ОБЗОРЫ

Клеточные технологии в травматологии и ортопедии: пути развития*

Р.В. Деев [1], А.А. Исаев [2], А.Ю. Кочиш [3], Р.М. Тихилов [3]

[1] Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург
[2] ОАО «Институт стволовых клеток человека», Москва
[3] ФГУ «РосНИИ Травматологии и ортопедии им. Р.Р. Вредена Росмедтехнологии», Санкт-Петербург

Cellular Technologies in Traumatology and Orthopedics: Ways of development

R.V. Deev [1], A.A. Isaev [2], A.Yu. Kochiesh [3], R.M. Tikhilov [3]

[1] S.M. Kirov Military Medical Academy, Saint-Petersburg
[2] Human Stem Cells Institute, Ltd. Moscow
[3] R.R.Wreden Russian Institute of Traumatology and Orthopedics, Saint-Petersburg

В обзоре обобщены современные данные по теоретическим общебиологическим основам, экспериментальным исследованиям и клиническим испытаниям различных методов клеточных технологий, разрабатываемых в интересах пациентов травматолого-ортопедического профиля. По мнению авторов, данная область медицины является одной из наиболее перспективных для отработки различных способов клеточной трансплантологии и тканевой инженерии, что позволяет рассчитывать на скорейшее внедрение в практику наиболее действенных из них.

Ключевые слова: травматология и ортопедия, клеточные технологии, клетоная трансплантология, тканевая инженерия.

The review summarizes up-to-date theoretical background, experimental and clinical findings of various cellular technologies designed to benefit trauma and orthopedic patients. The authors consider this field of medicine to be one of the most perspective approbations of different methods of cell transplantation and tissue engineering that would promote the most effective ones into practice.

Key words: traumatology and orthopedics, cellular technologies, cell transplantation, tissue engineering.

Медицина конца XX – начала XXI веков ознаменовалась кристаллизацией такого направления, как клеточные технологии, общебиологические основы которых были заложены столетие назад трудами выдающихся отечественных, европейских и американских исследователей – А.А. Максимова, Ж. Леба, Р. Гаррисона (Репин В.С., 2007). Сегодня уже сложно представить область медицины, в которой не происходила бы отработка экспериментальных и клинических подходов к клеточной трансплантологии и тканевой инженерии для лечения пациентов при тех или иных патологических состояниях (Берсенев А.В., 2005; Волков А.В., 2005). Травматология и ортопедия в этом смысле находится на передовых позициях, уступая лишь онкогематологии (Дулаев А.К., Гололобов В.Г., Деев Р.В. и др., 2003; Деев Р.В., 2006).

Практикующие травматологи-ортопеды не раз сталкивались с тем, что, создавая новые высокотехнологичные способы лечения, доходили до некоего непреодолимого максимума возможностей. Конструирование новых систем компрессионно-дистракционных аппаратов, изделий для функционально стабильного остеосинтеза, тотального эндопротезирования и др. неизбежно имеет пределы, обусловленные биологическими свойствами тех тканей, обеспечить оптимальную регенерацию которых они призваны. Клинические наблюдения свидетельствуют, что перспективы улучшения результатов лечения патологии костей только за счет совершенствования соединения и удержания отломков в основном исчерпаны (Карпцов В.И., Анисимов А.И., Емельянов В.Г., 1993). Количество создаваемых технологий, на современном этапе уже не столь заметно переходит в качество лечения. Именно поэтому «биологическое» направление, как дополнительный метод лечения пациентов травматолого-ортопедического профиля, основанное на использовании клеточных технологий и биоимплантологии приковывает столь пристальное внимание ведущих специалистов во всем мире (Денисов-Никольский Ю.И., Миронов С.П., Омельяненко Н.П., Матвейчук И.В., 2005; Миронов С.П., 2007; Bianco P., Kuznetsov S.A., Riminucci M., Robey P.G., 2006; Eberli D., Atala A., 2006; Liu W., Cui L., Cao Y., 2006; Marion N.W., Mao J.J., 2006).

Клеточные технологии представляют собой совокупность методов, включающих в себя различные варианты клеточной трансплантации, тканевой инженерии, генотерапии и цитокиновой терапии. Современный научно-клинический этап развития клеточных технологий (клеточной трансплантологии) продолжается всего несколько десятилетий (Берсенев А.В., 2005). Со времени пионерских трансплантаций остеогенных клеток, впервые выполненных именно в нашей стране (Осепян И.А., Чайлахян Р.К., Гарибян Е.С., 1982), прошло уже около трех десятилетий – срок достаточный для того, чтобы предварительно оценивать оправдались ли надежды, возлагавшиеся на эти методы. Это тем более актуально, что отработка подобных технологий перешагнула порог исследовательских лабораторий и входит в повседневную клиническую практику. Новые данные клинических апробаций, однако, вызывают противоречивые суждения и требуют более пристального рассмотрения.

Немаловажным является тот факт, что создаваемые технологии *a priori* относятся к категории высокотехнологичных методов лечения, которые могут предоставляться на коммерческой основе, следовательно, их результаты должны быть прогнозируемы и гарантированы, кроме того, по ряду параметров выгодно (качественно) превосходить традиционные

* Перепечатано с разрешения редакции журнала «Травматология и ортопедия России», 2007; 4(46).

методы лечения пациентов с наиболее проблемными патологическими состояниями – ложными суставами, дефектами костей, дегенеративно–дистрофическими заболеваниями суставов и др.

Для удобства рассмотрения данных экспериментальных и клинических исследований целесообразно условно разделить области применения клеточных технологий в травматологии и ортопедии на «хирургию костей», «хирургию суставов», «хирургию сухожилий и связок».

Использование клеточных технологий в «хирургии костей»

Воспроизведение остеогенеза *in vitro* как модели естественного процесса и основы для получения остеогенных клеточных элементов – клеток, имеющих естественные гистогенетические потенции дифференцироваться по остеобластическому пути и осуществлять формирование костной ткани – задача в основном решенная (Фриденштейн А.Я., 1987; Owen M.E., Friedenstein A.J., 1988; Horwitz E., Le Blanc K., Dominici M. et al., 2005; Bianco P., Kuznetsov S.A., Riminucci M., Robey P.G., 2006). Первоначально, в первом десятилетии XX столетия, в качестве источника этих клеток изучали потенции надкостницы (периоста) (Doljanski L., 1929; Studitsky A.N., 1933), эмбриональных закладок костей (Fell H.B., 1928; Fell H.B., 1931). В условиях несовершенной культуральной техники авторам удавалось получить в органных культурах рост клеточной популяции, которая дифференцировалась преимущественно по хондрогенному пути. Следующим относительно простым методическим подходом стало культивирование фрагментов костей, с получением остеогенных клеток, самостоятельно выселяющихся из костного эксплантата (Ecarot–Charrier B., Glorieux F.H., van der Rest M., Pereira G., 1983; Гололобов В.Г., Деев Р.В., Николаенко Н.С. и др., 2004). Однако только ферментативная диссоциация костной ткани позволила получать гарантированное выделение большего количества детерминированных остеогенных клеточных элементов (Peck W.A., Birge S.J. Jr, Fedak S.A., 1964; Binderman I., Duksin D., Harell A. et al., 1974; Sudo H., Kodama H.A., Amagai Y. et al., 1983). Данный метод не мог быть полностью экстраполирован на человека, поскольку получение костных фрагментов чаще всего является клинически неоправданной хирургической агрессией, поэтому исследователи обратили внимание на остеогенные потенции стромальных клеток костного мозга, тем более, что в некоторых исследованиях была показана возможность дифференцировки части из них *in vitro* и *in vivo* с образованием костной ткани (Лурия Е.А., Кузнецов С.А., Генкина Е.Н., Фриденштейн А.Я., 1989; Studitsky A.N., 1933; Schoeters G.E., de Saint–Georges L., van den Heuvel R., Vanderborght O., 1988). Качественным прорывом в этой области стала селекция клеток костного мозга по способности адгезироваться к поверхности культуральной посуды, что позволило выделять относительно чистые популяции клеток (Лурия Е.А., Кузнецов С.А., Генкина Е.Н., 1987; Фриденштейн А.Я., 1987, 1991; Owen M.E., Friedenstein A.J., 1988). Однако оставалась нерешенной задача экспансии в культуре – получения необходимого (большого) количества детерминированных в сторону остеогенеза клеток из изначально малого объема тканевого материала. По мере расшифровки молекулярных механизмов остеогенеза и внедрению клеточных культур, дифференцировкой этих клеток *in vitro* удалось управлять путем добавления в культуральную среду различных веществ (глицерофосфат, дексаметазон и др.). Индукция направленной дифференцировки по остеогенному, хондрогенному и адипоцитарному направлениям, а также характеристика иммунофенотипа полученных клеток дала возможность создать стандартные протоколы их процессинга (Nefussi J.R., Boy–Lefevre M.L., Boulekbache H., Forest N., 1985; Turksen K., Grigoriadis A.E., Heersche J.N., Aubin J.E., 1990; Larson B.L., Ylöstalo J., Prockop D.J., 2007). ы

В последнее время для изоляции остеогенных клеток костного мозга стало возможным применять моноклональные антитела, например STRO–1 (Oyajobi B.O., Lomri A., Hott M., 1999). Авторы изолировали человеческие клоногенные остеогенные клетки из стромы фетального костного мозга при помощи моноклональных антител STRO–1. На сегодняшний день у этих клеток обнаружены и другие молекулярные маркеры, которые имеют значение при сочетанном определении – CD 73, CD 90, CD 105, при одновременном отсутствии CD 14, CD 34, CD 45, CD 79α, HLA–DR (Dominici M., Le Blanc K., Mueller I. et al., 2006). Данные признаки используются не только для их селективного выделения, но и для верификации иммунофенотипа клеток. Перечень данных молекулярных маркеров и порядок их определения для этой категории клеток в настоящее время принят международным сообществом (Horwitz E., Le Blanc K., Dominici M. et al., 2005; Dominici M., Le Blanc K., Mueller I. et al., 2006).

Как уже было сказано, стромальные клетки костного мозга обладают свойством полипотентности, т.е. в зависимости от условий микроокружения *in vitro* и *in vivo* (состав культуральной среды, напряжение кислорода, межклеточные взаимодействия, рецепторные контакты с компонентами межклеточного матрикса и др.) способны дифференцироваться по нескольким направлениям – фибробластическому, остеобластическому, хондроцитарному, адипоцитарному (Pittenger M.F., Mackay A.M., Beck S.C. et al., 1999; Pittenger M.F., Mosca J.D., McIntosh K.R., 2000; Caplan A.I., Bruder S.P., 2001; Peister A., Mellad J.A., Larson B.L. et al., 2004). В связи со способностью к дивергентной дифференцировке, клоногенному росту в культуре и, исходя из морфофункциональных особенностей, они были названы клетками, образующими колонии фибробластов (КОКф – колониеобразующие фибробластические клетки, CFU–F – colony–forming unit–fibroblast) (Фриденштейн А.Я., Лалыкина К.С., 1973; Фриденштейн А.Я., Лурия Е.А., 1980; Фриденштейн А.Я., 1991). В литературе КОКф обозначаются по–разному, исторически сложившимся названием следует считать «стволовые стромальные клетки» (Owen M.E., Friedenstein A.J., 1988), кроме этого, в качестве синонимов используют термины «стволовые механоциты» (Лаврищева Г.И., Оноприенко Г.А., 1996), локализованные в костном мозге «стволовые мезенхимальные клетки» и др. (Reddi A.H., 1995; Wakitani S., Saito T., Caplan A.I., 1995). На Консенсусе специалистов по клеточным технологиям было принято решение называть данную популяцию клеток «мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки» (ММСК) (multipotent mesenchymal stromal cells) (Horwitz E., Le Blanc K., Dominici M. et al. 2005).

Как правило, потребность в клеточной трансплантации возникает в случае развития состояния так называемой «остеогенной недостаточности», когда собственный камбиальный резерв скелетных тканей организма не в состоянии обеспечить надлежащий процесс остеорепарации (Гололобов В.Г., Дулаев А.К., Деев Р.В. и др., 2003). Такими проблемными повреждениями являются протяженные дефекты костей, возникшие в результате многооскольчатых переломов, замедленной консолидации, ложных суставах, при постостеомиелитических дефектах, резекциях костей по онкологическим показаниям и др. Сложными для костной пластики являются дефекты костей мозгового черепа. С одной стороны, они характеризуются биологической особенностью, заключающейся в порочном протекании третьего периода раневого процесса – функциональной адаптации, суть которого сводится к тому, что в отсутствии постоянной механической тяги костный регенерат в области повреждения резорбируется

(Шевцов В.И., Чиркова А.М., Дьячков А.Н., 2000; Деев Р.В., 2006, 2007). С другой стороны, использование синтетических имплантатов для пластики дефектов мозгового черепа приводит к спаечному процессу в мозговых оболочках и развитию выраженной неврологической симптоматики, что делает актуальным поиск биотехнологических способов решения этой проблемы.

Эволюция взглядов на клеточную трансплантологию в «костной хирургии» прошла несколько этапов – от пересадок суспензии фетальных скелетогенных предшественников (Чобану П.И., Лаврищева Г.И., Козлюк А.С., 1989) к использованию аутогенных детерминированных остеогенных клеток. К настоящему времени «золотым стандартом» в этой сфере является использование остеогенных клеток, полученных из различных тканевых источников (костного мозга, жировой клетчатки, пульпы зуба, надкостницы, стромы кроветворных органов, периферической крови и др.) от самого пациента, размноженных в культуре и пересаженных в реципиентную область (Kuznetsov S.A., Mankani M.H., Gronthos S. et al., 2001; Krebsbach P.H., Robey P.G., 2002; Tholpady S.S., Katz A.J., Ogle R.C., 2003; Grayson W.L., Ma T., Bunnell B., 2004; Logeart-Avramoglou D., Anagnostou F., Bizios R., Petite H., 2005; Mankani M.H., Kuznetsov S.A., Wolfe R.M. et al., 2006; Krampera M., Marconi S., Pasini A., 2007; Kuznetsov S.A., Mankani M.H., Leet A.I. et al., 2007; Sonoyama W., Yamaza T., Gronthos S., Shi S., 2007). Отказ от использования аллогенного фетального материала связан с несколькими причинами, среди которых необходимо назвать этические проблемы получения качественного клеточного материала, сложность соблюдения правил биобезопасности и, что немаловажно, недостаточная изученность механизмов воздействия чужеродных клеток на организм реципиента вообще и на остеогенез в частности.

