

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

УДК 617.3; 617-089.844
© Коллектив авторов, 2020

Т.И. Власова, Е.В. Арсентьева, Г.Д. Худайберенова, Д.И. Полякова
**СОВРЕМЕННЫЙ ВЗГЛЯД НА ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КОСТНЫХ ЗАМЕНИТЕЛЕЙ
И ВОЗМОЖНОСТЬ УСИЛЕНИЯ
ИХ ОСТЕОГЕННОСТИ КЛЕТОЧНЫМИ ТЕХНОЛОГИЯМИ**
ФГБОУ ВО «Национальный исследовательский Мордовский государственный
университет им. Н.П. Огарёва», г. Саранск

Цель аналитического обзора – рассмотреть основные современные материалы, применяемые для костной пластики и замещения костных дефектов, и на основе анализа литературных источников оценить результаты усиления их остеоиндуктивных свойств инновационными клеточными технологиями и методами тканевой инженерии, а также возможность применения подобных имплантатов в клинике.

Материал и методы: поиск литературных источников проводился в открытых электронных базах научной литературы PubMed и КиберЛенинка (Cyberleninka) по ключевым словам и их словосочетаниям: «репаративный остеогенез», «костный имплантат», «остеоиндуктивность», «клеточные технологии», «стволовые клетки» (на русском и английском языках). Глубина поиска – 15 лет.

Результаты: в статье приведен литературный обзор основных современных материалов, применяемых для костной пластики и замещения костных дефектов. Проанализированы результаты исследований, направленных на изучение остеиндуктивных свойств различных костных имплантатов с учетом их материала и дизайна структуры. Рассмотрены возможности усиления остеиндуктивности путем внедрения в имплантат клеточных технологий. В обзоре представлен обширный спектр исследований, приведены результаты экспериментов, проведенных *in vitro* и *in vivo* как на животных, так и для ряда имплантатов на человеке.

В то же время сделан вывод о том, что большинство результатов исследований имплантатов, включающих клеточные стратегии, производилось только на животных, что ограничивает рекомендации к их клиническому применению.

Ключевые слова: костный имплантат, остеиндуктивность, клеточные технологии, стволовые клетки.

T.I. Vlasova, E.V. Arsentieva, G.D. Khudayberanova, D.I. Polyakova
**A MODERN VIEW ON BONE SUBSTITUTES USE
AND THE POSSIBILITY OF THEIR OSTEOGENICITY AMPLIFICATION
BY CELL TECHNOLOGIES**

The purpose of the review is to consider the main modern materials used for bone grafting and bone defect replacement and, based on the analysis of literature, to evaluate the results of enhancing their osteoinductive properties by innovative cellular technologies and tissue engineering methods, as well as the possibility of clinical using such implants.

Material and methods: the search for literary sources was carried out in open databases of scientific literature PubMed and Cyberleninka by using keywords and their phrases: “reparative osteogenesis”, “bone implant”, “osteinductance”, “cell technology”, “stem cells» (in Russian and English). The search depth is 15 years.

Results: The article provides a literature review of the main modern materials which are used for bone grafting and bone defect replacement. The results of studies aimed at studying the osteoinductive abilities of various bone grafts are analyzed taking into account their material and the design of the structure of the graft. The osteoinductance enhancing by introducing cellular technologies into the graft are considered. The review presents an extensive range of studies, so the results of experiments conducted *in vitro* and *in vivo* both in animals and, for a number of grafts, in humans are presented.

But, at the same time, it is concluded that most of the results of implant researches, including cellular strategies, were performed only on animals, and recommendations for their clinical use is limited.

Key words: bone graft, osteoinductance, cellular technologies, stem cells.

В настоящее время один из основных вопросов, который стоит перед ортопедической хирургией, – это восстановление костных дефектов. Аутотрансплантаты костной ткани ограничены в применении в связи с травматичностью ткани при получении необходимого ее количества, а также риском развития гематом [15]. В то же время применение аллотрансплантатов сопряжено с рядом трудностей, таких как возможность занесения инфекции от донора реципиенту и др. Возникает масса этических и юридических вопросов, связанных с забором материала у трупа. Поэтому необходима разработка новых типов имплантов [6].

Современные подходы к решению данной проблемы можно разделить на три основные категории: синтетические заменители костного трансплантата (bone graft substitutes (BGS)), архитектура и поверхность которых могут быть оптимизированы; трансплантаты в сочетании с биологически активными молекулами, такими как факторы роста, пептиды или малые молекулы, нацеленные на клетки-предшественники костей, формирование костей и метаболизм; клеточные стратегии с клетками-предшественниками в сочетании или без них с активными молекулами, которые могут быть введены или посеяны на трансплантат для улучшения доставки [14].

