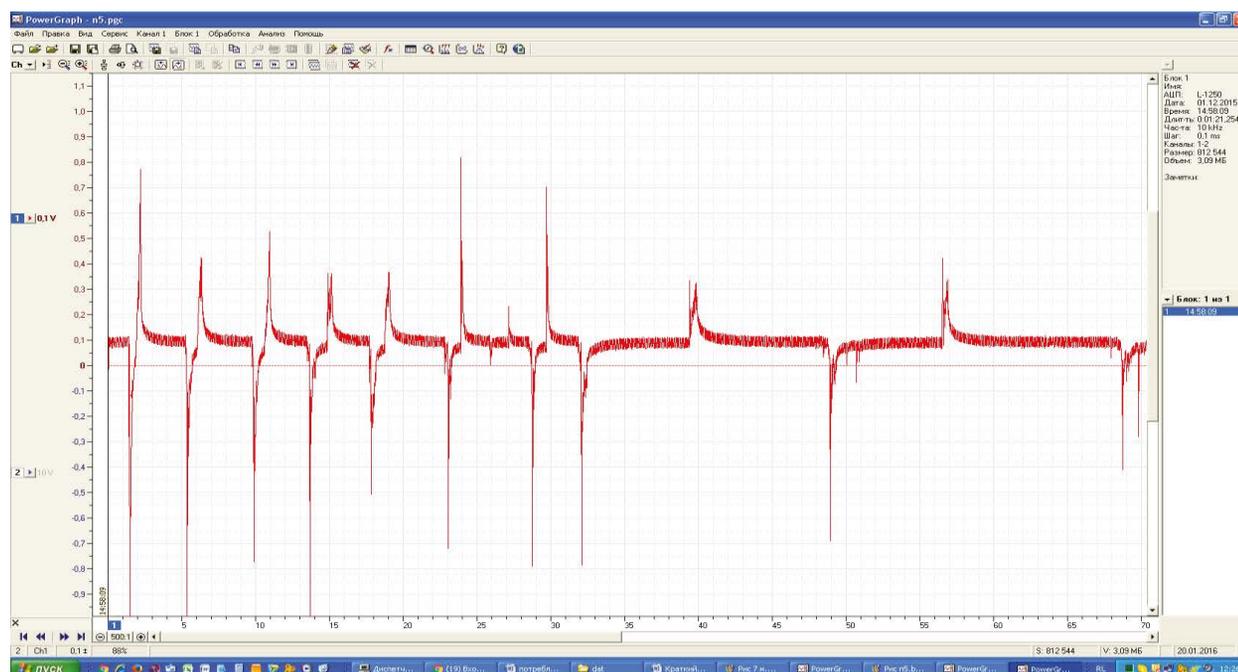


Рисунок 10. Пример потенциалов на «матрице» при различных значениях деформации (при $R=20\text{мОм}$)