Несмотря на обнадеживающие результаты экспериментальных трансплантаций клеточной взвеси в область нарушенной консолидации (Саргсян А.А., 1990; Денисов-Никольский Ю.И., Миронов С.П., Омельяненко Н.П., Матвейчук И.В., 2005; Деев Р.В., 2006), уже с первых клинических наблюдений стало очевидно, что для того, чтобы данный метод занял достойное место в спектре способов лечения костной патологии, он должен обладать превосходящей эффективностью по отношению к традиционным методам (костная аллопластика, несвободная костная пластика по Г.А. Илизарову и др.). Подобное качественное превосходство могло обеспечить только соблюдение канонов тканевой инженерии. Под тканевой инженерией в настоящее время понимают раздел биотехнологии, подразумевающий трансплантацию культивированных клеток на биосовместимом носителе с целью восстановления поврежденной ткани, органа или создания их *de novo* (Волков А.В. 2005; Langer R., Vacanti J.P., 1993; Vacanti J.P., 2007).

Таким образом, в приложении к «костной хирургии» идеология тканевой инженерии подразумевает сочетанное использование культивированных остеогенных клеток и материала-носителя, обеспечивающего мобилизацию культивированных клеток, адресную их доставку, стабильное нахождение в реципиентном ложе и гистотипическую дифференцировку (рис.). Выбор оптимального носителя для культуры остеогенных клеток является одним из ключевых этапов создания тканеинженерного эквивалента костной ткани (Иванов С.Ю., Кузнецов Г.В., Чайлахян Р.К. и др., 2001). Параллельно оптимизации методов культивирования идут поиски оптимального носителя для них.

Требования, предъявляемые к материалам, из которых могут быть изготовлены носители, достаточно стандартны: это должен быть нетоксичный биодеградируемый материал, который обладал бы способностью к остеокондукции, остеоиндукции, остеопротекции, а заселение его клетками наделяло бы его и свойством остеогенности.

Показано, что для реализации своих остеогенных потенций культивированные клетки должны определенное время находиться в фиксированном к носителю состоянии (Kuznetsov S.A., Robey P.G., 2000), что может быть связано с цитогенетическим свойством данных клеток проявлять свои остеогенные потенции, будучи организованными в сложные трехмерные структуры (Деев Р.В., Николаенко Н.С., Цупкина Н.В. и др., 2004; de Bruijn J.D., van den Brink I., Mendes S. et al., 1999; Bancroft G.N., Sikavitsas V.I., van den Dolder J. et al., 2002; Riminucci M., Bianco P., 2003; Grayson W.L., Ma T., Bunnell B., 2004; Qi X., Liu J., Chang Y., Xu X., 2004; Mauney J.R., Sjostrom S., Blumberg J., 2004). Механизм индукции остеогенной дифференцировки в этом случае реализуется через усиление экспрессии остеобласт-специфичных белков, представляя, таким образом, классический вариант механотрансдукции при дифференцировке клеток остеогенной линии, воспроизведенный в культуре (Bancroft G.N., Sikavitsas V.I., van den Dolder J. et al., 2002; Mauney J.R., Blumberg J., Pirun M. et al. et al., 2004; Mauney J.R., Sjostrom S., Blumberg J., 2004; Mauney J.R., Jaquie C., Volloch V., 2005).

Спектр материалов для изготовления носителей достаточно широк и на сегодняшний день выделить какой-либо один, наиболее оптимальный не представляется возможным, что, прежде всего, свидетельствует об их несовершенстве. Для интересов тканевой инженерии костей могут использоваться остеопластические материалы – деминерализованный костный матрикс (ДКМ), трехмерные матрицы из полимолочных и полигликолевых кислот, коллагеновые криогели, стеклокристаллические материалы – биоситаллы, аналоги костного

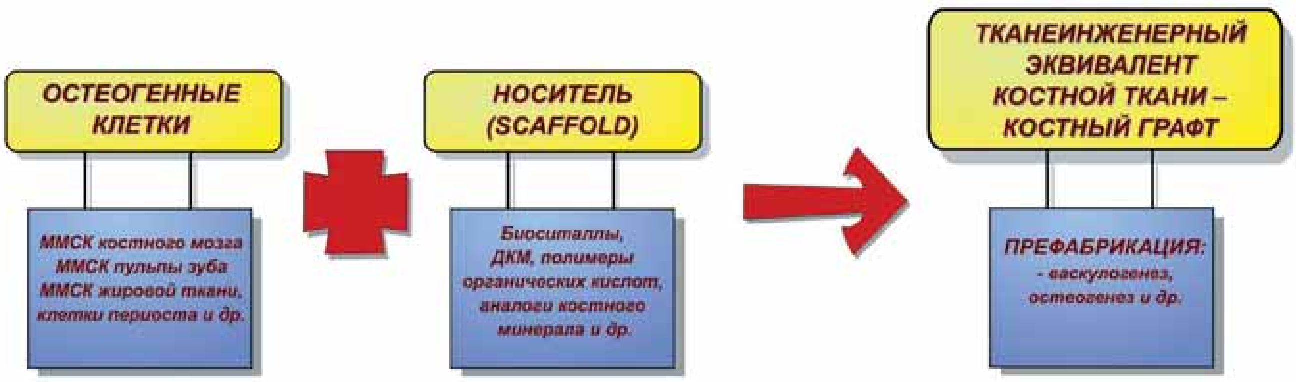

Схема создания костного графта:
ММСК – мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки

минерала – гидроксиапатит, трикальций фосфат, а также полисахариды природного происхождения – хитозан, полигидроксиалканоаты (Шишацкая Е.И., 2007), альгинаты и др.

Каждый из перечисленных материалов обладает перечнем своих достоинств и недостатков вплоть до фатальных. Так, для получения ДКМ требуется наличие специализированной лаборатории, а сам процесс должен иметь надлежащее юридическое сопровождение. Кроме того, изготовление таких материалов, а именно обработка агрессивными жидкостями – концентрированными кислотами, пергидролем, делает поверхность материала существенно ограничивающей адгезию культивированных клеток (Деев Р.В., Тихилов Р.М., Кочиш А.Ю. и др., 2007), что в свою очередь заставляет предлагать способы преодоления этого обстоятельства при помощи дополнительных обработок (Чайлахян Р.К., 2000). Это существенно снижает саму «технологичность» процесса изготовления тканеинженерного эквивалента. Вместе с тем, наличие в ДКМ биологически активных веществ – костных морфогенетических белков, сохранение естественной остеоархитектоники делает этот материал весьма привлекательным для костной пластики и целей тканевой инженерии костей, что подтверждено в многочисленных экспериментах (Савельев В.И., Калинин А.В., 2001; Савельев В.И., Калинин А.В., 2004; Li Z., Li Z.-B., 2005; Mauney J.R., Jaquie C., Volloch V., 2005). При тестировании такого материала на совместимость с культурой ММСК в присутствии остеогенной культуральной среды, показаны приобретение клетками типичной для остеобластов кубоидальной формы, синтез щелочной фосфатазы, остеокальцина и костного сиалопротеина (Mauney J.R., Blumberg J., Pirun M. et al., 2004).

Полимеры органических кислот (полимолочной и полигликолевой) и родственные им соединения лишены отмеченных недостатков, вместе с тем имеют другие – быстрый срок резорбции в случае изготовления тонкостенных губчатых матриц, не всегда соответствующий биологическим особенностям регенерации костной ткани, локальное понижение pH в области имплантата (Волков А.В., 2005), однако, возможность создавать такие материалы с регулированием сроков резорбции оставляет их в категории наиболее перспективных. В мире проведен ряд экспериментальных исследований по трансплантации остеогенных клеток на носителях из этих соединений. Так, выполнялись пересадки скаффолдов, заселенных остеобластами, выделенными из надкостницы у крыс. Результаты показали формирование в зоне пересадки костной и хрящевой тканей в сроки 6–9 недель (Kim W.S., Kim H.K., 2005). В сочетании с ММСК этот материал демонстрировал индукцию остеогенеза в культуре (Yao J., Radin S., Leboy P.S., Ducheyne P., 2005). Более того, изделия из данного материала уже используются в клинической практике в рамках клинических испытаний фиксаторов для остеосинтеза в челюстно-лицевой хирургии (Aimetti M, Pigella E, Romano F., 2007). Вместе с тем показано, что сам он не обладает остеоиндуктивной активностью (Eppley B.L., Morales L., Wood R., 2004; Minenna L., Herrero F., Sanz M., Trombelli L., 2005).

Стеклокристаллические материалы (биоситаллы) хорошо совместимы с клетками остеогенной линии (Николаенко Н.С., Кухарева Л.В., Воронкина И.В. и др., 1999; Николаенко Н.С., Цупкина Н.В., Деев Р.В.и др. 2004; Деев Р.В., Цупкина Н.В., Николаенко Н.С., Пинаев Г.П., 2007; Livingston T., Ducheyne P., Garino J., 2002). Однако они, напротив, обладают слишком длительным сроком резорбции. Поэтому на сегодняшнем технологическом этапе совмещение с клетками биоситаллов, изделий из гидроксиапатита, трикальций фосфата и подобных им, а также металлов, скорее, решает задачу оптимизации остеоинтеграции имплантата (Песин Р.С., Докторов А.А., Воложин А.И. и др., 2001; Григорян А.С., Филонов М.Р., Штанский Д.В. и др., 2007; Мальгинов Н.Н., Фролова Е.Н., 2007; Сергеева Н.С., Свиридова И.К., Решетов И.В. и др., 2007).

Перспективными соединениями для целей тканевой инженерии являются криогели на основе коллагена или других полимеров (Lozinsky V.I., Galaev I.Y., Plieva F.M., 2003). Технология их изготовления позволяет регулировать размер и количество макропор, срок биодеградации в организме реципиента. Получены первые положительные результаты тестирования криогелей с живыми клетками в условиях *in vitro* (Bloch K., Lozinsky V.I., Galaev I.Y., 2005).

На сегодняшний день среди специалистов нет единого мнения относительно «идеального» матрикса для тканевой инженерии костей, что приводит некоторых авторов к использованию весьма экстравагантных материалов, например, кораллов и др. (Сергеева Н.С., Свиридова И.К., Решетов И.В. и др., 2007; Chen F., Chen S., Tao K. et al., 2004).

Большое количество экспериментальных исследований было посвящено оптимизации процесса остеорепарации с применением методов клеточных технологий на модели дефектов ***костей черепа***. Самые простые способы, отработанные на кроликах, подразумевают инъекционное введение клеток в область дефекта (Саргсян А.А., 1990) или введение в коллагеновом формообразующем геле (Деев Р.В., 2006; Деев Р.В., Цупкина Н.В., Гололобов В.Г. и др., 2007). В эксперименте на крысах показано положительное влияние ДКМ с иммобилизированными аутогенными ММСК на заживление костного дефекта теменных костей (Кругляков П.В., Соколова И.Б., Зинькова Н.Н. и др., 2005). Также использование ДКМ оказалось эффективным при трансплантации ММСК на этом носителе у крупных животных – собак в полнослойный дефект площадью 2 см^2. Через 12 месяцев по данным компьютерно-томографического и гистологического исследований структура и целостность кости были восстановлены, в отличие от контроля, где регенерации кости не наблюдалось, а область дефекта была заполнена плотной волокнистой соединительной тканью (Liu W., Cui L., Cao Y., 2006). Также на собаках установлено, что пересадка ММСК на мелкодисперсном носителе из гидроксиапатита и трикальций фосфата в дефект 35 мм диаметром у собак весьма эффективна. Результаты были прослежены ультразвуковым методом и при помощи биопсий в сроки от 2 до 20 недель показано формирование органотипической костной ткани у животных экспериментальной группы (Mankani M.H., Kuznetsov S.A., Shannon B. et al., 2006).

В другом исследовании полнослойный дефект теменных костей диаметром 20 мм у овец был замещен ММСК, адгезированными на альгинатном носителе. Выявлено, что дефект полностью замещался собственной костной тканью через 18 недель, что существенно превосходило контроль (Shang Q., Wang Z., Liu W. et al., 2001).

Bidic S.M.S. и соавт. (2003) сообщили о результатах замещения дефекта теменных костей у кроликов материалом Caprolit® витализированным ММСК, представляющим собой сополимер из полимолочной и полигликолевой кислот. Установлено, что иммобилизация клеток на поверхности материала сопряжена с низким процентом адгезии. Авторы считают, что разработанный метод уступает аутопластике, но превосходит по эффективности индуцированного остеогенеза имплантацию носителя без клеток и самостоятельное заживление костной раны (Bidic S.M.S., Calvert J.W., Marra K. et al., 2003).

Hong L. и Mao J.J. (2004) предприняли сложное исследование по воспроизведению аналогов швов костей черепа, что важно при пластике обширных дефектов у детей, чьи кости после восстановления целостности должны расти. Авторы пересаживали кроликам аутогенные фибробласты, полученные из подкожной соединительной ткани, иммобилизированные на желатиновом губчатом скаффолде, изолированном с двух сторон коллагеновыми мембранами, пропитанными рекомбинантным человеческим BMP-2. Рентгенологический и гистологический методы оценки свидетельствовали о том, что через 4 недели со стороны коллагеновых мембран, пропитанных BMP, формировалась кость, в то время как в центральном участке была волокнистая соединительная ткань, сохраняя, таким образом потенциал для роста костей черепа в целом (Hong L., Mao J.J., 2004).

В связи с тем, что методические подходы к получению *in vitro* необходимого количества клеточного материала в основном определены, а многочисленные экспериментальные работы подтвердили безопасность и эффективность подобных технологий, данное направление шагнуло в клиническую практику. В мире выполнены несколько операций по трансплантации в область повреждений тканеинженерных эквивалентов костной ткани у человека. Так, описан случай восстановления обширного дефекта костей мозгового отдела черепа площадью 120 см^2, сформировавшийся в результате травмы и развившегося остеомиелита. Врачи продемонстрировали комплексный подход к реализации биомедицины: использовали аутогенные клетки костного мозга и аутогенные ММСК-подобные клетки, выделенные из жировой клетчатки. Полученные клетки при помощи фибринового клея, изготовленного из аутоплазмы, наносили на коммерчески-доступный носитель Palacos®, представляющий собой костный цемент. Проведенные через 3 месяца компьютерно-томографические исследования показали полное восстановление кости (Lendeckel S., Jödicke A., Christophis P. et al., 2004).

