

В.В. Хоминец¹, С.В. Михайлов¹, Д.А. Шакун¹,
Р.В. Деев³, Н.В. Цупкина², А.В. Комаров¹,
С.Е. Жумагазиев¹, Ю.А. Нащечкина²

Результаты ортотопической имплантации тканеинженерного эквивалента костной ткани на основе полилактидного матрикса и мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток

¹Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург

²Институт цитологии Российской академии наук, Санкт-Петербург

³Публичное акционерное общество «Институт стволовых клеток человека», Москва

Резюме. Рассматриваются особенности репаративной регенерации дефекта костной ткани после ортотопической имплантации тканеинженерного эквивалента кости, созданного на основе костнопластического материала (полилактидного матрикса), заселенного мультипотентными мезенхимальными стромальными клетками в эксперименте на кроликах. В качестве экспериментальной модели был выбран дефект большеберцовой кости в области проксимального метаэпифиза. На 15-е сутки после имплантации обнаружены признаки активного развития как периостальной, так и эндостальной частей костного регенерата, представленного ретикулофиброзной костной тканью, петливой архитектуры. На 30-е сутки целостность компактной пластинки диафиза практически восстановлена. Легко дифференцируется ретикулофиброзная костная ткань периостального регенерата. Со стороны эндоста признаков активного процесса остеогенеза на значительном протяжении нет, однако в некоторых участках прослеживаются новообразованные трабекулы. На 60-е сутки целостность пластинчатой костной ткани компактного вещества диафиза практически восстановлена. Со стороны костномозгового канала на месте дефекта имеется петлистая сеть вросшая реактивно трабекул. Межтрабекулярные пространства заполнены кроветворным или жировым костным мозгом. Установлено, что тканеинженерный эквивалент кости, изготовленный из полилактидного матрикса и заселенный аутогенными мультипотентными мезенхимальными стромальными клетками, биосовместим и не токсичен. Об этом свидетельствует отсутствие признаков воспаления в месте имплантации и вросшая реактивно измененная соединительная ткань с кровеносными сосудами на ранних сроках; резорбция полилактидного матрикса и образование костных трабекул в месте имплантации на поздних сроках. Однако тканеинженерный эквивалент кости обладает недостаточной остеоиндуктивной и остеокондуктивной активностью, на что указывают данные гистологических исследований. Таким образом, для оптимизации репаративной регенерации костной ткани необходимо модифицировать полилактидный матрикс с помощью компонентов, усиливающих остеоиндуктивность и остеокондуктивность, таких, например, как факторы роста, фосфаты кальция.

Ключевые слова: костные дефекты, мультипотентные мезенхимальные стволовые стромальные клетки, ортотопическая имплантация, остеопластические материалы, полилактидный матрикс, репаративная регенерация, тканеинженерный эквивалент кости, факторы роста, остеоиндуктивность, остеокондуктивность.

Введение. Одной из наиболее актуальных проблем военной травматологии и ортопедии является лечение пострадавших (раненых) с огнестрельными переломами различной локализации, минно-взрывными ранениями, которые сопровождаются наличием первичных и вторичных костных дефектов. В таких ситуациях неизбежно возникает необходимость выполнения или замещения костных дефектов как малого, так и большого размеров.

«Золотым стандартом» костнозамещающих материалов является аутогенная костная ткань [21], использование которой, однако, сопряжено с рядом ограничений, связанных с нехваткой собственных тканей при замещении обширных дефектов, а также немаловажным является выполнение дополнительного операционного доступа для получения нужного

объема костной ткани, что приводит к увеличению продолжительности оперативного вмешательства, нанесению дополнительной травмы, увеличению риска осложнений [5, 6, 21]. Указанные обстоятельства требуют более широкого внедрения биотехнологии и тканевой инженерии в травматологию и ортопедию [6, 11].

Одним из наиболее перспективных подходов для обеспечения регенерации костной ткани при лечении такой патологии, как обширные костные дефекты, неконсолидирующиеся переломы, пороки развития является трансплантация в область костного дефекта тканеинженерного эквивалента кости на основе собственных остеопрогениторных клеток пациента [5]. Ключевыми задачами при разработке стратегий тканевой инженерии костной ткани являются выбор

клеточных культур с высоким остеогенным потенциалом, получение носителей для иммобилизации костных клеток и их предшественников, их адресной доставки в зону костного дефекта и повышения выживаемости при трансплантации, а также включение в состав конструкции биологически активных факторов для создания оптимального микроокружения. В настоящее время одной из наиболее приемлемых культур для целей тканевой инженерии являются мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки (ММСК).