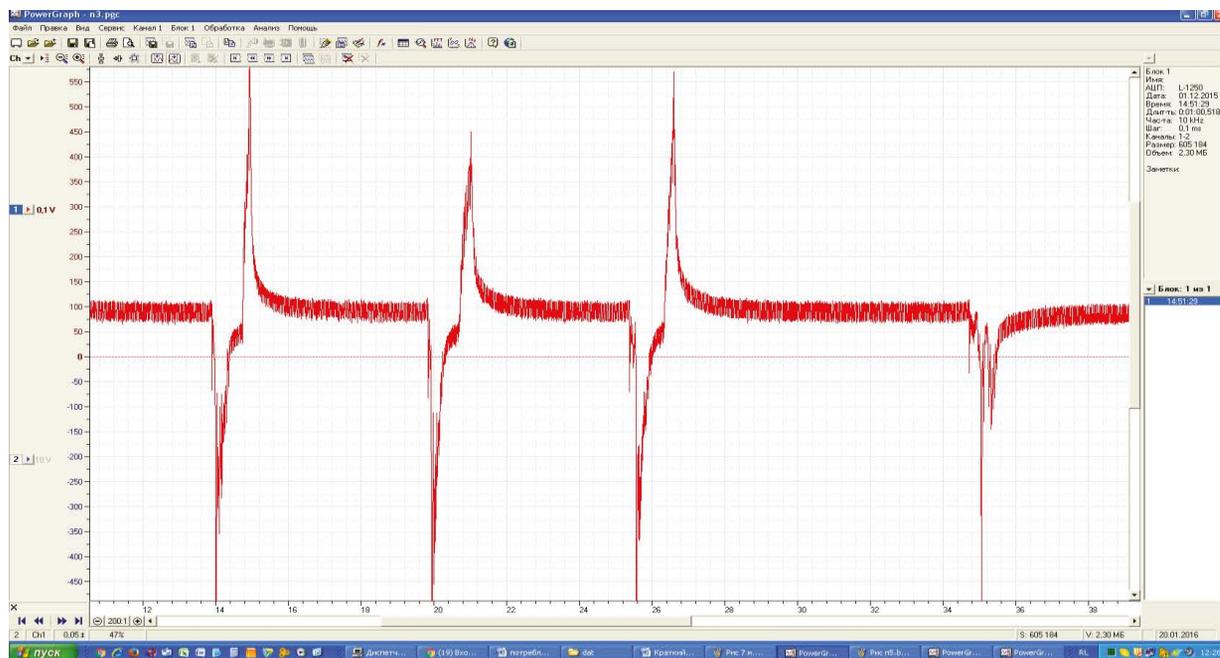


Рисунок 11. Пример потенциалов на «матрице» при различных значениях деформации (при $R=80\text{МОм}$)

По результатам измерений строилась зависимость амплитуды сигнала от жесткости образца (оцениваемой по электропроводности).

На рис. 12 представлена эта зависимость на основе данных, полученных в пилотных экспериментах.

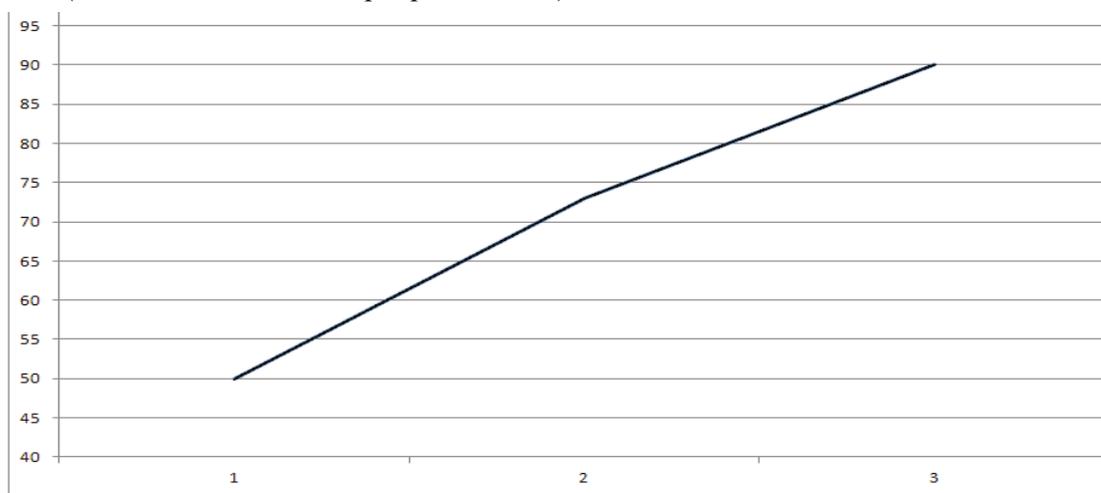


Рисунок 12. Диаграмма зависимости амплитуды сигнала от жесткости образца
 По оси Y средняя амплитуда сигнала.
 По оси X сопротивление образца, характеризующее его жесткость.
 1 - $R=20\text{МОм}$, 2. $R=50\text{МОм}$, 3. $R=80\text{МОм}$

Оценка коэффициентов диффузии. На основе FRAP экспериментов проведены сравнительные оценки коэффициентов диффузии флуоресцентных антигенов в образцах из деминерализованного костного матрикса компактной кости человека и образцах искусственных матриц из желатина, крысиного коллагена и матригеля, а также гидрогеля на основе смеси хитозана с по-

лилактидом в разных пропорциях. Образцы для экспериментов готовились следующим способом: полимеризованный гель или костный образец инкубировались в растворе с флуоресцирующими антителами в течение суток.

Результаты расчета коэффициентов диффузии по проведенным экспериментам представлены в сводной таблице 3.

Таблица 3.

