

ВОССТАНОВЛЕНИЕ КОСТНОЙ ТКАНИ В МЕСТЕ КРИТИЧЕСКОГО ДЕФЕКТА МЫШЕЛКОВ БЕДРА КРОЛИКА С ПОМОЩЬЮ БИОРЕЗОРБИРУЕМЫХ КАЛЬЦИЕВЫХ НОСИТЕЛЕЙ И МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ МЕЗЕНХИМНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК

В.Е. Мамонов, И.Н. Шипунова, Д.А. Свиная, Н.В. Проскурина,
М.М. Рясенцев, А.Г. Чемис, Е.Н. Гласко, Н.И. Дризе

Гематологический научный центр РАМН, Москва

В экспериментах на кроликах проведено исследование эффективности совместного применения аутологичных костномозговых мультипотентных мезенхимных стромальных клеток (ММСК) и биорезорбируемых кальциевых носителей для восстановления костной ткани в месте критического дефекта губчатой кости дистального отдела бедра. Разработана система культивирования ММСК кролика. После 2–3 пассажей ММСК помещали на биорезорбируемые кальциевые носители и имплантировали в область предварительно созданного дефекта диаметром 6 мм. Показано, что имплантация в место дефекта культивированных ММСК в сочетании с биорезорбируемыми носителями приводит к восполнению дефекта губчатой кости в течение 6 мес после операции. Полученные данные открывают большие перспективы использования сочетания ММСК и соответствующих носителей в тканевой инженерии для лечения обширных повреждений скелета.

Ключевые слова: дефект мышелков бедра, мультипотентные мезенхимные стромальные клетки, кальциевые носители, остеогенная дифференцировка.

Restoration of Bone Tissue in Femoral Condyles' Critical Defect in Rabbits Using Bioresorbable Calcium Carriers and Multipotent Mesenchymal Stromal Cells

V.E. Mamonov, I.N. Shipunova, D.A. Svinayova, N.V. Proskurina, M.M. Ryashentsev,
A.G. Chemis, F.N. Glasko, N.I. Drize

Study of the efficacy of autologous bone marrow multipotent mesenchymal stromal cells (MMSC) with bioresorbable calcium carriers for the restoration of bone tissue in the site of critical distal femur spongy bone defect was performed in rabbits. System of rabbit's MMSC cultivation has been elaborated. After 2–3 passages MMSC were placed on bioresorbable calcium carriers and implanted into the site of preliminary created defect with 6 cm diameter. It was shown that implantation of MMSC in combination with bioresorbable carriers into the defect resulted in filling of spongy bone defect within 6 months after operation. The data obtained open promising perspectives for the application of MMSC in combination with appropriate carriers in tissue engineering for the treatment of vast skeleton injuries.

Key words: femoral condyle defect, multipotent mesenchymal stromal cells, calcium carriers, osteogenous differentiation.

Трудности восстановления костной ткани при больших ее дефектах связаны с механической нестабильностью используемых трансплантатов, слабой миграцией клеток костного мозга и образованием фиброзной ткани [17]. Для улучшения репарации при остеохондральных повреждениях были испробованы различные подходы, включая периостальное и периостальное ремоделирование и трансплантацию хондроцитов и костномозговых мезенхимных клеток [18, 19]. Однако ни один подход пока не дал стабильных повторяемых результатов. Ткани восстанавливались на ограниченное время, и в процессе длительных наблюдений снова выявлялись дегенеративные изменения [5].

Аутоотрансплантаты сегодня являются золотым стандартом для заполнения незаживающих дефектов кости. Однако их использование ограничено

из-за болезненности получения, риска инфицирования и повреждения расположенных рядом анатомических структур. С конца XX века для реконструкции скелета широко применяются аллотрансплантаты и минеральные заместители костной ткани. Каждый из вариантов имеет свои достоинства и свои слабые стороны. К последним относятся: иммунные реакции, риск инфекции, недостаточная стабильность, сложность хранения, а также ограниченная доступность трансплантатов [1, 8, 16].

Перспективной стратегией для регенеративной медицины является использование тканевой инженерии на основе аутологичных мезенхимных клеток и резорбируемых костезамещающих биоматериалов. Биоматериалы должны обеспечивать начальную механическую стабильность и резорбироваться в процессе заживления *in vivo* [9, 10].