К настоящему времени накоплен большой объем экспериментальных данных, касающихся разработки и апробации различных материалов для производства матрикс-носителей [5, 6, 12, 22]. Большая часть из них подбиралась исследователями с учетом общепринятых параметров, которым должен соответствовать «идеальный носитель» равно как и любой костнопластический материал: остеогенность (наличие клеточных источников для процесса репаративной регенерации), остеоиндуктивность (способность активировать остеогенные элементы реципиентного ложа), остеопротективность (способность частично выполнять механические функции кости на время имплантации), остеокондуктивность (свойство быть проводником для роста воссоздаваемой костной ткани) [1]. К числу материалов для получения матрикс-носителей относятся синтетические полимеры на основе эфиров органических кислот – молочной, гликолевой и т. д. Понимание процесса адгезии клеточной культуры к поверхности носителя как критического этапа в создании тканеинженерной конструкции, во многом определяющего эффективность его дальнейшего использования *in vivo*, позволило по новому отнестись к разработке и выбору оптимального матрикса, уделив более пристальное внимание материалам, сходным по химическому составу и структуре костной ткани, а также к комплексным носителям [22] и методам обработки, оптимизирующим адгезию.

Эти обстоятельства потребовали поиска, разработки и внедрения костнопластических материалов на основе полимолочной кислоты с использованием ММСК.

Цель исследования. Выявить особенности репаративной регенерации дефекта костной ткани после ортотопической имплантации тканеинженерного эквивалента кости на основе костнопластического материала (полилактидного матрикса), заселенного мультипотентными мезенхимальными стромальными клетками в экспериментах на кроликах.

Задачи исследования:

1. Выполнить дефект проксимального метаэпифиза большеберцовой кости.
2. Изготовить тканеинженерный эквивалент кости из полилактидного матрикса, заселенного аутогенными костномозговыми стромальными клетками.
3. На основании результатов гистологического исследования выяснить, обладает ли тканеинженерный

эквивалент кости на основе полилактидного матрикса, заселенного аутогенными ММСК, токсичностью, какова его биосовместимость.

Материалы и методы. Эксперименты выполнены на 6 кроликах породы Шиншилла обоего пола в возрасте от 6 до 18 месяцев и массой 2,5–3 кг.

На первом этапе эксперимента из костного мозга эксплантата крыла подвздошной кости кролика выделяли ММСК и культивировали в питательной среде Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) фирмы «Gibco» (Соединенные Штаты Америки – США), содержащей 20% эмбриональной телячьей сыворотки фирмы «Gibco» (США), L-аскорбат и гентамицин, в CO₂-инкубаторе при стандартных условиях до получения количества клеток, необходимого для заселения матрикса [19]. Затем пористый полилактидный матрикс (диаметр 15 мм, толщина 3 мм, размер микропор – 10 мкм, макропор – 100–500 мкм) заселяли ММСК 3–4 пассажей из расчета 5 млн клеток на 1 см² поверхности носителя и инкубировали в питательной среде DMEM с добавлением индукторов остеогенной дифференцировки (L-глицерофосфат натрия, L-аскорбат, дексаметазон) в течение 7 суток в CO₂-инкубаторе.

Матрикс для культивирования ММСК изготавливали способом выщелачивания [20]. Во фторопластовую форму диаметром 1,5 см и высотой 0,5 см помещали 1 г NaCl с диаметром кристаллов 250 мкм. Поли (L, L-лактид) с характеристической вязкостью $\eta=4$ дл/г фирмы «Sigma» (США) растворяли в трихлорметилефире фирмы «Реактив» (Российская Федерация). 0,6 мл раствора поли (L, L-лактида) с концентрацией полимера 0,02 г/мл наливали в форму с солью и оставляли сушиться на воздухе в течение 2 сут. После испарения растворителя матрикс выдерживали в дистиллированной воде в течение 1 сут. После растворения соли матрикс высушивали при комнатной температуре в течение 2 сут. Приготовленные матриксы стерилизовали в растворе 70% этанола в течение 20 мин, промывали буферным натрий-фосфатным раствором, высушивали и озонировали в течение 1,5 ч.

На втором этапе формировали дефект в области проксимального метаэпифиза большеберцовой кости в пределах 8,5–9,5 (8,6) мм, шириной 4,3–4,5 (4,4) мм, глубиной 4–4,2 (4,1) мм. В дефект трансплантировали тканеинженерный эквивалент кости на основе полилактидного губчатого матрикса, заселенного аутогенными ММСК костного мозга кролика. Полученный матрикс представляет собой диск диаметром 15 мм и высотой 3 мм. Структуру и размер пор полученного матрикса оценивали методом сканирующей электронной микроскопии. Размер пор полученного матрикса варьирует в пределах 100–150 мкм (рис. 1). Средняя пористость полилактидного матрикса составила 70% [13].

Животных выводили из эксперимента через 15 (n=2), 30 (n=2) и 60 (n=2) суток.

