Стимуляция аутогенным костным мозгом остеорепакации в зоне смоделированного ложного сустава бедренной кости у крыс

А.М. Рахимов

Ташкентский институт усовершенствования врачей Министерства Здравоохранения Республики Узбекистан, г. Ташкент

Stimulation of osteoreparation in the zone of modeled femoral pseudarthrosis in rats using autologous bone marrow

A.M. Rakhimov

The Tashkent Institute of Advanced Medical Training of the Ministry of Health of the Republic of Uzbekistan, Tashkent

Цель. Изучить морфологические особенности регенерации кости в условиях экспериментально воспроизведенного псевдоартроза и локального введения аутогенного красного костного мозга. **Материалы и методы.** Эксперименты выполнены на 30 белых лабораторных крысах популяции ГУ «Институт патологии позвоночника и суставов им. проф. М.И. Ситенко НАМН Украины» (6-месячные, живой массой 250-270 г). Работу с животными проводили, руководствуясь Международными правилами гуманного отношения к экспериментальным животным. Протокол экспериментальных исследований утвержден Комитетом по биоэтике ГУ «ИППС им. проф. М.И. Ситенко НАМН Украины». **Результаты.** Использование культивированных мезенхимальных стромальных клеток требует наличия высокотехнологичного лабораторного оборудования для их получения и продолжительного времени культивирования, что сдерживает их широкое клиническое использование. Применение нативного костного мозга, содержащего мезенхимальные стромальные клетки, характеризуется доступностью, простотой технологии его получения и трансплантации, что свидетельствует о преимуществах его применения для стимуляции репаративного остеогенеза при переломах кости, а также при нарушении репаративного остеогенеза. **Заключение.** В результате проведенного исследования выявлено, что аутогенный красный костный мозг стимулирует развитие в области ложного сустава костной ткани, площадь которой была на 22,8 % выше по сравнению с нелеченными животными. В структуре регенерата псевдосуставных полостей при введении в область травматического повреждения красного костного мозга не выявлено. Особенности течения репаративного процесса были следующими: активизация ангиогенеза, энхондральная оссификация, сопровождающаяся формированием губчатой костной ткани с мелкопетлистой сетью костных трабекул, снижение деструктивных проявлений в выше- и нижерасположенных от области травматического повреждения отделах материнской кости.

Ключевые слова: эксперимент, костный мозг, стромальные клетки, остеогенез, крысы

Purpose To study the morphological features of bone regeneration by using a local injection of autologous red bone marrow in the conditions of an experimentally produced pseudarthrosis. **Materials and methods** The study was conducted on thirty (30) white laboratory rats that were bred at the Sitenko Institute for Spine and Joint Pathology of the Ukraine National Academy of Medical Sciences (6 months old, weight of 250-270 g). The experiment was conducted according to the international rules of experimental animals protection. The protocol of the experimental studies was approved by the ethics board of the Sitenko Institute for Spine and Joint Pathology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine. **Results** Culturing of mesenchymal stromal cells requires high-tech laboratory equipment and takes a long period of time. Therefore, their widespread clinical use is limited. Native bone marrow that contains mesenchymal stromal cells is easily available. The process of its preparation and transplantation is not technologically difficult. Therefore, it has advantages for being used for stimulation of reparative osteogenesis in bone fractures or in disorders of reparative osteogenesis. **Conclusion** The study found that autologous red bone marrow stimulated bone tissue development in the zone of pseudarthrosis. The area of bone tissue was 22.8 % larger as compared with the bone area in the untreated animals. There were no pseudarthrosis-related cavities in the regenerate structure in the cases of red bone marrow injection into the zone of traumatic injury. The features of reparative process were the following: angiogenesis activation, enchondral ossification accompanied by cancellous bone tissue formation with a network of bone trabeculae, and decrease in the destructive manifestations in the maternal bone parts located above and below the injury area.

Keywords: experiment, bone marrow, stromal cells, osteogenesis, rats

ВВЕДЕНИЕ

Лечение больных с посттравматическими нарушениями регенерации кости является одной из важных проблем травматологии и ортопедии. При травматических повреждениях нарушение репаративного остеогенеза наблюдается в высоком проценте случаев и, по данным различных авторов, составляет от 2,5 до 25,0 % [5, 10]. Такая ситуация вынуждает исследователей к поиску новых подходов к проблеме лечения больных с несрастающимися переломами и сформированными псевдоартрозами.

