



УДК 576.524: 576.08: 611.71: 616.71-001.58: 616.71-003.85: 616.71-003.93
DOI: 10.17802/2306-1278-2017-6-4-95-102

ОСОБЕННОСТИ РЕГЕНЕРАЦИИ КОСТНОЙ ТКАНИ ТЕЛ ПОЗВОНКОВ НА ОСНОВЕ ОСТЕОТРАНСПЛАНТАТА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

А.М. ЗАЙДМАН¹, Ю.А. ПРЕДЕИН¹, А.В. КОРЕЛЬ¹, Е.И. ЩЕЛКУНОВА¹, Е.И. СТРОКОВА¹,
А.Д. ЛАСТЕВСКИЙ¹, В.В. РЕРИХ^{1,2}, А.И. ШЕВЧЕНКО³

¹ ФГБУ «Новосибирский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им. Я.Л. Цивьяна» Минздрава России, Новосибирск, Россия

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Новосибирск, Россия

³ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», Новосибирск, Россия

Резюме

Цель. На экспериментальной модели искусственного дефекта тела позвонка мини-поросенка исследованы остеогенные потенции трехмерного остеотрансплантата. Остеотрансплантат состоит из клеток остеогенного ряда, матрикса, содержащего костные белки, минеральные компоненты, ферменты и сосуды с эндотелиальной выстилкой. Структурная композиция остеотрансплантата является аналогом эмбриональной костной ткани, что явилось основанием для исследования регенераторных потенций остеотрансплантата в эксперименте.

Материалы и методы. В дефект тела поясничного позвонка мини-поросенка (6 месяцев) имплантировали остеотрансплантат. Животных выводили из эксперимента в сроки от 14 дней до 6 месяцев. В контрольной серии в подобный дефект имплантировали аутокость. Препараты исследова-

ли морфологическими методами, плотность костной ткани оценивали методом МСКТ.

Результаты. Регенерация и интеграция костной ткани тела позвонка при замещении остеотрансплантатом происходит первичным ангиогенным остеогенезом за счет структурных компонентов остеотрансплантата в течение одного месяца. Регенерация и интеграция костной ткани тела позвонка при замещении аутоотрансплантатом происходит за счет структурных компонентов реципиента в течение шести месяцев.

Выводы. Формирование общего кровотока трансплантата и сосудов реципиента является фактором интеграции трансплантата в гомеостатическую систему реципиента и патогенетическим механизмом оптимизации регенерации дефекта костной ткани на основе трансплантата.

Ключевые слова: трехмерный остеотрансплантат, трансдифференцировка, остеогенез, регенерация.

Для цитирования: Зайдман А.М., Предеин Ю.А., Корель А.В., Щелкунова Е.И., Строкова Е.И., Ластевский А.Д., Рерих В.В., Шевченко А.И. Особенности регенерации костной ткани тел позвонков на основе остеотрансплантата в эксперименте. Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний. 2017;6(4):95-102. DOI:10.17802/2306-1278-2017-6-4-95-102

Eng

CHARACTERISTICS OF BONE TISSUE REGENERATION IN THE VERTEBRAL BODIES IN THE EXPERIMENT WITH OSTEOGRAFT

A.M. ZAYDMAN¹, YU.A. PREDEIN¹, A.V. KOREL¹, E.I. SHCHELKUNOVA¹, E.I. STROKOVA¹,
A.D. LASTEVSKY¹, V.V. RERIKH^{1,2}, A.I. SHEVCHENKO³

¹ Novosibirsk Research Institute of Traumatology and Orthopaedics n.a. Ya.L. Tsivyan, Novosibirsk, Russia

² Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia

³ Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia

Abstract

Aim. To assess osteogenic potentialities of a three-dimensional osteograft in a mini pig model with artificial vertebral body defect. The osteograft consists of osteo-

genic cells, a matrix containing bone proteins, mineral components, enzymes and vessels with endothelial lining. Structural composition of the osteograft is an analogue of embryonic bone tissue, which was the basis for examining



the regenerative potentialities of the osteograft in the experiment.

Methods. The osteograft was implanted in the defect of the lumbar vertebral body of minipig (6 months old). The animals were withdrawn from the experiment in the period from 14 days to 6 months. In the control series, autobone was implanted in a similar defect. The preparations were examined by morphological methods, and bone tissue density was assessed by MSCT.

Results. Regeneration and integration of the bone tissue of the vertebral body with the defect replaced by the osteograft was by primary angiogenic osteogene-

sis within one month due to the structural components of the osteograft. When the defect is replaced by autograft, the regeneration and integration of the bone tissue of the vertebral body occur within six months due to the structural components of the recipient.

Conclusion. Formation of the common blood flow of the transplant and recipient vessels is both a factor of integration of the transplant into the homeostatic system of the recipient, and a pathogenic mechanism for optimizing the regeneration of bone tissue defect on the basis of the graft.

Keywords: *three-dimensional osteograft, transdifferentiation, osteogenesis, regeneration.*

For citation: Zaydman A.M., Predein Yu.A., Korel A.V., Shchelkunova E.I., Strokova E.I., Lastevsky A.D., Rerikh V.V., Shevchenko A.I. Characteristics of bone tissue regeneration in the vertebral bodies in the experiment with osteograft. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases*. 2017;6(4): 95-102. (In Russ.) DOI:10.17802/2306-1278-2017-6-4-95-102

«Разработка методов трансплантации костных клеток с целью оптимизации течения репаративных процессов при переломах и осложнениях является актуальной для теоретической морфологии и практической медицины»

Деев Р.В.

