

МАТЕРИАЛ-АССОЦИИРОВАННАЯ КОСТНАЯ РЕЗОРБЦИЯ

DOI: 10.17691/stm2018.10.4.03

УДК 616.71–089.844

Поступила 12.05.2018 г.



А.П. Бонарцев, к.б.н., ведущий научный сотрудник кафедры биоинженерии¹; научный сотрудник лаборатории азотфиксации микроорганизмов Института биохимии им. А.Н. Баха РАН²;

А.А. Мураев, к.м.н., доцент кафедры челюстно-лицевой хирургии и хирургической стоматологии³;

Р.В. Деев, к.м.н., зав. кафедрой гистологии, патологической анатомии и медицинской генетики⁴;

А.В. Волков, к.м.н., доцент кафедры патологической анатомии³; старший научный сотрудник лаборатории соединительной ткани⁵

¹Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Ленинские горы, 1/12, Москва, 119991;

²Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, Ленинский пр., 33/2, Москва, 119071;

³Российский университет дружбы народов, ул. Миклухо-Маклая, 6, Москва, 117198;

⁴Рязанский государственный медицинский университет им. И.П. Павлова Минздрава России, Высоковольтная ул., 9, Рязань, 390026;

⁵Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова Минздрава России, ул. Приорова, 10, Москва, 127299

В статье на основании ретроспективного анализа архивного гистологического материала (2008–2016) продемонстрирован ряд сходных макрофагальных реакций у человека и лабораторных животных на имплантацию в дефекты костей различных видов остеопластических материалов. Присутствие таких материалов в костном регенерате приводило к появлению гигантских клеток инородных тел и остеокластоподобных клеток. Клетки появлялись как на поверхности остеопластического материала, так и на поверхности новообразованной кости, что сопровождалось ее резорбцией. Данный феномен предложено называть материал-ассоциированной костной резорбцией.

Ключевые слова: регенеративная медицина; тканевая инженерия; костная ткань; гигантские клетки инородных тел; остеокласты; остеопластические материалы; костная резорбция.

Как цитировать: Bonartsev A.P., Muraev A.A., Deyev R.V., Volkov A.V. Material-associated bone resorption. *Sovremennye tehnologii v medicine* 2018; 10(4): 26–33, <https://doi.org/10.17691/stm2018.10.4.03>

English

Material-Associated Bone Resorption

A.P. Bonartsev, PhD, Leading Researcher, Department of Bioengineering¹; Researcher, Laboratory of Microorganism Nitrogen Fixation, Bach Institute of Biochemistry of the Russian Academy of Sciences²;

A.A. Muraev, MD, PhD, Associate Professor, Department of Maxillofacial Surgery and Surgical Dentistry³;

R.V. Deyev, MD, PhD, Head of the Department of Histology, Pathologic Anatomy, and Medical Genetics⁴;

A.V. Volkov, MD, PhD, Associate Professor, Department of Pathologic Anatomy³; Senior Researcher, Laboratory for Studies of the Connective Tissue⁵

¹Lomonosov Moscow State University, 1/12 Leninskie Gory, Moscow, 119991, Russia;

²Federal Research Center “Fundamentals of Biotechnology” of the Russian Academy of Sciences, 33/2 Leninskiy Prospect, Moscow, 119071, Russia;

³Peoples’ Friendship University of Russia, 6 Miklukho-Maklaya St., Moscow, 117198, Russia;

⁴I.P. Pavlov Ryazan State Medical University, 9 Vysokovoltynaya St., Ryazan, 390026, Russia;

⁵N.N. Priorov National Medical Research Center of Traumatology and Orthopaedics, Healthcare Ministry of Russia, 10 Priorov St., Moscow, 127299, Russia

A number of similar macrophage responses to the implantation of various osteoplastic materials into bone defects in humans and laboratory animals have been demonstrated in the present article based on the retrospective analysis of the archival histological material (2008–2016). The presence of osteoplastic materials in a bone regenerate has led to the emergence of giant cells of foreign bodies and

Для контактов: Волков Алексей Вадимович, e-mail: alex.volkoff@gmail.com

osteoclastogenic cells both on the surface of the material and neoformed bone with its subsequent resorption. It was suggested to name this phenomenon "material-associated bone resorption".

Key words: regenerative medicine; tissue engineering; bone tissue; giant cells of foreign bodies; osteoclasts; osteoplastic materials; bone resorption.