Для выяснения возможности использования мезенхимных клосток и различных биоматериалов несколько независимых групп исследователей изучали восстановление костной ткани в зоне дефектов мышечка бедра у крыс и кроликов [11, 12, 14, 21]. Оказалось, что наилучший эффект в заживлении дефекта мышечков достигается при применении пористых носителей, покрытых клетками [17].

Выделенные из костного мозга мезенхимные стромальные клетки используются для замещения механических дефектов скелета ввиду их способности к быстрой пролиферации, дифференцировке в нескольких направлениях и сравнительно простой процедуры получения. Мезенхимные мультипотентные стромальные клетки (ММСК) можно выделить в условиях культивирования клосток костного мозга в пластиковой посуде. ММСК способны дифференцироваться в клетки костной, хрящевой и жировой ткани *in vitro* под действием соответствующих индукторов [13]. В исследованиях на животных была показана возможность применения ММСК в сочетании с полимерными носителями для улучшения заживления обширных хрящевых повреждений [2, 18]. Кроме того, ММСК некоторых животных использовали для индукции остеогенеза и заживления фрагментарных дефектов кости [6, 7]. Комбинация ММСК с различными носителями может значительно улучшить костную репарацию при обширных повреждениях кости.

Целью нашей работы было исследование эффективности совместного применения ММСК и биорезорбируемых кальцисвязных носителей для восстановления костной ткани при критическом дефекте губчатой кости мышечков бедра кролика.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В работе использовали кроликов обоего пола породы «Советская шиншилла» в возрасте 10–12 мес в начале эксперимента. Кролики доставлялись из филиала «Белый мох» Научного центра биомедицинских технологий РАМН. Животные содержались в индивидуальных сетчатых клетках и получали стандартный комбикорм из травяной муки и сочные корма. Эксперименты были одобрены комиссией по биомедицинской этике при Институте медико-биологических проблем РАН (протокол № 257).

Костный мозг для получения ММСК аспирировали из мышечков бедра в пробирки с 500 ЕД/мл гепарина («Sigma»). Процедуру выполняли под новокаиновой блокадой: от 15 до 20 мл 0,5% раствора новокаина (ОАО «Органика») вводили подкожно, внутримышечно и под надкостницу. Для выделения адросодержащих клосток костный мозг помещали в питательную среду α MEM (ICN) с 0,1% метилцеллюлозы (1500 cП, «Sigma») и оставляли на 40 мин при комнатной температуре. За это время большая часть эритроцитов оседала, а адросодержащие клетки оставались во взвеси. Надосадоч-

ную жидкость собирали и осаждали центрифугированием при 1500 об./мин в течение 10 мин. Количество ядерных клосток определяли путем подсчета с генциановым фиолетовым (1% раствор в 3% уксусной кислоте). Затем клостки взвешивали в полной питательной среде α MEM с 10% фетальной бычьей сыворотки («Hyclone»), 2 ммоль L-глутамин (ICN), 100 ЕД/мл пенициллина («Ферейн»), 50 мкг/мл стрептомицина («Ферейн») из расчета 3×10^5 клосток на флакон с площадью дна 25 см². Культуры помещали во влажный инкубатор при 37 °C и 5% CO₂. После формирования конфлуэнтного монослоя клостки снимали 0,25% раствором трипсина, приготовленного на 0,02% EDTA (ICN) в физиологическом растворе («Sigma»), и рассаживали из расчета 4×10^5 клосток на 1 см² поверхности дна флакона. Остеогенную дифференцировку ММСК (остео-ММСК) индуцировали *in vitro* в течение 4 дней, добавляя в среду культивирования 0,1 мкмоль дексаметазона, 0,15 ммоль аскорбата-2-фосфата, 3 ммоль NaH₂PO₄.

Длительную культуру костного мозга вели в течение 2–4 нед до образования стромального подслоя во влажном инкубаторе при 33 °C и 5% CO₂. Во флакон с площадью дна 25 см² помещали 10^5 – 15×10^6 адросодержащих клосток костного мозга в среде α MEM с 10% фетальной бычьей сыворотки («Hyclone») и 10% лошадиной сыворотки («Gibco BRL»), 2 ммоль L-глутамин (ICN), 100 ЕД/мл пенициллина («Ферейн»), 50 мкг/мл стрептомицина («Ферейн»), 10⁶ ммоль гидрокортизона гемисукцината («Sigma»). Половину среды меняли ежедневно.