Введение

Разработка методов биологической регенерации дефектов костной ткани является актуальной проблемой ортопедии и травматологии. Тем более что наряду с ростом количества костно-суставных патологий, в том числе дегенеративных поражений, отсутствуют надежные остеопластические материалы, способные восстановить дефекты костной ткани в оптимальные сроки. Аутологичные костные трансплантаты продолжают считаться «золотым стандартом» для восстановления костной ткани [1, 2, 3, 4]. Однако этот метод имеет ряд недостатков: взятие аутогенного трансплантата связано с нанесением дополнительной травмы пациенту и ограниченная возможность получения аутоматериала. Широкое применение клеточных трансплантаций, несмотря на доступность и, во многих случаях, эффективность, поставило ряд вопросов. Прежде всего, это методические трудности, в особенности – способ доставки клеточного материала [5]. Известно, что введение клеток методом инъекции приводит к значительному механическому повреждению клеток и индукции их апоптоза. Контраргументом является и непредсказуемость дифференцировок, вплоть до онкогенеза, особенно при использовании эмбриональных стволовых и плюрипотентных клеток [2, 3, 4]. В настоящее время предложено множество различных вариантов с использованием стволовых или коммитированных в остеогенном направлении клеток и матриц-носителей [6]. Тканевая инженерия подразумевает создание трех компонентных кон-

струкций: из стволовых клеток, матриц-подложек и сигнальных молекул. Однако для создания подобных конструкций необходим подбор матриц, обладающих иммунотолерантностью, способностью к биодеградации и отсутствием токсичности. Вместе с тем, любая матрица в процессе деградации задерживает процесс остеогенеза.

Широкие возможности открываются перед разработчиками тканеинженерных конструкций, по биологическим свойствам эквивалентных костной ткани. Одним из важнейших вопросов разработки клеточно-инженерных конструкций является создание последних из клеток с направленной остеогенной дифференцировкой, коммитированных в направлении остеогенеза. Подобный остеогенный трансплантат создан в Новосибирском НИИТО им. Я.Л. Цивьяна (патент 2574942) путем трансдифференцировки трехмерного хондротрансплантата в остеогенной среде. Остеотрансплантат состоит из клеток остеогенного ряда и матрикса, содержащего коллаген I типа, сосуды, высланные эндотелием, минеральные компоненты и костные белки [7, 8]. Экспериментальная апробация регенеративных свойств остеотрансплантата представлена в настоящем исследовании. В качестве контроля использован «золотой стандарт» – аутогенный трансплантат.

Цель

Исследование регенераторных потенциалов остеотрансплантата при замещении дефекта тел позвонков в эксперименте.

Материалы и методы

Исследование выполнено на мини-свиньях с соблюдением положений Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации и Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных (утв. Приказом Министерства здравоохранения Российской Федерации от



19.03.2003 г. №226). Разрешение на проведение работ было получено на заседании локального этического комитета ФГБУ «ННИИТО им. Я.Л.Цивьяна» Минздрава России (протокол заседания № 019/15 от 28 декабря 2015 года). Основой для создания остеотрансплантатов служили хондротрансплантаты, изготовленные из культивированных хондробластов, полученных из позвоночника новорожденного мини-поросенка. Выделение клеток из ткани, культивирование хондробластов, формирование хондротрансплантата осуществляли согласно методикам, указанным в соответствующих патентах (патенты RU № 2285039, № 2392973). Направленную остеогенную дифференцировку производили на основе хондротрансплантата при помощи остеоиндуктивной среды на основе RPMI-1640 с 15% FBS, стрептомицин-пенициллином, амфотерицином В. В качестве индукторов остеогенной дифференцировки клеток применяли 10 мМ/л β-глицерофосфа, 100 нМ/л дексаметазона и 0,2 мМ/л аскорбиновой кислоты. Трехмерный остеотрансплантат получали по протоколу, описанному в патенте (RU № 2574942). Пересадку остеотрансплантатов и аутокостных трансплантатов осуществляли на мини-свиньях (возраст 6 месяцев). Под общим наркозом выполняли передний забрюшинный доступ к телам поясничных позвонков. При помощи бора формировали костный дефект в вентральном отделе тела позвонка размерами в глубину и ширину соответствующий размерам трансплантата (около 5 мм). Сформированный дефект полностью заполняли остеотрансплантатом. Аутокость для трансплантации получали из дефекта тела позвонка, подготовленного для трансплантации остеотрансплантата. В сформированный дефект укладывали с плотным прилеганием к реципиентному ложу трехмерный остеотрансплантат или аутокостный трансплантат. Животных выводили из экспери-

мента через 14 дней, 1, 2, 3 месяца. Зону трансплантации исследовали методом МСКТ. Данные МСКТ оценивали в соответствии с признаками, описанными в классификации Tan et al. в 2007 г. [9]. Плотность костной ткани определяли по единицам Хаунсфилда (HU), замеры проводили в одинаковых точках для обеих групп: 1 – центр трансплантата; 2 – края трансплантата (среднее значение); 3 – край трансплантата, не прилегающий к кости; 4 – края реципиентного ложа (среднее значение). Фиксацию, проводку материалов и изготовление морфологических препаратов проводили по традиционной методике. Препараты окрашивали гематоксилин-эозином.