Введение

В настоящее время все больше внимания уделяют изучению роли гигантских многоядерных клеток во взаимоотношении организма и остеопластического материала, внесенного как отдельно [1], так и в составе тканеинженерных конструкций [2]. Материалы для направленной костной регенерации в целом отвечают требованиям безопасности, однако, будучи по сути инородными телами, способны вызывать гигантоклеточные реакции [3, 4]. Вследствие этого развитие воспалительной реакции на внесенный материал является особенностью течения регенеративного процесса [5, 6]. В ряде случаев биодеградация материала способствует высвобождению активных факторов, стимулирующих регенерацию кости [6, 7]. Современные представления о клетках макрофагального клеточного дифферона, участвующих в процессе регенерации и ремоделировании костного матрикса, сформулированы в классических работах и не подвергаются серьезному пересмотру [8]. В настоящее время в соединительной ткани принято различать клетки M1, ремоделирующие коллагеновый матрикс, и клетки инородных тел M2, которые активируются при наличии инородного тела [9].

Своеобразие гигантоклеточных реакций в костной ткани заключается в том, что в ответ на имплантацию костнопластического материала в мультитканевом регенерате могут образовываться клетки различных ветвей дивергентной дифференцировки внутри моноцитарного дифферона — гигантских многоядерных клеток инородных тел и (или) истинных остеокластов. Интерес к детальному выявлению природы гигантских многоядерных клеток отнюдь не является только академическим, но и имеет существенное прогностическое значение представления для дальнейшего протекания регенерации в ортотопическом костном ложе. Так, метаболическая активность гигантских многоядерных клеток как основных эффекторов гранулематозных реакций приводит к закономерной активации клеток фибробластического дифферона и прогрессивному развитию соединительнотканного компонента в области костной регенерации, что противоречит концепции эффективности костнопластических материалов, лежащей в основе их создания. Остеокласты являются важными компонентами костной ткани и посредством механизмов цитокиновой регуляции активности базовых многоклеточных единиц могут служить ранними предикторами полноценной резорбции костнопластических материалов, параллельного и последующего синтеза костного вещества остеобластами.

Наши наблюдения за развитием процессов остеогенеза и ремоделирования костного регенерата в условиях имплантации остеопластических материалов позволили обратить внимание на такие свойства остеокластов и гигантских клеток инородных тел, которые ранее не получали должного внимания со стороны исследователей и не вполне укладываются в традиционную концепцию разделения клеток макрофагального ряда на функциональные классы [3, 9].

Материалы и методы

Объекты исследования. Для изучения были использованы образцы костных регенератов человека и лабораторных животных после имплантации коммерческих и незарегистрированных остеопластических материалов на основе фосфатов кальция природного и искусственного происхождения, остеопластических материалов из лиофилизированной костной ткани, хранящихся в архиве лаборатории соединительной ткани Национального медицинского исследовательского центра травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова (период наблюдений 2008–2016 гг.) [7, 9–11].

Имплантацию коммерческих остеопластических материалов человеку проводили при экстракции зуба с целью восполнения объема костной ткани в рамках научно-исследовательских программ на базе Центрального НИИ стоматологии и челюстно-лицевой хирургии и кафедры челюстно-лицевой хирургии и хирургической стоматологии Российского университета дружбы народов. В рамках текущей работы было выполнено изучение костных регенератов (трепанобиопатов) спустя 6 мес после имплантации материалов Bio-Oss и Bio-Oss Collagen (Geistlich Biomaterials, Швейцария), «Остеопласт-М» (НПК «Витаформ», Россия), «Остеодент» (ООО «Русимплант», Россия), а также тканеинженерной конструкции на основе мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток жировой ткани, преддифференцированных в остеогенном направлении (ЗАО «РеМеТэкс»). Перед установкой дентальных имплантатов проводили забор образцов костной ткани у 85 пациентов (суммарно 102 трепанобиопсии), которые в дальнейшем подвергали гистологическому исследованию. Работа проведена в соответствии с Хельсинкской декларацией (2013) и одобрена Этическим комитетом Российского университета дружбы народов. От каждого пациента получено информированное согласие.

Имплантация незарегистрированных остеопластических материалов (поли-3-гидроксibuтират, ок-

такальциевый фосфат) проводилась в рамках научно-исследовательских работ на кафедре биоинженерии биологического факультета Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова (биоматериал на основе поли-3-гидроксибутирата получен микробиологическим путем [12]) и экспериментов с введением октакальциевого фосфата (ООО «Гистографт», ПАО «Институт стволовых клеток человека») в критические дефекты теменных костей кроликов, бедренных костей крыс, а также в рамках доклинических исследований.

Гистологическое исследование. Образцы фиксировали в нейтральном 10% формалине («БиоВитрум», Россия), после чего подвергали стандартной гистологической проводке, заливали в парафин («БиоВитрум», Россия). Из блоков изготавливали полусерийные срезы, окрашиванию подвергали каждый третий срез. Для обнаружения специфических явлений в костной ткани использовали кроме гематоксилина и эозина окрашивание по Массону–Голднеру и Папаниколау, которое выявляло наряду с костными структурами различной степени зрелости и клеточные элементы макрофагального ряда за счет метакромазии красителей. Фотодокументирование осуществляли с использованием микроскопа Leica DM 2500 и цифровой камеры EC3 (Leica Microsystems, Германия).