Наибольшее значение исследователи придают разработке так называемых активированных костных заменителей, в состав которых включены стандартизированные биологически активные компоненты: факторы роста, клетки или генные конструкции и кодирующие факторы роста [12].

Janicki P. и Schmidmaier G. утверждают, что идеальный заменитель костного трансплантата должен быть биомеханически стабильным, способным деградировать в течение соответствующего периода времени, обладать остеоиндуктивными, остеогенными и остеокондуктивными свойствами и формировать благоприятную среду для инвазии кровеносных сосудов и костеобразующих клеток [8].

Ардашев И.П. (2011) утверждает, что идеальный трансплантат должен не только закрыть существующий костный дефект, но и обладать низкой иммуногенностью и быть способным к постепенному слиянию с окружающей костью, образуя с ней прочное соединение [1,7].

Все костные заменители по составу можно разделить на две основные группы – биологические и синтетические материалы.

Биологические заменители костной ткани

Биологические заменители костей состоят из таких минералов, как кораллы, доломит, белый мрамор, или природных полимеров – коллаген типа I или деминерализованный костный матрикс [7,15,21]. Высокой адгезионной способностью, биосовместимостью, остеоиндуктивностью, биопроводимостью обладают импланты из коллагена и фибрина. Матрикс, созданный на данной основе, мало иммуногенен, довольно быстро резорбируется, при этом в фибриновом и коллагеновом матриксах можно создать довольно высокую концентрацию стволовых клеток. Фибриновый костный матрикс имеет преимущество благодаря своей способности формировать непрерывное соединение с костной тканью реципиента в месте внедрения имплантата [3].

Correia et al., проводя исследование *in vitro*, вводили мезенхимальные стволовые клетки жировой ткани на носителях – фибриновом гидрогеле и пористой губке, подвергнутые воздействию различных факторов роста. К 5-й неделе культивирования развитие костной ткани было подтверждено отложением кальция и белков костного матрикса наряду с неоваскуляризацией [11]. Жерносеченко А.А., Исайкина Я.И. и Михалевская Т.М., исследуя возможности использования носителя, заселенного недифференцированными мезен-

химальными стволовыми клетками совместно с индукторами остеогенеза, пришли к выводу, что фибриновый гель более предпочтителен, чем «КоллапАн» (основа – искусственный гидроксиапатит и коллаген), гранулы гидроксиапатита или коллагеновая губка. В ходе исследования остеогенная дифференцировка используемых стволовых клеток была подтверждена маркерами (щелочной фосфатазой) и повышением содержания кальция в составе внеклеточного матрикса [3].

Синтетические заменители костной ткани

Металлы. Спектр трансплантатов, выполненных из синтетических материалов, постоянно расширяется. Наиболее активно используются инертные металлы. Несколько исследований показали, что титан стимулирует дифференцировку мезенхимальных клеток в остеобласты. Например, Wall et al. сообщают, что титановые поверхности ускоряют остеогенную дифференцировку мезенхимальных стволовых клеток *in vitro* [26]. Malmberg et al. обнаружили спонтанное образование низкокristаллического карбонизированного гидроксиапатита при инкубации Ti-имплантатов с клеточной средой или кровью *in vitro* [18].

Кроме того, проведены исследования костеобразования на титановых пластинах *in vivo*. В эксперименте на мышах при размещении титановых имплантатов в бедренных костях формирование костной ткани наблюдалось параллельно поверхности титанового имплантата [17].

Для повышения остеогенных свойств титановых имплантов ряд исследователей заселяли их клеточными культурами. В исследовании Мальгинова Н.Н., Фроловой Е.Н. и Матвеевой В.Н. было показано, что при постановке имплантов марки Grade 4 ASTM F-67-00, заселенных живой культурой мезенхимальных стволовых клеток, полученных из красного костного мозга, у крыс было зафиксировано интенсивное образование остеонной ткани вокруг имплантата [4]. Вальперт, проводя исследования активности мезенхимальных стволовых клеток, полученных из человеческого костного мозга, заселенных на титановый и золотой имплантат, выявил, что такие клетки как на имплантате из золота, так и на титановом носителе оказывали аналогичный остеогенный эффект за счет секреции факторов роста и синтеза костного матрикса, стимулируя заживление раны и закрытие костного дефекта нижней челюсти у крыс [2]. Исследование мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани в составе транспланта-

та в сочетании с титановыми пластинами для лечения перелома бедренной кости крысы проводили Golab K.G. et al. Гистоморфометрическая оценка эффективности проведенной операции с использованием сканирующей электронной микроскопии показала более выраженный контакт кости с имплантатом и более высокий индекс минерализации кости в сравнении с имплантатом, не обработанным мезенхимальными стволовыми клетками жировой ткани и индуцированными к остеогенной дифференцировке [13].