Результаты

Через 14 дней область дефекта тел позвонков заполнена остеотрансплантатом. Последний плотно прилегает к краям дефекта. Более того, из периферических отделов остеотрансплантата в межбалочные пространства ложа внедряются примитивные костные структуры и остеогенная ткань. На поверхности костных балок реципиента расположены вновь образованная костная ткань, исходящая из остеотрансплантата. В центре остеотрансплантата сформированы примитивные костные балки. Остеобласты с базофильными ядрами и базофильной цитоплазмой располагаются вокруг трабекулярных структур (Рис.1А).

Внутри костных балок остеобласты расположены в лакунах. Промежутки между трабекулярными костными структурами заполнены сосудами и остеогенной тканью. На периферии остеотрансплантата, прилежащего к ложу реципиента располагаются более зрелые костные трабекулы, формирующие анастомозы. Трабекулы окружены активными двурядными остеобластами. Гемопоэтическая ткань между трабекулами отсутствует.

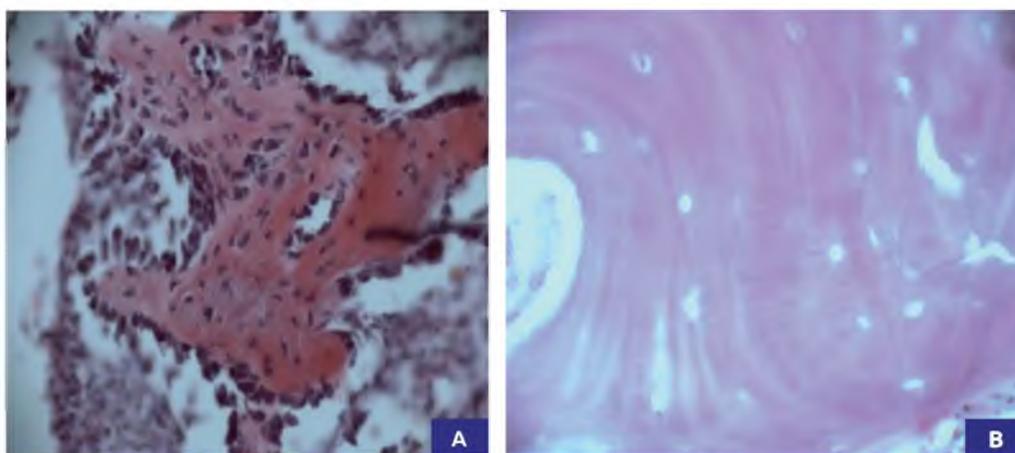


Рисунок 1. Через 14 дней после замещения дефекта костной ткани остеотрансплантатом и аутоотрансплантатом. В зоне замещения дефекта тела позвонка остеотрансплантатом сформирована примитивная костная ткань. Гематоксилин-эозин. x200(A); безостеоцитный аутоотрансплантат в зоне дефекта костной ткани тела позвонка. Гематоксилин-эозин. x200 (B)

Figure 1. 14 days after replacing bone defect with the osteograft and autograft. Primitive bone tissue is visualized in the site of vertebral body defect, replaced with the osteograft. Hematoxylin-eosin staining. x200 (A); the autograft without osteocytes in the vertebral body defect site. Hematoxylin-eosin staining. x200(B)



Через 14 дней в области дефекта тела позвонка плотно прилежит аутооттрансплантат. В некоторых участках аутооттрансплантата поверхность узурирована и подвергается остеокластической резорбции. Активация остеогенеза отсутствует (рис.1В).

Через 30 дней полость дефекта, заполненная остеотрансплантатом, полностью замещена сформированной примитивной костной тканью. Костные трабекулы широкие, нерегулярного строения, с большим количеством хаотично расположенных остеобластов, трабекулярные линии не регулярны. Вокруг костных балок большое скопление активно синтезирующих остеобластов – клетки треугольной формы с округлым базофильным, эксцентрично расположенным ядром и интенсивно базофильной, альциан-позитивной цитоплазмой (рис.2А).

Между костными балками выявляется остеогенная ткань с большим количеством клеток, комитированных к остеогенезу, и кровеносные сосуды; заполненные эритроцитами. В области контакта с ложем реципиента на поверхности безостеоцитных балок сформированы костные структуры, внедряющиеся из остеотрансплантата (рис.2В). В трансплантате как по периферии, так и в центральных отделах располагается примитивная костная ткань, которая зани-

мает все пространство. Между трабекулами располагаются тонкостенные сосуды и остеогенная ткань. В некоторых участках наблюдается процесс трансформации в более зрелую костную ткань.

Через 30 дней зона дефекта, замещенная аутокостью, содержит крупные фрагменты аутооттрансплантата. В некоторых участках в расслоившиеся зоны аутооттрансплантата из ложа реципиента проникают кровеносные сосуды, и формируется костный регенерат (рис.2С).

Через 60 дней в области пластического замещения дефекта костной ткани остеотрансплантатом сформирована костная ткань пластинчатого строения, заполнившая все пространство бывшего дефекта. Между костными структурами располагаются остеогенная ткань и сосуды (рис. 3А).

Через 60 дней в центре дефекта, заполненного аутооттрансплантатом, все еще встречаются крупные костные фрагменты. В местах прилегания к материнскому ложу сформирована новообразованная костная ткань примитивного строения (рис.3В).