Расчет коэффициентов диффузии различных матриц

Материал	D (m ² /s)
Chitosan+25% Plc	4.96 × 10 ⁻¹²
	7.15 × 10 ⁻¹²
Chitosan+50% Plc	2.27 × 10 ⁻¹²
	1.17 × 10 ⁻¹¹
Chitosan+75% Plc	2.21 × 10 ⁻¹²
	7.44 × 10 ⁻¹²
Chitosan	2.79 × 10 ⁻¹¹
	1.493 × 10 ⁻¹¹
	1.1 × 10 ⁻¹¹
Gelatin	3.54 × 10 ⁻¹²
	3.68 × 10 ⁻¹²
Matrigel	1.73 × 10 ⁻¹²
	1.84 × 10 ⁻¹²
	2.07 × 10 ⁻¹²
Rat collagen	3.45 × 10 ⁻¹¹
	3.43 × 10 ⁻¹¹
	3.3 × 10 ⁻¹¹
	2.61 × 10 ⁻¹¹
	2.82 × 10 ⁻¹¹
	1.21 × 10 ⁻¹¹
Деминерализованная кость	4.16 × 10 ⁻¹¹
	4.76 × 10 ⁻¹¹

Заключение

Были отработаны и/или адаптированы методы измерений микроморфологических, пьезоэлектрических и транспортных свойств у материалов потенциальных матриц. Показано, что у полученных образцов материалов из кости человека данные характеристики, как правило, значительно варьируют. Поэтому отработка протоколов методов измерения вышеперечисленных свойств является важной работой для создания технологии биоинженерии тканевых имплантов для восстановительной хирургии.

Исследование проводилось при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 15-29-04875)

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Z. Liao, C.H. Wang, W.L. Cui. J Invest Surg. 2016 Apr 11:1-10. [Epub ahead of print] –
2. Кирилова И.А. Анатомо-функциональ-

ные свойства кости как основа создания костно-пластических материалов для травматологии и ортопедии. Автореф. дисс. ... доктора мед. наук. Новосибирск; 2011.

Kirilova I.A. Anatomical and functional properties of bone as a basis for creating bone-plastic materials for traumatology and orthopedics. [dissertation] Novosibirsk; 2011. [In Russ].

3. Нигматуллин Р.Т., Щербakov Д.А., Мусина Л.М., Ткачев А.А. Некоторые аспекты клинического применения костных и хрящевых аллотрансплантатов. Медицинский вестник Башкортостана. 2012; 7 (4): 78-83.

Nigmatullin R.T., Shcherbakov D.A., Musina L.M., Tkachev A.A. Some aspects of clinicfl use of bone and cartilage allografts. Medical bulletin of Bashkortostan. 2012; 7 (4): 78-832012 Volume: 7 issue: 4 Year: 2012 Pages: 78-83. [In Russ].

4. Hofer S., Leopold S.S., Jacobs J. Clinical perspectives on the use of bone graft based on allografts In: Laurencin CT, editor. Bone graft substitutes. West Conshohocken, PA: ASTM International. 2003. P. 68–95.

5. Cammisa F. P., Lowery G., Garfin S.R., Geisler F.H., Klara P.M., McGuire R.A. et al. Two-year fusion rate equivalency between Grafton DBM gel and autograft in posterolateral spine fusion: a prospective controlled trial employing side-by-side comparison in the same patient. Spine. 2004; 29: 660–6.

6. Швец А. И., Ивченко В. К. Костные трансплантаты и их заменители в хирургии позвоночника. Ортопедия, травматология и протезирование. 2008; 3: 66–69.

Shvets A.I., Ivchenko V.K. Bone grafts and their substitutes in surgery of the spine. Orthopedics, traumatology and prosthetics. 2008; 3: 66-69. [In Russ].

7. Дианов С.В., Тарасов А.Н. Аллопластика вертлужной впадины при первичном и ревизионном эндопротезировании тазобедренного сустава. Травматология и ортопедия России. 2009; 3: 130–132.

Dianov S.V., Tarasov A.N. Acetabulum alloplasty at the primary and revision hip replacement. Traumatology and orthopedics of Russia. 2009; 3: 130–132. [In Russ].

8. Major M.R., Wong V.W., Nelson E.R., Longaker M.T., Gurtner G.C. Plast Reconstr Surg. 2015 May;135(5):1489-98. doi: 10.1097/PRS.0000000000001193.

9. Parisay I., Ghodduji J., Forghani M. Review A review on vital pulp therapy in primary teeth. *Iran Endod J.* 2015; 10(1): 6-15. Epub 2014 Dec 24.

10. Грудянов А.И., Николаев А.В. Сравнительный анализ отдаленных результатов использования различных ауто- и аллотрансплантатов для создания зоны кератинизированной десны при вестибулопластике на нижней челюсти // *Стоматология.* 2016. Т. 95. № 1. С. 40-43.

A.I. Grudyanov, A.V. Nikolaev Comparative study of long term result of auto- and allografts for keratinized gingiva restoration in vestibuloplasty area on the lower jaw *Dentistry.* 2016. Т. 95. No. 1. S. 40-43.