В последние годы в практической медицине активно развивается новое направление – регенераторная медицина. Проводятся различные исследования в области регенерации кости, основанные на применении клеточных технологий: использовании стромальных

клеток, полученных из красного костного мозга или жировой ткани, введении тромбоцитов или тромбоцитарного фактора роста, костных морфогенетических белков, инсулиноподобного фактора роста, трансформирующего фактора роста, фактора роста фибробластов, а также цитокинов [17, 18, 20]. Особенно важным является такой подход в условиях нарушения репаративного остеогенеза – замедления консолидации отломков или формирования ложного сустава. Известны экспериментальные работы, в которых исследуется влияние на остеорепакацию нативного костного мозга при его введении в смоделированные костные дефекты [3, 15] или при дистракционном остеогенезе [12]. Однако имеются лишь единичные экспериментальные исследования и клинические разработки относительно

процессов, происходящих в регенерате при трансплантации нативного красного костного мозга или культивированных стромальных клеток костного мозга в область ложного сустава [1, 7, 15].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперименты выполнены на 30 белых лабораторных крысах 6-ти месячного возраста (живой массой 250-270 г) популяции ГУ «Институт патологии позвоночника и суставов им. проф. М.И. Ситенко НАМН Украины». Работу с животными проводили, руководствуясь Международными правилами гуманного отношения к экспериментальным животным [14] и протоколом экспериментальных исследований, утвержденным Комитетом по биоэтике (протокол № 120 от 09.09.2013 г.).

Техника выполнения оперативного вмешательства. Оперативное вмешательство проводили при общем обезболивании (внутримышечное введение аминазина в дозировке 10 мг/кг живой массы и кетамина – 50 мг/кг живой массы). С помощью пилы Джигли выполняли поперечную остеотомию в средней трети бедренной кости. На рану накладывали полнослойные швы.

В течение 14 дней использовали дополнительную фиксацию костных отломков при помощи полихлорвиниловых трубок от системы для внутривенных инфузий длиной 2-3 см, укрепленных медной проволокой. Данный вид иммобилизации позволял животным передвигаться по клетке, нагружая конечность. На 14 сутки, на этапе формирования тканеспецифических структур регенерата (мягкотканного регенерата), иммобилизация была снята. Животные опирались на функционально неполноценную конечность.

Сроки формирования ложного сустава в области остеотомии (21, 35 и 49 сутки) у крыс контролировали рентгенологически. Как было показано в ранее проведенном нами исследовании, ложный сустав у крыс сформировался на 49 сутки [9]. На этом сроке животные были разделены на 2 группы:

- 1 – контроль (животные без лечения, введение 0,3 мл физиологического раствора в область ложного сустава);
- 2 – опыт (введение в область ложного сустава крыс аутогенного красного костного мозга).

На 49 сутки опытным животным в область сформированного ложного сустава (центральная часть и вблизи костных отломков) вводили клетки аутогенного красного костного мозга. Костный мозг получали из бедренной кости неоперированной конечности при общем обезболивании непосредственно перед введением. Для этого с наружной стороны левой бедренной кости в области дистального метафиза стоматологическим бором (диаметр 1,3-1,5 мм) в условиях

Цель исследования – изучить морфологические особенности регенерации кости в условиях экспериментально воспроизведенного псевдоартроза с последующим локальным введением аутогенного красного костного мозга.

асептики выполняли транскортикальный дырчатый дефект и шприцом с инъекционной иглой отсасывали 0,4-0,5 мл красного костного мозга. Пунктат красного костного мозга вводили в зону ложного сустава правой бедренной кости в объеме 0,3 мл. Экспериментально было установлено, что в зону смоделированного ложного сустава в бедренной кости крысы можно ввести 0,3 мл костного мозга. Конечность животных опытной и контрольной групп шинировали, стараясь сохранить физиологическое положение.

После оперативных вмешательств животные находились под постоянным наблюдением и были выведены из эксперимента на 7, 14 и 28 сутки после формирования ложного сустава (49 сутки) путем внутримышечного введения летальной дозы 20 % раствора тиопентала натрия. Выбор сроков исследования обусловлен фазностью развития репаративного остеогенеза.