Через 90 дней в области пластического замещения дефекта костной ткани остеотрансплантатом располагается костная ткань трабекулярного строения с морфологическими признаками перестройки - не-

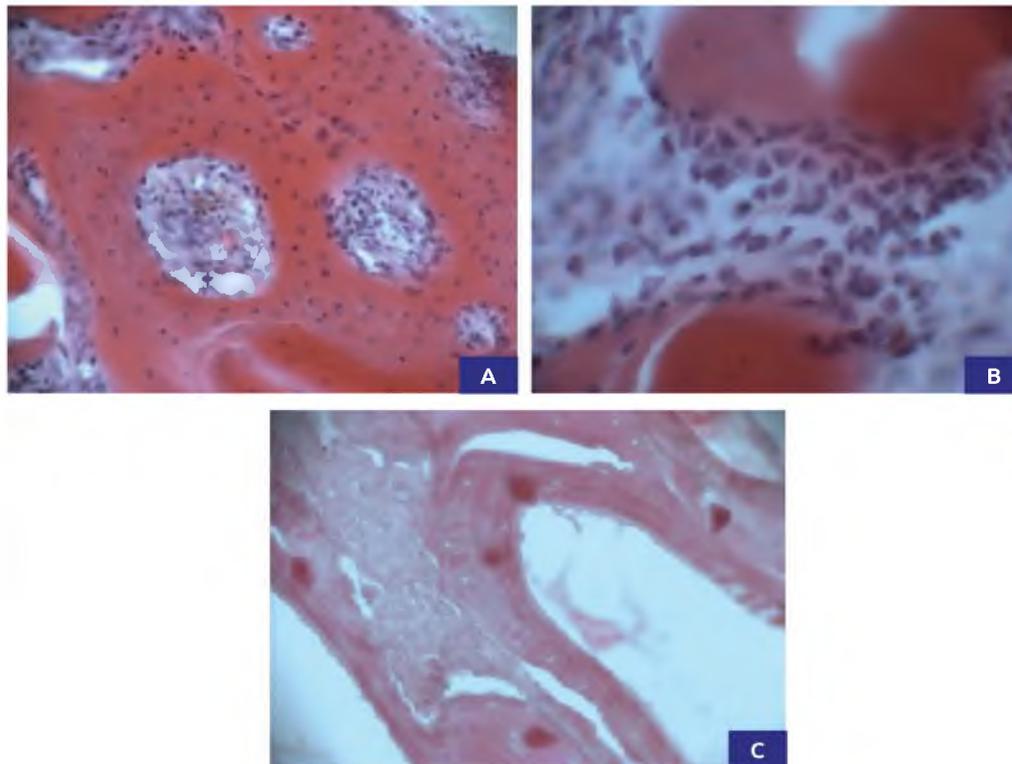


Рисунок 2. Через 30 дней после замещения дефекта костной ткани остеотрансплантатом и аутооттрансплантатом. Примитивная костная ткань в зоне замещения дефекта тела позвонка остеотрансплантатом. Гематоксилин-эозин. x200(A); На поверхности безостеоцитных балок сформированы костные структуры, внедряющиеся из остеотрансплантата. Гематоксилин-эозин. x400(B); Зона дефекта, содержит крупные фрагменты аутооттрансплантата. Гематоксилин-эозин. x200 (C)

Figure 2. 30 days after replacing bone defect with the osteograft and autograft. Primitive bone tissue is visualized in the site of vertebral body defect, replaced with the osteograft. Hematoxylin-eosin staining. x200 (A); Bone structures are formed on the struts without osteocytes grown from the osteograft. Hematoxylin-eosin staining. x400 (B); Defect area, containing large fragments of the autograft. Hematoxylin-eosin staining. x200 (C)

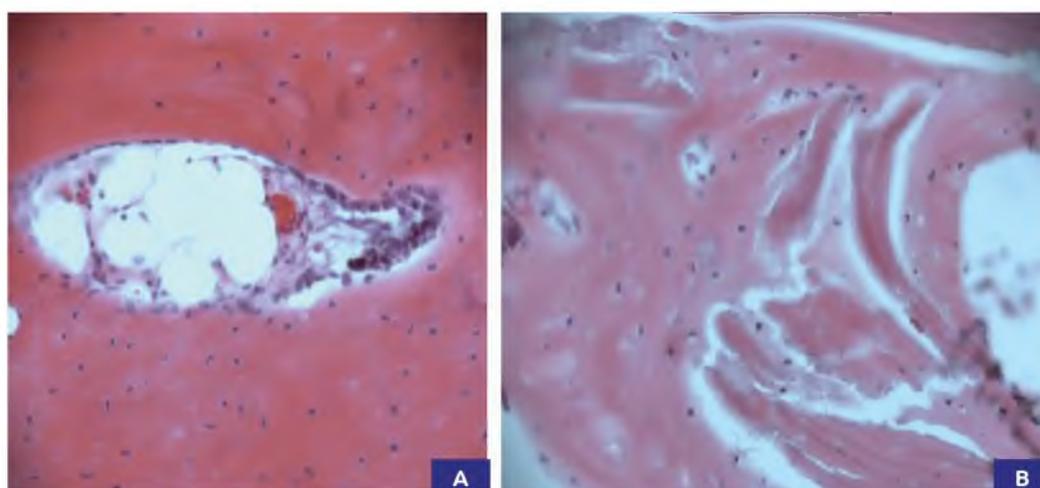


Рисунок 3. Через 60 дней после замещения дефекта костной ткани остеотрансплантатом и аутоотрансплантатом. В зоне замещения дефекта остеотрансплантатом сформирована костная ткань пластинчатого строения. Гематоксилин-эозин. $\times 200$ (A); в центре дефекта расположены крупные фрагменты аутоотрансплантата. Гематоксилин-эозин $\times 200$ (B)