Не так давно начаты ограниченные клинические испытания лечения дефектов костей мозгового черепа и челюстно-лицевой области на основе использования аутогенных, ММСК иммобилизованных на ДКМ. Результаты, прослеженные через 3 года от момента операции, свидетельствуют не только о реституции кости, воссоздания остеоархитектоники, но и о восстановлении их сложной геометрии (Liu W., Cui L., Cao Y., 2006).

Показаниями к замещению дефектов ***длинных костей конечностей*** является протяженное нарушение их целостности и различные варианты осложнений переломов – замедленная консолидация, ложные суставы, дефекты костей. Применение клеточных технологий в этой области требует более сдержанного подхода в связи с тем, что кости данной локализации имеют все клеточные источники для регенерации – периост, эндост, строму костного мозга и клетки периваскулярного окружения, поэтому те условия, в которых собственный камбиальные резерв не смог реализовать свои пролиферативные и дифференцировочные потенции, будут являться и противопоказаниями к имплантации (графтингу) тканеинженерных эквивалентов костной ткани. Пожалуй, одними из наиболее частых случаев, при которых могут оказаться востребованными тканеинженерные конструкции – это пострезекционные дефекты, сформированные по онкологическим показаниям, а также постостеомиелитические дефекты. Подобные операции подразумевают пересадку вторым этапом трансплантатов значительной протяженности вплоть до целой кости. Процесс остеоинтеграции таких больших фрагментов костной ткани еще не изучен, однако совмещения костных трансплантатов с клеточным материалом представляется весьма целесообразным.

В эксперименте подтвержден положительный эффект на течение репаративного процесса ММСК в модели дефекта на крысах (Фатхудинов Т.Х., Гольдштейн Д.В., Пулин А.А. и др., 2005), ММСК иммобилизированными на аллокости у кошек (Зорин В. Л., Крашенинников М.Е., Фролов В.И. и др., 2004), ММСК в коллагеновом геле на модели дефекта большеберцовой кости у кроликов (Деев Р.В., Цупкина Н.В., Иванов Д.Е., и др. 2007). Проведенные доклинические исследования позволили перейти к ограниченным клиническим испытаниям данного метода. Так, группа отечественных авторов осуществляла лечение пациентов с ложными суставами и дефектами длинных трубчатых костей пересадкой ДКМ, витализированного мультипотентными мезенхимальными стромальными клетками. Несмотря на объективные трудности в достоверной трактовке полученных результатов, в целом отмечен положительный эффект на остеорепарацию (Щепкина Е.А., Кругликов П.В., Соломин Л.Н. и др., 2007; Щепкина Е.А., Кругликов П.В., Соломин Л.Н. и др., 2007).

Первые клинические исследования, позволили усомниться в «технологичности» разрабатываемых методов. Так, при погружении в реципиентное ложе больших по протяженности тканеинженерных эквивалентов костной ткани одной из основных проблем является обеспечение надлежащей трофики пересаженных клеток – это критический этап всей технологии. Поскольку в область костной раны вносятся жизнеспособные клетки, непосредственно и продуктивно участвующие в процессах остеогенеза, то без надлежащего кровоснабжения рассчитывать на успех их приживления не приходится. Графты больших размеров в условиях *in vivo* испытывают дефицит кровоснабжения: клетки, находящиеся на периферии графта, получают большее количество кислорода и нутриентов, чем клеточный пул центральной части, в результате его численность быстро снижается. Доказано, что клетки, отдалённые от гемомикроциркуляторного русла более чем на 200–500 мкм, неизбежно погибают в ходе эксперимента (Folkman J., Hochberg M., 1973; Polykandriotis E., Arkudas A., Horch R. et al. 2007), а матрикс замещается волокнистой соединительной тканью. В этой связи, во многих исследованиях, в которых использовались большие трансплантаты, результаты применения носителей с клетками и без них существенно не отличались.

Чтобы повысить выживаемость клеток, входящих в состав трансплантата, проводятся разработки дополнительных методов индукции ангиогенеза. В частности, используются модуляторы роста сосудов, являющиеся естественными цитокинами, индуцирующими эндотелиальную дифференцировку и рост сосудов – эндотелиальный сосудистый фактор роста и основной фактор роста фибробластов. Альтернативным направлением является метод префабрикации, основанный на временном помещении носителя в богато кровоснабжаемую ткань для формирования в нём собственной сосудистой сети, которую на этапе основной трансплантации соединяют с кровеносным руслом реципиента (Ahrendt G., Chickering D.E., Ranieri J.P., 1998; Khouri R.K., Upton J., Shaw W.W., 1991), причем данный метод может быть использован в сочетании с цитокиновой поддержкой тканей реципиентного ложа и самого графта (Terheyden H., Warnke P., Dunsche A. et al., 2001).

В последнее время всё большее внимание уделяется модели артериовенозной петли (arteriovenous loop), состоящей из артериального и венозного сосудов, искусственно анастомозированных аутовеной с помощью микрохирургической техники (Lokmic Z., Stillaert F., Morrison W. et al., 2007; Arkudas A., Beier J., Heidner K. et al., 2007; Kneser U., Polykandriotis E., Ohnolz J. et al., 2006). Артериовенозная петля, помещённая в центральную часть трансплантата, является источником «осевой васкуляризации», давая начало новой капиллярной сети изнутри («внутренняя васкуляризация») (Folkman J., Hochberg M., 1973), что в сочетании с ангиогенезом с периферии («внешняя васкуляризация») обеспечивает адекватное кровоснабжение и, таким образом, открывает значительные перспективы в решении проблемы повышения выживаемости клеток, входящих в состав графтов.

Предшественниками этих технологий стало формирование собственной сосудистой сети при пересадке искусственных материалов без клеток, но с образованными сосудами (Bernard S.L., Picha G.J., 1991). В 1998 году F. Casabona с соавт. опубликовал и материалы исследования, в котором матрикс из гидроксиапатита, населённый остеогенными клетками костного мозга, трансплантировали в широчайшую мышцу спины. Спустя восемь недель извлечённый материал по гистологическому строению соответствовал губчатому веществу кости (Casabona F., Martin I., Muraglia A. et al., 1998). Успешные результаты работы во многом обусловлены оптимальной адгезией клеток в условиях *in vitro*.

Похожий эксперимент был выполнен T. Nakasa с соавт. (2005). В качестве графта был применен пористый гидроксиапатит. Сосудистую ножку формировали из подкожных сосудов бедра. В экспериментальной группе материал насыщали фактором роста фибробластов-2. Материал был помещен подкожно в среднюю треть бедра. Васкулогенез от сосудистой ножки оценивали через 2 недели, остеогенез – через 4 недели. Остеогенез зарегистрирован только в экспериментальной группе (Nakasa T., Ishida O., Sunagawa T. et al., 2005).

Недавно для подтверждения значимости модели артериовенозной петли как пути решения проблемы кровоснабжения трансплантатов A. Arkudas с соавт. (2007) опубликовали результаты научной работы, в которой исследователи трансплантировали крысам бычий ДКМ (Arkudas A., Beier J., Heidner K. et al., 2007). Животным первой группы (n=34) носитель, имеющий форму диска (9×5 мм), трансплантировали в зону артериовенозной петли, созданной между бедренными артерией и веной. Через 6 недель инъецировали в матрикс $5{\times}10^6$ аутогенных остеобластов, меченных флуорохромом. Животным контрольной группы (n = 32) костный графт на основе того же носителя с теми же клетками вводили подкожно. Полученные материалы были подвергнуты гистологическому, морфометрическому и молекулярно-биологическому анализу через 1, 4, 8, 16 недель для определения доли выживших клеток. Было доказано, что «осевая васкуляризация» в значительной степени увеличивает жизнеспособность клеток, несмотря на одинаково интенсивную воспалительную реакцию в обеих группах. Формирование костной ткани на всём протяжении матрикса было выявлено лишь в одном случае – в материале, изъятом спустя 16 недель, что связано, возможно, с недостатками методики внесения клеток.

В своей работе U. Kneser с соавт. (2006) определяли эффективность использования артериовенозной петли как индуктора «внутренней васкуляризации» матрикса без клеток (Kneser U., Polykandriotis E., Ohnolz J. et al., 2006). Исследователи пришли к выводу, что достаточная плотность капилляров в материале из ДКМ при использовании модели артериовенозной петли определяется лишь к восьмой неделе.

Другим экспериментальным вариантом префабрикации стала трансплантация культуры стромальных клеток костного мозга в ткани, окружающие крупные сосуды у иммунодефицитных мышей (сонные артерии, аорту и др.). Остеогенез в этих областях был зарегистрирован уже через 4 недели и прослежен вплоть до двух лет. Сформированные костномозговые органы авторы рекомендуют для формирования тканевых лоскутов (Mankani M.H., Krebsbach P.H., Satomura K. et al., 2001).

В исследовании A. Hokugo с соавт. (2004), выполненном на морских свинках в качестве носителя были использованы: губчатая кость, резорбируемая мембрана из полимолочных кислот и костный мозг. Кость и костный мозг были помещены вокруг подкожных сосудов и укрыты мембраной. Именно при таком варианте в формируемом графте был обнаружен остеогенез (Hokugo A., Kubo Y., Takahashi Y., 2004).

Появившиеся в последнее время описания ограниченных клинических испытаний тканеинженерных конструкций в РФ, к сожалению, не поддаются однозначной трактовке из-за относительной закрытости таких испытаний, небезупречного подбора категорий пациентов и по ряду организационных причин. За рубежом, где правовые основы разработки и клинического внедрения клеточных технологий отработаны, достаточно эффективным и реализованным в клинической практике «костной хирургии» остается челюстно-лицевая хирургия. Не так давно мир облетело известие о выполнении замещения резецированной по онкологическим показаниям нижней челюсти 56-летнего мужчины и замещением ее тканеинженерной конструкцией (Warnke P.H., Springer I.N., Wiltfang J., 2004). Следует подчеркнуть, что для успешной реализации биотехнологического подхода разработчикам в одной методике пришлось совместить несколько механизмов воздействия – внесение остеогенных клеток, блоков гидроксиапатита, обеспечение собственной сосудистой сети путем префабрикации в течение двух месяцев и цитокиновую поддержку (Warnke P.H., Springer I.N., Wiltfang J., 2004). В течение первых 6 месяцев, пациент сообщил о восстановлении способности употреблять любую пищу, исчезновении дисфагии, восстановлении способности устного общения. Однако в дальнейшем, в результате преждевременной активации и повреждения десен развился остеомиелит графта. Через 15 месяцев после операции наступила смерть пациента от сердечной недостаточности. Посмертное исследование показало удовлетворительное состояние тканеинженерного эквивалента нижней челюсти (Warnke P.H., Wiltfang J., Springer I. et al., 2006). Снаружи от металлического фиксатора наблюдался несколько избыточный рост костной ткани, вместе с тем, никаких признаков злокачественного роста обнаружено не было.

Безусловным достижением тканевой инженерии в ортопедии следует признать пересадку пациенту биоартифициальной кости (фаланги), выполненной группой C.A. Vacanti (2001). Особенность этой техники состояла в том, что в одном изделии была совмещена и костная ткань, и хрящевая часть эпифиза полученные в лабораторных условиях. К сожалению, данная методика не только не тиражирована, но даже не воспроизведена (Vacanti C.A., Bonassar L.J., Vacanti M.P., Shufflebarger J., 2001).

В США FDA (Food and Drug Administration) зарегистрирован препарат на основе тканеинженерного эквивалента костной ткани – Osteocel® (Osiris Therapeutics, США), который был заявлен фирмой 22 сентября 2005 года, как изделие, предназначенное для пластики дефектов кости. Osteocel® представляет собой аллогенную костную матрицу, заселенную ММСК. Кроме этого препарата в Европе разработан и проходит расширенные клинические испытания его аналог для пластики небольших костных дефектов челюстно-лицевой области – BioSeed-Oral Bone® (BioTissue Technologies, ЕС).

Не обошли вниманием исследователи и клиницисты возможности коррекции системных поражений костной ткани, при которых пациенты обращаются к травматологам уже после наступления осложнений – переломов. В данной ситуации предложено внутрисосудистое (системное) введение остеогенных клеток. В экспериментах убедительно показано, что ядросодержащие клетки костного мозга содержат фракцию предшественников остеобластов, которые способны колонизировать костную ткани реципиента (Деев Р.В., Цупкина Н.В., Сериков В.Б. и др., 2005; Деев Р.В., Цупкина Н.В., Сергеев В.С. и др., 2006). По данным M. Dominici и соавт. (2004), при введении таких клеток 18% остеобластов и остеоцитов реципиента являются их дифференцированными потомками, причем в некоторых участках костной ткани их количество достигало 50% (Dominici M., Pritchard C., Garlits J.E. et al., 2004). Эффективность трансплантационного лечения системных заболеваний скелетных тканей оценивается не только в экспериментах (Wang L., Liu Y., Kalajzic Z. et al., 2005; Wang X., Li F., Niyibizi C., 2006), но уже и в ходе лечения пациентов с несовершенным остеогенезом (Horwitz E.M., Prockop D.J., Gordon P.L. et al., 2001; Horwitz E.M., Gordon P.L., Koo W.K. et al., 2002), причем авторов особо привлекает возможность генетической модификации аутогенной культуры ММСК *in vitro* с последующей системной трансплантацией (трансфузией). Вышеизложенные обстоятельства стали предпосылками к санкционированию FDA клинических испытаний клеточных технологий при системных поражениях скелета – несовершенном остеогенезе (14 человек, St. Jude Children's Research Hospital, США), других типов клеток при остеопетрозе (10 пациентов, St. Jude Children's Research Hospital, США; 16 пациентов, университет Миннесоты, США) и др.

Все вышесказанное вынуждает избавиться от завышенных ожиданий относительно клеточных технологий в «костной хирургии». Очевидно, их достойная клиническая реализация будет возможна лишь при замещении незначительных по объему дефектах костей или протяженных критических дефектов, но при условии выполнения в специализированных высокотехнологичных стационарах, способных реализовать микрохирургическую технику и комплексный биотехнологический подход.