Методы исследования. Для оценки состояния тканей регенерата в области остеотомии бедренной кости крыс были использованы гистологический и гистоморфометрический методы. Выделенные бедренные кости обрабатывали по стандартной методике [11]. Фиксацию материала проводили в 10 % растворе нейтрального формалина, декальцинировали в 5 % растворе азотной кислоты, обезвоживали в растворах этилового спирта возрастающей крепости (от 60 до 96°) и этилового спирта с диэтиловым эфиром (1:1), уплотняли в густом целлоидине параами хлороформа. Материал заключали в целлоидин. Гистологические срезы фрагментов бедренной кости с областью перелома (толщиной 7-10 мкм) получали с помощью санного микротомы «Reichert», окрашивали железным гематоксилином Вейгерта и эозинном. Исследование и фотографирование гистологических срезов проводили в световом микроскопе «Axio Star Plus» (ок. 10×, объективы – 4×, 10×, 40×).

Морфометрические методы использовали для количественного учета площади сформировавшегося регенерата и площадей тканей в регенерате – костной, хондроидной и волокнистой соединительной (в процентном отношении к общей площади регенерата, принятой за 100 %). Измерение площадей тканей в мм выполняли под микроскопом Olympus BX-60 во все сроки наблюдения. Полученные цифровые показатели обрабатывали методом вариационной статистики с использованием критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Животные контрольной и опытной группы при осмотре во все сроки наблюдения были активными, опирались на оперированную конечность, но хропали. Питание и поведение животных не было нарушено. Бедренная кость в области перелома была муфтообразно утолщена.

При микроскопическом исследовании препаратов бедренной кости с областью регенерата опытных животных через 7 суток (49+7) после введения клеток красного костного мозга установлено, что регенерат, соединяющий костные отломки, был представлен тя-

жами плотной волокнистой соединительной ткани, перемежающейся с полями хондроидной. В соединительной ткани краевых и центральных отделов регенерата, в предполагаемых областях введения красного костного мозга, отмечена высокая плотность малодифференцированных клеток и клеток остеобластического дифферона. Выявлены и очаги пролиферации остеобластов (рис. 1, а), которые имели крупные ядра, обильную базофильную цитоплазму. Скопления клеток формировали остеоид.

Рис. 1. Участки регенерата: а – очаги пролиферации остеобластов в соединительной ткани регенерата; б – новообразованная костная ткань в центральных областях хондроиды. 7 сутки после введения аутологичного красного костного мозга. Гематоксиллин и эозин; а – ув. 400; б – ув. 200

Отмечено также замещение участков хондроиды как губчатой костной тканью мелкопетливой по организации сети (рис. 1, б), так и очагами формирующегося остеоида. На поверхности новообразованных костных трабекул располагались лентовидные пролифераты из остеобластов (рис. 1, б).

В регенерате контрольных животных преобладали обширные территории хондроиды и небольшие области новообразованной костной ткани в краевых отделах отломков.

На 14 сутки (49+14) после введения клеток костного мозга в зоне сформировавшегося регенерата между отломками бедренной кости (аналогично 7 суткам) сохранялись поля плотной волокнистой соединительной ткани (рис. 2), а также хондроиды с хондроцитами различной величины.

В отличие от регенерата, сформировавшегося на 7 сутки, местами в соединительной ткани и участках хондроиды отмечали щелевидные кровеносные сосуды (рис. 3, а), что может указывать на начальный процесс реорганизации регенерата. В отдельных местах регенерата выявлены кровеносные сосуды капиллярного типа, которые прорастали в регенерат из межтрабеку-

лярных пространств прилежащей костной ткани. Вокруг отдельных из них формировалась костная ткань (рис. 3, б).

Рис. 2. Область формирования псевдоартроза. Плотная волокнистая соединительная ткань в участке регенерата, соединяющего фрагменты бедренной кости после остеотомии. 14 сутки после введения аутологичного красного костного мозга. Гематоксиллин и эозин. Ув. 40

Рис. 3. Участки регенерата: а – очаги хондроиды и плотной волокнистой ткани. Сосуды капиллярного типа; б – участок регенерата, представленный хондроидом с кровеносными сосудами и сформированной костной тканью вокруг них. 14 сутки после введения аутологичного костного мозга. Гематоксиллин и эозин; а – ув. 200; б – ув. 400

Местами, предположительно в области введения клеток костного мозга, определяли скопления крупных ярко базофильных клеток, фенотип которых был сходен с клетками остеобластического дифферона (рис. 4).