Figure 3. 60 days after replacing bone defect with the osteograft and autograft. Lamellar bone tissue is visualized in the site of vertebral body defect replaced with the osteograft. Hematoxylin-eosin staining. $\times 200$ (A); large fragments of the autograft, located in the center of the defect. Hematoxylin and eosin staining. $\times 200$ (B)

регулярным расположением трабекулярных линий и остеоцитов. Между костными структурами располагается миелоидный костный мозг. Наблюдается полная интеграция с ложем реципиента – границы удается установить только по степени «зрелости» костной ткани (рис.4А). Через 90 дней в области пластического замещения дефекта аутоотрансплантатом располагаются отдельные костные включения в виде фрагментов незрелой костной ткани, не формирующих между собой контактов. В центральных отделах дефекта все еще находятся фрагменты аутоотрансплантата. Процесс образования органоспецифической костной ткани все еще не происходит (рис.4В).

Данные МСКТ

Через 14 дней в области замещения дефекта остеотрансплантатом визуализируется плотный контакт остеотрансплантата с краями реципиентного ложа, данных за их слияние не определяется, что соответствует 4 типу по классификации Тан [9].

В контрольной группе животных (замещение дефекта аутоотрансплантатом) получены аналогичные данные. В основной группе животных (замещение дефекта остеотрансплантатом) плотность остеотрансплантата в точках: 1 – 37НУ, 2 – 84НУ, 3 – 50 НУ, 4 – 612НУ, что соответствует мягким тканям,

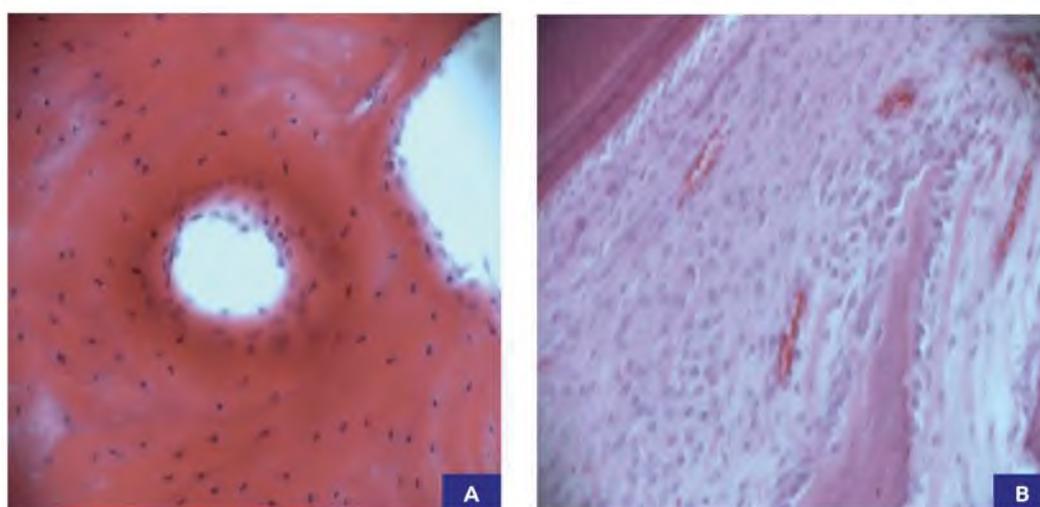


Рисунок 4. Через 90 дней после замещения дефекта костной ткани остеотрансплантатом и аутоотрансплантатом. Дефект тела позвонка, замещенный остеотрансплантатом, заполнен костной тканью трабекулярного строения. Гематоксилин-эозин. $\times 200$ (A); Расщепившиеся фрагменты аутоотрансплантата заполнены рыхловолокнистой тканью. Гематоксилин-эозин. $\times 200$ (B)

Figure 4. 90 days after replacing bone defect with osteograft and autograft. Vertebral body defect, replaced by the osteograft and filled with trabecular bone tissue. Hematoxylin-eosin staining. $\times 200$ (A); Fragmentation of the autograft. The fragments are filled with loose fiber tissue. Hematoxylin-eosin staining. $\times 200$ (B)



с более плотными краями. Эти данные свидетельствуют о процессе минерализации трансплантата от периферии к центру (рис.5 А, В).

Через 30 дней в дефекте тел позвонков, замещенным остеотрансплантатом, по данным МСКТ определяется слияние остеотрансплантата с реципиентным ложем. Формирование костной ткани соответствует 2 типу по классификации Тап. В контрольной группе животных значительных изменений не зафиксировано.

В основной группе плотность в точках: 1 – 136НУ, 2 – 198НУ, 3 – 131НУ, 4 – 612НУ, что свидетельствует об увеличении плотности остеотрансплантата (рис.6 А, В).

В контрольной группе процессы деградации к этому сроку в центральной части пластического материала все еще не происходят. Плотность костной ткани составляет: 1 – 286НУ, 2 – 202НУ, 3 – 180НУ, 4 – 687НУ, что связано с более интенсивными процессами резорбции, происходящими по краям аутоотрансплантата (рис. 6 С, D).

Через 60 дней, по данным МСКТ, дефект тел позвонков, замещенный остеотрансплантатом, не визуализируется. Границы между материнским ложем и остеотрансплантатом не определяются. Формирование костной ткани соответствует 1 типу по классификации Тап. В контрольной группе животных отмечается слияние аутоотранс-

плантата с ложем по периферии, при этом в центральной части все еще видны фрагменты трансплантата, что соответствует 2 типу по классификации Тап. В основной группе плотность соответствует показателям костной ткани, во всех точках примерно равные значения, что может говорить о его полной, равномерной минерализации.