Использование клеточных технологий в «хирургии суставов»

В клинической практике потребность в хрящевых графтах возникает в первую очередь при повреждении суставного хряща, который имеет ряд морфофункциональных особенностей, снижающих его репаративный потенциал. Отсутствие собственной надхрящницы делает практически невозможной клеточную регенерацию суставного хряща. Только при периферических повреждениях, в областях, прилегающих к синовиальной оболочке, наблюдают процесс гистотипического восстановления гиалиновой хрящевой ткани. При глубоких повреждениях, сообщающихся с костномозговым каналом, обеспечивается миграция в область дефекта ММСК из костного мозга, которые могут служить клеточным источником для регенерации. Однако чаще всего разрушенный гиалиновый хрящ если и восстанавливается, то с образованием фиброзной (волокнистой) хрящевой ткани, существенно отличающейся по архитектонике, биохимическому составу матрикса и по механическим свойствам. Следует отметить, что эта же биологическая особенность ограничивает и широкое внедрение разработанных технологий клеточной артропластики. Поиск биотехнологических способов решения данной проблемы наталкивается на необходимость решения нескольких вопросов: выбор оптимального источника клеток, выбор способа их доставки в области повреждения, иммобилизации, выбор адекватного носителя.

Известно, что хрящевая ткань является гистогенетически близкой к костной, но в тоже время проще организованной и более брадитрофной (Павлова В.Н., 1980; Дедух Н.В., Панков Е.Я., 2001). Очевидно, что данные обстоятельства, наряду с другими, привели к более простому воспроизведению хондрогенеза *in vitro*. Как уже было сказано выше, первые попытки культивирования скелетных тканей приводили к получению очагов хондрогенеза. Данные методики удалось довести до достаточной воспроизводимости. Современные технологии основаны на использовании хондрогенного потенциала ММСК, полученных из костного мозга или из жировой ткани, а также выделении и культивировании собственно хондроцитов, полученных из хрящевой ткани реципиента.

Исходя из положений теории дивергентной дифференцировки тканей Н.Г. Хлопина (1946), допустимо считать, что ММСК служат источником не только клеток остеобластической линии, но и клеток хондроцитарного дифферона. На сегодняшний день разработаны стандартные протоколы выделения, экспансии *in vitro* и индукции направленной хондроцитарной дифференцировки, для которой используют ряд веществ, в первую очередь цитокины из семейства трансформирующих факторов роста β (Archer C.W., Old S., Redman S. et al., 2007).

В эксперименте у крыс на модели дефекта ***суставного хряща*** описано получение гипертрофированного гиалинового хряща через 24 недели после трансплантации ММСК (Oshima Y., Watanabe N., Matsuda K. et al. 2004). У кроликов показано формирование гиалинового хряща через 6 недель, причем преимущественно у животных с ранней активацией движений в суставе после операции (Melamed E., Robinson D., Halperin N., Nevo Z., 2004; Wang G., Liu Y., Shan Y.X., 2004).

В качестве носителей для культивирования хондроцитов используют вещества, способные поддерживать хондроцитарную дифференцировку. В частности, такую способность демонстрировали альгинаты (Kavalkovich K., Boynton R., Murphy M., Barry F., 2000). Разработаны аналогичные методы клеточных технологий и в нашей стране (Чайлахян Р.К., 1997).

Еще одним источником ММСК является жировая ткань. В интересах экспериментальной и клинической ортопедии определены способы индукции хондрогенной дифференцировки и этих клеток (Трактуев Д.О., Парфенова Е.В., Ткачук В.А., Марч К.Л., 2006; Lin Y., Luo E., Chen X. et al., 2005). Показана потенциальная возможность использования для этих целей синовиоцитов (Shirasawa S., Sekiya I., Sakaquchi Y. et al., 2006).

Применение в интересах клеточной артропластики культуры хондроцитов дало мощный толчок в развитии биотехнологий в травматологии и ортопедии. Известно, что эксплантация клеток ведет к их фенотипической дедифференцировке. Так, первичная культура хондроцитов утрачивает способность к производству хрящевого матрикса, изменяет профиль экспрессии хондроцитарных маркеров (Reiter I., Tzukerman M., Maor G., 2002; Darling E.M., Athanasion K.A., 2005), а *in vitro* выглядит как фибробластоподобные клетки. Вместе с тем, выбор оптимальных условий культивирования, включая использование определенных цитокинов, способствует поддержанию хондроцитарной дифференцировки культуры хондроцитов (Ким И.И., 2006; Reiter I., Tzukerman M., Maor G., 2002).

Несмотря на большое количество нерешенных проблем, значительная часть медицинских манипуляций с культивированными предшественниками механоцитов выполнена именно в артрологической практике. Самый простой, но сомнительный по идеологическому подходу способ – это инъекционное введение в полость сустава клеточной взвеси культивированных хондроцитов в расчете на их самостоятельную миграцию и адгезию в области повреждения.

Наиболее часто использующийся алгоритм операции в эксперименте включает следующие этапы. Аутогенный хрящ обрабатывают протеолитическими ферментами, изолируют хондробласты и хондроциты, культивируют в течение 3-х недель, затем путем инъекции вводят в полость сустава. В ходе осмотра через 1 год после операции установлено, что функция сустава была не нарушена, боли отсутствовали, конгруэнтность суставных поверхностей была восстановлена. В ряде случаев после операции в зоне дефекта определяли гиалиновую хрящевую ткань (Horas U., Schnettler R., Pelinkovic D. et al., 2000; Peterson L., 1995; Robinson D., Ash H., Aviezer D. et. al., 2000; Koulalis D., Schultz W., Heyden M., 2002; Wakitani S., Imoto K., Yamamoto T. et al., 2002).

Более «продвинутые» варианты клеточной артропластики подразумевают сочетание клеточных технологии со сложной хирургической техникой. Таким способом является, например, пересадка в область дефекта суставного хряща аутогенных хондроцитов под периостальную заплатку или мембрану из резорбируемого коллагена. Эта технология получила название autologous chondrocyte implantation (ACI). Основные этапы, входящие в технологию ACI приведены ниже.

1. Артроскопическая биопсия суставного хряща, с получением фрагментов гиалиновой хрящевой ткани с ненагружаемых участков.

2. Культивирование в условиях GMP-лаборатории. В последнее время одним из непременных условий стало использование аутосыворотки или синтетических бессывороточных сред. Этап культивирования преследует цель увеличения количества клеток для будущей трансплантации.

3. После накопления необходимого количества клеточного материала (12×10^6 клеток, которые концентрируются в 0,4 мл среды DMEM) его артроскопически пересаживают в область дефекта. Для защиты пересаженных клеток область пересадки прикрывают подшитым лоскутом аутопериоста (надкостницей, полученной в соседнем участке конечности). Такой подход не лишен существенного недостатка – расширения хирургической агрессии для получения периоста. Поэтому было предложено использовать коллагеновые мембраны, что позволило избежать дополнительного хирургического вмешательства и предотвратить гипертрофическое развитие регенерирующего хряща (Haddo O., Mahroof S., Higgs D. et al., 2004).

Одним из первых данную технологию начал отрабатывать M. Brittberg (1994). Клиническое исследование, в которое были включены 23 человека в возрасте от 14 до 48 лет, показало, что перестройка пересаженного клеточного материала продолжается не менее двух-трех лет. Через 36 месяцев у 11 из 15 пациентов, подвергшихся операции на суставной поверхности дистального эпифиза бедренной кости, и у 1 из 7 пациентов после операции на суставной поверхности надколенника обнаружено формирование гиалиновой хрящевой ткани (Brittberg M., Lindahl A., Nilsson A., 1994; Brittberg M., 1999). Показана техническая возможность выполнения этой операции при использовании малоинвазивного вмешательства – артроскопической трансплантации (Ochi M., Adachi N., Nobuto H. et al., 2004).

Австрийские авторы представили результаты шестилетних наблюдений за 10 пациентам, которым была выполнена подобная операция (6 на коленном суставе и 4 на голеностопном). Средний возраст пациентов составил 30 лет. У 6 пациентов результаты лечения оценены как хорошие, у 3 – удовлетворительные, у 1 – неудовлетворительные (Dorotka R., Kotz R., Tratting S., Nehrer S., 2004).

В случае нанесения большого остеохондрального дефекта культивированные клетки вносили в коллагеновом или желатиновом геле, чтобы они заполняли объем дефекта (Bogan B.D., Schwartz Z., 1999; Katsube K., Ochi M., Uchio Y. et al., 2000; Ponticiello M.S., Schinagl R.M., Kadiyala S., Barry F.P., 2000). Однако, при таком варианте у человека через два года в области пересадки обнаруживали фиброзный хрящ (Wakitani S., Mitsuoka T., Nakamura N. et al., 2004).

Данных об эффективности подобных манипуляций в сравнительном аспекте явно недостаточно как в эксперименте, так и в клинике. При сопоставлении результатов лечения остеохондральных дефектов коленного сустава у кроликов мозаичной артропластикой и клеточной артропластикой с использованием аутогенных хондроцитов, ММСК и клеток периоста показана значимо большая эффективность клеточной артропластики, причем наиболее целесообразным оказалось применение хондроцитов и ММСК (Hui J.H., Chen F., Thambyah A., Lee E.H., 2004).

При сопоставлении в эксперименте трансплантации аутохондроцитов и аутогенных ММСК, иммобилизированных на коллагеновых матрицах, по степени экспрессии специфических хондроцитарных маркеров и компонентов межклеточного матрикса более эффективными в опытах на овцах оказывались хондроциты (Dorotka R., Windberger U., Macfelda K. et al., 2004).

Технология ACI на сегодняшний день получила наибольшее, в том числе, коммерческое развитие в мире (Деев Р.В., 2006). На рынке имеются несколько клеточных препаратов (клеточных сервисов) для лечения данной категории пациентов. В большинстве случаев, помимо собственно клеточного продукта, услуга подразумевает весь технологический медицинский процесс от первичного обследования до послеоперационной медицинской реабилитации. Лидерами в этом плане являются следующие препараты – Carticel® (Genzyme corp., США), Cartilink-1®, Cartilink-2® (Interface Biotech, Дания), Chondrogen® (Osiris Therapeutics, США), ChondroCelect® (Tigenix NV, Бельгия). Услугами этих сервисов (клеточных препаратов) воспользовались тысячи человек.

Авторы указывают на осложнения, которые могут развиться в результате выполнения данной техники, к ним относятся периостит областей, граничащих с участком получения надкостницы, расслаивание подшитого периостального лоскута, артрофиброз и отторжение пересаженного материала. Следовательно, подобные манипуляции должны выполняться (и могут быть выполнены) только в высокотехнологичных ортопедических центрах, имеющих в своем распоряжении высококвалифицированных специалистов и соответствующее оснащение (Marlovits S., Kutscha-Lissberg F., Aldrian S. et al., 2004).

Существенным недостатком предлагаемых технологий, является трудность обеспечения гистотипического формирования хрящевой ткани, т.е. образования в реципиентном ложе истинно гиалинового хряща, способного противодействовать постоянным механическим нагрузкам. Однако последние экспериментальные исследования подтверждают формирование в четырехнедельный срок типичной гиалиновой хрящевой ткани при трансплантации хондроцитов в дефект суставного хряща. Причем в реципиентном ложе воспроизводились не только состав и зональное расположение клеток хряща, но и биохимические показатели межклеточного вещества (Hayes A.J., Hall A., Brown L. et al., 2007).

Еще одним направлением развития клеточных технологий является попытка отсрочить тотальное эндопротезирование тазобедренного сустава, связанное с ***асептическим некрозом головки бедренной кости***, что актуально при молодом возрасте пациента. В исследовании группы зарубежных авторов показано позитивное влияние пересаженной культуры ММСК при этой патологии. Считается, что при надлежащем развитии, данное направление может стать альтернативой имплантации эндопротеза (Gangji V., Hauzeur J.-P., Matos C. et al., 2004). Созданы алгоритмы оперативных вмешательств при данной патологии, причем рекомендовано использовать не только стромальную фракцию, а цельный костный мозг, поскольку, по мнению авторов, гемопоэтические элементы будут способствовать неоангиогенезу в дегенеративно измененной головке бедренной кости (Gangji V., Hauzeur J.-P., 2005). Компания Aastrom Biosciences, Inc. (США) уже проводит вторую фазу клинических испытаний по данной технологии, в которую включено более 120 пациентов.

Особняком стоит технология клеточной пластики при ***дегенеративно-дистрофических повреждениях межпозвонковых дисков***. Значимость этой проблемы особо подчеркивает создание европейской научно-практической программы EvroDisk, объединяющей несколько научных центров ЕС. Идеология разрабатываемой технологии включает введение в область измененного межпозвонкового диска культуры аутогенных хондроцитов.

Известно, что триггером разрушения диска является физиологическая инволюция вещества *n. pulposus* межпозвонкового диска, являющегося во взрослом организме дериватом хорды. По своему гистогенезу хорда не имеет отношения к скелетным тканям и родственна скорее к эпителию (Хлопин Н.Г., 1946). Поэтому нельзя признать достаточно обоснованным с гистогенетических и морфологических позиций введение хондроцитов в область повреждения ядра диска.

Наиболее простым представляется выделение культуры клеток студенистого ядра, размножение их *in vitro* и последующее введение. В эксперименте показано, что при этом процесс дегенерации диска затормаживается, пересаженные клетки синтезируют элементы хрящевого матрикса (Okuma M., Mochida J., Nishimura K. et al., 2000; Nomura T., Mochida J., Okuma M. et al., 2001), что нельзя признать полноценным гистотипическим исходом регенерации в этом случае.

Группа исследователей из Гейдельбергского университета поставила цель сравнить клетки студенистого ядра и ММСК в монослойных культурах и трехмерных сфероидах для определения перспектив их дальнейшего использования в тканевой инженерии (Steck E., Bertram H., Abel R. et al., 2005). ММСК культивировали в стандартной хондрогенной среде. Изучали экспрессию генов хондрогенной дифференцировки, включая гены аггрекана, декорина, фибромодулина и олигомерного матриксного протеина хряща. Установлено, что в сфероидах экспрессия была существенно выше, чем в монослойных культурах. Кроме того, при культивировании материала студенистого ядра и типичных механоцитов показаны различия в синтетической активности – клетки фиброзного кольца синтезируют больше коллагена I, клетки ядра – больше аггреканов.