Результаты

При исследовании взаимоотношения имплантированных материалов с тканями реципиентного ортотопического ложа установлено, что все материалы в той или иной степени вызывают ответ по типу хронической воспалительной реакции на инородное тело, но

в отличие от классического хронического воспаления в некоторых случаях отсутствуют признаки формирования капсулы вокруг материала [13]. Рассмотрим особенности проявления материал-ассоциированной костной резорбции (МАКР) на поверхности остеопластического материала и новообразованной кости.

МАКР на поверхности гранул остеопластического материала Bio-Oss и Bio-Oss Collagen (натуральное происхождение, обработанная ксеногенная кость). При имплантации обнаруживаются клеточные элементы макрофагального ряда, напоминающие остеокласты (остеокластоподобные клетки), резорбирующие этот материал. Резорбция материала наблюдается на свободной от костных напластований поверхности. Если на поверхности материала присутствуют наслоения остеоида или минерализованного костного матрикса, в этом случае происходит сначала фестончатая резорбция костного матрикса, а затем процесс продолжается на поверхности материала. Резорбция костного матрикса сопровождается выпадением остеоцита из лакуны в костномозговое пространство. По достижении остеокластоподобной клеткой имплантированного материала резорбция продолжается не в глубь материала, а по его поверхности, захватывая все новые и новые участки напластованной ретикулофиброзной костной ткани вне зависимости от степени ее дифференцированности. При этом эффективной резорбции не происходит. По всей вероятности, остеокластоподобные клетки, по паракринному механизму индуцируя активность остеобластов, стимулируют новые напластования на поверхности остеоида, который вновь подвергается резорбции. Образованный на поверхности гранул костный матрикс не имеет выраженных линий склеивания (рис. 1).

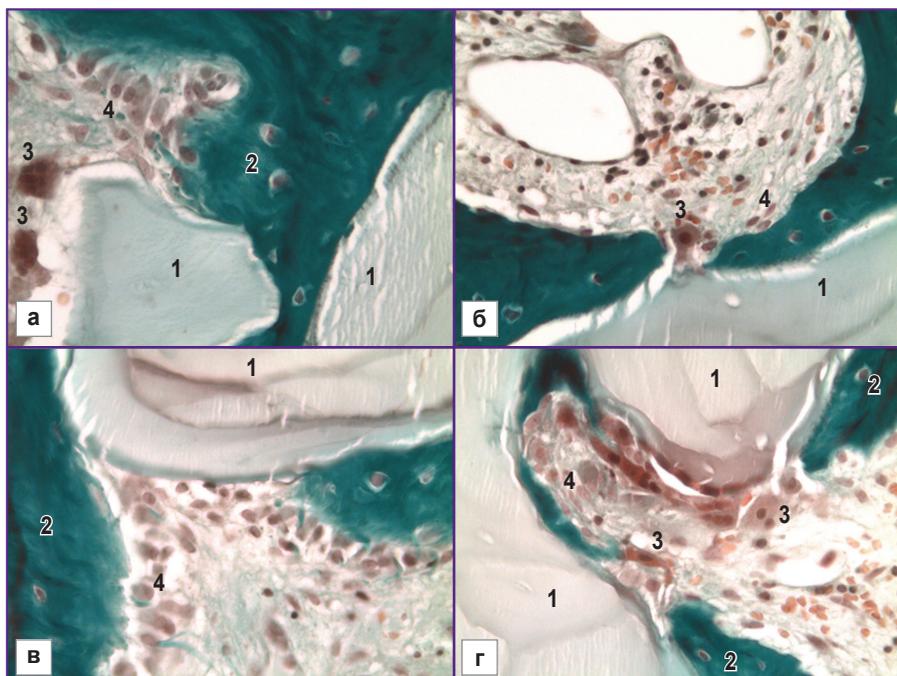


Рис. 1. Гистологическая картина трепанобиоптата костного регенерата через 180 дней после имплантации остеопластического материала Bio-Oss:

а — остеогенез и остеокластоподобные клетки на поверхности гранулы материала; б — туннельная резорбция — остеокластоподобная клетка после резорбции костного вещества достигает поверхности материала; в — остеогенез на поверхности гранулы материала; г — параллельное существование процессов остеогенеза и остеоклазии на поверхности гранулы материала; 1 — костнопластический материал; 2 — новообразованная ретикулофиброзная костная ткань; 3 — остеокластоподобные клетки; 4 — активированные остеобласты; окраска по Массону–Голднеру; x400

МАКР в ответ на имплантацию остеопластических материалов на основе синтетических трикальций-фосфатов и октакальциевых фосфатов.