Содержание и использование лабораторных животных соответствовало правилам, принятым в

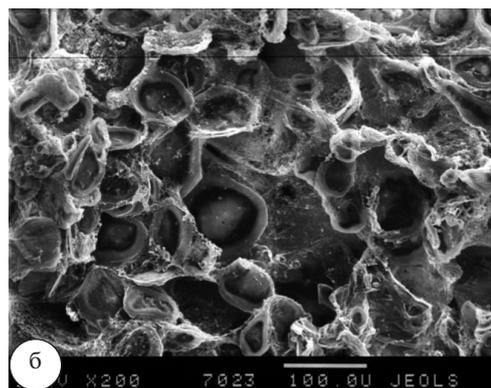
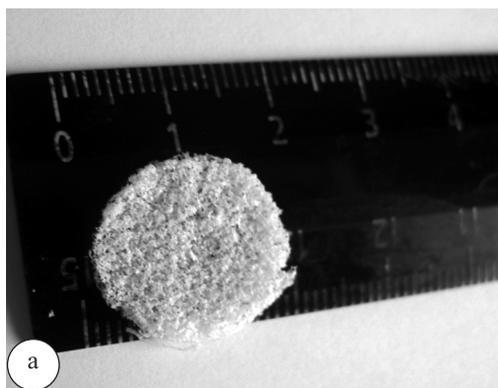


Рис. 1. Полилактидный матрикс: а – внешний вид матрикса; б – сканирующая электронная микроскопия полилактидного матрикса

Российской Федерации, рекомендациям локального этического комитета и национальным законам [9].

Рентгенологическое обследование лабораторных животных включало в себя рентгенографию большеберцовой кости в прямой и боковой проекции.

Для гистологического анализа получены фрагменты проксимальных метаэпифизов с эпифизами большеберцовых костей кроликов. Тканевый материал получали, не повреждая надкостницу, припаянные к месту операции ткани фиксировали в 10% растворе формалина. Через 3 суток после промывки материал декальцинировали в растворе Biodec-R (Италия). После декальцинации (0,5–2 сут) фрагменты костей подрезали с целью формирования кусочков для срезов. Срезы осуществлялись в горизонтальной плоскости. Материал подвергался стандартной гистологической обработке с получением срезов толщиной 7 мкм. Выполнено окрашивание гематоксилином и эозином. Качественные характеристики регенерата изучены на 15-е, 30-е и 60-е сутки.

Характеристики модели дефекта костной ткани: хирургическая доступность и быстрота выполнения, малотравматичность, хорошее кровоснабжение, максимально возможная имитация перелома путем создания краевого дефекта костной ткани не прибегая к дополнительной фиксации (аппарат внешней фиксации, микропластины), выживаемость животного в ходе хронического эксперимента. Для данных характеристик наиболее оптимальной областью стала медиальная поверхность проксимального метаэпифиза большеберцовой кости, где возможно создание максимально безопасного костного дефекта объемом 146,2–179,5 (155,1) мм³, выполнение которого исключало возникновение патологического перелома. Модель дефекта – краевой перелом проксимального метаэпифиза большеберцовой кости – дефицит костной ткани, требующий выполнения пластики.

Результаты и их обсуждение. На 15 сутки дефект компактного вещества не утрачен, вместе с тем обнаружены признаки активного развития как периостальной, так и эндостальной частей костного регенерата. Они

представлены ретикулофиброзной костной тканью, петлистой архитектуры. Признаков воспаления нет. Имплантированный материал визуализируется как гомогенная оксифильная масса с большим количеством отверстий. Данная структура фрагментирована врастающей реактивно измененной соединительной тканью. Отмечается большое число гигантских многоядерных клеток инородных тел (ГМКИТ), которые окружают и резорбируют компоненты имплантированного материала. В освободившиеся карманы и полости врастают кровеносные сосуды (рис. 2, 3).

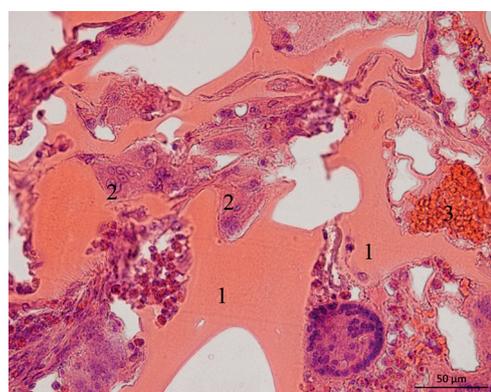


Рис. 2. Фрагмент имплантированного материала из костно-мозгового пространства большеберцовой кости, 15 сут: 1 – материал; 2 – ГМКИТ; 3 – полнокровный кровеносный сосуд; 4 – кластер мономорфных клеток на поверхности материала. Окраска: гематоксилин и эозин

Несмотря на то, что имплантированы были фрагменты с клетками, не несущими какую-либо индикаторную метку, с определенной долей вероятности клетки, находящиеся на поверхностях материала, можно отождествить с предварительно культивированными аутогенными стромальными клетками, нанесенными на поверхность материала. Данные клетки определяются как мономорфные небольшие клетки с умеренным количеством оксифильной цитоплазмы и с умеренно базофильными ядрами. Ядра типичны для клеток с умеренной синтетической активностью.