Через 90 дней, по данным МСКТ, в группе с замещением остеотрансплантатом дефект не визуализируется, границы между материнским ложем и остеотрансплантатом отсутствуют.

В контрольной группе отмечается слияние аутоотрансплантата с ложем по периферии, при этом в центральной части все еще видны фрагменты трансплантата, что соответствует 2 типу по классификации Тап. В основной группе плотность составляет: 1 – 917НУ, 2 – 958НУ, 3 – 890НУ, 4 – 950НУ, соответствует показателям костной ткани, во всех точках имеет примерно равные значения, что свидетельствует о его полной, равномерной минерализации (рис.7 А, В).

Через 90 дней с момента операции, по данным МСКТ, в области замещения дефекта аутокостью отмечается слияние аутоотрансплантата с ложем по периферии, при этом в центральной части все еще видны фрагменты трансплантата. Формирование костной ткани соответствует 2 типу по классифика-

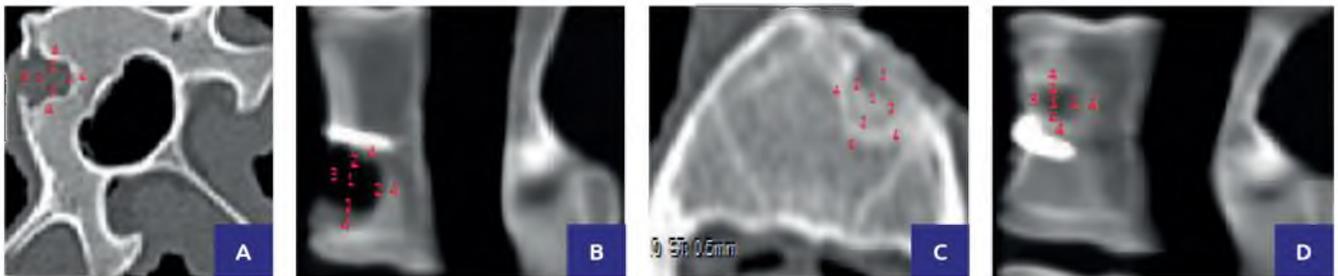


Рисунок 5. Данные МСКТ. 14 дней после операции. Область замещения дефекта остеотрансплантатом, аксиальная поверхность (А); Область замещения дефекта остеотрансплантатом, сагиттальная поверхность (В); Область замещения дефекта аутоотрансплантатом, аксиальная поверхность (С); Область замещения дефекта аутоотрансплантатом, сагиттальная поверхность (D)

Figure 5. MSCT findings. 14 days after surgery. Area of bone defect replacement with the osteograft, axial plane (A); Area of bone defect replacement with the osteograft, sagittal plane (B); Area of bone defect replacement with the autograft, axial plane (C); Area of bone replacement with the autograft, sagittal plane (D)

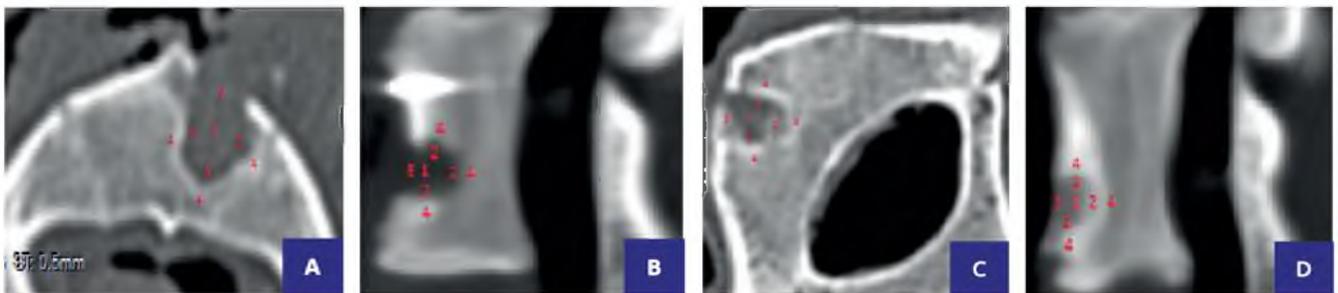


Рисунок 6. Данные МСКТ. 30 дней после операции. Область замещения дефекта остеотрансплантатом, аксиальная поверхность (А); область замещения дефекта остеотрансплантатом, сагиттальная поверхность (В); область замещения дефекта аутоотрансплантатом, аксиальная поверхность (С); область замещения дефекта аутоотрансплантатом, сагиттальная поверхность (D)

Figure 6. MSCT findings. 30 days after surgery. Area of bone defect replacement with the osteograft, axial plane (A); Area of bone defect replacement with the osteograft, sagittal plane (B); Area of bone defect replacement with the autograft, axial plane (C); Area of bone replacement with the autograft, sagittal plane (D)