Резорбция в этом случае имеет принципиальные отличия. На поверхности остеопластического материала обнаруживаются гигантские клетки инородных тел, обволакивающие гранулы материала и иногда проникающие в их поры. Остеоиндуктивные и остеокондуктивные свойства материала способствуют напластованию и созреванию на его поверхности костного матрикса. В свою очередь гигантские клетки инородного тела располагаются на поверхности гранул, свободной от кости, и распространяются экспансивно по поверхности материала. При встрече с новообразованной костью происходит формирование туннелей, сводом которых является кость, а основанием — материал (рис. 2).

Резорбционная каемка гигантской клетки одновременно обнаруживается и на поверхности материала, и на поверхности кости, причем так же, как и при остеокластоподобной резорбции натуральных минеральных материалов, происходит выпадение остеоцитов из лакун. Оксифильный хроматин выпавших остеоцитов свидетельствует об апоптотическом процессе в остеоците (рис. 3).

Определив основные характерные признаки резорбции костной ткани при имплантации остеопластических материалов различного происхождения, мы продолжили изучение других агентов, индуцирующих и стимулирующих остеогенез. Для анализа мы выбрали образцы тканей, полученных после имплантации деминерализованного костного матрикса, трансплантации тканеинженерных конструкций, синтетических материалов на основе полиэфиров органических кислот.

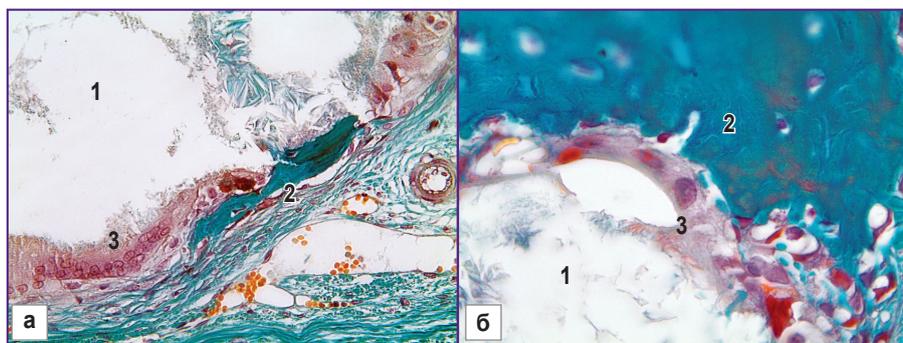


Рис. 2. Фрагмент гистологического среза костного регенерата теменной кости кролика через 60 дней после имплантации ортотрикальцийфосфата:

а — туннельная резорбция остеопластического материала; х200; б — туннельная резорбция: одновременная резорбция гигантских клеток инородного тела костного вещества и материала; х1000; 1 — костнопластический материал; 2 — новообразованная ретикулофиброзная костная ткань; 3 — гигантские клетки инородных тел; окраска по Массону–Голднеру

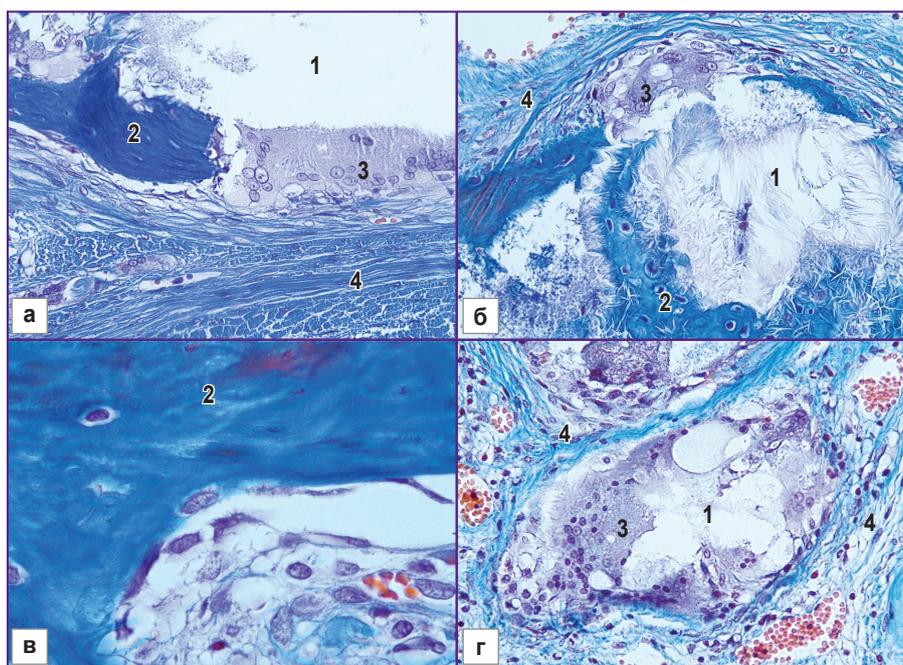


Рис. 3. Фрагмент гистологического среза костного регенерата теменной кости кролика через 90 дней после имплантации ортотрикальцийфосфата:

а — одновременная резорбция гигантских клеток инородного тела костного вещества и материала; х200; б — новый цикл резорбции новообразованной костной ткани на грануле материала; х200; в — выпадение в просвет остеоцитов при туннельной резорбции; х1000; г — завершение резорбции материала, вокруг остаточной гранулы гигантских клеток инородного тела костная ткань отсутствует; х200; 1 — костнопластический материал; 2 — новообразованная ретикулофиброзная костная ткань; 3 — остеокластоподобные клетки; 4 — волокнистая соединительная ткань; окраска по Папаниколу

МАКР при имплантации деминерализованных костных материалов на основе деминерализованной натуральной кости (очищенный костный коллагеновый матрикс). Установлено, что в данном случае описываемое явление появ-

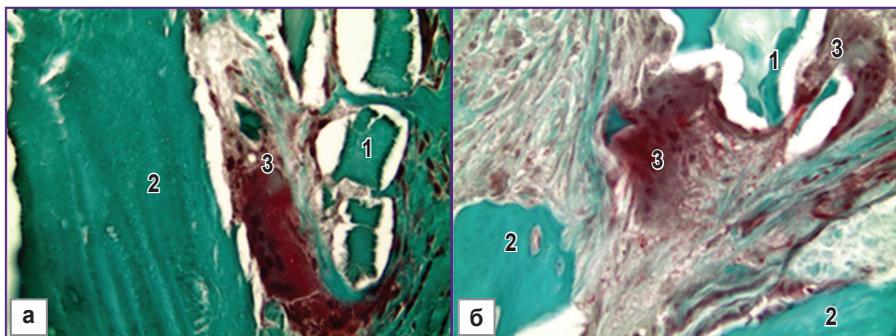


Рис. 4. Фрагмент гистологического среза трепанобиоптата коллагенсодержащего остеопластического материала:

а — гигантские клетки инородного тела фрагментируют гранулу материала, располагаясь на поверхности новообразованной костной ткани; $\times 200$; **б** — одновременная резорбция гигантских клеток инородного тела костного вещества и материала; $\times 400$; 1 — костнопластический материал; 2 — новообразованная ретикулофиброзная костная ткань; 3 — гигантские клетки инородных тел; окраска по Массону–Голднеру

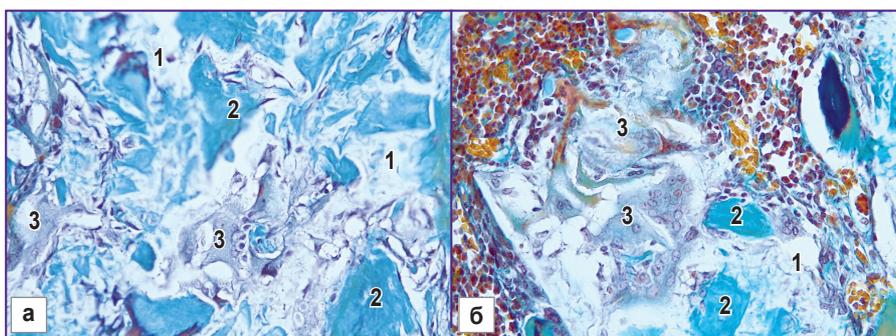


Рис. 5. Фрагмент гистологического среза бедренной кости крысы через 28 дней после имплантации поли-3-гидроксибутирата в костный дефект:

а — параллельное образование и резорбция костной ткани гигантскими клетками инородного тела; $\times 400$; **б** — фагоцитоз новообразованной кости гигантскими клетками инородного тела с поверхности материала; $\times 400$; 1 — костнопластический материал; 2 — новообразованная ретикулофиброзная костная ткань; 3 — гигантские клетки инородных тел; окраска по Папаниколу

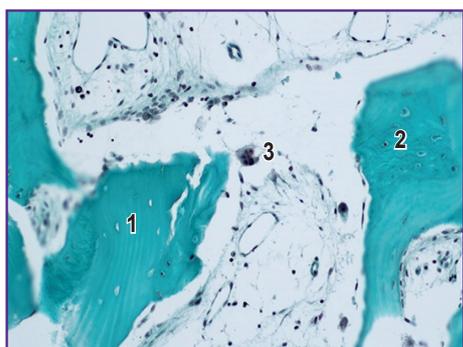


Рис. 6. Фрагмент гистологического среза трепанобиоптата костного регенерата через 120 дней после трансплантации тканеинженерных конструкций

Остеокластоподобная клетка на поверхности новообразованной кости; признаки недавней резорбции остеопластического материала; 1 — костнопластический материал; 2 — новообразованная ретикулофиброзная костная ткань; 3 — гигантские клетки инородных тел; окраска по Массону–Голднеру; $\times 400$

ляется только в случае возникновения гранулематозного продуктивного воспаления в ответ на введенный материал. Если же признаков воспаления не обнаруживалось, то и проявлений костной резорбции не наблюдалось (рис. 4).