В мозговом канале, проксимальнее и дистальнее сформированного регенерата, по эндостальной поверхности кортекса располагались единичные новообразованные костные трабекулы с высокой плотностью ярко окрашенных остеоцитов на поверхности. Отдельные из них прорастали в толщу регенерата. На отдалении от перелома канал выполнен красным костным мозгом.

В области кортексов костных отломков бедренной кости, расположенных проксимальнее и дистальнее от перелома, обнаружены признаки деструктивных изменений: неравномерная плотность остеоцитов, очаги костного матрикса без остеоцитов, а также микротрещины. Местами выявлены участки разрежения костного матрикса, представленные бесклеточными зонами. Отдельные сосудистые костные каналы были расширены.

Рис. 4. Область предполагаемого введения клеток костного мозга. Скопления клеток остеобластического дифферона в регенерате. 14 сутки после введения аутологичного красного костного мозга. Гематоксилин и эозин. Ув. 400

На 28 (49+28) сутки при рентгенологическом исследовании у животных опытной группы выявлено, что компактная костная ткань по краю бедренной кости сохраняла четкость (рис. 5, б). В области произведенной остеотомии бедренной кости диафиз несколько утолщен, наблюдается формирование костного регенерата. В контрольной группе область травматического повреждения рентгенопрозрачна (рис. 5, а).

Рис. 6. Участки сформированного регенерата: а – поля новообразованной костной ткани замещают хондроид в регенерате; б – обширные поля костной ткани, заместившие хондроид в регенерате. 28 сутки после введения аутологичного красного костного мозга. Гематоксилин и эозин. Ув. 100

Рис. 5. Рентгенограммы бедренной кости крысы контрольной (а) и опытной (б) группы (49+28 сутки)

При гистологическом исследовании выявлено, что в области перелома бедренной кости регенерат животных опытной группы на 28 сутки был представлен не только участками плотной волокнистой соединительной ткани и хондроидом, но и обширными полями новообразованной костной ткани. В области хондроидов, практически во всех препаратах, обнаруживали прорастающие кровеносные сосуды, вокруг которых располагалась костная ткань, представленная костными трабекулами, формирующими мелкопетлистую сеть. Межтрабекулярные пространства были заполнены красным костным мозгом. В отличие от регенерата на 14 сутки новообразованная костная ткань на 28 сутки характеризовалась высокой плотностью остеоцитов. Костная ткань определялась также и в периферических участках – на эндостальной поверхности кортекса проксимальнее и дистальнее от области перелома.

Обнаружены обширные участки новообразованной костной ткани, которая замещала хондроид (рис. 6, а).

Формирование таких зон костной ткани мы связываем с введением клеток красного костного мозга. Отличительной особенностью гистологической картины на 28 сутки было наличие участков практически полностью перестроившегося регенерата, представленного костной тканью (рис. 6, б).

В контрольной группе животных в области ложного сустава преобладали участки соединительной ткани и хондроиды (рис. 7)

В структуре кортекса дистального и проксимального фрагментов бедренной кости фиксировали слабо выраженные изменения, связанные с повышением плотности сосудов, неравномерной окраской межклеточного вещества, различной плотностью остецитов на участках, что свидетельствует о реактивных перестройках кортекса в ответ на травматическое повреждение. В контрольной серии, наряду с описанными выше изменениями, преобладали участки с низкой плотностью остецитов.

Для объективизации выявленных морфологических отличий в структуре регенератов у животных контрольной и опытной групп было выполнено *морфометрическое определение площади* тканей (хондроиды, костной и соединительной) во все сроки наблюдения (табл. 1).

Установлено, что площадь костной ткани в реге-

нератах на 7 сутки была выше на 12,2 %, а площадь хондроиды была на 12,6 % ниже по сравнению с показателями контрольных животных. Площадь соединительной ткани в сроки исследования достоверно не отличалась.

На 14 сутки после введения красного костного мозга площадь костной ткани превышала на 7,9 % показатели 7 суток, а хондроиды – была ниже на 7,2 %. Относительно показателей животных контрольной группы (моделирование ложного сустава) площадь костной ткани в регенерате опытных животных была выше на 17 %, а хондроиды – ниже на 15,7 %. Снижение площади хондроиды наблюдали и на 28 сутки. Так, площадь хондроиды снизилась по сравнению с 7 сутками на 15,1 % и на 7,9 % относительно 14 суток. Зафиксировано увеличение площади костной ткани на 14,4 % и на 6,5 % по сравнению с 7 и 14 сутками. Площадь соединительной ткани практически не изменилась.