Проведено исследование по использованию титанового импланта, заселенного аутологичными стволовыми клетками из стромально-васкулярной фракции при повреждении грудины у человека. Доказано, что имплант обеспечил оптимальную платформу для стабилизации грудины пациента и способствовал ее заживлению. В то же время авторы отмечают, что данная методика нуждается в проведении дополнительных исследований [16].

Биокерамики. Такие металлы, как титан, биосовместимы, прочны и экономичны, но не поддаются биологическому разложению и могут вызывать стресс тканей. Поэтому для восстановления костной ткани широко используются биокерамики – гидроксиапатит и бета-трикальцийфосфат (β -tricalcium phosphate (β -TCP)). Они обладают высокой биологической активностью, что объясняется их структурным и композиционным сходством с минеральной фазой костной ткани и уже нашли применение в клинической практике. Кроме того, биоактивность керамики способствует прикреплению клеток и синтезу внеклеточного матрикса кости [9,10].

Возможность создавать из подобных материалов 3Д-конструкции позволяет управлять пространственно сложным процессом формирования ткани, приближая структуру вновь образованной ткани к нативной, и таким образом оптимизировать остеоиндукцию, остеокондукцию и остеогенез [23].

Разработан ряд препаратов, имеющих в своем составе гидроксиапатит (КоллопАн, OssaBase, Стимул-Осс, Хронос), которые экспериментально доказали свою эффективность и используются в качестве матриц для новообразования костной ткани в клинике [1,7]. Биомиметические гидроксиапатиты являются эволюцией традиционных гидроксиапатитов и содержат ионы (карбонаты, Si, Sr, Fl, Mg), которые имитируют природные гидроксиапатиты [10].

Для увеличения степени остеогенности данные препараты могут быть засеяны кле-

точной культурой. Исследования, проводимые Петренко Ю.А. и др. в 2011г., подтверждают высокую эффективность губок КоллопАн, а также гранул OssaBase в качестве матрицы-носителя мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани. В то же время отмечено угнетающее влияние на заселенные стволовые клетки у губок Стимул-Осс [5].

Посев *in vitro* аутогенных мезенхимальных стволовых клеток, выделенных из костного мозга, на биоскаффолд, покрытый силикагелем гидроксиапатита кальция (HAsi), усиливает остеокондуктивные свойства скаффолда. Подобные импланты доказали свою эффективность для заращения дефекта лучевой кости кролика в эксперименте, выполненном Maiti S.K., Ninu A.R. et al. Авторы рекомендуют их для лечения крупных дефектов или несращений костей [19].

Широкое внедрение биокерамиков в клиническую практику привело к тому, что уже проведен ряд исследований, оценивающих возможность применения «активированных» биокерамических имплантов для регенерации костных дефектов у человека. Shayesteh Y.S. et al. использовали импланты из гидроксиапатита и бета-трикальцийфосфата, засеянные мезенхимальными стволовыми клетками, для реконструкции верхнечелюстных пазух. У всех пациентов было отмечено улучшение формирования костной ткани в области имплантирования [25].

Однако использование керамических имплантатов ограничено из-за их плохих механических свойств, таких как низкое сопротивление кручению, изгибу и сдвигу. Стратегия комбинирования керамических материалов с полимерами, образующими композиты, направлена на повышение биоактивности имплантов [9].

Двухфазные (органо-неорганические) композиты. В ряде исследований сообщалось об использовании полимерных материалов для производства костных инженерных каркасов, в частности поликапролактона, полимолочной кислоты и полигликолевой кислоты, которые обладают отличной биосовместимостью и биоразлагаемостью [9].

Производство двухфазных композитов путем смешивания полимеров и керамических материалов сочетает в себе высокие механические характеристики полимеров с повышенной устойчивостью керамики к сжатию, имитируя биомеханические свойства кости [9]. Так, препарат КоллопАн, упомянутый ранее и активно применяемый в клинике, в своей основе содержит искусственный гидроксиапатит и коллаген.

Полимерные материалы показывают большое сродство к трансплантации и дифференцировке клеток. Кроме того, их структура может быть настроена таким образом, чтобы поддерживать адекватную механическую устойчивость и быть полностью биорезорбируемой. Создаются синтетические трехмерные каркасы из полимерных материалов, содержащие стволовые клетки и факторы роста, чтобы стимулировать образование новой костной ткани [24]. Уже были разработаны каркасы из поликапролактона (polycaprolactone (PCL)), коллагена I (collagen I (col)) и наногидроксиапатита (nanohydroxyapatite (HA)) методом электроспиннинга (electrospun PCL/col/HA scaffolds), которые способны поддерживать адгезию мезенхимальных стволовых клеток и их пролиферацию в отличие от каркасов, состоящих только из поликапролактона или коллагена I [22].