МАКР при имплантации синтетического полимерного материала на основе поли-3-гидроксибутирата.

Данный материал вводился в дефект бедренной кости крысы. Выявлено, что новообразованная и созревающая костная ткань подвергалась резорбции гигантскими клетками инородных тел (рис. 5).

МАКР после трансплантации тканеинженерных конструкций на основе аутогенных мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток жировой ткани.

Данные конструкции были преддифференцированы в остеогенном направлении в сочетании с остеопластическим материалом «Остеоматрикс» (пиофилизированный очищенный бычий костный коллагеновый матрикс, ООО «Конектбиофам», Россия). Были обнаружены аналогичные явления, как и при имплантации минеральных остеопластических материалов натурального происхождения (рис. 6).

Обсуждение

Современные представления о гранулематозном воспалении и гигантоклеточной инфильтрации свидетельствуют о том, что каждый вариант клеточной реакции на то или иное событие в тканях характеризуется морфофункциональными особенностями участвующих в них многоядерных клеток [5, 8, 13]. Наши наблюдения демонстрируют сходную активность различных по морфотипу многоядерных клеток на остеопластические материалы различных классов. Все они одновременно проявляют свойства и функции остеокластов и гигантских клеток инородных тел, что не согласуется с существующим условным их делением. Процесс резорбции материала сопровождается параллельной резорбцией жизнеспособного костного вещества с формированием полей лакунар-

ной резорбции, резорбционных туннелей. В процессе резорбции материала и костного вещества принимают участие клетки остеокластического и гигантоклеточного фенотипа. Фенотип клеток с большой долей вероятности зависит от свойств материала. Так, резорбция депротенизированных и нативных (без деминерализации) материалов ксеногенного происхождения и новообразованной при их участии костной ткани осуществляется остеокластоподобными клетками, а деминерализованных, синтетических, минеральных и полимерных материалов — гигантскими клетками инородных тел. В дальнейшем необходима четкая идентификация всего пула клеток макрофагального ряда, участвующих в этом процессе, с применением иммуногистохимических и цитогенетических методов исследований.

На наш взгляд, причину параллельного запуска программы остеоклазии и резорбции инородного

тела следует искать в пластичности реализации генетической программы макрофагальных клеток, которая зависит от биологических, химических и иммунологических свойств объекта взаимодействия. Так, на ранних стадиях остеогенеза в костных регенератах могут быть обнаружены значительные скопления остеокластов, которые, вероятно, участвуют в регулировании неоостеогенеза, не позволяя образовываться избыточному количеству костного вещества. Кроме того, нельзя сбрасывать со счетов функционирование этого типа клеток в составе базисных многоклеточных единиц и цитокиновое регулирование активности остеобластов и наоборот.

Остеоклазия при нестимулированной регенерации становится заметной с 3-х суток после привнесения в костный раневой дефект остеопластического материала. Островки первичного остеогенеза и молодая ретикулофиброзная костная ткань окружены много-

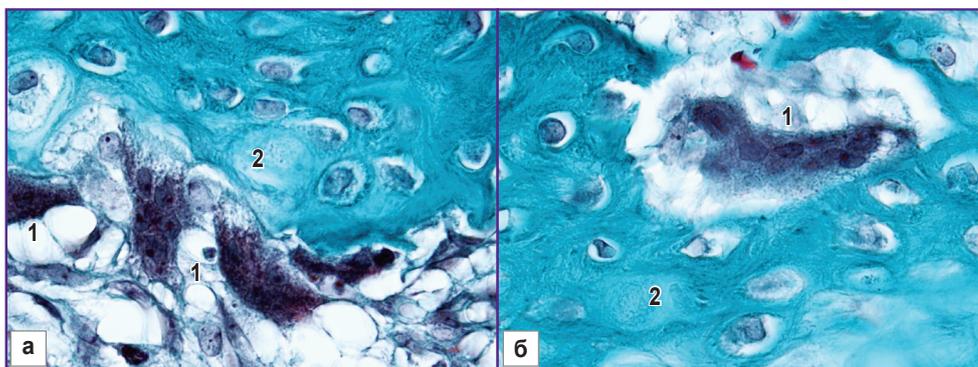


Рис. 7. Фрагмент гистологического среза адаптивного поднадкостничного регенерата, возникшего на противоположной критическому дефекту поверхности бедренной кости крысы:

а — остеокластическая резорбция новообразованной кости как адаптивный механизм костного ремоделирования; б — остеокластическая резорбция новообразованной кости; фагоцитоз живых остеобластов и остеоцитов; 1 — остеокласты; 2 — новообразованная ретикулофиброзная костная ткань; окраска по Массону–Голднеру; $\times 1000$