Рис. 7. Область формирования ложного сустава: а – соединительная ткань и хондроид; б – преобладание хондроиды. Гематоксиллин и эозин. Ув. 100

Таблица 1

Площади ($M \pm m$, mm^2 и % от площади всего регенерата) тканей, образующих регенерат, у животных контрольной и опытной группы ($n = 14$)

Сроки исследования	Площадь регенерата	Площадь хондроиды	Площадь костной ткани	Площадь соединительной ткани
Опытная серия				
Опыт, 49+7 сутки	$13,929 \pm 0,355$	$8,143 \pm 0,390$ 58,4 %	$3,429 \pm 0,228$ 24,6 %	$2,714 \pm 0,221$ 19,4 %
Опыт, 49+14 сутки	$14,071 \pm 0,385$ $P > 0,05$	$7,214 \pm 0,447$ 51,2 % $P < 0,05$	$4,571 \pm 0,309$ 32,5 % $P < 0,05$	$2,429 \pm 0,228$ 17,3 % $P > 0,05$
Опыт, 49+28 сутки	$13,571 \pm 0,272$ $P1 > 0,05$ $P2 > 0,05$	$5,857 \pm 0,312$ 43,3 % $P1 > 0,05$ $P2 < 0,05$	$5,286 \pm 0,370$ 39 % $P1 > 0,05$ $P2 < 0,01$	$2,143 \pm 0,231$ 15,8 % $P1 > 0,05$ $P2 > 0,05$
Контрольная серия				
Контроль, 49+7 сутки	$13,786 \pm 0,485$ $P5 > 0,05$	$9,786 \pm 0,367$ 71 % $P5 < 0,01$	$1,714 \pm 0,174$ 12,4 % $P5 < 0,001$	$2,929 \pm 0,352$ 21,2 % $P5 > 0,05$
Контроль, 49+14 сутки	$14,286 \pm 0,284$ $P3 > 0,05$	$9,571 \pm 0,293$ 66,9 % $P3 < 0,01$	$2,214 \pm 0,182$ 15,5 % $P3 < 0,001$	$2,640 \pm 0,210$ 18,5 % $P3 > 0,05$
Контроль, 49+28 сутки	$14,021 \pm 0,284$ $P4 > 0,05$	$9,479 \pm 0,293$ 67,6 % $P4 < 0,001$	$2,271 \pm 0,182$ 16,2 % $P4 < 0,001$	$2,343 \pm 0,210$ 16,7 % $P4 > 0,05$

Примечание: P – сравнение значений группы опыт 49+14 дней с группой опыт 49+7 дней; P1 – сравнение значений группы опыт 49+28 дней с группой опыт 49+14 дней; P2 – сравнение значений группы опыт 49+28 дней с группой опыт 49+7 дней; P3 – сравнение значений группы контроль 49+14 дней с группой опыт 49+14 дней; P4 – сравнение значений группы модель 49+28 с группой опыт 49+28 дней; P5 – сравнение значений группы модель 49+7 дней с группой опыт 49+7 дней.

Сравнение площади тканей в регенерате опытных и контрольных животных на 28 сутки показало, что площадь хондроиды у опытных животных на этот срок была меньше на 24,3 %, а костной ткани больше на 22,8 % по сравнению с контрольными животными. Положительным звеном влияния аутологичного красного костного мозга было то, что общая площадь костной ткани в регенерате составила 39 % к концу эксперимента. Также наблюдалась тенденция к снижению площади всего регенерата за счет перестройки и редукции регенерата в костном канале. Эффект положительного влияния на репаративный остеогенез костного мозга заключается в том, что трансплантированный костный мозг богат не только биологически активными веществами, но и содержит мезенхимальные стромальные клетки (МСК), которые способны дифференцироваться в остеобласты,

пополнять пул костеобразующих клеток остеобластов [13, 19, 21]. Доказано, что МСК костного мозга при нарушениях репаративного остеогенеза являются основой клеточного дифферона костной ткани [4], способствуют остеогенезу, что позволяет восстановить целостность костной ткани при ее дефектах [6, 7, 8]. Однако использование культивированных МСК требует наличия высокотехнологического лабораторного оборудования для их получения и продолжительного времени культивирования, что сдерживает их широкое клиническое использование. Применение нативного красного костного мозга, содержащего МСК, характеризуется доступностью, простотой технологии его получения и трансплантации, что свидетельствует о преимуществах его применения для стимуляции репаративного остеогенеза при переломах кости и формировании ложных суставов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, на 30 белых лабораторных крысах было проведено экспериментальное исследование по изучению регенерации костной ткани в условиях воспроизведения перелома с последующим развитием ложного сустава и использованием аутологичного красного костного мозга для оптимизации репаративного процесса. В результате проведенного исследования выявлено, что аутологичный красный костный мозг стимулирует развитие в области ложного сустава костной ткани, площадь которой была на 22,8 % больше по сравнению с