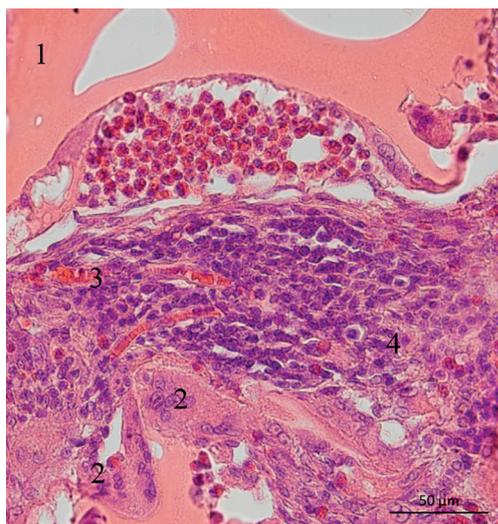


Рис. 3. Фрагмент имплантированного материала из костномозгового пространства большеберцовой кости, 15 сут: 1 – материал; 2 – ГМКИТ; 3 – полнокровный кровеносный сосуд; 4 – кластер мноморфных клеток на поверхности материала. Окраска: гематоксилин и эозин

В единичных полях зрения подобные клетки формируют кластеры по несколько десятков штук.

На контрольных прицельных рентгенограммах (15 сутки после операции) виден дефект овальной формы в области проксимального метаэпифиза большеберцовой кости без признаков образования костной мозоли (рис. 4).

На 30 сутки целостность компактной пластинки диафиза практически восстановлена. Костный регенерат развит избыточно, что характерно для данной

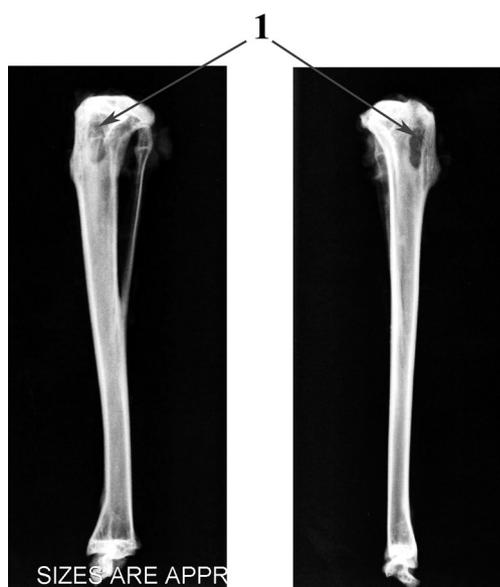


Рис. 4. Рентгенография большеберцовой кости: а – прямая проекция; б – боковая проекция; 1 – дефект овальной формы в области проксимального метаэпифиза большеберцовой кости

стадии репаративного процесса. Легко дифференцируется ретикулофиброзная костная ткань периостального регенерата, содержащая костные трабекулы, покрытые синтетически активными остеобластами. Предсуществовавшая костная ткань с признаками активной перестройки. В новообразующихся межтрабекулярных пространствах имеются элементы кроветворного костного мозга и кровеносные сосуды. Гаверсовы каналы расширены за счет резорбционных процессов; ремоделирование приводит к формированию новых остеонов. Со стороны эндоста признаков активного процесса остеогенеза на большем протяжении нет, однако в некоторых участках детектируются новообразованные трабекулы. Костный мозг фиброзирован, но содержит большое количество жировых клеток. Данные изменения являются локальными. С противоположной стороны выраженная эндостальная реакция приводит к формированию ячеистой костной ткани, по строению напоминающей губчатое вещество; межтрабекулярные пространства в этой зоне содержат только жировой костный мозг.

В костномозговом канале обнаружены фрагменты костнопластического материала в виде небольших островков, размерами 100–200 мкм, окруженные большим количеством ГМКИТ. В материале видны резорбционные вакуоли (или оптически пустые вакуоли за счет растворения содержащихся в материале быстрорастворимых компонентов). Выраженной лейкоцитарной инфильтрации нет, однако в тканях присутствует умеренное количество лимфоцитов. Пространства между остатками материала и ГМКИТ заполнены волокнистой соединительной тканью с весьма выраженным количеством относительно упорядоченного волокнистого матрикса.

В данном компартменте, по-видимому, на месте резорбированного материала могут быть обнаружены кластеры мелких округлых базофильных клеток, напоминающих лимфоциты. Между базофильными клетками встречаются неупорядоченные клетки с эозинофильной зернистостью (рис. 5–10).

На контрольных прицельных рентгенограммах (30 сутки после операции) виден дефект овальной формы в области проксимального метаэпифиза большеберцовой кости, по краям дефекта костная мозоль выражена умеренно, в центре дефекта костные трабекулы (рис. 11).

На 60 сутки целостность пластинчатой костной ткани компактного вещества диафиза практически восстановлена. На месторасположение бывшего дефекта указывает незначительная по размеру щель. В некоторых участках кость имеет ретикулофиброзное строение. Периостальная пролиферативная и синтетическая реакции отсутствуют. Со стороны костномозгового канала на месте дефекта имеется петлистая сеть новообразованных костных трабекул. По-видимому, данная избыточная часть костного регенерата будет резорбирована. Активных фибробластов нет; остеокластическая реакция не детектируется.