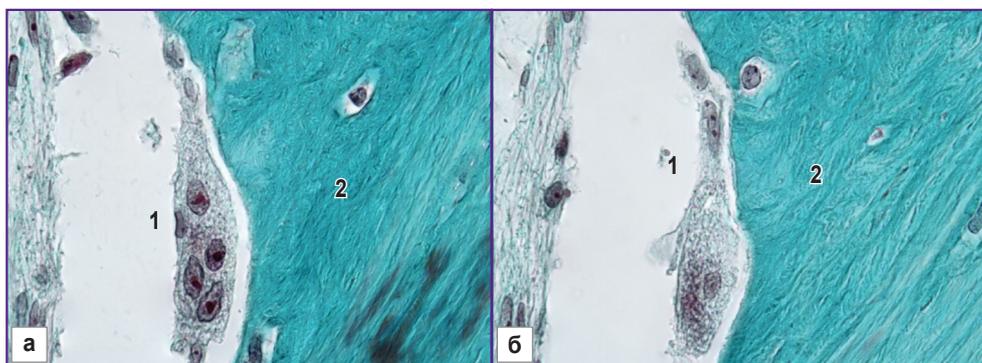


Рис. 8. Фрагмент трепанобиоптата костного регенерата через 180 дней после экстракции зуба:

а, б — серийные срезы; физиологическая остеокластическая резорбция костной ткани не исключает фагоцитоза жизнеспособных остеоцитов; 1 — остеокласты; 2 — новообразованная пластинчатая костная ткань; окраска по Массону–Голднеру; $\times 1000$

численными остеокластами, которые резорбируют новообразованные трабекулы и фагоцитируют выпавшие из лакун остециты (рис. 7). Таким образом, в нормальных условиях процесс остеокластической резорбции может сопровождаться вовлечением не только нежизнеспособной, но и абсолютно нормальной костной ткани (рис. 8). Следует отметить, что аналогичный процесс остеокластической резорбции новообразованной костной ткани отмечается и при заживлении переломов кости, в том числе и в результате высоко-энергетических ранений. Принято считать, что это явление развивается во второй половине процесса репаративного остеогенеза и знаменует собой фазу функциональной адаптации костного регенерата (ремоделирования) к условиям функциональной нагрузки на костный орган. Биологический смысл этого явления в ранний период после костнопластических операций с использованием синтетических и естественных материалов нуждается в дальнейшем анализе.

Заключение

Представленные наблюдения свидетельствуют о наличии особого явления в имплантологии — материал-ассоциированной костной резорбции, при которой гиперстимуляция остеогенеза остеопластическими материалами сопровождается не только ремоделированием костного матрикса в ходе репаративного остеогенеза, но и одновременно — резорбцией остеопластического материала различными клетками макрофагального ряда, но объединенными одной функцией. По нашему мнению, этот процесс в какой-то промежуток времени приобретает признаки инверсии в ту или иную сторону, что может сопровождаться избыточной резорбцией как материала, так и костной ткани.

Финансирование исследования. Образцы костной ткани с поли-3-гидроксипропанатом были исследованы в рамках проекта, поддержанного Министерством образования и науки РФ (договор №14.607.21.0119 от 27.10.2015, идентификатор RFMEFI60715X0119).

Конфликт интересов. У авторов нет конфликта интересов.

Литература/References

1. Valentin J.E., Stewart-Akers A.M., Gilbert T.W., Badylak S.F. Macrophage participation in the degradation and remodeling of extracellular matrix scaffolds. *Tissue Eng Part A* 2009; 15(7): 1687–1694, <https://doi.org/10.1089/ten.tea.2008.0419>.
2. Detsch R., Voccaccini A.R. The role of osteoclasts in bone tissue engineering. *J Tissue Eng Regen Med* 2015; 9(10): 1133–1149, <https://doi.org/10.1002/term.1851>.
3. Волков А.В. К вопросу о безопасности остеопластических материалов. Вестник травматологии и

ортопедии им. Н.Н. Приорова 2015; 1: 46–51. Volkov A.V. On the safety of osteoplastic materials. *Vestnik travmatologii i ortopedii im. N.N. Priorova* 2015; 1: 46–51.

4. Деев Р.В., Исаев А.А., Кочиш А.Ю., Тихилов Р.М. Клеточные технологии в травматологии и ортопедии: пути развития. Гены и клетки 2007; 2(4): 18–30. Deev R.V., Isaev A.A., Kochiesh A.Yu., Tikhilov R.M. Cellular technologies in traumatology and orthopedics: ways of development. *Geny i kletki* 2007; 2(4): 18–30.