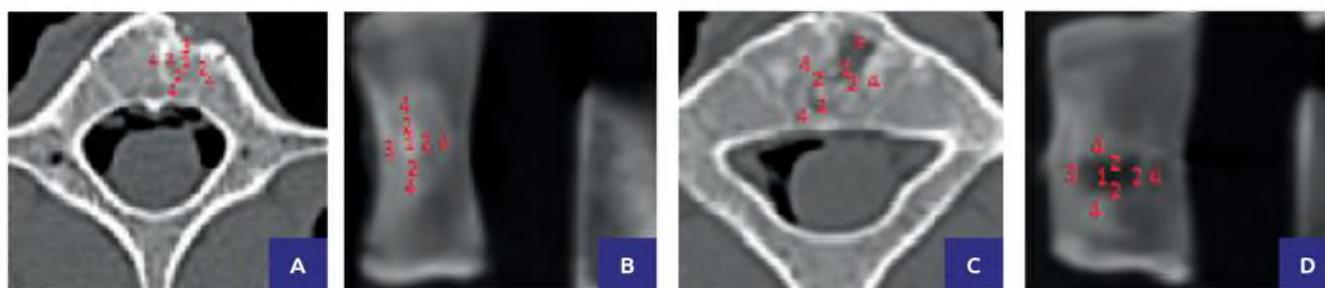


Рисунок 7. Данные МСКТ. 90 дней после операции. Область замещения дефекта остеотрансплантатом, аксиальная поверхность (А); область замещения дефекта остеотрансплантатом, сагиттальная поверхность (В); область замещения дефекта аутоотрансплантатом, аксиальная поверхность (С); область замещения дефекта аутоотрансплантатом, сагиттальная поверхность (D)
Figure 7. MSCT findings. 90 days after surgery. Area of bone defect replacement with the osteograft, axial plane (A); area of bone defect replacement with the osteograft, sagittal plane (B); area of bone defect replacement with the autograft, axial plane (C); area of bone replacement with the autograft, sagittal plane (D)

ции Тап. Плотность костной ткани 1 – 357 HU 2 – 645 HU 3 – 529HU 4 – 804 HU (Рис.7 В, D).

Обсуждение

Полученные фактические данные поставили следующие вопросы для обсуждения:

1. Патогенетический механизм оптимизации репаративной регенерации костной ткани на основе остеотрансплантата.
2. Источники регенерации дефектов костной ткани при замещении ауто- и остеотрансплантатами в эксперименте.
3. Механизм интеграции исследуемого пластического материала в общую гомеостатическую систему организма.

Результаты исследования показали, что остеотрансплантат, помещенный в дефект тела позвонка, в течение 14 дней дифференцируется в примитивную костную ткань трабекулярного строения. Все пространство между новообразованными костными структурами заполнено остеогенной тканью и сосудами, содержащими элементы крови.

Этот факт свидетельствует об интеграции регенерата в систему кровообращения реципиента (экспериментального животного), что является фактором гистосовместимости структур. Формирование общей сосудистой сети и дальнейшая регуляция остеогенеза в области дефекта происходят под влиянием гуморальных факторов, которые поступают с кровью реципиента на общеорганизменном уровне (парат-гормон, факторы роста, сигнальные системы и т.д.). Из периферических отделов трансплантата в межбалочные промежутки костной ткани костного ложа внедряется остеогенная ткань с большим количеством сосудов, содержащих эритроциты. Активация остеогенеза наблюдается и по периферии остеотрансплантата, прилежащего к краям дефекта. На поверхности безостеоцитных костных балок откладывается костная ткань, представленная зоной остеоида и активными остеобластами, что может быть трактовано как интеграция регенерата с ложем реципиента. Полученные факты свидетель-

ствуют, что процесс регенерации в зонах дефекта и интеграции с ложем реципиента формируется за счет структурных компонентов остеотрансплантата. Необходимо подчеркнуть, что вопрос о роли трансплантата в регенерации дефекта в литературе решается противоречиво. По данным Деева Р.В. и соавторов [6], регенерация на основе остеотрансплантата происходит через образование временной «мультикитки», по существу – на основе грануляцитарной ткани. Автор основывается на наличии в регенерате клеток с флуоресцентной меткой в околотрабекулярном пространстве, но не в новообразованных тканях. Надо полагать, что подобные результаты зависят от природы пластического материала. Исследуемый нами остеотрансплантат был получен путем трансдифференцировки в пределах одного гистогенетического ряда (дифферона): мезенхима – хрящ – кость, что позволило оценить последний как биологический эквивалент эмбриональной костной ткани. Процесс формирования костной ткани как в эксперименте, так и в эмбриогенезе происходит путем прямого ангиогенного остеогенеза. Вторым важным аргументом оптимизации процесса регенерации является полученный нами факт о прохождении I этапа минерализации в остеотрансплантате *in vitro* в процессе трансдифференцировки из хондро- в остеотрансплантат. Известно, что процесс минерализации происходит в два этапа [10, 11]. Первый этап проходит в цитоплазме остеобластов, где формируются матричные визикулы, содержащие структурные компоненты минерализации (гидроксиапатит, ферменты, костные белки и т.д.). Второй этап происходит в матриксе при участии отшнуровавшихся от цитоплазмы матричных визикул (экзосом), коллагена I типа и других компонентов, синтезируемых остеобластами. Присутствие матричных пузырьков как в цитоплазме остеобластов, так и «отшнурованных» экзосом в матриксе остеотрансплантата (ультраструктурные данные), наличие коллагена I типа и экспрессия костных белков в остеотрансплантате подтверждает прохождение I этапа минерализации в остеотрансплантате *in vitro*.