Украинские коллеги исследовали эффективность клеточной трансплантации на модели травматического повреждения диска у крыс (Дедух В.Н., Малышкина С.В., Бадраинова И.В., 2004). В качестве клеточного материала использовали скелетогенную мезенхиму из зачатков конечностей 12–13–суточных эмбрионов крыс. После короткого этапа культивирования клетки вносили в дефект из расчета 10^7/мл. При помощи гистохимического и электронномикроскопического анализа установлено, что пересаженные клетки дифференцировались преимущественно в пре– и хондробласты. Через 90 суток зона дефекта была заполнена хрящевым регенератом. В целом диск после трансплантации характеризовался неизмененной высотой.

Поскольку в условиях *in vitro* и после трансплантаций *in vivo* воссоздать ткань студенистого ядра не удается, ряд авторов предлагают замещать утраченное ядро различными субстанциями с интегрированными в них хондроцитами. В качестве таких носителей предложены альгинаты, препараты полигликолевой кислоты, производные хитозана (Mizuno M., Roy A.K., Vacanti J. et al., 2001; Mwale F., Iordanova M., Demers C.N. et al., 2005).

Следует отметить, что технология клеточной реконструкции межпозвонкового диска еще разрабатывается. Видимо, производные хорды, имеющие особое эмбриональное происхождение, не могут быть заменены в функциональном плане трансплантацией механоцитов, они не в состоянии привести к формированию полноценного по химическому составу матрикса студенистого ядра, способного к выполнению функции амортизации. Напротив, дифференцировка соединительнотканных предшественников в условиях сниженной трофики может привести к дополнительному склерозу диска, что и без трансплантаций наблюдают нейрохирурги–вертебрологи при дискэктомиях.

Несмотря на существенные недоработки в идеологии подобных вмешательств в ЕС данные технологии уже вышли на стадию клинических исследований. В программу EuroDisc включены 140 пациентов в различных лечебных учреждениях Европы. По первичным данным, трансплантация хондроцитов приводит к купированию болевого синдрома в первые три месяца после операции дискэктомии, способствует гидратации тканей диска, что проявляется увеличением его высоты, а сохранившиеся пересаженные хондроциты экспрессируют компоненты хрящевого межклеточного матрикса (Meisel H.J., Siodla V., Ganey T. et al., 2007).

Обсужденные направления развития клеточных технологий в «хирургии суставов» далеко не исчерпаны. Пока вне поля зрения исследователей остаются возможности префабрикации гиалинового хряща для гарантированного получения в реципиентном ложе органотипического варианта хрящевой ткани, не изучены возможности трансплантационного лечения переломов по типу эпифизиолизов у детей и др.

Использование клеточных технологий в «хирургии сухожилий и связок»

Еще менее разработанной областью являются клеточные технологии при лечении повреждений сухожилий и связок, что, очевидно, в значительной степени связано с клинической невостребованностью. Современные синтетические протезы и аллотрансплантаты в должной степени удовлетворяют клинические запросы, поэтому данный раздел скорее представляет только научный интерес. Вместе с тем, клеточные технологии считаются перспективными при лечении таких состояний как, например, разрыв манжеты ротаторов (Dines J.S., Grande D.A., Dines D.M., 2007; Chen J.M., Willers C., Xu J. et al., 2007).

Считается, что добиться дифференцировки ММСК в условиях культуры и после трансплантации *in vivo* в сторону тендиноцитов весьма сложно, и формирование сухожилия *de novo* сопряжено с сообщением культуре значительных механических раздражений (Butler D.L., Juncosa–Melvin N., Boivin G.P. et al., 2007; Hankemeier S., van Griensven M., Ezechieli M. et al., 2007).

Исследованиями *in vivo* показано, что подбор оптимальных носителей для данной технологии включает использование биодеградируемых полимеров, предотвращающих после операции сращение биоартифициального сухожилия с элементами синовиальных влагалищ и другими мягкими тканями (Curtis A.S., Wilkinson C.D., Crossan J. et al., 2005), причем последнее обстоятельство может служить одним из основных показаний к внедрению клеточных технологий в этой области. Среди таких носителей могут быть полимеры на основе хитозана и гиалуроновой кислоты, обладающие достаточной механической прочностью и биосовместимостью (Majima T., Irie T., Sawaguchi N., 2007). Экспериментальная отработка этого направления начата с использованием синовиоцитов у кроликов (Zhang Z., Liu Z., Zhong S. et al. 2001), фибробластов (Tischer T., Vogt S., Aryee S. et al., 2007; Whitlock P.W., Smith T.L., Poehling G.G., 2007). Протестировав эффективность использования в тендопластике четырех различных типов клеток – ММСК, полученных из костного мозга, ММСК, полученных из жировой клетчатки, фибробластов синовиальных влагалищ и собственно тендиноцитов, исследователи не нашли существенных различий и посчитали, что все клетки могут быть использованы для целей тканевой инженерии (Kryger G.S., Chong A.K., Costa M. et al., 2007). Также немаловажной сферой клеточных технологий следует признать и банкирование (криоконсервирование) различных клеточных популяций. Не так давно стало возможным индивидуальное сохранение ММСК, полученных из разных тканевых источников, что, безусловно, откры–

вает новые перспективы в применении данных клеток при коррекции посттравматических состояний.

Таким образом, в настоящее время происходит не только активный поиск и разработка новых биотехнологий в травматологии и ортопедии, но и частичное их внедрение в клиническую практику. Данное обстоятельство требует детальной проработки организационных основ предоставления пациентам подобных услуг или применения таких методов лечения.

В связи с особенностями создания клеточных технологий, клинические учреждения, как правило, включаются в эту работу только на этапе клинической апробации, что нельзя считать оправданным. Без тесной связи с потребностями клинической практики разработчики могут идти по «ложному следу», что ведет к появлению «мертворожденных» технологий.

Как правило, разработка и внедрение клеточных технологий происходит по двум возможным вариантам взаимодействия разработчиков и практиков. Первый, наиболее развитый в условиях зарубежного здравоохранения, подразумевает создание клеточных технологий и клеточных продуктов частными биотехнологическими компаниями, которые берут на себя все этапы от идеи до регистрации результатов (клеточной технологии, клеточного продукта), а в дальнейшем, наладив производство, продают готовый продукт заинтересованным сторонам. О сложности реализации такой схемы в нашей стране, в условиях недостаточного правового регулирования, известно (Колесников С.И., 2007; Миронов С.П., 2007).

Второй и, возможно, более эффективный путь — это создание клиническими учреждениями в своей структуре соответствующих научных и лабораторных подразделений, способных на новом технологическом уровне решать актуальные клинические задачи. Данный подход позволит обеспечить надежный контроль и добросовестную реализацию всего процесса лечения от обследования до медицинской реабилитации. Подобные удачные примеры разработки и внедрения клеточных технологий мы видим в некоторых государственных учреждениях Москвы, Новосибирска, Казани и др.

К сегодняшнему дню медицинская наука накопила солидный опыт экспериментального и клинического изучения клеточных технологий в травматологии и ортопедии, романтический период их развития должен оставатся в прошлом. В основном сформировались основные пути их применения. Разумеется, на множество вопросов ответы еще только предстоит найти, но следует отметить, что врачи и пациенты обоснованно ожидают того момента, когда количество этих исследований перейдет в безусловное качество и однозначную эффективность лечения.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Берсенев, А.В. Клеточная трансплантология – история, современное состояние и перспективы / А.В. Берсенев / / Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. – 2005. – № 1. – С. 49-56.
2. Волков, А.В. Тканевая инженерия : новые перспективы развития медицины / А.В. Волков / / Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. – 2005. – № 1. – С. 57-63.
3. Волков, А.В. Синтетические биоматериалы на основе полимеров органических кислот в тканевой инженерии / А.В. Волков / / Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. – 2005. – № 2. – С. 43–45.
4. Гололобов, В.Г. Характеристика культуры пластинчатой костной ткани in vitro / В.Г. Гололобов, Р.В. Деев, Н.С. Николаенко и др. / / Морфология. – 2004. – Т. 125. – С. 64–68.
5. Гололобов, В.Г. Новый подход к лечению дефектов длинных костей конечностей. От культур in vivo к культурам in vitro / В.Г. Гололобов, А.К. Дулаев, Р.В. Деев и др. / / Анатомия и военная медицина. Сборник научных работ конференции, посвященной 80-летию со дня рождения профессора Е.А. Дыскина. – СПб. : ВМедА, 2003. – С. 104–106.
6. Григорян, А.С. Использование полимера с металлическими и керамическими покрытиями в качестве основы для гибридных имплантатов / А.С. Григорян, М.Р. Филонов, Д.В. Штанский и др. / / Материалы симпозиума «Актуальные вопросы тканевой и клеточной трансплантологии», Москва, ЦИТО, 25–26 апреля 2007. – С. 61–63.
7. Дедух, Н.В. Скелетные ткани / Н.В. Дедух, Е.Я. Панков / / Руководство по гистологии. – Т. 1. – СПб. : СпецЛит, 2001. – С. 284–327.
8. Дедух, В.Н. Регенерация межпозвонкового диска при трансплантации культивируемых клеток хрящевого дифферона / В.Н. Дедух, С.В. Малышкина, И.В. Бадраинова / / Фундаментальные и прикладные проблемы гистологии. Гистогенез и регенерация тканей. – СПб. : ВМедА, 2004. – С. 102–103.
9. Деев, Р.В. Посттравматическая регенерация костной ткани при трансплантации культуры костномозговых стромальных клеток (экспериментальное исследование) : дис. ...канд. мед. наук / Деев Роман Вадимович ; Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург, 2006. – 175 с.
10. Деев, Р.В. Анализ рынка клеточных препаратов для коррекции патологии скелетных тканей / Р.В. Деев / / Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. – 2006. – Т. 2, № 4. – С. 78–83.
11. Деев, Р.В. Анализ репаративной регенерации костей крыши черепа / Р.В. Деев / / Морфология. – 2008. [в печати].
12. Деев, Р.В. Формирование и морфофункциональная характеристика остеобластического фенотипа в клеточных культурах in vitro / Р.В. Деев, Н.С. Николаенко, Н.В. Цупкина и др. // Цитология. – 2004. – Т. 46, № 3. – С. 185–190.
13. Деев, Р.В. Использование ДКМ в качестве носителя для культуры стромальных клеток костного мозга в эксперименте / Р.В. Деев, Р.М. Тихилов, А.Ю. Кочиш и др. / / Материалы симпозиума «Актуальные вопросы тканевой и клеточной трансплантологии», Москва, ЦИТО, 25–26 апреля 2007. – С. 19–20.
14. Деев, Р.В. Влияние трансплантированной культуры стромальных клеток костного мозга на репаративный остеогистогенез в области дефекта теменных костей / Р.В. Деев, Н.В. Цупкина, В.Г. Гололобов и др. / / Цитология. – 2007. [в печати].
15. Деев, Р.В. Результаты трансплантации культуры аутогенных стромальных клеток костного мозга в область краевого дефекта длинных трубчатых костей / Р.В. Деев, Н.В. Цупкина, Д.Е. Иванов и др. / / Травматология и ортопедия России. – 2007. – № 2(44). С. 57–63.
16. Деев, Р.В. Использование стромальных клеток костного мозга, мобилизованных на гранулах биоситалла, для пластики костей мозгового черепа / Р.В. Деев, Н.В. Цупкина, Н.С. Николаенко, Г.П. Пинаев / / Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. – 2007. – Т. 2, № 2. – С. 62–67.
17. Деев, Р.В. Особенности физиологического и репаративного остеогенеза после трансфузии ядросодержащих клеток костного мозга / Р.В. Деев, Н.В. Цупкина, В.С. Сергеев и др. / / Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. – 2006. – № 3(5). – С. 54–58.
18. Деев, Р.В. Участие трансфузированных клеток костного мозга в репаративном остеогистогенезе / Р.В. Деев, Н.В. Цупкина, В.Б. Сериков и др. / / Цитология. – 2005. – Т. 46, № 9. – С. 755–759.
19. Денисов-Никольский, Ю.И. Актуальные проблемы теоретической и клинической остеоартрологии / Ю.И. Денисов-Никольский, С.П. Миронов, Н.П. Омельяненко, И.В. Матвейчук. – М. : ОАО Типография «Новости», 2005. – 336 с.
20. Дулаев, А.К. Остеогенные клетки и их использование в травматологии / А.К. Дулаев, В.Г. Гололобов, Р.В. Деев и др. / / Медицинский академический журнал. – 2003. – Т. 3, № 3. – С. 59–66.
21. Зорин, В.Л. Способ восстановления целостности дефектов длинных трубчатых костей с использованием мезенхимальных стволовых клеток / В.Л. Зорин, М.Е. Крашенинников, В.И. Фролов и др. / / Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2004. – № 1. – С. 37–40.
22. Иванов, С.Ю. Перспективы применения в стоматологии материалов «Биоматрикс» и «Алломатрикс-имплант» в сочетании с остеогенными клетками-предшественниками костного мозга / С.Ю. Иванов, Г.В. Кузнецов, Р.К. Чайлахян и др. / / Клиническая имплантология и стоматология. – 2001. – № 3/4. – С. 37–40.
23. Карпцов, В.И. Использование деминерализованной аллокости при комплексном лечении нарушений репаративного остеогенеза / В.И. Карпцов, А.И. Анисимов, В.Г. Емельянов / / Деминерализованный костный трансплантат и его применение. – СПб. : ППМИ, 1993. – С. 129–134.
24. Ким, И.И. Выделение и культивирование хондроцитов, полученных из различных источников / И.И. Ким / / Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. – 2006. – № 4(6). – С. 48–50.
25. Колесников, С.И. Проблемы государственного регулирования в сфере клеточных технологий / С.И. Колесников / / Британско-российское совещание в сотрудничестве с Европейской Комиссией. «Стволовые клетки : законодательство, исследования и инновации. Международные перспективы сотрудничества». 15 марта 2007, Москва. – С. 3.
26. Кругляков, П.В. Влияние сингенных мезенхимных стволовых клеток на восстановление костной ткани у крыс при имплантации деминерализо-ванного костного матрикса / П.В. Кругликов, И.Б. Соколова, Н.Н. Зинькова и др. / / Цитология. – 2005. – Т. 47, № 6. – С. 466–477.
27. Лаврищева, Г.И. Морфологические и клинические аспекты репаративной регенерации опорных органов и тканей / Г.И. Лаврищева, Г.А. Оноприенко. – М. : Медицина, 1996. – 208 с.
28. Лурия, Е.А. Образование костной ткани в органных культурах костного мозга человека / Е.А. Лурия, С.А. Кузнецов, Е.Н. Генкина, А.Я. Фриденштейн / / Бюлл. эксперим. биологии и медицины. – 1989. – Т. 107, № 5. – С. 593–595.
29. Лурия, Е.А. Культивирование и дифференцировка остеогенных костномозговых клеток-предшественников / Е.А. Лурия, С.А. Кузнецов,