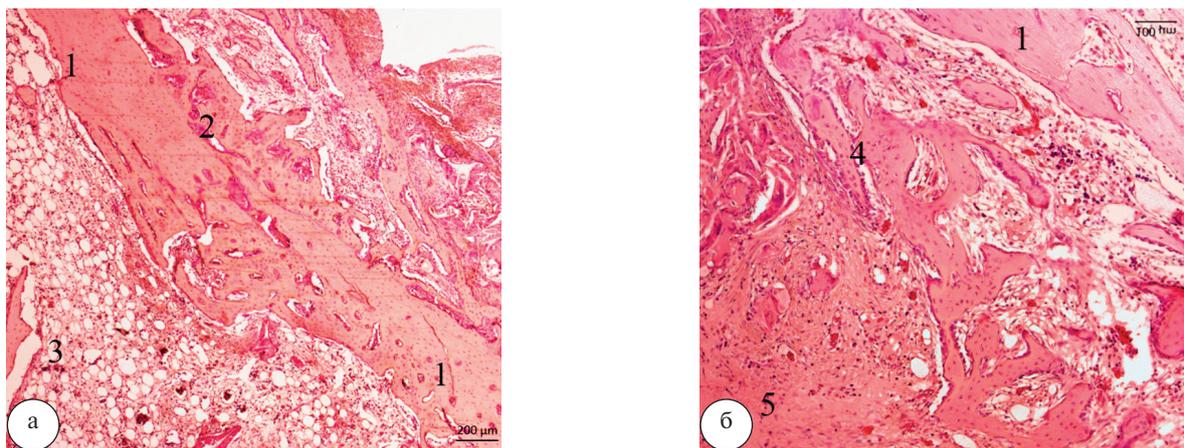


Рис. 5. Фрагмент компактного вещества диафиза, 30 сут: 1 – компактное вещество диафиза с ремоделированием пластинчатой костной ткани; 2 – периостальная часть костного регенерата; 3 – костный мозг с гипертрофированной стромой; 4 – эндостальная часть костного регенерата; 5 – плотная волокнистая соединительная ткань в костномозговом пространстве. Окраска: гематоксилин и эозин

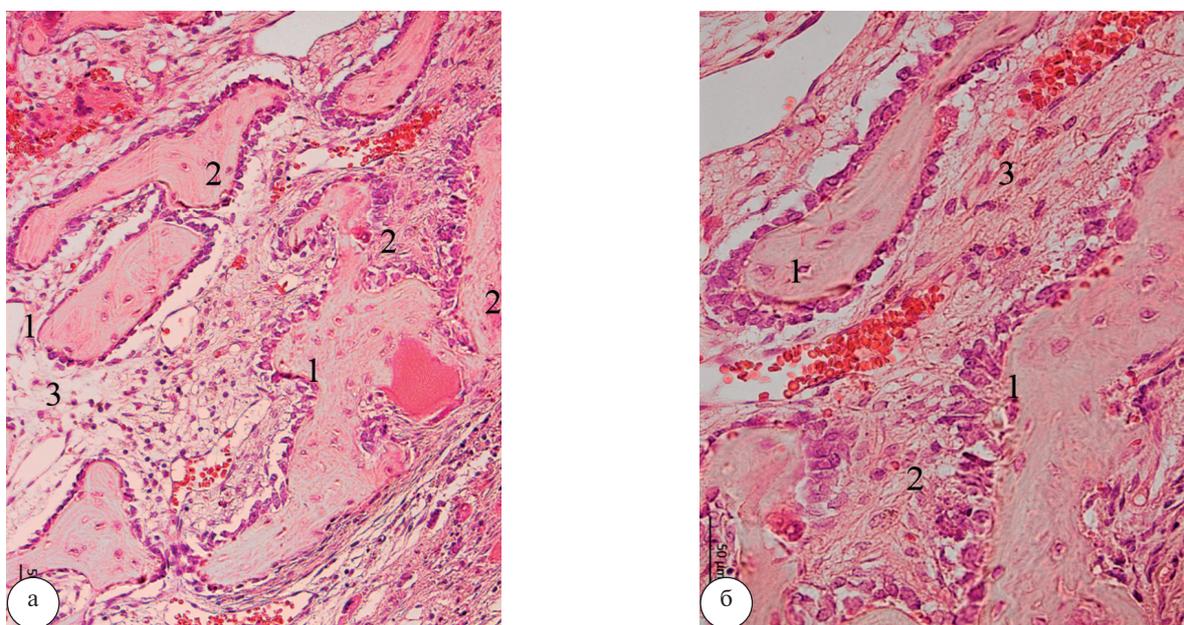


Рис. 6. Периостальный костный регенерат, 30 сут: 1 – трабекулы регенерата, построенные из ретикулофиброзной костной ткани; 2 – активные остеобласты на поверхности трабекул; 3 – межтрабекулярные пространства, заполненные реактивно измененной волокнистой соединительной тканью. Окраска: гематоксилин и эозин

Межтрабекулярные пространства заполнены кровяным или жировым костным мозгом. Признаки имплантированного материала обнаруживаются с трудом. В отдаленных от стенки диафиза участках имеются островки, содержащие микроскопические остатки имплантированного материала, часто – с волокнистой основой (или проросшие волокнистым матриксом), окруженные небольшим количеством ГМКИТ (рис. 12, 13).