Перед имплантацией клостки снимали либо с помощью трипсина, либо скрепкером в виде фрагментов. Поскольку разницы в результатах между этими вариантами выявлено не было, данные представлены без учета способа снятия ММСК с подложки.

Использованные в эксперименте биоматериалы были представлены макропористой биокерамической губкой Индост (коллаген-гидроксипатит, производство НПО «Полистом», Россия) и биокомпозитом из сульфата кальция и гидроксиапатита ProDense (производство WMT, США), обладающим механической прочностью более 10 МПа. Из материала ProDense заранее изготавливали цилиндры диаметром 5 мм и высотой 5 мм для замещения костного дефекта.

Повреждение дистального мышечка бедренной кости наносили в асептических условиях под местной анестезией: от 15 до 20 мл 0,5% раствора новокаина (ОАО «Органика») вводили в область наружного мышечка бедра подкожно, внутримышечно и под надкостницу. Из проекционного разреза длиной 2 см выделяли наружный мышечок бедра. С помощью дрели и сверла диаметром 6 мм нанесли повреждение через наружный надмышечок поперечно до кортикального слоя внутреннего мышечка бедра. Объем дефекта губчатой кости, та-

ким образом, составлял около $0,6 \text{ см}^3$. В сформированное отверстие помещали цилиндр ProDense и губку Индост с ММСК. В качестве контроля использовали незаполненные дефекты и дефекты, заполненные биоматериалами без клеток. Рану послойно ушивали наглухо. Всего было произведено 6 операций у контрольных животных и 18 у экспериментальных.

Для антибактериальной терапии после операции использовали 5% раствор энтеросепта («Вет-биохим») по $0,1 \text{ мл}$ на 1 кг массы тела животного. Инъекции выполняли подкожно в течение 5 дней.

Динамику репарации дефекта мышечка изучали в течение 6 мес.

Для гистологического исследования костных регенератов спилы мышечков фиксировали в растворе Буона или в формалине, декальцинировали,готавливали срезы толщиной 5 мкм , окрашивали их гематоксилином и эозином и по Маллори для выявления различных компонентов соединительной ткани и изучали с помощью светового микроскопа.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Через 6 мес после нанесения повреждения без заполнения дефекта полного восстановления кортикальной пластинки в области рассверливания паружного мышечка не определялось. Репаративные процессы проявлялись лишь сглаживанием краев костной раны. На рис. 1, а заметно сохраняющееся трепанационное отверстие в кортикальной пластинке в месте входа сверла. На рис. 1, б представлен поперечный спил мышечка бедра: в зоне повреждения отмечается дефект кортикальной пластинки, проникающий в сформированную полость, которая заполнена жировой тканью, напоминающей жировой костный мозг. На гистологическом срезе обнаруживались участки разрушенной кости и островки регенерации с новообразованной костью (рис. 1, в).

Введение цилиндра ProDense и губки Индост в спонгиозный дефект мышечков также не приводило к полноценному восстановлению кости (рис. 2, а, б). При гистологическом исследовании выявлен гипоклеточный костный мозг (рис. 2, в). В некоторых случаях наблюдались очаговые периостальные новообразования костной ткани в корковом слое с формированием центральных (таверсовых) каналов и хрящевые субстанции (рис. 2, г). Таким образом, в течение 6 мес после повреждения, даже в присутствии костезамещающих резорбируемых биоматериалов, не происходило полноценного восстановления губчатой кости мышечков бедра.

У экспериментальных животных морфологическое и гистологическое исследование мышечков бедра проводили через 6 нед, 3 и 6 мес после нанесения повреждения. В место дефекта были имплантированы следующие варианты тканеинженерных конструкций:

- аутологичные ММСК или ММСК, индуцированные к остеогенной дифференцировке (остео-ММСК), совместно с цилиндром ProDense;
- аутологичные ММСК или остео-ММСК, помещенные на губку Индост, совместно с цилиндром ProDense;
- подслон длительной культуры костного мозга совместно с цилиндром ProDense.