Е.Н. Генкина / / Методы культивирования клеток. – Л. : Наука, 1987. – С. 276–282.
30. Мальгинов, Н.Н. Репаративная регенерация кости крыс при введении титановых имплантатов, заселенных ксеногенными мезенхимальными стволовыми клетками / Н.Н. Мальгинов, Е.Н. Фролова / / Материалы III Всероссийского симпозиума с международным участием «Актуальные вопросы тканевой и клеточной трансплантологии». Москва, 25–26 апреля 2007. – С. 83–84.
31. Миронов, С.П. Современное положение и перспективы развития российской биоимплантологии / С.П. Миронов / / Материалы III Всероссийского симпозиума с международным участием «Актуальные вопросы тканевой и клеточной трансплантологии». Москва, 25–26 апреля 2007. – С. 6–7.
32. Николаенко, Н.С. Культивирование остеогенных клеток на биоситаллах силикоалюмофосфатной группы / Н.С. Николаенко, Л.В. Кухарева, И.В. Воронкина и др. / / Цитология. – 1999. – Т. 41, № 3/4. – С. 297.
33. Николаенко, Н.С. Культивирование остеогенных клеток различного происхождения на биоситаллах силикоалюмофосфатной группы с целью создания остеозамещающих имплантатов / Н.С. Николаенко, Н.В. Цупкина, Р.В. Деев и др. / / Клеточные культуры : информационный бюллетень. – Вып. 19. – СПб. : Институт цитологии РАН, 2004 – С. 10–16.
34. Осепян, И.А. Лечение несращений, ложных суставов и дефектов трубчатых костей трансплантацией аутологичных костномозговых фибробластов, выращенных in vitro и помещенных на спонгиозный костный матрикс / И.А. Осепян, Р.К. Чайлахян, Е.С. Гарибян / / Ортопедия и травматология. – 1982. – № 9. – С. 59–61.
35. Павлова, В.Н. Синовиальная среда суставов / В.Н. Павлова. – М., 1980. – 296 с.
36. Песин, Р.С. Реакция костной ткани на имплантацию композиции полиметилметакрилат–гидроксиапатит с нанесенной на ее поверхность культурой клеток костного мозга в эксперименте / Р.С. Песин, А.А. Докторов, А.И. Воложин и др. / / Биомедицинские технологии (репродукция тканей и биопротезирование). – 2001. – Вып. 17.– С. 55–63.
37. Репин, В.С. 100 лет клеточной биологии: уроки на будущее / В.С. Репин / / Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. – 2007. – Т. 2, № 3. – С. 9–17.
38. Савельев, В.И. Экспериментальная модель для сравнительной оценки костных алло– и аутотрансплантатов, заготовленных разными способами / В.И. Савельев, А.В. Калинин / / Биомедицинские технологии (Репродукция тканей и биопретезирование). – 2001. – Вып. 17. С. – 17–24.
39. Савельев, В.И. Трансплантация биологических тканей и репаративный гистогенез / В.И. Савельев, А.В. Калинин / / Травматология и ортопедия: практическое руководство. – СПб. : Гиппократ, 2004. – Т. 1. – С. 436–505.
40. Саргсян, А.А. Восстановление костных дефектов с помощью трансплантации культуральных штаммов костномозговых фибробластов в условиях эксперимента : автореф. дис. ... канд. биол. наук / А.А. Саргсян. – М., 1990. – 20 с.
41. Сергеева, Н.С. Разработка биоинженерных конструкций на основе аутологичных мезенхимальных стволовых клеток (МСК) и 3D материалов – матриксов синтетических и природного происхождения с целью восстановления костных дефектов у экспериментальных животных / Н.С. Сергеева, И.К. Свиридова, И.В. Решетов и др. / / Материалы III Всероссийского симпозиума с международным участием «Актуальные вопросы тканевой и клеточной трансплантологии». Москва, 25–26 апреля 2007. – С. 41–42.
42. Трактуев, Д.О. Стромальные клетки жировой ткани – пластический тип клеток, обладающих высоким терапевтическим потенциалом / Д.О. Трактуев, Е.В. Парфенова, В.А. Ткачук, К.Л. Марч / / Цитология. – 2006. – Т . 48, № 2. – С. 83–93.
43. Фатхудинов, Т.Х. Особенности репаративного остеогенеза при трансплантации мезенхимальных стволовых клеток / Т.Х. Фатхудинов, Д.В. Гольдштейн, А.А. Пулин и др. // Бюл. эксперим. биол. – 2005. – Т. 140, № 7. – С.109–113.
44. Фриденштейн, А.Я. Клонирование стромальных клеток–предшественников / А.Я. Фриденштейн / / Методы культивирования клеток. – Л. : Наука, 1987. – С. 257–265.
45. Фриденштейн, А.Я. Стволовые остеогенные клетки костного мозга / А.Я. Фриденштейн // Онтогенез. – 1991. – № 2. – С. 189–197.
46. Фриденштейн, А.Я. Индукция костной ткани и остеогенные клетки–предшественники / А.Я. Фриденштейн, К.С. Лалыкина. – М. : Медицина, 1973. – 216 с.
47. Фриденштейн, А.Я. Клеточные основы кроветворного микроокружения / А.Я. Фриденштейн, Е.А. Лурия. – М.: Медицина, 1980. – 223 с.
48. Хлопин, Н. Г. Общебиологические и экспериментальные основы гистологии / Н.Г. Хлопин. – Л.: Изд–во АН СССР, 1946. – 491 с.
49. Чайлахян, Р.К. Пат. 2000119939/14 РФ, A61K35/28. Способ восстановления целостности костей и трансплантат для его осуществления / Чайлахян, Р.К.; заявитель и патентообладатель Р.К. Чайлахян. Заявл. 2000.07.27.
50. Чайляхян, Р.К. Пат. 97106141/14 РФ, A61K35/28. Способ восстановления целостности гиалинового хряща суставов / Чайлахян, Р.К.; заявитель и патентообладатель Р.К. Чайлахян. Заявл. 1997.04.14.
51. Чобану, П.И. Стимуляция остеогенеза костномозговыми клетками при осложненных переломах / П.И. Чобану, Г.И. Лаврищева, А.С. Козлюк. – Кишинев : Штиинца, 1989. – 184 с.
52. Шевцов, В.И. Морфологическая характеристика ранних стадий репаративного процесса при замещении дефектов костей черепа методом дозированной дистракции. (сообщение II) / В.И. Шевцов, А.М. Чиркова, А.Н. Дьячков / / Вестн. травм. и ортопедии. – 2000. – № 1. – С. 61–66.
53. Шишацкая, Е.И. Клеточные матриксы из резорбируемых полигидроксиалканоатов / Е.И. Шишацкая / / Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. – 2007. – Т. 2, № 2. – С. 68–75.
54. Щепкина, Е.А. Трансплантация аутогенных мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток на деминерализованном костном матриксе при лечении ложных суставов длинных трубчатых костей / Е.А. Щепкина, П.В. Кругляков, Л.Н. Соломин и др. / / Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. – 2007. – Т. 2, № 3. – С. 67–74.
55. Щепкина, Е.А. Трансплантация аутологичных мезенхимальных стволовых клеток на деминерализованном матриксе при пластике ложных суставов и костных дефектов / Е.А. Щепкина, П.В. Кругляков, Л.Н. Соломин и др. / / Материалы симпозиума «Актуальные вопросы тканевой и клеточной трансплантологии». Москва, ЦИТО 25–26 апреля 2007. – С. 113.
56. Ahrendt, G. Angiogenic growth factors : a review for tissue engineering / G. Ahrendt, D.E. Chickering, J.P. Ranieri / / Tissue Eng. – 1998. – Vol. 2. – P. 117–130.
57. Aimetti, M. Clinical and radiographic evaluation of the effects of guided tissue regeneration using resorbable membranes after extraction of impacted mandibular third molars / M. Aimetti, E. Pigella, F. Romano / / Int. J. Periodontics Restorative Dent. – 2007. – Vol. 27, № 1. – P. 51–59.
58. Archer, C.W. Isolation, characterization, and culture of soft connective tissue stem/progenitor cells / C.W. Archer, S. Old, S. Redman et al. / / Culture of human stem cells. Ed. Freshney R.I., Stacey G.N., Auerbach J.M. – Wiley–Interscience, A John Wiley & Sons Inc., 2007. – P. 187–206.
59. Arkudas, A. Axial prevascularization of porous matrices by an arteriovenous loop promotes survival and differentiation of transplanted autologous osteoblasts / A. Arkudas, J. Beier, K. Heidner et al. / / Tissue Eng. – 2007. – Vol. 13, № 7. – P. 1549–1560.
60. Bancroft, G.N. Fluid flow increases mineralized matrix deposition in 3D perfusion culture of marrow stromal osteoblasts in a dose–dependet manner / G.N. Bancroft, V.I. Sikavitsas, J. van den Dolder et al. / / Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2002. – Vol. 99, № 20. – P. 12600–12605.
61. Bernard, S.L .The use of coralline hydroxyapatite in a «biocomposite» free flap / S.L. Bernard , G.J. Picha / / Plast. Reconstr. Surg. – 1991. – Vol. 87, № 1. – P. 96–105.
62. Bianco, P. Postnatal Skeletal Stem Cells / P. Bianco, S.A. Kuznetsov, M. Riminucci, P.G. Robey / / Methods In Enzymology. Editors–In–Chief J.N. Abelson, M.I. Simon. Founding Editors S.P. Colowick, N.O. Kaplan. – 2006. – Vol. 419. – P. 117–148.
63. Bidic, S.M.S. Rabbit Calvarial Wound Healing by Means of Seeded Caprotite Scaffolds / S.M.S. Bidic, J.W. Calvert, K. Marra et al. / / J. Dent. Res. – 2003. – Vol. 82, № 2. – P. 131–135.
64. Binderman, I. Formation of bone tissue in culture from isolated bone cells / I. Binderman, D. Duksin, A. Harell et al. / / J. Cell Biol. – 1974. – Vol. 61, № 2. – P. 427–439.
65. Bloch, K. Functional activity of insulinoma cells (INS–1E) and pancreatic islets cultured in agarose cryogel sponges / K. Bloch, V.I. Lozinsky, I.Y. Galaev et al. / / J. Biomed. Mater. Res. A. – 2005. – Vol. 15, № 4. – P. 802–809.
66. Bogan, B.D. Patent US 600 1352 USA, CRN 11/08. 31.03.1997. Resurfacing cartilage defects with chondrocytes proliferated without differentiation using platelet–derived growth factor / Bogan B.D., Schwartz Z. ; 14.12.1999, 424/93. 7.
67. Brittberg, M. Treatment of deep cartilage defects in the knee with autologous chondrocyte transplantation / M. Brittberg, A. Lindahl, A. Nilsson et al. / / N. Engl. J. Med. – 1994. – Vol. 331, № 14. – P. 889–895.
68. Brittberg, M. Autologous chondrocyte transplantation / M. Brittberg / / Clin. Orthop. Relat. Res. – 1999. – Vol. 367 (Suppl). – P. S147–S155.
69. de Bruijn, J.D. Bone induction by implants coated with cultured osteogenic bone marrow cells / J.D. de Bruijn, I. van den Brink, S. Mendes et al. / / Adv. Dent. Res. – 1999. – Vol. 13. – P. 74–81.
70. Butler, D.L. Functional tissue engineering for tendon repair : A multidisciplinary strategy using mesenchymal stem cells, bioscaffolds, and mechanical stimulation / D.L. Butler, N. Juncosa–Melvin, G.P. Boivin et al. / / J. Orthop. Res. – 2007. – [Epub. ahead of print].
71. Caplan, A.I. Mesenchymal stem cells : building blocks for molecular medicine in the 21st century / A.I. Caplan, S.P. Bruder / / TRENDS in Mol. Med. – 2001. – Vol. 7, № 6. – P. 259–264.
72. Casabona, F. Prefabricated engineered bone flaps : an experimental model of tissue reconstruction in plastic surgery / F. Casabona, I. Martin, A. Muraglia et al. / / Plast. Reconstr. Surg. – 1998. – Vol. 101, № 3. – P. 577–581.
73. Chen, F. Marrow–derived osteoblasts seeded into porous natural coral to prefabricate a vascularised bone graft in the shape of a human mandibular ramus : experimental study in rabbits / F. Chen, S. Chen, K. Tao et al. / / Br. J. Oral. Maxillofac. Surg. – 2004. – Vol. 42, № 6. – P. 532–537.
74. Chen, J.M. Autologous tenocyte therapy using porcine–derived bioscaffolds for massive rotator cuff defect in rabbits / J.M. Chen, C. Willers, J. Xu et al. / / Tissue Eng. – 2007. – Vol. 13, № 7. – P. 1479–1491.
75. Curtis, A.S. An in vivo microfabricated scaffold for tendon repair / A.S. Curtis, C.D. Wilkinson, J. Crossan et al. / / Eur. Cell. Matr. – 2005. – Vol. 11, № 9. – P. 50–57.
76. Darling, E.M. Rapid phenotypic changes in passaged articular chondrocyte subpopulations / E.M. Darling, K.A. Athanasion / / J. Orthop. Res. – 2005. – Vol. 23, № 2. – P. 425–432.
77. Dines, J.S. Tissue engineering and rotator cuff tendon healing / J.S. Dines, D.A. Grande, D.M. Dines / / J. Shoulder Elbow Surg. – 2007. – Vol. 16, № 5 (Suppl). – P. 204–207.
78. Doljanski, L. Dauerzüchtung von Knochen und Periostgewebe / L. Doljanski / / Z. Zellforsch. – 1929. – Bd. 8. – S. 789–800.