На контрольных прицельных рентгенограммах (60 сутки после операции) видна сформировавшаяся костная мозоль в области проксимального метаэпифиза большеберцовой кости (рис. 14).

Заключение. На основании полученных данных рентгенологического и гистологического исследований можно сказать, что тканеинженерный эквивалент кости, изготовленный из полилактидного матрикса и заселенный аутогенными ММСК, биосовместим, не токсичен и по этим характеристикам является перспективным остеопластическим материалом. Однако он обладает слабой остеиндуктивной и остеокондуктивной активностью, на что указывает гистологическое исследование на разных сроках репаративной регенерации.

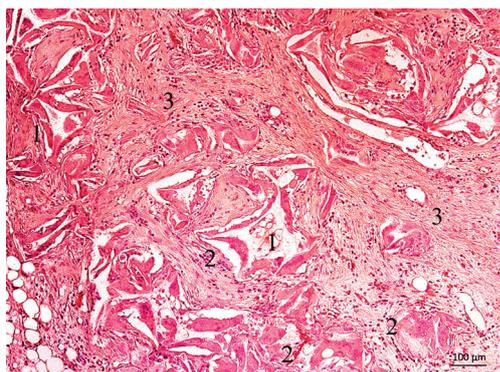


Рис. 7. Фрагменты имплантированного материала в костномозговом канале, 30 сут: 1 – фрагменты имплантированного материала в костномозговом канале; 2 – ГМКИТ; 3 – волокнистая соединительная ткань с высокой степенью упорядоченности волокон. Окраска: гематоксилин и эозин

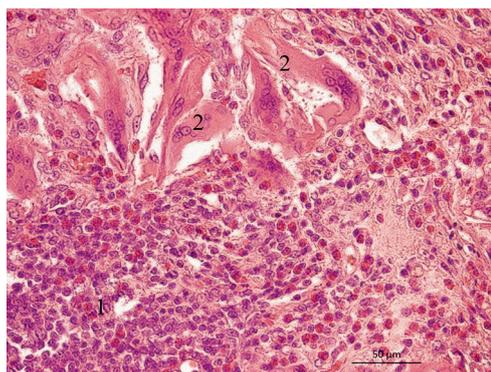


Рис. 10. Кластеры мелких базофильных клеток в костномозговом пространстве, 30 сут: 1 – кластер клеток; 2 – ГМКИТ; 3 – волокнистая соединительная ткань с высокой степенью упорядоченности волокон. Окраска: гематоксилин и эозин

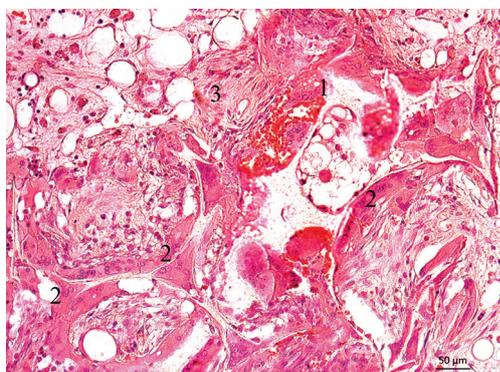


Рис. 8. Фрагменты имплантированного материала в костномозговом канале, 30 сут: 1 – фрагменты имплантированного материала в костномозговом канале; 2 – ГМКИТ; 3 – волокнистая соединительная ткань с высокой степенью упорядоченности волокон. Окраска: гематоксилин и эозин



Рис. 11. Рентгенография большеберцовой кости: а – прямая проекция; б – боковая проекция; 1 – дефект овальной формы в области проксимального метаэпифиза большеберцовой кости, по краям дефекта костная мозоль выражена умеренно, в центре дефекта костные трабекулы

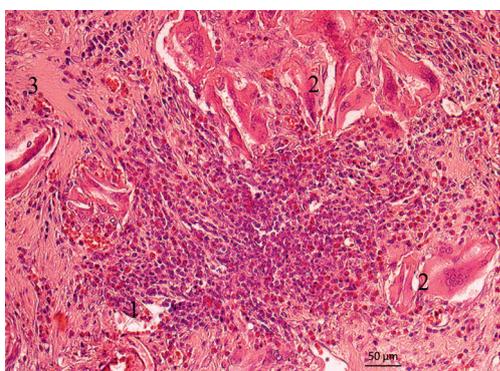


Рис. 9. Кластеры мелких базофильных клеток в костномозговом пространстве, 30 сут: 1 – кластер клеток; 2 – ГМКИТ; 3 – волокнистая соединительная ткань с высокой степенью упорядоченности волокон. Окраска: гематоксилин и эозин

Таким образом, для целей регенеративной медицины необходимо модифицировать полилактидный матрикс с помощью введения в него компонентов, усиливающих остеоиндуктивность и остеокондуктивность, таких, например, как факторы роста.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 14-50-00068) и при финансовой поддержке ФАНО России. Авторы внесли равный вклад в данную работу и заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература

1. Гололобов, В.Г. Морфофункциональная организация, реактивность и регенерация костной ткани / В.Г. Гололобов, А.К. Дулаев, Р.В. Деев. – СПб.: ВМА, 2006. – 47 с.