Через 6 нед после имплантации ММСК на губке Индост с цилиндром ProDense в зоне повреждения на фоне деструкции ткани мышечка наблюдалось новообразование кости. В гистологических препаратах выявлялись фрагменты биоматериалов, примыкающие к ним участки костеобразования и гипоклеточный костный мозг (рис. 3, а). При имплантации остео-ММСК также отмечалось новообразование костной ткани в полости дефекта, однако очаги костеобразования были меньше по размеру и костный мозг в одном случае из трех был нормоклеточным, а в двух других — гипокле-

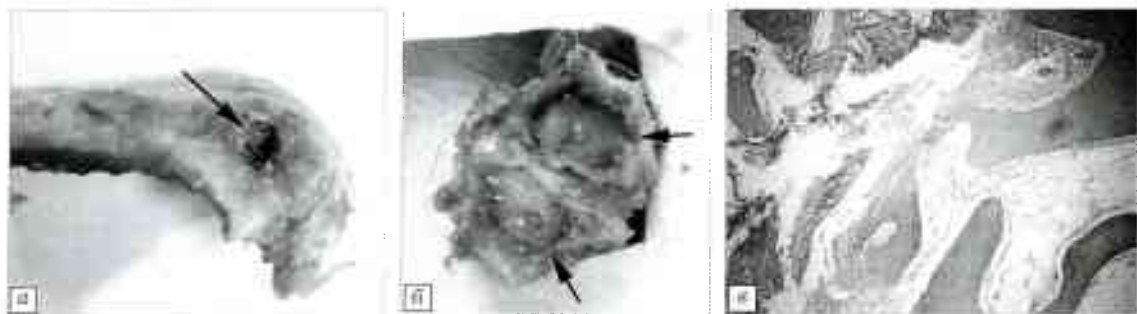


Рис. 1. Морфологическая и гистологическая картины контрольных мышечков через 6 мес после нанесения повреждения без заполнения дефекта.

а — макротрепарат: дефект кортикальной пластинки наружного мышечка в области рассверливания (стрелка); б — макротрепарат, поперечный спил в зоне повреждения с жировой тканью внутри мышечка (стрелка указывает на сохраняющееся трепанационное отверстие в кортикальной пластинке в месте входа сверла); в — фрагмент губчатой кости мышечка, прилегающей к зоне дефекта. Гистологический срез. СМ-микрорентгенограмма.

Здесь и на последующих: СМ-микрорентгенограммы; окраска гематоксилином и эозином, ув. 100.



Рис. 2. Морфологическая и гистологическая картина контрольных мышечков через 6 мес после нанесения повреждения и имплантации цилиндра ProDense.

а — макропрепарат: дефект кортикальной пластинки наружного мышечка в области рассверливания (стрелка);
б — макропрепарат, поперечный срез в зоне повреждения мышечка (стрелки указывают на трепанационное отверстие в кортикальной пластинке в месте входа сверла);
в — фрагмент восстановленной губчатой кости в зоне спонгиозного дефекта. Гистологический срез, СМ-микрофотограмма;
г — костно-хрящевой регенерат в зоне трепанационного отверстия в кортикальной пластинке. Гистологический срез, СМ-микрофотограмма

точным (рис. 3, б). Имплантация подслоя из длительной культуры костного мозга также приводила к новообразованию костной ткани, очаги костеобразования были хорошо развиты (рис. 3, в). В месте дефекта определялась гипоплазия костного мозга, в остальных областях костный мозг оставался порноклеточным. Можно заключить, что уже через 6 нед после имплантации носителей совместно со стромальными мезенхимными клетками начиналось интенсивное новообразование костной ткани.

Через 3 мес после имплантации ММСК на губке Индост с цилиндром ProDense отмечалось периостальное и эндоостальное костеобразование с очаговой пролиферацией остеобластов как вблизи коркового слоя, так и в полости дефекта. Увеличивалось количество трабекул внутри полости. Остатки биокомпозита практически не встречались, костный мозг был в основном нормоклеточным. В одном случае из трех наблюдался фиброз. После имплантации остео-ММСК на губке Индост (а также подслоя длительной культуры костного мозга) совместно с цилиндром ProDense

данные морфологического и гистологического исследования существенно не отличались от таковых при имплантации ММСК. В одном случае отмечалась очаговая лимфоидная пролиферация.