79. Dominici, M. Hematopoietic cells and osteoblasts are derived from a common marrow progenitor after bone marrow transplantation / M. Dominici, C. Pritchardь, J.E. Garlits et al. / / Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2004. – Vol. 101, № 32. – P. 11761–11766.
80. Dominici, M. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement / M. Dominici, K. Le Blanc, I. Mueller et al. / / Cytotherapy. – 2006. – Vol. 8, № 4. – P. 315–317.
81. Dorotka, R. Mid-term results of autologous chondrocyte transplantation in knee and ankle. A one- to six-year flow-up study / R. Dorotka, R. Kotz, S. Tratting, S. Nehrer / / Z. Rheumatol. – 2004. – Vol. 63, № 5. – P. 385–392.
82. Dorotka, R. Repair of articular cartilage defects treated by microfracture and a three-dimensional collagen matrix / R. Dorotka, U. Windberger, K. Macfelda et al. / / Biomaterials. – 2004. – Vol. 26. – P. 3617–3629.
83. Eberli, D. Tissue Engineering Using Adult Stem Cells / D. Eberli, A. Atala / / Methods In Enzymology. Editors-In-Chief J.N. Abelson, M.I. Simon. Founding Editors S.P. Colowick, N.O. Kaplan. – 2006. – Vol. 420. – P. 287–302.
84. Ecarot-Charrier, B. Osteoblasts isolated from mouse calvaria initiate matrix mineralization in culture / B. Ecarot-Charrier, F.H. Glorieux, M. van der Rest, G. Pereira / / J. Cell Biol. – 1983. – Vol. 96, № 3. – P. 639–643.
85. Eppley, B.L. Resorbable PLLA-PGA plate and screw fixation in pediatric craniofacial surgery : clinical experience in 1883 patients / B.L. Eppley, L. Morales, R. Wood et al. / / Plast. Reconstr. Surg. – 2004. – Vol. 114, № 4. – P. 850–856.
86. Fell, H.B. Experiments on the differentiation in vitro of cartilage and bone. Part I / H.B. Fell / / Archiv fьr experimentelle Zellforchung besonders Gewebezьchtung (explantation). – 1928/1929. – Bd. VII. – S. 390–411.
87. Fell, H.B. Osteogenesis in vitro / H.B. Fell / / Archiv fьr experimentelle Zellforsch. – 1931. – Bd. 11. – S. 245–252.
88. Folkman, J. Self-regulation of growth in three dimensions / J. Folkman, M. Hochberg / / J. Exp. Med. – 1973. – Vol. 138. – P. 745–753.
89. Gangji, V. Treatment of Osteonecrosis of the Femoral Head with Implantation of Autologous Bone-Marrow Cells / V. Gangji, J.-P. Hauzeur, C. Matos et al. / / J. Bone and Joint Surg. (Am.). – 2004. – Vol. 86. – P. 1153–1160.
90. Gangji, V. Treatment of Osteonecrosis of the Femoral Head with Implantation of Autologous Bone-Marrow Cells / V. Gangji, J.-P. Hauzeur / / J. Bone and Joint Surg. (Am.). – 2005. – Vol. 87. – P. 106–112.
91. Grayson, W.L. Human mesenchymal stem cells tissue development in 3D PET matrices / W.L. Grayson, T. Ma, B. Bunnell / / Biotechnol. Prog. – 2004. – Vol. 20, № 3. – P. 905–912.
92. Haddo, O. The use of chondrogide membrane in autologous chondrocyte implantation / O. Haddo, S. Mahroof, D. Higgs et al. / / Knee. – 2004. – Vol. 11, № 1. – P. 51–55.
93. Hankemeier, S. Tissue engineering of tendons and ligaments by human bone marrow stromal cells in a liquid fibrin matrix in immunodeficient rats : Results of a histologic study / S. Hankemeier , M. van Griensven, M. Ezechieli et al. / / Arch. Orthop. Trauma Surg. – 2007. – Vol. 127, № 9. – P. 815–821.
94. Hayes, A.J. Macromolecular organisation and in vitro growth characteristics of scaffold-free neocartilage grafts / A.J. Hayes, A. Hall, L. Brown et al. / / J. Histochem. Cytochem. – 2007. – Vol. 55, № 8. – P. 853–866.
95. Hokugo, A. Prefabrication of vascularized bone graft using guided bone regeneration / A. Hokugo, Y. Kubo, Y. Takahashi / / Tissue Eng. – 2004. – Vol. 10, № 7–8. – P. 978–986.
96. Hong, L. Tissue-engineered Rabbit Cranial Suture from Autologous Fibroblasts and BMP2 / L. Hong, J.J. Mao / / J. Dent. Res. – 2004. – Vol. 83, № 10. – P. 751–756.
97. Horas, U. Osteochondral transplantation versus autogenous chondrocyte transplantation. A prospective comparative clinical study / U. Horas, R. Schnettler, D. Pelinkovic et al. // Chirurg. – 2000. – Vol. 71, № 9. – P. 1090–1097.
98. Horwitz, E.M. Isolated allogeneic bone marrow-derived mesenchymal cells engraft and stimulate growth in children with osteogenesis imperfect : Implications for cell therapy of bone / E.M. Horwitz, P.L. Gordon, W.K. Koo et al. / / Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2002. – Vol. 99, № 13. – P. 8932–8937.
99. Horwitz, E.M. Clarification of the nomenclature for MSC : The International Society for Cellular Therapy position statement / E.M. Horwitz, K. Le Blanc, M. Dominici et al. // Cytotherapy. – 2005. – Vol. 7, № 5. – P. 393–395.
100. Horwitz, E.M. Clinical responses to bone marrow transplantation in children with severe osteogenesis imperfect / E.M. Horwitz, D.J. Prockop, P.L. Gordon et al. / / Blood. – 2001. – Vol. 97, № 5. – P. 1227–1231.
101. Hui, J.H. Treatment of chondral lesions in advanced oateochondritis dissecans : a comparative study of the efficacy of chondrocytes, mesrenchymal stem cells, periosteal graft, and mosaicplasty (osteochondral autograft) in animal models / J.H. Hui, F. Chen, A. Thambyah, E.H. Lee / / J. Pediatr. Orthop. – 2004. Vol. 24, № 4. – P. 427–433.
102. Katsube, K. Repair of articular cartilage defects with cultured chondrocytes in Atelocollagen gel. Comparison with cultured chondrocytes in suspension / K. Katsube, M. Ochi, Y. Uchio et al. / Arch. Orthop. Trauma. Surg. – 2000. – Vol. 120, № 3/4. – P. 121–127.
103. Kavalkovich, K. Patent US. PCT/US99/27129. Alginate layer for chondrogenic differentiation of human mesenchymal stem cells / Kavalkovich K., Boynton R., Murphy M., Barry F. ; 25.05.2000.
104. Khouri, R.K. Prefabrication of composite free flaps through staged microvascular transfer : an experimental and clinical study / R.K. Khouri, J. Upton, W.W. Shaw / / Plast. Reconstr. Surg. – 1991. – Vol. 87. – P. 108–115.
105. Kim, W.S. Tissue Engineered Vascularized Bone Formation Using in vivo Implanted Osteoblast-Polyglycolic acid Scaffold / W.S. Kim, H.K. Kim / / J. Korean Med. Sci. – 2005. – Vol. 20. – P. 479–482
106. Kneser, U. Engineering of vascularized transplantable bone tissues : induction of axial vascularization in an osteoconductive matrix using an arteriovenous loop / U. Kneser, E. Polykandriotis, J. Ohnolz et al. / / Tissue Eng. – 2006. – Vol. 12. – P. 1721–1731.
107. Koulalis, D. Autologous chondrocyte transplantation for osteochondritis dissecans of the talus / D. Koulalis, W. Schultz, M. Heyden / / Clin. Orthop. – 2002. – Vol. 395. – P. 186–192.
108. Krampera, M. Induction of neural-like differentiation in human mesenchymal stem cells derived from bone marrow, fat, spleen and thymus / M. Krampera, S. Marconi, A. Pasini et al. / / I. Bone. – 2007. – Vol. 40, № 2. – P. 382–390.
109. Krebsbach, P.H. Dental and Skeletal Stem Cells : Potential Cellular Therapeutics for Craniofacial Regeneration / P.H. Krebsbach, P.G. Robey / / J. Dent. Edu. – 2002. – Vol. 66, № 6. – P. 766–773.
110. Kryger, G.S. A comparison of tenocytes and mesenchymal stem cells for use in flexor tendon tissue engineering / G.S. Kryger, A.K. Chong , M. Costa et al. / / J. Hand Surg. (Am.). – 2007. Vol. 32, № 5. – P. 597–605.
111. Kuznetsov, S.A. Circulating skeletal stem cells / S.A. Kuznetsov, M.H. Mankani, S. Gronthos et al. // J. Cell Biol. – 2001. – Vol. 153, № 5. – P. 1133–1139.
112. Kuznetsov, S.A. A look at the history of bone marrow stromal cells / S.A. Kuznetsov, P.G. Robey / / Graft. – 2000. – Vol. 3, № 6. – P. 278–283.
113. Kuznetsov, S.A. Circulating Connective Tissue Precursors : Extreme Rarity in Humans and Chondrogenic Potential in Guinea Pigs / S.A. Kuznetsov, M.H. Mankani, A.I. Leet et al. / / Stem Cells. – 2007. – Vol. 25, № 7. – P. 1830–1839.
114. Langer, R. Tissue engineering / R. Langer, J.P. Vacanti / / Science. – 1993. – Vol. 260, № 5110. – P. 920–926.
115. Larson, B.L. Human Multipotent Stromal Cells (MSCs) Undergo Sharp Transition from Division to Development in Culture / B.L. Larson, J. Ylöstalo, D.J. Prockop / / Stem Cells. – 2007. [Epub. ahead of print].
116. Lendeckel, S. Autologous stem cells (adipose) and fibrin glue used to treat widespread traumatic calvarial defects : case report / S. Lendeckel, A. Jödicke, P. Christophis et al. / / J. Cranio-Maxillofac. Surg. – 2004. – Vol. 32, № 6. – P. 370–373.
117. Li, Z. Repair of mandible defect with tissue engineering bone in rabbits / Z. Li, Z.-B. Li / / ANZ J. Surg. – 2005. – Vol. 75, № 11. – P. 1017–1021.
118. Lin, Y. Molecular and cellular characterization during chondrogenic differentiation of adipose tissue-derived stromal cells in vitro and cartilage formation in vitro / Y. Lin, E. Luo, X. Chen et al. / / J. Cell Mol. Med. – 2005. – Vol. 9, № 4. – P. 929–939.
119. Liu, W. Mesenchymal Stem Cells and Tissue Engineering / W. Liu, L. Cui, Y. Cao / / Methods In Enzymology. Editors-In-Chief J.N. Abelson, M.I. Simon. Founding Editors S.P. Colowick, N.O. Kaplan. – 2006. – Vol. 420. – P. 339–361.
120. Livingston, T. In vivo evaluation of a bioactive scaffold for bone tissue engineering / T. Livingston, P. Ducheyne, J. Garino / / J. Biomed. Mater. Res. – 2002. – Vol. 62, № 1. – P. 1–13.
121. Logeart-Avramoglou, D. Engineering bone : challenges and obstacles / D. Logeart-Avramoglou, F. Anagnostou, R. Bizios, H. Petite / / J. Cell. Mol. Med. – 2005. – Vol. 9, № 1. – P. 72–84.
122. Lokmic, Z. An arteriovenous loop in a protected space generates a permanent, highly vascular, tissue-engineered construct / Z. Lokmic, F. Stillaert, W. Morrison et al. / / FASEB J. – 2007. – Vol. 21, № 2. – P. 511–522.
123. Lozinsky, V.I. Polymeric cryogels as promising materials of biotechnological interest / V.I. Lozinsky, I.Y. Galaev, F.M. Plieva et al. / / Trends Biotechnol. – 2003. – Vol. 21, № 10. – P. 445–451.
124. Majima, T. Chitosan-based hyaluronan hybrid polimer fibre for ligament and tendon tissue engineering / T. Majima, T. Irie, N. Sawaguchi et al. / / Proc. Inst. Mech. Eng. (H). – 2007. – Vol. 221, № 5. – P. 537–546.
125. Mankani, M.H. Pedicled bone flap formation using transplanted bone marrow stromal cells / M.H. Mankani, P.H. Krebsbach, K. Satomura et al. / / Arch. Surg. – 2001. – Vol. 136, № 3. – P. 263–270.
126. Mankani, M.H. Canine Cranial Reconstruction Using Autologous Bone Marrow Stromal Cells / M.H. Mankani, S.A. Kuznetsov, B. Shannon et al. Am. J. Pathol. – 2006. – Vol. 168. – P. 542–550.
127. Mankani, M.H. In vivo bone formation by Human marrow stromal cells: Reconstruction of the mouse calvarium and mandible / M.H. Mankani, S.A. Kuznetsov, R.M. Wolfe et al. / / Stem cells. – Vol. 24, № 9. – P. 2140–2149.
128. Marion N.W. Bone Reconstruction with Bone Marrow Stromal Cells / Marion N.W., Mao J.J. / / Methods In Enzymology. Editors-In-Chief J.N. Abelson, M.I. Simon. Founding Editors S.P. Colowick, N.O. Kaplan. – 2006. – Vol. 420. – P. 362–380.
129. Marlovits, S. Autologous chondrocyte transplantation for the treatment of articular cartilage defects inf the knee joint. Techniques and results / S. Marlovits, F. Kutscha-Lissberg, S. Aldrian, et al. / / Radiologe. – 2004. – Vol. 44, № 8. – P. 63–72.
130. Mauney, J.R. Osteogenic Differentiation of Human Bone Marrow Stromal Cells on Partially Demineralized Bone Scaffolds in vitro / J.R. Mauney, J. Blumberg, M. Pirun et al. / / Tissue engineering. – 2004. – Vol. 10, № 1–2. – P. 81–92.
131. Mauney, J.R. In vitro and in vivo evaluation of differentially demineralized cancellous bone scaffolds combined with human bone marrow stromal cells for tissue engineering / J.R. Mauney, C. Jaquie, V. Volloch et al. / / Biomat. – 2005. – Vol. 26. – P. 3173–3185.
132. Mauney, J.R. Mechanical stimulation promotes osteogenic differentiation of human bone marrow stromal cells on 3D partially demineralized bone scaffolds in vitro / J.R. Mauney, S. Sjostrom, J. Blumberg / / Calcif. Tissue Int. – 2004. – Vol. 74, № 5. – P. 458–468.
133. Meisel, H.J. Clinical experience in cell-based therapeutics : disc chondrocyte transplantation A treatment for degenerated or damaged intervertebral disc / H.J. Meisel, V. Siodla, T. Ganey et al. / / Biomol. Eng. – 2007. – Vol. 24, № 1. – P. 5–21.