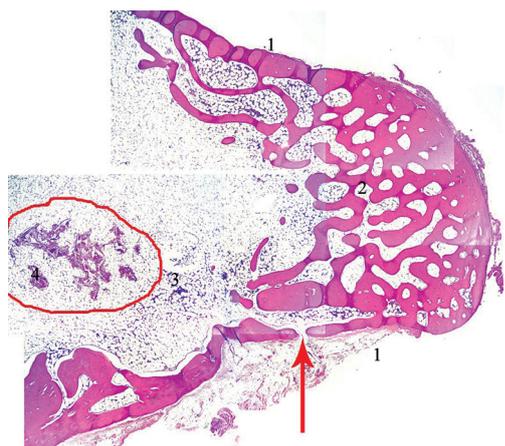


Рис. 12. Сектор поперечного среза диафиза на уровне дефекта и имплантации, 60 сут: стрелка – щелевой вход на месте дефекта; 1 – периостальная поверхность компактного вещества диафиза; 2 – эндостальный костный регенерат; 3 – кроветворный и жировой костный мозг; 4 – тканевый островок с элементами имплантированного материала и ГМКИТ. Окраска: гематоксилин и эозин. Ув. $\times 8$



Рис. 14. Рентгенография большеберцовой кости: а – прямая проекция; б – боковая проекция; 1 – дефект овальной формы в области проксимального метаэпифиза большеберцовой кости, сформировавшаяся костная мозоль

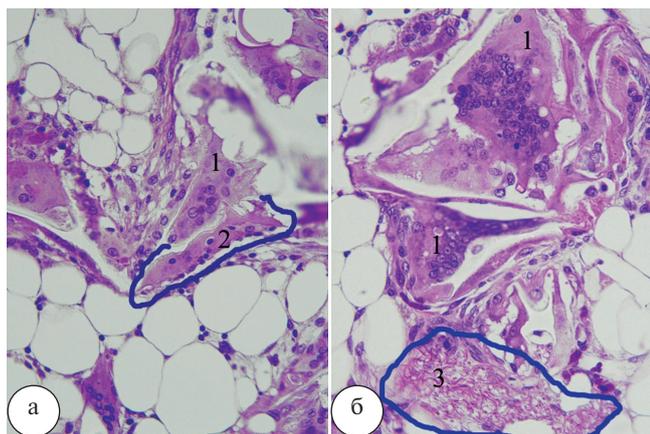


Рис. 13. Тканевый островок на месте имплантации, 60 сут: 1 – ГМКИТ; 2 – фрагменты материала; 3 – волокнистый материал. Окраска: гематоксилин и эозин. Ув. $\times 600$

2. Данилов, Р.К. Гистология. Эмбриология. Цитология: учебник для студентов медицинских вузов / Р.К. Данилов. – М.: Медицинское информационное агентство, 2006. – 456 с.

3. Данилов, Р.К. Руководство по гистологии / Р.К. Данилов, В.Л. Быков. – СПб.: СпецЛит, 2001. – 495 с.

4. Даренская, Н.Г. От эксперимента на животных – к человеку: поиски и решения / Н.Г. Даренская [и др.]. – Воронеж: Научная книга, 2010. – 237 с.

5. Деев, Р.В. Клеточные технологии в травматологии и ортопедии: пути развития / Р.В. Деев, А.А. Исаев, А.Ю. Кочиш // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. – 2007. – № 2 (4). – С. 18–30.

6. Деев Р.В. Способ совмещения культивированных остеогенных клеток и трехмерного материала-носителя / Р.В. Деев [и др.] // Пат. № 2414916 Российская Федерация, МПК А61К35/32, А61К35/28, А61Р19/00; опубл. 27.03.2011, Бюл. № 9. – С. 18–22.

7. Деев, Р.В. Формирование и морфофункциональная характеристика остеобластического фенотипа в клеточных культурах *in vitro* / Р.В. Деев, Н.С. Николаенко, Н.В. Цупкина // Цитология. – 2004; – 46 (3). – С. 185–90.

8. Каркищенко, Н.Н. Основы биомоделирования / Н.Н. Каркищенко. – М.: Изд-во ВПК, 2004. – 608 с.

9. Каркищенко, Н.Н. Лабораторные животные: Положение и руководство / Н.Н. Каркищенко. – Межакадемическое изд-во «ВПК», 2003. – 138 с.

10. Крюков, В.Н. Механизмы переломов костей / В.Н. Крюков. – М.: Медицина, 1971. – 107 с.