Выводы

1. Процесс регенерации дефекта костной ткани тел позвонков на основе остеотрансплантата осуществляется по типу первичного ангиогенного остеогенеза.
2. Регенерация дефекта костной ткани и интеграция с ложем реципиента происходит за счет структурных компонентов остеотрансплантата.
3. Оптимальные сроки регенерации дефекта тел позвонков связаны с прохождением первого этапа минерализации остеотрансплантата в процессе трансдифференцировки в остеогенной среде.

4. Исходом пластического замещения дефекта тел позвонков ауто- и остеотрансплантатами является формирование органоспецифического регенерата, встраивающегося в общую систему гомеостаза организма.
5. Регенерация и интеграция дефекта костной ткани реципиента при пластическом замещении ауто-трансплантатом происходит за счет структурных компонентов реципиента и в более поздние сроки.
6. Высокие репаративные потенции остеотрансплантата являются основанием для продолжения исследований с целью внедрения в клиническую практику.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ/REFERENCES

1. Grabowski G., Cornett C.A. Bone graft abaft substitutes in spine surgery: current concepts and controversies. J American academy orthopaedic surgery. 2013; 21: 51-60
2. Crane G.M, Ishaug S.L, Mikos A.G. Bone tissue engineering. Nature Medicine. 1995; 1(12): 1322-1324.
3. Mankani M.H., Krebsbach P.H., Satomura K., Kuznetsov S.A., Hoyt R., Robey P.G. Pedicled bone flap formation using transplanted bone marrow stromal cells. Archives of Surgery. 2001; 136(3): 263-70.
4. Nelson T.J., Martinez-Fernandez A., Terzic A. Induced pluripotent stem cells: developmental biology to regenerative medicine. Nat. Rev. Cardiol. 2010; 7(12): 700-10.
5. Hamdi H., Furuta A., Bellamy V., Bel A., Puymirat E., Peyraud S. et al. Cell delivery: intramyocardial injections or epicardial deposition? A head-to-head comparison. Ann Thorac Surg. 2009; 87(4): 1196-1203.
6. Деев Р.В., Цупкина Н.В., Гололобов В.Г., Николаенко Н.С., Иванов Д.Е., Дулаев А.К. и др. Влияние трансплантированной культуры остеогенных клеток костного мозга на репаративный остеогенез в области дефекта теменных костей. Цитология. 2008; 50(4): 293-301. [Deev RV, Tsupkina NV, Gololobov VG, Nikolaenko NS, Ivanov DE, Dulaev AK Et al. Influence of transplanted culture of bone marrow osteogenic cells on reparative osteogenesis in the area of defect of parietal bones. Cytology. 2008; 50(4): 293-301. (In Russ)].
7. Zaidman A. M. Korel A. V., Shevchenko A. I., Shchelkunova E. I., Sherman K. M., Predein Yu. A et al. Osteograft, plastic material for regenerative medicine. AIP Conf. Proc. 2016; 1760. 020071. Available from: <http://dx.doi.org/10.1063/1.4960290>.
8. Зайдман А.М., Косарева О.С., Шелкунова Е.И., Корель А.В., Строкова Е.Л., Иванова Н.А. и др. Экспериментальное обоснование применения трехмерного остеотрансплантата для регенерации костной ткани различной локализации и гистогенеза. Современные проблемы науки и образования. 2016; 6. Доступно: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=25582>. [Zaidman AM, Kosareva OS, Shelkunova EI, Korel AV, Strokova EL, Ivanova NA Experimental substantiation of application of a three-dimensional osteotransplant for bone tissue regeneration of various localization and histogenesis. Modern problems of science and education. 2016; 6. Available: <http://www.science-education.ru/en/article/view?id=25582>. (In Russ)].
9. Tan G.H., Goss B.G., Thorpe P.J., Williams R.P. CT-based classification of long spinal allograft fusion. J. Euro spine. 2007; 16: 1875-1881.
10. Родионова Н.В. Функциональная морфология клеток в остеогенезе. // Киев: Наукова думка. 1989. [Rodionova N.V. Functional morphology of cells in osteogenesis. / Kiev: Naukova dumka. 1989. (In Russ)].
11. Аврунин А.С., Корнилов Н.В., Марин Ю.Б. Гипотеза о роли клеток остеодитарного ряда в формировании стабильной морфологической структуры минералов костного матрикса. Морфология. 2002; 122(6): 74. [Avrunin A.S, Kornilov N.V, Marin Yu.B. Hypothesis on the role of osteocyte series cells in the formation of a stable morphological structure of bone matrix minerals. Morphology. 2002; 122(6): 74. (In Russ)].

Вклад авторов:

Дизайн исследования, руководство, описание препаратов, обсуждение результатов:

А.М. Зайдман.

Проведение клеточных работ, изготовление остеотрансплантатов, оформление статьи:

А.В. Корель, Е.И. Шелкунова.

Подбор литературы, участие в написании статьи:

Е.И. Строкова.

Выполнение операций на животных:

А.Д. Ластевский, В.В. Рерих, Ю.А. Предеин.

Выполнение иммуногистохимических работ:

А.И. Шевченко.

Для корреспонденции:

Зайдман Алла Михайловна

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

Тел. +7 (383) 363-31-31, e-mail: AZaidman@niito.ru

For correspondence:

Zaydman Alla

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

Tel. +7 (383) 363-31-31, e-mail: AZaidman@niito.ru

Конфликт интересов:

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Источник финансирования:

Гос. Задание № 115071510020.

ПОСТУПИЛА В РЕДАКЦИЮ: 31.05.2017
ПРИНЯТА К ПЕЧАТИ: 26.09.2017