11. Кирилова И.А., Николаев С.В., Подорожная В.Т., Шаркеев Ю.П., Уваркин П.В. Ратушняк А.С. и др. Внеклеточный матрикс из кости человека как основа тканеинженерной конструкции. *Российский иммунологический журнал.* 2016; 10 (2-1) 579-581.

Kirilova I.A., Nikolaev S.V., Podorozhnaya V.T., Sharkeev Yu.P., Uvarkin P.V., Ratushnyak A.S. et al. Extracellular matrix from human bone as the basis of tissue engineering design. *Russian Immunological Journal.* 2016; 10 (2-1) 579-581. [In Russ].

12. Kirilova I. A., Sharkeev Yu. P., Nikolaev S. V., Podorozhnaya V. T., Uvarkin P. V., Ratushnyak A. S. et al. Physicomechanical properties of the extracellular matrix of a demineralized bone. *AIP Conference Proceedings.* 2016; 1760 (1): 020027 doi: 10.1063/1.4960246.

13. Vitor E.S., Manuela E.G., Joao F.M., Rui L.R. Controlled release strategies for bone, cartilage and osteochondral engineering—Part I: Recapitulation of native tissue healing and variables for the design of delivery systems. *Tissue engineering: Part B.* 2013; 19 (4): 308-326.

14. M.A. Velasco, Narváez-Tovar C.A., Garzón-Alvarado D.A. Design, Materials, and Mechanobiology of Biodegradable Scaffolds for Bone Tissue Engineering. *BioMed Research International.* 2015; 2015: 729076. doi:10.1155/2015/729076.

15. Кирпичев И.В., Маслов Л.Б., Коровин Д.И. Актуальные междисциплинарные проблемы применения современных пористых имплантатов для замещения костных дефектов. *Современные*

проблемы науки и образования. 2016; 1: 2.

Kirpichev I.V., Maslov L.B., Korovin D.I. Aktual'nye mezhdisciplinarnye problemy primeneniya sovremennykh poristykh implantatov dlja zameshhenija kostnykh defektov. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya.* 2016; 1: 2. [In Russ].

16. Подорожная В.Т., Кирилова И.А., Шаркеев Ю.П., Попова К.С., Уваркин П.В., Фомичев Н.Г. Изучение структурно-функциональных характеристик срединных распилов головок бедренных костей. *Успехи современного естествознания.* 2015; 9: 126-129.

Podorozhnaya V.T., Kirilova I.A., Sharkeev Yu.P., Popova K.S., Uvarkin P.V., Fomichev N.G. The study of structural and functional characteristics of femoral head midline section specimens. *Advances in current natural sciences.* 2015; 9: 126-129. [In Russ].

17. Кирилова И.А., Шаркеев Ю.П., Подорожная В.Т., Попова К.С., Уваркин П.В., Фомичев Н.Г. Изучение морфологии срединных распилов головки бедренной кости. *Успехи современного естествознания.* 2015; 8: 58-61.

Kirilova I.A., Sharkeev Yu.P., Podorozhnaya V.T., Popova K.S., Uvarkin P.V., Fomichev N.G. The study of the morphology of femoral head midline section specimens. *Advances in current natural sciences.* 2015; 8: 58-61. [In Russ].

18. Murphy S.V., Atala A. Organ engineering – combining stem cells, biomaterials, and bioreactors to produce bioengineered organs for transplantation. *Bioessays.* 2012; 35: 163–172.

19. Пененко А.В., Николаев С.В., Голушко С.К., Ромащенко А.В., Кирилова И.А. Численные алгоритмы идентификации коэффициента диффузии в задачах тканевой инженерии. *Матем. биология и биоинформ.* 2016; 11 (2): 426-444.

Penenko A.V., Nikolaev S.V., Golushko S.K., Romashhenko A.V., Kirilova I.A. Chislennye algoritmy identifikacii kojefficienta diffuzii v zadachah tkanevoj inzhenerii. *Matematicheskaja biologija i bioinformatika.* 2016; 11 (2): 426-444. [In Russ].

Статья поступила 07.06.2017

Для корреспонденции:

Кирилова Ирина Анатольевна

Адрес: 630091, г. Новосибирск, ул. Фрунзе, 17

Тел. +7(913) -958-09-61,

E-mail: irinakirilova71@mail.ru

For correspondence:

Kirilova Irina

Address: 17, Frunze st., Novosibirsk, 630091, Russian Federation

Тел. +7(913) -958-09-61,

E-mail: irinakirilova71@mail.ru