11. Лысенко, Л.Н. Путь от открытия до теоретических концепций Колумба биокерамики профессора Лари Хенча. Проблемы современного биоматериаловедения / Л.Н. Лысенко // Клиническая имплантология и стоматология. – 1997. – № 2. – С. 59–63.

12. Лысенко, Л.Н. Клеточные аспекты замещения дефектов костной ткани стеклокристаллическими материалами / Л.Н. Лысенко // Клиническая имплантология и стоматология. – 2001; – № 3, 4. – С. 109–11.

13. Нащекина, Ю.А. Зависимость заполнения стромальными клетками костного мозга трехмерной матрицы от способа посева клеток и типа модификации поверхности матрицы / Ю.А. Нащекина // Цитология. – 2014. – Т. 56, № 4. – С. 283–290.

14. Николаенко, Н.С. Способ получения культуры остеогенных клеток кролика *in vitro* / Н.С. Николаенко [и др.] // Сборник рационализаторских предложений и изобретений ВМедА, СПб., 2003. – С. 9–11.

15. Обысов, А.С. Надежность биологических тканей / А.С. Обысов. – М.: Медицина, 1971. – 104 с.

16. Самохвалов, И.М., Заседание Международного общества военных хирургов имени Амбруаза Паре и ежегодный научный симпозиум военно-медицинской службы США / И.М. Самохвалов [и др.] // Воен.-мед. журн. – 2015. – Т. 336, № 6. – С. 92–96.

17. Стейси, Р. Основы биологической и медицинской физики / Р. Стейси [и др.]; пер. с англ. – М.: Изд-во иностр. лит., 1959. – 607 с.

18. Татиев, К.И. К вопросу о крепости костей человека / К.И. Татиев, Д.Н. Кобызов // Тр. Гос. научн-исслед. института суд. мед. – М. Медицина. – 1949. – С. 71–81.
19. Dempster, W.T. Compact bone as non-isotropic material / W.T. Dempster, R.T. Liddcoat // Am. J. Anat. – 1952. – № 91. – P. 331–360.
20. Hou, Q., Porous polymeric structures for tissue engineering prepared by a coagulation, compression moulding and salt leaching technique / Q. Hou, D.W. Grijpma, J. Feijen // Biomaterials. – 2003. – Vol. 24, № 11. – P. 1937–1947.
21. Shaw, R.J. Osteomyocutaneous deep circumflex iliac artery perforator flap in the reconstruction of midface defect with facial skin loss: a case report / R.J. Shaw, J.S. Brown // Microsurgery. – 2009. – № 29 (4). – P. 299–302.
22. Zhao, Z., Successful repair of a critical sized bone defect in the rat femur with a newly developed external fixator / Z. Zhao, D. Yang, X. Ma // Tohoku J. Exp. Med. – 2009. – Vol. 219, № 2. – P. 115–20.

V.V. Khominets, S.V. Mikhailov, D.A. Shakun, R.V. Deev, N.V. Tsupkina,
A.V. Komarov, S.E. Shumagaziev, Ya.A. Naschekina

Results of orthotopic implantation of tissue-engineered bone equivalent on basis of polylactides matrix and multipotent mesenchymal stromal cells

Abstract. We assessed the features of reparative regeneration of bone tissue defect after orthotopic implantation of tissue-engineered constructs, created on the basis of osteoplastic material (polylactide matrix), thus turning into multipotent mesenchymal stromal cells in experiments on rabbits. As experimental model was chosen as the defect of the tibia in the proximal region of metaepiphysis. On the 15th day discovered signs of active development as a periosteal and endosteal parts of the bone regenerate, presented reticular bone of the looping architecture. On the 30th day integrity compact plate of the diaphysis is almost restored. Easily differentiated reticular bone of periosteal regenerate. From the endost signs of an active process of osteogenesis more over there, but in some areas by newly formed bone trabeculae. On the 60th day integrity of lamellar bone compact substance of the diaphysis is almost restored. From the bone-marrow channel at the location of the defect there is a looping network of newly formed bone trabeculae. Trabecular space between are filled with hematopoietic or fatty marrow. It is established that the equivalent tissue-engineered bone, made of polylactide matrix and populated autologous multipotent mesenchymal stromal cells, biocompatible and non-toxic. This is evidenced by the absence of signs of inflammation at the site of implantation and ingrowing reactive modified connective tissue with blood vessels in the early stages; polylactide matrix resorption and formation of bone trabeculae at the site of implantation in the later stages. However, it has inadequate osteoinductive and osteoconductive activity, as indicated by the data of histological research. Thus, for optimization of reparative regeneration of bone tissue it is necessary to modify polylactide matrix components that enhance osteoinductive and osteoconductive, such as growth factors, calcium phosphates.

Key words: bone defects, multipotent mesenchymal stromal stem cells, orthotopic implantation, osteoplastic materials, polylactide matrix, reparative regeneration, tissue-engineered bone equivalent, growth factors, osteoinductive, osteoconductive.

Контактный телефон: 8-921-941-64-16; e-mail: khominets_62@mail.ru