134. Melamed, E. Restoration of arthritic cartilage defects using autologous chondrocytes transplantation is superior to cartilage-paste graft in rabbit / E. Melamed, D. Robinson, N. Halperin, Z. Nevo / / J. Knee Surg. – 2004. – Vol. 17, № 1. – P. 6-12.
135. Minenna, L. Adjunctive effect of a polylactide/polyglycolide copolymer in the treatment of deep periodontal intra-osseous defects : a randomized clinical trial / L. Minenna, F. Herrero, M. Sanz, L. Trombelli / /J. Clin. Periodontol. – 2005. – Vol. 32, № 5. – P. 456-461.
136. Mizuno, M. Tissue engineering of a composite intervertebral disc / M. Mizuno, A.K. Roy, J. Vacanti et al. / / Abstract presented at the 47th Annual Meeting of the Orthopaedic Research Society. San Francisco, 2001. – Abstract № 78.
137. Mwale, F. Biological evaluation of chitosan salts cross-linked to genipin as a cell scaffold for disk tissue engineering / F. Mwale, M. Iordanova, C.N. Demers et al. / / Tissue. Eng. – 2005. – Vol. 11, № ×. – P. 130-140.
138. Nakasa, T. Prefabrication of vascularized bone graft using a combination of fibroblast growth factor-2 and vascular bundle implantation into a novel interconnected porous calcium hydroxyapatite ceramic / T. Nakasa, O. Ishida, T. Sunagawa et al. / / J. Biomed. Mater. Res. A. – 2005. – Vol. 7, № 2. – P. 350-355.
139. Nefussi, J.R. Mineralization in vitro of matrix formed by osteoblasts isolated by collagenase digestion / J.R. Nefussi, M.L. Boy-Lefevre, H. Boulekbache, N. Forest / / Different. – 1985. – Vol. 29, № 2. – P. 160-168.
140. Nomura, T. Nucleus pulposus allograft retards intervertebral disc degeneration / T. Nomura, J. Mochida, M. Okuma et al. / / Clin. Orthop. – 2001. – Vol. 389. – P. 94-101.
141. Ochi, M. Articular cartilage repair using tissue engineering technique – novel approach with minimally invasive procedure / M. Ochi, N. Adachi, H. Nobuto et al. / / Artig. Organs. – 2004. – Vol. 28, № 1. – P. 28-32.
142. Okuma, M. Reinsertion of stimulated nucleus pulposus cells retards intervertebral disc degeneration : An in vitro and in vivo experimental study / M. Okuma, J. Mochida, K. Nishimura et al. / / J. Orthop. Res. – 2000. – Vol. 18, № 6. – P. 988-997.
143. Oshima, Y. Fate of transplanted bone-marrow-derived mesenchymal cells during osteochondral repair using transgenic rats to simulate autologous transplantation / Y. Oshima, N. Watanabe, K. Matsuda et al. / / Osteoarthritis Cartilage. – 2004. – Vol. 12, № 10. – P. 811-817.
144. Owen, M.E. Stromal stem cells : marrow-derived osteogenic precursors M.E. Owen, A.J. Friedenstein / / Cell and molecular biology of vertebrate hard tissues. Proceedings of a symposium held at the Ciba Foundation. London. Oct. 13-15, 1987. – London : John Wiley & Sons. 1988. – P. 42-53.
145. Oyajobi, B.O. Isolation and characterization of human clonogenic osteoblast progenitors immunoselected from fetal bone marrow stroma using STRO-1 monoclonal antibody / B.O. Oyajobi, A. Lomri, M. Hott // J. Bone Miner. Res. – 1999. – Vol. 14, № 3. – P. 351-361.
146. Peck, W.A. Bone Cells : Biochemical and Biological Studies after enzymatic Isolation / W.A. Peck, S.J. Jr Birge, S.A. Fedak / / Science. – 1964. – Vol. 146. – P. 1476-1477.
147. Peister, A. Adult stem cells from bone marrow (MSCs) isolated from different strains of inbred mice vary in surface epitopes, rates of proliferation, and differentiation potential / A. Peister, J.A. Mellad, B.L. Larson et al. / / Blood. – 2004. – Vol. 103, № 5. – P. 1662-1668.
148. Peterson, L. Articular surface injuries and transplantation of chondrocytes : (Pap.) Spec. Day Eur. Fed. Nat. Assoc. Sports Traumatol. (EFOST). Munich. 4–7 Juli, 1995 / L. Peterson / / Sports Exercise and Injury. – 1997. – № 2. – P. 94-95.
149. Pittenger, M.F. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells / M.F. Pittenger, A.M. Mackay, S.C. Beck et al. / / Science. – 1999. – Vol. 284, № 5411. – P. 143-147.
150. Pittenger, M.F. Human mesenchymal stem cells : progenitor cells for cartilage, bone, fat and stroma / M.F. Pittenger, J.D. Mosca, K.R. McIntosh / / Curr. Top. Microbiol. Immunol. – 2000. – Vol. 251. – P. 3-11.
151. Polykandriotis, E. Autonomously vascularized cellular constructs in tissue engineering : opening a new perspective for biomedical science / E. Polykandriotis, A. Arkudas, R. Horch et al. / / J. Cell. Mol. Med. – 2007. – Vol. 11, № 1. – P. 6-20.
152. Ponticiello, M.S. Gelatin-based resorbable sponge as a carrier matrix for human mesenchymal stem cells in cartilage regeneration therapy / M.S. Ponticiello, R.M. Schinagl, S. Kadiyala, F.P. Barry et al. / / J. Biomed. Mater. Res. – 2000. – Vol. 52, № 2. – P. 246-255.
153. Qi, X. Comparative study on seeding methods of human bone marrow stromal cells in bone tissue engineering / X. Qi, J. Liu, Y. Chang, X. Xu / / Chinese Med. J. – 2004. – Vol. 117, № 4. – P. 576-580.
154. Reddi, A.H. Bone morphogenetic proteins, bone marrow stromal cells, and mesenchymal stem cells. Maureen Owen revisited / A.H. Reddi / / Clin. Orthop. Relat. Res. – 1995. – № 313. – P. 115-119.
155. Reiter, I. Spontaneous Differentiating Primary Chondrocytic Tissue Culture : A Model for Enchondral Ossification / I. Reiter, M. Tzukerman, G. Maor / / Bone. – 2002. – Vol. 31, № 2. – P. 333-339.
156. Riminucci, M. Building bone tissue : matrices and scaffolds in physiology and biotechnology / M. Riminucci, P. Bianco / / Braz. J. Med. Biol. Res. – 2003. – Vol. 36, № 8. – P. 1027-1036.
157. Robinson, D. Auto-logous chondrocyte transplantation for reconstruction of isolated joint defects : the Assaf Harofeh experience / D. Robinson, H. Ash, D. Aviezer / / Isr. Med. Assoc. J. – 2000. – Vol. 2, № 4. – P. 290-295.
158. Schoeters, G.E. Mineralization of adult mouse bone marrow in vitro / G.E. Schoeters, L. de Saint-Georges, R. van den Heuvel, O. Vanderborght / / Cell Tissue Kinet. – 1988. – Vol. 21, № 5. – P. 363-374.
159. Shang, Q. Tissue-engineered bone repair of sheep cranial defects with autologous bone marrow stromal cells / Q. Shang, Z. Wang, W. Liu et al. / / J. Craniofac. Surg. – 2001. – Vol. 12, № 6. – P. 586-593.
160. Shirasawa, S. In vitro chondrogenesis of human synovium-derived mesenchymal stem cells : optimal condition and comporison with bone marrow-derived cells / S. Shirasawa, I. Sekiya, Y. Sakaquchi et al. / / J. Cell Biochem. – 2006. – Vol. 97, № 1. – P. 84-97.
161. Sonoyama, W. Multipotent stem cells in dental pulp / W. Sonoyama, T. Yamaza, S. Gronthos, S. Shi / / Culture of human stem cells. Ed. Freshney R.I., Stacey G.N., Auerbach J. M. Wiley-Interscience. A John Wiley & Sons, Inc., 2007. – P. 187-206.
162. Steck, E. Induction of intervertebral disc-like cells from adult mesenchymal stem cells / E. Steck, H. Bertram, R. Abel et al. Stem Cells. – 2005. – Vol. 23. – P. 403-411.
163. Studitsky, A.N. Ьber das Wachstum des Knochengewebes und Periostis in vitro und auf der Allantois / A.N. Studitsky / / Archiv für experimentelle Zellforschung besonders Gewebezьchtung (Explantation). – 1933. – Bd. XIII. – S. 390-406.
164. Sudo, H. In vitro differentiation and calcification in a new clonal osteogenic cell line derived from newborn mouse calvaria / H. Sudo, H.A. Kodama, Y. Amagai et al. / / J. Cell. Biol. – 1983. – Vol. 96, № 1. – P. 191-198.
165. Terheyden, H. Mandibular reconstruction with prefabricated vascularized bone grafts using recombinant human osteogenic protein-1: an experimental study in miniature pigs. Part II : transplantation / H. Terheyden, P. Warnke, A. Dunsche et al. / / Int. J. Oral. Maxillofac. Surg. – 2001. – Vol. 30, № 6. – P. 469-478.
166. Tholpady, S.S. Mesenchymal stem cells from rat visceral fat exhibit multipotential differentiation in vitro / S.S. Tholpady, A.J. Katz, R.C. Ogle / / Anat. Rec. A Discov. Mol. Cell. Evol. Biol. – 2003. – Vol. 272, № 1. – P. 398-402.
167. Tischer, T. Tissue engineering of the anterior cruciate ligament : a new method using acellularized tendon allografts and autologous fibroblasts / T. Tischer, S. Vogt, S. Aryee et al. / / Arch. Orthop. Trauma Surg. – 2007. – Vol. 127, № 9. – P. 735-741.
168. Turksen, K. Forskolin has biphasic effects on osteoprogenitor cell differentiation in vitro / K. Turksen, A.E. Grigoriadis, J.N. Heersche, J.E. Aubin / / J. Cell. Physiol. – 1990. – Vol. 142, № 1. – P. 61-99.
169. Vacanti, C.A. Replacement of an avulsed phalanx with tissue-engineered bone / C.A. Vacanti, L.J. Bonassar, M.P. Vacanti, J. Shufflebarger / / N. Engl. J. Med. – 2001. – Vol. 344. – P. 1511-1514.
170. Vacanti, J.P. Editorial : tissue engineering : a 20-year personal perspective / J.P. Vacanti / / Tissue Eng. – 2007. – Vol. 13, № 2. – P. 231-232.
171. Wakitani, S. Human autologous culture expanded bone marrow mesenchymal cell transplantation for repair of cartilage defects in osteoarthritic knees / S. Wakitani, K. Imoto, T. Yamamoto et al. / / Osteoarthritis Cartilage. – 2002. – Vol. 10, № 3. – P. 199-206.
172. Wakitani, S. Autologous bone marrow stromal cell transplantation for repair of full-thickness articular cartilage defects in human patellae : two case reports / S. Wakitani, T. Mitsuoka, N. Nakamura et al. / / Cell. Transplant. – 2004. – Vol. 13, № 5. – P. 595-600.
173. Wakitani, S. Myogenic cells derived from rat bone marrow mesenchymal stem cells exposed to 5-azacytidine / S. Wakitani, T. Saito, A.I. Caplan / / Muscle Nerve. – 1995. – Vol. 18, № 12. – P. 1417-1426.
174. Wang, G. Influence of different mechanical environments on repair of cartilage defect with rabbit marrow mesenchymal stem cells / G. Wang, Y. Liu, Y.X. Shan / Zhongguo Xiu Chong Jian Wai Ke Za Zhi. – 2004. – Vol. 18, № 2. – P. 96-99.
175. Wang, L. Heterogeneity of engrafted bone-lining cells after systemic and local transplantation / L. Wang, Y. Liu, Z. Kalajzic et al. / / Blood. 2005. – Vol. 106, № 10. – P. 3650-3657.
176. Wang X., Li F., Niyibizi C. Progenitors systemically transplanted into neonatal mice localize to areas of active bone formation in vivo : implications of cell therapy for skeletal diseases / X. Wang, F. Li., C. Niyibizi / / Stem Cells. – 2006. – Vol. 24, № 8. – P. 1869-1878.
177. Warnke, P.H. Growth and transplantation of a custom vascularised bone graft in a man / P.H. Warnke, I.N. Springer, J. Wiltfang / / Lancet. – 2004. – Vol. 364, № 9436. – P. – P. 766-770.
178. Warnke, P.H. Man as living bioreactor : fate of an exogenously prepared customized tissue-engineered mandible / P.H. Warnke, J. Wiltfang, I. Springer et al. / / Biomat. – 2006. – Vol. 27, № 17. – P. 3163-3167.
179. Whitlock, P.W. A naturally derived, cytocompatible, and architecturally optimized scaffold for tendon and ligament regeneration / P.W. Whitlock, T.L. Smith, G.G. Poehling / / Biomat. – 2007. – Vol. 28, № 29. – P. 4321-4329.
180. Yao, J. The effect of bioactive glass content on synthesis and bioactivity of composite poly (lactic-co-glycolic acid)/bioactive glass substrate for tissue engineering / J. Yao, S. Radin, P.S. Leboy, P. Ducheyne / Biomat. – 2005. – Vol. 26, № 14. – P. 1935-1943.
181. Zhang, Z. The tissue engineering research on synovialization of non-synovial membrane tendon / Z. Zhang, Z. Liu, S. Zhong et al. / / Sheng Wu Yi Xue Gong Cheng Xue Za Zhi. – 2001. – Vol. 18, № 1. – P. 1-4.