Роль дизайна в структуре импланта при костной регенерации

Остеокондуктивность биоматериалов может быть ориентирована соответствующим образом не только с помощью их состава, но и характера поверхности и внутренней структуры [8].

Нановолокнистые каркасы имеют преимущество благодаря тому, что структура внеклеточного матрикса состоит из волокон, измеряемых в нанометровом масштабе. Они могут улучшать поддержание нужного фенотипа клеток, а также усиливать прикрепление различных клеток, влияя на межклеточные контакты [20].

Francesca Marini, Ettore Luzi et al. доказали, что наноструктурированные титановые сплавы Ti6Al4V и Ti13Nb13Zr поддерживают адгезию и пролиферацию мезенхимальных стволовых клеток, способствуют их дифференцировке в линии остеобластов, а также поддерживают активность зрелых остеобластов при отложении кальция и производстве белка внеклеточного матрикса кости [20]. Adreshizylajimi et al. отмечают, что остеогенный потенциал человеческих индуцированных плюрипотентных стволовых клеток на поверхности нановолокнистых скаффолдов (polyethersulfone (PES)) существенно повышается при их культивировании на скаффолдах с помощью плазменной обработки O₂ [8].

Биоматериалы, разработанные для устранения костных дефектов, классически ориентированы на заживление костей путем прямого внутримембранного окостенения. Однако большинство костей в нашем теле развиваются из хрящевого шаблона по второ-

му пути, называемому эндохондральным окостенением [7,15,21]. Таким образом, разработка трансплантатов, стимулирующих эндохондральное окостенение является перспективной. Petersen A., Princ A. et al. выявили, что биоматериал с каналобразной архитектурой пор индуцирует эндохондральное заживление костных дефектов [21].

Такие параметры, как размер, количество и структура пор, также имеют решающее значение для остеокондуктивных свойств имплантов [7,15,21]. Maiti S.K., Ninu A.R. et al. использовали в своем эксперименте трехмерное покрытие силикагелем гидроксиапатит кальция (HASi) -каркасы, содержащие открытые поры в диапазоне от 50 до 500 мкм, выполненные в виде блоков. Авторы предположили, что благодаря пористой структуре в таких имплантах улучшаются миграция и распределение остеопрогениторных клеток по всему материалу каркаса, так как соотношение площади поверхности к объему увеличено [19]. В экспериментах Matthew C. Phipps et al. отмечено, что увеличение пористости сложных, имитирующих кость каркасов усиливало васкуляризацию и ускоряло замену каркаса нативной костной тканью [22].

Следует отметить, что для использования современных методов биоинженерии с использованием скаффолдов и мезенхимальных стволовых клеток имеется ряд критических ограничений. Во-первых, еще не до конца определены возможности и методы усиления остеогенной дифференцировки имплантированных мезенхимальных стволовых клеток. Во-вторых, в процессе репарации перелома кроме стволовых клеток участвует довольно большое количество клеток, в том числе остеокластов, и использование только стволовых клеток и скаффолдов не может имитировать в точности микроокружение в зоне поврежденной ткани. В-третьих, из-за развития в месте повреждения воспалительного и ишемического процессов с оксидативным стрессом на месте ушиба снижается выживаемость имплантированных стволовых клеток, что сильно ограничивает терапевтический эффект [15,27]. Одной из возможностей повышения остеоиндуктивности скаффолдов для регенерации костной ткани является искусственное использование биологически активных молекул и прежде всего остеогенных факторов роста [8,15].

Выводы

Таким образом, происходит постоянное пополнение спектра имплантов, которые можно применять для закрытия и заращения

костных дефектов. Для их производства активно используют как биологические, так и синтетические материалы.

Наиболее перспективны разработки тканевой биоинженерии, которые позволяют соединять и структурировать различные материалы в костных заместителях особенно, когда их применение дополнено внедрением клеточных технологий и/или использованием биоактивных молекул.

В то же время большинство исследований имплантов, включающих клеточные стратегии, производилось только на животных, что ограничивает их клиническое применение, так как человеческая костная ткань имеет свои особенности заживления. Кроме того, до внесения любых препаратов в спектр терапевтических необходимо детально изучить возможные противопоказания и побочные действия каждого из предложенных методов.