нелечеными животными. В структуре регенерата псевдосуставных полостей при введении в область травматического повреждения красного костного мозга не выявлено. Особенности течения репаративного процесса были активизация ангиогенеза, энхондральная оссификация, сопровождающаяся формированием губчатой костной ткани с мелкопетливой сетью костных трабекул, снижение деструктивных проявлений в вышележащих и нижележащих от области травматического повреждения отделах материнской кости.

ЛИТЕРАТУРА

1. Азизов М.Ж., Абдулхаков Н.Т., Рахимов А.М. Способ хирургического лечения несросшихся переломов и ложных суставов костей верхней конечности // Ортопедия, травматология и протезирование. 2013. № 3 (592). С. 64–65.
2. Азизов М.Ж., Абдулхаков Н.Т., Рахимов А.М. Хирургические методы лечения ложных суставов костей предплечья // Врач-аспирант. 2013. № 2.2 (57). С. 245–249. Режим доступа: <http://www.sbook.ru/vrasp/vasp.htm>.
3. Бруско А.Т., Андрейчин В.А. Вплив аутологічного кісткового мозку на перебіг репаративного остеогенезу // Вісник ортопедії, травматології та протезування. 2007. № 1. С. 15–20.
4. Результаты трансплантации культуры аутогенных стромальных клеток костного мозга в область краевого дефекта длинных трубчатых костей / Р.В. Деев, Н.В. Цупкина, Д.Е. Иванов, Н.С. Николаенко, А.К. Дулаев, В.Г. Гололобов, Г.П. Пинаев // Травматология и ортопедия России. 2007. № 2 (44). С. 57–63.
5. Горидова Л.Д., Романенко К.К. Несращение плечевой кости (факторы риска) // Ортопедия, травматология и протезирование. 2000. № 3. С. 72–76.
6. Возможности применения культивированных мезенхимальных стволовых клеток в травматологии и ортопедии / В.К. Гринь, Д.А. Зубов, А.Г. Попандопуло, В.М. Оксонец // Трансплантология. 2007. Т.9, № 1. С. 55–59.
7. Трансплантация аутологичных стромальных клеток как метод восстановления клеточных источников репарации (пилотные исследования) / В.Н. Казаков, В.Г. Климовицкий, В.К. Гринь, В.Н. Пастернак, В.М. Оксонец, А.Г. Попандопуло, С.И. Верещагин, Д.А. Зубов // Травма. 2006. Т.7, № 3. С. 368–377.
8. Трансплантация остеогенных клеток в ортопедии и травматологии / В.Н. Казаков, В.Г. Климовицкий, В.К. Гринь [и др.] // Журнал академії медичних наук України. Т.12, № 2. 2006. С. 229–241.
9. Рахимов А.М., Дедух Н.В. Экспериментальное моделирование псевдоартроза // Хирургия Узбекистана. 2014. № 4. С. 60–64.
10. Романенко К. К. Несросшиеся диафизарные переломы длинных костей (факторы риска, диагностика, лечение) : дис... канд. мед. наук / К.К. Романенко ; Ин-т патологии позвоночника и суставов им. проф. М. И. Ситенко АМН Украины. Харьков : [б. и.], 2002. 167 с.
11. Саркисов Д.С., Перов Ю.Л. Микроскопическая техника. М. : Медицина, 1996. 548 с.
12. Стимуляция костным мозгом остеогенеза в distractionном регенерате / В.И. Шевцов, С.А. Ерофеев, Н.С. Мигалкин, Е.В. Осипова // Гений ортопедии. 2003. № 3. С. 131–137.
13. Pluripotential mesenchymal cells repopulate bone marrow and retain osteogenic properties / G.A. Dahir, Q. Cui, P. Anderson, C. Simon, C. Joyner, J.T. Triffitt, G. Balian // Clin. Orthop. Relat. Res. 2000. N 379 Suppl. P. S134–S145.
14. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and Other Scientific Purposes. Strasbourg: European Treaty Series, 1986. No 123.
15. Heterologous mesenchymal stem cells successfully treat femoral pseudarthrosis in rats / M.L. Ferreira, P.C. Silva, L.H. Alvarez Silva, D.C. Bonfim, L.C. Conilho Macedo Müller, C.C. Espósito, A. Schanaider // J. Transl. Med. 2012. Vol. 10. P. 51.
16. Kadiyala S., Jaiswal N., Bruder S.P. Culture-expanded, bone marrow-derived mesenchymal stem cells can regenerate a critical-sized segmental bone defect // Tissue Eng. 1997. Vol. 3. P. 173–185.
17. Lee E.H., Hui J.H. The potential of stem cells in orthopaedic surgery // J. Bone J. Surg. Br. 2006. Vol.88, N 7. P. 841–851.
18. Repair of large bone defects with the use of autologous bone marrow stromal cells / R. Quarto, M. Mastrogiacomo, R. Cancedda, S.M. Kutepov, V. Mukhachev, A. Lavroukov, E. Kon, M. Marcacci // N. Engl. J. Med. 2001. Vol.344, N 5. P. 385–386.
19. Mesenchymal stem cells for tissue engineering and regenerative medicine / S.K. Tae, S.H. Lee, J.S. Park, G.I. Im // Biomed. Mater. 2006. Vol. 1, N 2. P. 63–71.
20. Tuan R.S., Boland G., Tuli R. Adult mesenchymal stem cells and cell-based tissue engineering // Arthritis Res. Ther. 2002. Vol.5, N 1. P. 32–45.
21. Uccelli A., Moretta L., Pistoia V. Mesenchymal stem cells in health and disease // Nat. Rev. Immunol. 2008. Vol. 8, N 9. P. 726–736.