Через 6 мес после имплантации ММСК и остео-ММСК на губке Индост с цилиндром ProDense макроскопически определялось зарастание трепанационного отверстия, на спилах было видно, что зона дефекта практически полностью заполнена губчатым веществом (рис. 4, а, б). Гистологический ана-



Рис. 3. Фрагменты репарирующих тканей в зоне спонгиозного дефекта мышечков бедра через 6 нед после имплантации мезенхимных стромальных клеток с цилиндром ProDense. Гистологические срезы; СМ-микрофотограммы (стрелками указана новообразующаяся кость, звездочками — остатки цилиндра ProDense).

а — имплантация ММСК на губке Индост;
б — имплантация остео-ММСК на губке Индост;
в — имплантация подслоя из длительной культуры костного мозга.



Рис. 4. Морфологическая и гистологическая картина моста дефекта через 6 мес после имплантации ММСК и остеомМСК на губке Индост с цилиндром ProDense.

а — макропрепарат: заживший дефект кортикальной пластинки наружного мыщелка в области рассасывания (инструмент указывает на косто-хрящевой регенерат в области трепанационного отверстия кортикальной пластинки мыщелка); б — макропрепарат: поперечный спил в зоне повреждения мыщелка бедра, в — фрагмент восстановленной кости в зоне дефекта мыщелка. Гистологический разрез, СМ-микрофотограмма.

лиз выявил резорбцию биоматериалов, зрелую структуру трабекул и перимоклеточный костный мозг (рис. 4, в). В целом по морфологии срезы мыщелков приближались к интактным. При имплантации ММСК на губке Индост без ProDense заживление отверстия также происходило, однако количество трабекул и их толщина были значительно меньше. (Эксперименты с имплантацией подслоя длительной культуры к этому сроку были прекращены по техническим причинам.)

Таким образом, имплантация мезенхимных стромальных клеток с резорбируемыми костезаменяющими биоматериалами в область критического дефекта дистального мыщелка бедренной кости приводила к восстановлению функционально активной губчатой костной ткани. Наблюдалось периостальное и эндоостальное костеобразование. Цилиндры ProDense практически полностью резорбировались уже через 3 мес после имплантации. Предварительная индукция остеогенной дифференцировки ММСК не влияла на характер замещения дефекта в течение 6 мес после имплантации.

ОБСУЖДЕНИЕ

Во многих исследованиях по замещению хондральных дефектов вместо мезенхимных стромальных клеток использовались дифференцированные клетки — хондроциты [5, 19]. Применялись также аллогенные, выделенные из костного мозга ММСК в сочетании с различными носителями [17]. В настоящей работе использовались аутологичные ММСК, ММСК, индуцированные к остеогенной дифференцировке, и мезенхимные стромальные клетки в составе подслоя длительной культуры костного мозга.

Известно, что в составе подслоя длительных культур костного мозга мыши присутствуют истинные мезенхимные стволовые клетки, способные не только к дифференцировке во все мезенхимные линии, но и к самоподдержанию, т.е. к переносу кроветворного микроокружения [4]. Являются ли ММСК, использованные в данной работе, собствен-

но стволовыми клетками стромы, неизвестно. Более того, было показано, что индукция дифференцировки в кроветворной системе приводит к необратимой утрате пролиферативного потенциала кроветворных стволовых клеток [20]. В отношении ММСК было неясно, как повлияет предварительная индукция необходимой дифференцировки на способность этих клеток к репарации костных дефектов в течение длительного времени.