Сведения об авторах статьи:

Власова Татьяна Ивановна – д.м.н., доцент, профессор кафедры нормальной и патологической физиологии с курсом гигиены ФБГОУ ВО «Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева». Адрес: 430005, г. Саранск, ул. Большевикская, 68. E-mail: vlasova.tatyanka@mail.ru.

Арсентьева Екатерина Владимировна – к.м.н., доцент, доцент кафедры нормальной и патологической физиологии с курсом гигиены ФБГОУ ВО «Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева». Адрес: 430005, г. Саранск, ул. Большевикская, 68. E-mail: ev.arsenteva@yandex.ru.

Худайберенова Гульджарен Джараевна – аспирант ФБГОУ ВО «Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева». Адрес: 430005, г. Саранск, ул. Большевикская, 68. E-mail: v.ti@bk.ru.

Полякова Дарья Игоревна – студентка ФБГОУ ВО «Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева». Адрес: 430005, г. Саранск, ул. Большевикская, 68. E-mail: dasha.sowest@yandex.ru.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ардашев, И.П. Современное состояние вопроса о костнопластических материалах, стимулирующих остеогенез / И.П. Ардашев [и др.] // Вестник новых медицинских технологий. – 2011. – № 4. – С.161-165.
2. Вольперт, У.В. Испытание остеостимулирующей активности мезенхимальных стволовых клеток костного мозга, культивированных на имплантате из золота [Электронный ресурс] / У.В. Вольперт // Электронный научно-образовательный вестник «Здоровье и образование в XXI веке». – 2007. – № 4 URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/ispytanie-osteostimuliruyushey-aktivnosti-mezenhimalnyh-stvolovyh-kletok-kostnogo-mozga-kultivirovannyh-na-implantate-iz-zolota> (дата обращения: 13.04.2020).
3. Жерносеченко, А.А. Выбор носителя и условий дифференцировки мезенхимальных стволовых клеток для восстановления костной ткани / А.А. Жерносеченко, Я.И. Исайкина, Т.М. Михалевская // Наука и инновации. – 2019. – №5. – С. 58-61. doi: 10.29235/1818-9857-2019-5-58-61
4. Мальгинов, Н.Н. Остеостимулирующая активность мезенхимальных стволовых клеток костного мозга культивированных на титановом носителе [Электронный ресурс] / Н.Н. Мальгинов, Е.Н. Фролова, В.Н. Матвеева // Электронный научно-образовательный вестник «Здоровье и образование в XXI веке». – 2007. – №12. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/osteostimuliruyushchaya-aktivnost-mezenhimalnyh-stvolovyh-kletok-kostnogo-mozga-kultivirovannyh-na-titanovom-nositele> (дата обращения: 13.04.2020).
5. Петренко, Ю. А. Биосовместимость мезенхимных стромальных клеток жировой ткани человека с остеопластическими композиционными материалами / Ю.А. Петренко [и др.] // Биотехнология. – 2012. – (4). – С. 112-117.
6. Савинцев, А.М. Трансплантация мононуклеарной фракции клеток аутологичного костного мозга в комплексном хирургическом лечении переломов длинных трубчатых костей / А.М. Савинцев [и др.] // Вестник СПбГУ. Сер. 11. – 2013. – №4. – С. 156-162.
7. Шадманов, Т.Т. Репаративный остеогенез при местном применении биостимуляторов // Т.Т. Шадманов, Р.Р. Ходжаев, А.А. Ташпулатов // Вестник экстренной медицины. – 2013. – №1. – С. 82-86.
8. Ardeshtyrlajimi, A. Applied Induced Pluripotent Stem Cells in Combination With Biomaterials in Bone Tissue Engineering / A. Ardeshtyrlajimi Journal of Cellular Biochemistry. – 2017. – Vol. 118(10). – P. 3034–3042. (In Eng.) doi: 10.1002/jcb.25996.
9. Baptista, LS Spheroids of stem cells as endochondral templates for improved bone engineering / LS Baptista, GS Kronemberger, KR Silva, JM Granjeiro // Front Biosci (Landmark Ed). – 2018 Jun. – Vol. 1(23). – P. 1969-1986. (In Eng.).
10. Campana, V. Bone substitutes in orthopaedic surgery: from basic science to clinical practice / V. Campana [et al.] // J Mater Sci Mater Med [Internet]. – 2014. – Vol. 25(10). (In Eng.) <https://link.springer.com/article/10.1007/s10856-014-5240-2> doi: 10.1007/s10856-014-5240-2.
11. Correia, C. Human adipose derived cells can serve as a single cell source for the in vitro cultivation of vascularised bone grafts / C Correia, W Grayson, R Eton // J tissue eng regen med. – 2014 – Vol. 8(8). – P. 629–39. (In Eng.) doi: 10.1002/term.1564.
12. Deev, R.V., Ordinary and Activated Bone Grafts: Applied Classification and the Main Features / R.V. Deev [et al.] // Biomed Research International. – 2015. – article ID:365050. (In Eng.) <https://www.hindawi.com/journals/bmri/2015/365050/#copyright> doi: 10.1155/2015/365050.
13. Golab, K.G. Evaluation of the effect of adipose tissue-derived stem cells on the quality of bone healing around implants / K.G. Golab [et al.] // Connective Tissue Research. – 2015. – Vol. 57(1). – P. 10–19. (In Eng.). doi: 10.3109/0308207.2015.1079180.
14. Ho-Shui-Ling, A. Bone regeneration strategies: Engineered scaffolds, bioactive molecules and stem cells current stage and future perspectives / A. Ho-Shui-Ling [et al.] // Biomaterials. – 2018. – Vol.180. – P. 143-162. (In Eng.). doi:10.1016/j.biomaterials.2018.07.017.
15. Janicki, P. What should be the characteristics of the ideal bone graft substitute? Combining scaffolds with growth factors and/or stem cells / P. Janicki, G. Schmidmaier // Injury. – 2011. – Vol. 42. – S77–S81. (In Eng.). doi:10.1016/j.injury.2011.06.014.
16. Khalpey, Z. I. First in man: Sternal reconstruction with autologous stem cells / Z. I. Khalpey [et al.] // ASAIO Journal. – 2015. – Vol. 61(5). – e31–e32. (In Eng.). doi:10.1097/MAT.0000000000000236.
17. Kojima, N. High-throughput gene expression analysis in bone healing around titanium implants by DNA microarray / N. Kojima [et al.] // Clinical oral implants research. – 2008. – Vol.19. – P. 173–181. (In Eng.). doi: 10.1111/j.1600-0501.2007.01432.x
18. Malmberg, P. Formation of hydroxyapatite on titanium implants in vivo precedes bone-formation during healing / P. Malmberg [et al.] // Biointerphases. – 2017. – Vol.12(4). Article ID 041002. (In Eng.). <https://avs.scitation.org/doi/10.1116/1.4993986>. doi:10.1116/1.4993986.
19. Maiti, S.K. Mesenchymal stem cells-seeded bio-ceramic construct for bone regeneration in large critical-size bone defect in rabbit/ S.K. Maiti [et al.] // J Stem Cells Regen Med. – 2016. – Nov 29. – Vol. 12(2). – P. 87-99. (In Eng.) PMID: 28096633; PMCID: PMC5227108.
20. Marini, F. Osteogenic differentiation of adipose tissue-derived mesenchymal stem cells on nanostructured Ti6Al4V and Ti13Nb13Zr. / F Marini [et al.] // Clinical Cases in Mineral and Bone Metabolism. – 2015. – №12(3). – P. 224-237. (In Eng.).doi: 10.11138/cmbm/2015.12.3.22
21. Petersen, A.A biomaterial with a channel-like pore architecture induces endochondral healing of bone defects /A. Petersen [et al.] // Nature Communications. – 2018. – Vol.9(1). (In Eng.) <https://www.nature.com/articles/s41467-018-06504-7>. doi: 10.1038/s41467-018-06504-7.