REFERENCES

1. Azizov M.Zh., Abdulkhakov N T., Rakhimov A.M. Sposob khirurgicheskogo lecheniia nesrosshikhshia perelomov i lozhnykh sustavov kostei verkhnei konechnosti [A technique for surgical treatment of non-united fractures and pseudoarthroses of the upper limb bones]. *Ortopediia, Travmatologiya i Protezirovaniye*. 2013. N 3 (592). pp. 64–65
2. Azizov M.Zh., Abdulkhakov N T., Rakhimov A.M. Khirurgicheskie metody lecheniia lozhnykh sustavov kostei predplech'ia [Surgical methods of forearm bone pseudoarthroses]. *Vrach-aspirant*. 2013. N 2.2 (57). pp. 245-249. URL: <http://www.sbook.ru/vrasp/vasp.htm>
3. Brusko A.T., Andreichin V.A. Vpliv autologichnogo kistkovogo mozgu na perebig reparativnogo osteogenezu [The effect of autologous bone marrow on reparative osteogenesis process]. *Visnik Ortopedii, Travmatologii ta Protezuвання*. 2007. N 1. pp. 15-20
4. Deev R.V., Tsupkina N.V., Ivanov D.E., Nikolaenko N.S., Dulaev A.K., Gololobov V.G., Pinaev G.P. Rezul'taty transplantatsii kul'tury autogenykh stromal'nykh kletok kostnogo mozga v oblast' kraevogo defekta dlinnykh trubchatykh kostei [The results of transplanting the culture of autogenous stromal bone marrow cells into the zone of marginal defect of long tubular bones]. *Travmatologiya i Ortopediia Rossii*. 2007. N 2 (44). pp. 57-63
5. Goridova L.D., Romanenko K.K. Nesrashchenie plechevoi kosti (faktori riska) [Humoral non-union (risk factors)]. *Ortopediia, Travmatologiya i Protezirovaniye*. 2000. N 3. S. 72-76
6. Grin' V.K., Zubov D.A., Popandopulo A.G., Oksimets V.M. Vozmozhnosti primeneniia kul'tivirovannykh mezenkhimal'nykh stvolovykh kletok v travmatologii i ortopedii [The possibilities of using cultured mesenchymal stem cells in traumatology and orthopaedics]. *Transplantologiya*. 2007. T.9, N 1. pp. 55-59
7. Kazakov V.N., Klimovitskii V.G., Grin'V.K., Pasternak V.N., Oksimets V.M., Popandopulo A.G., Vereshchagin S.I., Zubov D.A. Transplantatsiia autologichnykh stromal'nykh stvolovykh kletok kak metod vosstanovleniia kletochnykh istochnikov reparatsii (pilotnye issledovaniia) [Transplantation of autologous stromal cells as a technique of restoring cellular repairation sources (pilot studies)]. *Travma*. 2006. T.7, N 3. pp. 368-377
8. Kazakov V.N., Klimovitskii V.G., Grin'V.K. [et al]. Transplantatsiia osteogenykh kletok v ortopedii i travmatologii [Transplantation of osteogenic cells in orthopaedics and traumatology]. *Zhurnal Akademii Medichnikh Nauk Ukraini*. T.12, N 2. 2006. pp. 229-241
9. Rakhimov A.M., Dedukh N.V. Eksperimental'noe modelirovanie psevdootroza [Experimental pseudarthrosis modeling]. *Khirurgiya Uzbekistana*. 2014. N 4. pp. 60-64