В нашей работе проведено сравнение трех типов стромальных клеток-предшественников по их способности новообразовывать костную ткань в критическом дефекте губчатой кости мыщелков бедра. Полученные данные не выявили существенных различий в характере и скорости заживления нанесенных повреждений в зависимости от источника культивированных стромальных клеток из костного мозга. Возможно, имплантированные клетки могут выполнять как пластическую функцию, т.е. образовывать костную и хрящевую ткани, так и трофическую, оказывая поддержку или осуществляя стимуляцию к делению местных мезенхимных предшественников костной и хрящевой тканей. Однозначно ответить на этот вопрос без индивидуального маркирования ММСК в рамках настоящего исследования нельзя. Однако принципиальная возможность дифференцировки ММСК *in vivo* была продемонстрирована в нескольких исследованиях [3, 15]. Эти данные можно экстраполировать на модель, использующую в нашей работе. В таком случае можно заключить, что как ММСК, так и ММСК, индуцированные к остеогенной дифференцировке, способны участвовать в новообразовании костной и хрящевой тканей. Тот факт, что нами не было выявлено различий между этими двумя типами клеток, может говорить о возможных отличиях в регуляции самоподдержания кроветворных и мезенхимных стволовых клеток. Нельзя также исключить, что в течение 4 дней не все ММСК были индуцированы к дифференцировке. Очевидно, что, с одной стороны, индукция дифференцировки не дает индуцированным клеткам

преимущества в скорости замещения дефекта, а с другой стороны, их потенциала достаточно для осуществления долговременного поддержания структуры костной ткани. Имплантация стволовых мезенхимных клеток в составе подложки длительной культуры костного мозга не влияет на динамику восстановления дефекта. Эти данные указывают на то, что ММСК, по крайней мере, принадлежат к отделу мезенхимных стволовых клеток.

При обширных остеохондральных дефектах опорно-двигательного аппарата необходимы носители, выполняющие структурную функцию. Ухудшение параметров заживления дефекта мыщелка бедра в случае использования только макропористой губки Индот без механически прочных цилиндров ProDense однозначно демонстрирует важность наличия жестко структурированного матрикса в области дефекта. В то же время применение только цилиндров ProDense без клеток не приводит к заживлению повреждения. Очевидно, использованный носитель не обладает выраженным остеиндуктивным свойством. Таким образом, наиболее удачным является сочетание аутологичных культивированных ММСК с резорбируемым кальциевым носителем.

На модели критического спонгиозного дефекта мыщелков бедра были продемонстрированы преимущества использования ММСК в сочетании с пористыми носителями для эффективной остеопарации дефектов губчатой кости. Полученные данные открывают большие перспективы применения сочетания ММСК и соответствующих носителей в тканевой инженерии для лечения обширных повреждений скелета.

Работа была поддержана грантом Правительства Москвы № 1/06-Ген-М от 1 января 2007 г. Авторы благодарят «ООО ИКВАА» за любезно предоставленный биоматериал ProDense.

ЛИТЕРАТУРА

1. Arrington E.D., Smith W.J., Chambers H.G. et al. Complications of iliac crest bone graft harvesting // Clin. Orthop. — 1996. — N 453. — P. 300–309.
2. Butnariu-Ephrat M., Robinson D., Mendes D.G. et al. Resurfacing of goat articular cartilage by chondrocytes derived from bone marrow // Clin. Orthop. — 1996. — N 453. — P. 234–243.
3. Caplan A.I. Why are MSCs therapeutic? New data: new insight // J. Pathol. — 2009. — Vol. 217. — P. 318–324.
4. Chertkov J.L., Drize N.J., Gurevitch O.A., Udalov G.A. Hemopoietic stromal precursors in long-term culture of bone marrow: I. Precursor characteristics, kinetics in culture, and dependence on quality of donor hemopoietic cells in chimeras // Exp. Hematol. 1983. Vol. 11 — P. 231–242.