22. Phipps, M. C. Increasing the pore sizes of bone-mimetic electrospun scaffolds comprised of polycaprolactone, collagen I and hydroxyapatite to enhance cell infiltration / M.C. Phipps [et al.] // *Biomaterials*. – 2012. – Vol.33(2). – P. 524-534. (In Eng.). doi:10.1016/j.biomaterials.2011.09.080
23. Rocha, DN Mesenchymal Stem Cells Associated with Bioceramics for Bone Tissue Regeneration / DN Rocha [et al.] // *Biomaterials and Medical Applications*. – 2017. – Vol: 1 Issue: 2. (In Eng.).
24. Rossi, F. Polymeric scaffolds as stem cell carriers in bone repair / F. Rossi, M. Santoro, G. Perale // *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*. – 2013. – Vol. 9(10). – P. 1093–1119. (In Eng.) doi: 10.1002/term.1827
25. Shayesteh, Y.S. Sinus augmentation using human mesenchymal stem cells loaded into a beta-tricalcium phosphate/hydroxyapatite scaffold / Y.S. Shayesteh [et al.] // *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. – 2008. – Aug. – Vol.106(2):203-9. (In Eng.)
26. Wall, I. Modified titanium surfaces promote accelerated osteogenic differentiation of mesenchymal stromal cells in vitro / I. Wall [et al.] // *Bone*. – 2009. – Vol.45. – P 17-26. (In Eng.).doi: 10.1016/j.bone.2009.03.662
27. Weiduo Hou Bioengineering application using co-cultured mesenchymal stem cells and preosteoclasts may effectively accelerate fracture healing / Weiduo Hou et al// *Medical Hypotheses*. – 2019. – Vol. 123. – P. 24–26. (In Eng.).doi:10.1016/j.mehy.2018.12.008