5. Badylak S.F., Valentin J.E., Ravindra A.K., McCabe G.P., Stewart-Akers A.M. Macrophage phenotype as a determinant of biologic scaffold remodeling. *Tissue Eng Part A* 2008; 14(11): 1835–1842, <https://doi.org/10.1089/ten.tea.2007.0264>.

6. Davies J.E., Matta R., Mendes V.C., Perri de Carvalho P.S. Development, characterization and clinical use of a biodegradable composite scaffold for bone engineering in oro-maxillo-facial surgery. *Organogenesis* 2010; 6(3): 161–166, <https://doi.org/10.4161/org.6.3.12392>.

7. Бозо И.Я., Деев Р.В., Дробышев А.Ю., Комлев В.С., Рожков С.И., Еремин И.И., Далгатов И.Г., Воложин Г.А., Грачев В.И., Федотов А.Ю., Исаев А.А. Эффективность ген-активированного остеопластического материала на основе октакальциевого фосфата и плазмидной ДНК с геном VEGF в восполнении «критических» костных дефектов. Вестник травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова 2015; 1: 35–42. Bozo I.Ya., Deev R.V., Drobyshev A.Yu., Komlev V.S., Rozhkov S.I., Eryomin I.I., Dalgatov I.G., Volozhin G.A., Grachyov V.I., Fedotov A. Yu., Isaev A.A. Efficacy of gen-activated osteoplastic material based on octacalcium phosphate and plasmid DNA containing VEGF gene for critical-sized bone defects substitution. *Vestnik travmatologii i ortopedii im. N.N. Priorova* 2015; 1: 35–42.

8. Brodbeck W.G., Anderson J.M. Giant cell formation and function. *Curr Opin Hematol* 2009; 16(1): 53–57, <https://doi.org/10.1097/moh.0b013e32831ac52e>.

9. Михайловский А.А., Кулаков А.А., Волков А.В. Сохранение объема костной ткани альвеолярного гребня в модели симметричной аугментации лунки удаленного зуба: клинико-морфологическое исследование. Клиническая и экспериментальная морфология 2015; 1(13): 8–18. Mikhailovskiy A.A., Kulakov A.A., Volkov A.V. Maintaining bone tissue volume in the alveolar ridge after symmetric augmentation of extraction sites: clinical and morphological study. *Klinicheskaya i eksperimental'naya morfologiya* 2015; 1(13): 8–18.

10. Алексеева И.С., Рачинская О.А., Волков А.В., Кулаков А.А., Гольдштейн Д.В. Сравнительная оценка эффективности образования костной ткани при трансплантации тканеинженерной конструкции и остеопластического материала «Bio-Oss» в области дна верхнечелюстной пазухи. Стоматология 2012; 91(6): 41–44. Alekseeva I.S., Rachinskaia O.A., Volkov A.V., Kulakov A.A., Gol'dshtein D.V. A comparative evaluation of bone tissue formation by tissue scaffold and osteoplastic material “Bio-Oss” transplantation in the maxillary sinus floor. *Stomatologiya* 2012; 91(6): 41–44.

11. Мураев А.А., Bonartsev A.P., Gazhva Yu.V., Riabova V.M., Volkov A.V., Zharkova I.I., Stamboliev I.A., Kuznetsova E.S., Zhuikov V.A., Myshkina V.L., Mahina T.K., Bonartseva G.A., Yakovlev S.G., Kudryashova K.S., Voinova V.V., Mironov A.A., Shaitan K.V., Gazhva S.I.,

Ivanov S.Yu. Development and preclinical studies of orthotopic bone implants based on a hybrid construction from poly(3-Hydroxybutyrate) and sodium alginate. *Sovremennye tehnologii v medicine* 2016; 8(4): 42–50, <https://doi.org/10.17691/stm2016.8.4.06>.

12. Bonartsev A.P., Zharkova I.I., Yakovlev S.G., Myshkina V.L., Makhina T.K., Zernov A.L., Kudryashova K.S., Feofanov A.V., Akulina E.A., Ivanova E.V., Zhuikov V.A., Volkov A.V., Andreeva N.V., Voinova V.V., Bonartseva G.A., Shaitan K.V., Kirpichnikov M.P. Adhesion and growth of bone

marrow mesenchymal stem cells on 3D scaffolds from poly(3-hydroxybutyrate)-poly(ethylene glycol) copolymer. *J Biomater Tissue Eng* 2016; 6(1): 42–52.

13. Шехтер А.Б., Розанова И.Б. Тканевая реакция на имплантат. В кн.: Биосовместимость. Под ред. Севастьянова В.И. М; 1999; с. 174–211. Shekhter A.B., Rozanova I.B. Tkanevaya reaktsiya na implantat. V kn.: *Biosovmestimost'* [Tissue reaction to the implant. In: Biocompatibility]. Pod red. Sevast'yanova V.I. Moscow; 1999; p. 174–211.