5. Douchis J.S., Coufts R.D., Amiel D. Cartilage repair with autogenic perichondrium cell/poly(lactic acid) grafts: a two-year study in rabbits // J. Orthop. Res. — 2000. — Vol. 18. — P. 512–515.
6. Goshima J., Goldberg V.M., Caplan A.I. The osteogenic potential of culture-expanded rat marrow mesenchymal cells assayed in vivo in calcium phosphate ceramic blocks // Clin. Orthop. — 1991. — N 448. — P. 298–311.
7. Gundle R., Joyner C.J., Triffitt J.T. Human bone tissue formation in diffusion chamber culture in vivo by bone-derived cells and marrow stromal fibroblastic cells // Bone. — 1995. — Vol. 16. — P. 597–601.
8. Hollinger J.O., Brekke J., Gruskas E., Lee D. Role of bone substitutes // Clin. Orthop. — 1996. — N 453. — P. 55–65.
9. Huttmacher D.W. Scaffold design and fabrication technologies for engineering tissues—state of the art and future perspectives // J. Biomater. Sci. Polym. — 2001. — Vol. 12. — P. 107–124.
10. Huttmacher D.W., Sittlinger M., Rishud M.V. Scaffold-based tissue engineering: rationale for computer-aided design and solid free-form fabrication systems // Trends Biotechnol. — 2004. — Vol. 22. — P. 354–362.
11. Kondo N., Ogose A., Tokunaga K. et al. Bone formation and resorption of highly purified beta-tricalcium phosphate in the rat femoral condyle // Biomaterials 2005. Vol. 26. — P. 5600–5608.
12. Nakasa T., Ishida O., Sunagawa T. et al. Feasibility of prefabricated vascularized bone graft using the combination of FGF-2 and vascular bundle implantation within hydroxyapatite for osteointegration // J. Biomed. Mater. Res. — 2008. — Vol. 85. — P. 1090–1095.
13. Prockop D.J. Marrow stromal cells as stem cells for nonhematopoietic tissues // Science. — 1997. — Vol. 276. — P. 71–74.
14. Richardson S.M., Hayland J.A., Mobasheri R. et al. Mesenchymal stem cells in regenerative medicine: opportunities and challenges for articular cartilage and intervertebral disc tissue engineering // J. Cell Physiol. 2010 — Vol. 222. — P. 23–32.
15. Sacchetti B., Funari A., Michienzi S. et al. Self-renewing osteoprogenitors in bone marrow sinusoids can organize a hematopoietic microenvironment // Cell. — 2007. — Vol. 131. — P. 324–336.
16. Salgado A.J., Coutinho O.P., Reis R.L. Bone tissue engineering: state of the art and future trends // Macromol. Biosci. — 2004. — Vol. 4. — P. 743–765.
17. Shao X., Goh J.C., Huttmacher D.W. et al. Repair of large articular osteochondral defects using hybrid scaffolds and bone marrow-derived mesenchymal stem cells in a rabbit model // Tissue Eng. — 2006. Vol. 12. — P. 1539–1551.
18. Wakitani S., Goto T., Pineda S.J. et al. Mesenchymal cell-based repair of large, full-thickness defects of articular cartilage // J. Bone Jt Surg. — 1994. Vol. 76A. — P. 579–592.
19. Wakitani S., Goto T., Young R.G. et al. Repair of large full-thickness articular cartilage defects with allograft articular chondrocytes embedded in a collagen gel // Tissue Eng. — 1998. — Vol. 4 — P. 429–444.
20. Weissman I.L., Anderson D.J., Gage F. Stem and progenitor cells: origins, phenotypes, lineage commitments, and transdifferentiations // Annu. Rev. Cell Dev. Biol. — 2001. — Vol. 17. — P. 387–403.
21. Wermelin K., Suska F., Tengvall P. et al. Stainless steel screws coated with bisphosphonates gave stronger fixation and more surrounding bone. Histomorphometry in rats // Bone. — 2008. — Vol. 42. — P. 365–371.

Сведения об авторах: Мамонев В.Е. — канд. мед. наук, зав. отделением реконструктивно-восстановительной ортопедии для больных гемофилией; Шипунова И.Н. — канд. биол. наук, науч. сотр. лаборатории физиологии кроветворения; Свиридова Д.А. — канд. биол. наук, науч. сотр. лаборатории физиологии кроветворения; Рашенцев М.М. — канд. мед. наук, старший науч. сотр. отделения реконструктивно-восстановительной ортопедии для больных гемофилией; Темис А.Г. — канд. мед. наук, старший науч. сотр. отделения реконструктивно-восстановительной ортопедии для больных гемофилией; Гласко Е.Н. — канд. мед. наук, ведущий науч. сотр. патологоанатомической лаборатории; Дризе Н.И. — доктор биол. наук, зав. лабораторией физиологии кроветворения.

Для контактов: Мамонев Василий Евгеньевич. 125167, Москва, Новый Зыковский проезд, дом 4, ГНЦ РАМН, отделение реконструктивно-восстановительной ортопедии для больных гемофилией. Тел.: +7(495) 612-17-36; 612-43-92; (8) 903-165-74-44. Факс: (495) 612-17-36. E-mail vasily-mamonov@yandex.ru