REFERENCES

1. Ardashev I. P., Chernicov S.V., Veretel'nikova I. Ju., Grishanov A.A., Shpakovskij M.S. Sovremennoe sostojanie voprosa o kostnoplachestiskih materialah, stimulirujushhiih osteogenez. Vestnik novyh medicinskih tehnologij. 2011;(4):161-165 (In Russ.)
2. Vol'pert U.V. Ispytanie osteostimulirujushhej aktivnosti mezenhimal'nyh stvolovyh kletok kostnogo mozga, kul'tivirovannyh na implantate iz zolota. Jelektronnyj nauchno-obrazovatel'nyj vestnik «Zdorov'e i obrazovanie v XXI veke». 2007;(4):160 (In Russ.)
3. Zhernosechenko A., Isajkina Ja., Mihalevskaja T. Vybór nositelja i uslovij differencirovki mezenhimal'nyh stvolovyh kletok dlja voss-tanovlenija kostnoj tkani. Nauka i innovacii. 2019;(5):58-61 (In Russ.). doi: 10.29235/1818-9857-2019-5-58-61
4. Mal'ginov N.N., Frolova E.N., Matveeva V.N. Osteostimulirujushhaja aktivnost' mezenhimal'nyh stvolovyh kletok kostnogo mozga kul'tivirovannyh na titanovom nositele. Jelektronnyj nauchno-obrazovatel'nyj vestnik «Zdorov'e i obrazovanie v XXI veke». 2007; (12): 486 (In Russ.)
5. Petrenko Ju. A., Volkova N.A., Kucevljak V.F., Kucevljak V.I., Petrenko A.Ju. Biosovmestimost' mezenhimnyh stromal'nyh kletok zhiirovoy tkani cheloveka s osteoplasticheskimi kompozicionnymi materialami. Biotehnologija. 2012; (4): 112-117 (In Russ.)
6. M. Savincev, O.G. Hurcilava, A.B. Smoljaninov, A.T. Berozashvili, A.V. Mal'ko, Sh. F. Adylov Transplantacija mononuklearnoj frakcii kletok autologichnogo kostnogo mozga v kompleksnom hirurgicheskom lechenii perelomov dlinnyh trubchatykh kostej. Vestnik SPbGU. Ser. 11. 2013; (4):156-162 (In Russ.)
7. T.T. Shadmanov, R.R. Hodzhaev, A.A. Tashpulatov Biomaterialy - vazhnoe napravlenie biomedicinskih tehnologij. Vestnik jekstrennoj mediciny. 2013;(1):82-86 (In Russ.).
8. Ardeshirylajimi, A. Applied Induced Pluripotent Stem Cells in Combination With Biomaterials in Bone Tissue Engineering / A. Ardeshirylajimi Journal of Cellular Biochemistry. – 2017. – Vol. 118(10). – P. 3034–3042. (In Eng.) doi: 10.1002/jcb.25996
9. Baptista, LS Spheroids of stem cells as endochondral templates for improved bone engineering / LS Baptista, GS Kronemberger, KR Silva, JM Granjeiro // *Front Biosci (Landmark Ed)*. – 2018 Jun. – Vol. 1(23). – P. 1969-1986. (In Eng.)
10. Campana, V. Bone substitutes in orthopaedic surgery: from basic science to clinical practice / V. Campana [et al.] // *J Mater Sci Mater Med [Internet]*. – 2014. – Vol. 25(10). (In Eng.) <https://link.springer.com/article/10.1007/s10856-014-5240-2>.doi: 10.1007/s10856-014-5240-2
11. Correia, C. Human adipose derived cells can serve as a single cell source for the in vitro cultivation of vascularised bone grafts / C Correia, W Grayson, R Eton // *J tissue eng regen med*. – 2014 – Vol. 8(8). – P. 629–39. (In Eng.).doi: 10.1002/term.1564.
12. Deev, R. V., Ordinary and Activated Bone Grafts: Applied Classification and the Main Features / R.V. Deev [et al.] // *Biomed Research International*. – 2015. – article ID:365050. (In Eng.)
13. Golab, K. G. Evaluation of the effect of adipose tissue-derived stem cells on the quality of bone healing around implants / K.G. Golab [et al.] // *Connective Tissue Research*. – 2015. – Vol.57(1). – P. 10–19. (In Eng.). doi: 10.3109/03008207.2015.1079180
14. Ho-Shui-Ling, A. Bone regeneration strategies: Engineered scaffolds, bioactive molecules and stem cells current stage and future perspectives / A. Ho-Shui-Ling [et al.] // *Biomaterials*. – 2018. – Vol.180. – P. 143-162. (In Eng.).doi:10.1016/j.biomaterials.2018.07.017