10. Romanenko K.K. *Nesrosshiesia diafzarnye perelomy dlinnykh kostei (faktory riska, diagnostika, lechenie)* Dis. kand. med. nauk. [Non-united shaft fractures of long bones (risk factors, diagnosis, treatment). Dr. med. sci. diss.]. Khar'kov: In-t Patologii Pozvonochnika i Sustavov im. Prof. M. I. Sitenko AMN Ukrainy, 2002. 167 p.
11. Sarkisov D.S., Perov Iu.L. *Mikroskopicheskaiia tekhnika* [Microscopy technique]. M. : Meditsina, 1996. 548 p.
12. Shevtsov V.I., Yerofeyev S.A., Migalkin N.S., Osipova E.V. Stimulatsiia kostnym mozgom osteogeneza v distraktsionnom regenerate [Stimulation of osteogenesis in the distraction regenerate bone with bone marrow]. *Genij Ortop*. 2003. N 3. pp. 131-137
13. Dahir G.A., Cui Q., Anderson P., Simon C., Joyner C., Triffitt J.T., Balian G. Pluripotential mesenchymal cells repopulate bone marrow and retain osteogenic properties. *Clin. Orthop. Relat. Res*. 2000. N 379 Suppl. pp. S134-S145
14. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and Other Scientific Purposes. Strasbourg: European Treaty Series, 1986. No 123
15. Ferreira M.L., Silva P.C., Alvarez Silva L.H., Bonfim D.C., Conilho Macedo Müller L.C., Espósito C.C., Schanaider A. Heterologous mesenchymal stem cells successfully treat femoral pseudarthrosis in rats. *J. Transl. Med*. 2012. Vol. 10. p. 51
16. Kadiyala S., Jaiswal N., Bruder S.P. Culture-expanded, bone marrow-derived mesenchymal stem cells can regenerate a critical-sized segmental bone defect. *Tissue Eng*. 1997. Vol. 3. pp. 173-185
17. Lee E.H., Hui J.H. The potencial of stem cells in orthopaedic surgery. *J. Bone J. Surg. Br*. 2006. Vol.88, N 7. pp. 841-851
18. Quarto R., Mastrogiacomo M., Cancedda R., Kutepov S.M., Mukhachev V., Lavroukov A., Kon E., Marcacci M. Repair of large bone defects with the use of autologous bone marrow stromal cells. *N. Engl. J. Med*. 2001. Vol.344, N 5. pp. 385-386
19. Tae S.K., Lee S.H., Park J.S., Im G.I. Mesenchymal stem cells for tissue engineering and regenerative medicine. *Biomed. Mater*. 2006. Vol. 1, N 2. pp. 63-71
20. Tuan R.S., Boland G., Tuli R. Adult mesenchymal stem cells and cell-based tissue engineering. *Arthritis Res. Ther*. 2002. Vol.5, N 1. pp. 32-45
21. Uccelli A., Moretta L., Pistoia V. Mesenchymal stem cells in health and disease. *Nat. Rev. Immunol*. 2008. Vol. 8, N 9. pp. 726-736

Рукопись поступила 09.03.2016

Сведения об авторе:

Рахимов Анвар Медикмуратович – Ташкентский институт усовершенствования врачей МЗ РУз, ассистент кафедры травматологии и ортопедии; e-mail: anvar1986-2006@mail.ru

Information about the author:

Anvar M. Rakhimov, M.D., Tashkent Institute of Advanced Medical Training of the Ministry of Health of the Republic of Uzbekistan, Department of Traumatology and Orthopaedics; e-mail: anvar1986-2006@mail.ru