15. Janicki, P. What should be the characteristics of the ideal bone graft substitute? Combining scaffolds with growth factors and/or stem cells / P. Janicki, G. Schmidmaier // *Injury*. – 2011. – Vol. 42. – P. S77–S81. (In Eng.).doi:10.1016/j.injury.2011.06.014
16. Khalpey, Z. I. First in man: Sternal reconstruction with autologous stem cells / Z. I. Khalpey [et al.] // *ASAIO Journal*. – 2015. – Vol. 61(5). – e31-e32. (In Eng.).doi:10.1097/MAT.0000000000000236.
17. Kojima, N. High-throughput gene expression analysis in bone healing around titanium implants by DNA microarray / N. Kojima [et al.] // *Clinical oral implants research*. – 2008. – Vol.19. – P. 173–181. (In Eng.). doi: 10.1111/j.1600-0501.2007.01432.x
18. Malmberg, P. Formation of hydroxyapatite on titanium implants in vivo precedes bone-formation during healing / P. Malmberg [et al.] // *Biointerphases*. – 2017. – Vol.12(4). Article ID 041002. (In Eng.). <https://avs.scitation.org/doi/10.1116/1.4993986>. doi:10.1116/1.4993986
19. Maiti, S.K. Mesenchymal stem cells-seeded bio-ceramic construct for bone regeneration in large critical-size bone defect in rabbit/ S.K. Maiti [et al.] // *J Stem Cells Regen Med*. – 2016. – Nov 29. – Vol.12(2). – P. 87-99. (In Eng.) PMID: 28096633; PMCID: PMC5227108.
20. Marini, F. Osteogenic differentiation of adipose tissue-derived mesenchymal stem cells on nanostructured Ti6Al4V and Ti13Nb13Zr. / F Marini [et al.] // *Clinical Cases in Mineral and Bone Metabolism*. – 2015. – №12(3). – P. 224-237. (In Eng.).doi: 10.1113/ccmbm/2015.12.3.22
21. Petersen, A.A biomaterial with a channel-like pore architecture induces endochondral healing of bone defects /A. Petersen [et al.] // *Nature Communications*. – 2018. – Vol.9(1). (In Eng.)
22. Phipps, M.C. Increasing the pore sizes of bone-mimetic electrospun scaffolds comprised of polycaprolactone, collagen I and hydroxyapatite to enhance cell infiltration / M.C. Phipps [et al.] // *Biomaterials*. – 2012. – Vol.33(2). – P. 524-534. (In Eng.)
23. Rocha, DN Mesenchymal Stem Cells Associated with Bioceramics for Bone Tissue Regeneration / DN Rocha [et al.] // *Biomaterials and Medical Applications*. – 2017. – Vol: 1 Issue: 2. (In Eng.)
24. Rossi, F. Polymeric scaffolds as stem cell carriers in bone repair / F. Rossi, M. Santoro, G. Perale // *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*. – 2013. – Vol. 9(10). – P. 1093–1119. (In Eng.). doi: 10.1002/term.1827
25. Shayesteh, Y.S. Sinus augmentation using human mesenchymal stem cells loaded into a beta-tricalcium phosphate/hydroxyapatite scaffold / Y.S. Shayesteh [et al.] // *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. – 2008. – Aug. – Vol.106(2):203-9. (In Eng.) [https://www.oooojournal.net/article/S1079-2104\(07\)00913-4/fulltext](https://www.oooojournal.net/article/S1079-2104(07)00913-4/fulltext). doi: 10.1016/j.tripleo.2007.12.001.
26. Wall, I. Modified titanium surfaces promote accelerated osteogenic differentiation of mesenchymal stromal cells in vitro / I. Wall [et al.] // *Bone*. – 2009. – Vol.45. – P 17-26. (In Eng.). doi: 10.1016/j.bone.2009.03.662
27. Weiduo Hou Bioengineering application using co-cultured mesenchymal stem cells and preosteoclasts may effectively accelerate fracture healing / Weiduo Hou et al// *Medical Hypotheses*. – 2019. – Vol. 123. – P. 24–26. (In Eng.). doi:10.1016/j.mehy.2018.12.008