

Регенерационный остеогенез на границе ткань–костнопластический материал

Е.В. Пресняков^{1,6}, Х.Р. Курбонов², И.П. Сорочану³, Н.И. Жемков³, Д.Ф. Галбацов³, П.С. Подлужный⁴, И.А. Ларионов⁵, В.Б. Бессонов⁵, А.М. Емелин⁷, И.Я. Бозо^{1,6}, Р.В. Деев^{1,6,7}

¹ Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского, Москва, Россия;

² Самаркандский государственный медицинский университет, Самарканд, Республика Узбекистан;

³ Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия;

⁴ Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Петрова, Санкт-Петербург, Россия;

⁵ Санкт-Петербургский государственный электротехнический университет «ЛЭТИ» им. В.И. Ульянова (Ленина), Санкт-Петербург, Россия;

⁶ ООО «Гистографт», Москва, Россия;

⁷ Научно-исследовательский институт морфологии человека имени академика А.П. Авцына Российского научного центра хирургии имени академика Б.В. Петровского, Москва, Россия

АННОТАЦИЯ

Обоснование. Около полувека назад была разработана модель физиологической регенерации костной ткани, в основу которой положена концепция функционирования базисных многоклеточных единиц (БМЕ). Позднее было показано, что такой подход может быть применён и для понимания закономерностей репаративной регенерации. Костная пластика с использованием ген-активированных замещающих материалов привносит в репаративный процесс дополнительные особенности, заключающиеся в том, что сам материал становится непосредственным участником процесса и последовательно подвергается резорбции, метаболизму, а также становится матрицей, на основе которой БМЕ реализуют процесс регенерационного остеогенеза.

Цель исследования—выявить и описать работу БМЕ в костной ране у человека при имплантации ген-активированного костнопластического изделия из октакальциевого фосфата.

Материалы и методы. Материалом исследования послужили 30 биоптатов, полученных в ходе двухэтапной дентальной имплантации у человека через 6 мес после костной пластики. Результаты оценивали посредством микрофокусной компьютерной томографии, гистологического и иммуногистохимического исследований, гистоморфометрии со статистической обработкой полученных данных.

Результаты. По результатам проведённого исследования как в случае применения ординарного изделия, так и при использовании ген-активированного материала на основе октакальциевого фосфата костный регенерат был представлен мультитканевой структурой, сформированной за счёт костных балок, окружающих нерезорбированные фрагменты костнозамещающих изделий. В ходе гистоморфометрического анализа ген-активированного материала медианная площадь нерезорбированных гранул составила 0,039 [0,013; 0,079] мм², а плотность остеокластов — 67 [22; 235] кл./мм²; ав группе с использованием ординарного изделия — 0,029 [0,009; 0,068] мм² и 15 [0; 79] кл./мм² соответственно.

Заключение. Установлено, что на границе ген-активированный материал–кость могут быть выявлены БМЕ, находящиеся в различных фазах функциональной активности: резорбции, реверсии, формирования и покоя. Последняя фаза проявляется лишь в тех случаях, когда компоненты материала не индуцируют остеогенез.

Ключевые слова: регенерация; остеогенез; октакальциевый фосфат; ген-активированный материал; базисные многоклеточные единицы.

КАК ЦИТИРОВАТЬ:

Пресняков Е.В., Курбонов Х.Р., Сорочану И.П., Жемков Н.И., Галбацов Д.Ф., Подлужный П.С., Ларионов И.А., Бессонов В.Б., Емелин А.М., Бозо И.Я., Деев Р.В. Регенерационный остеогенез на границе ткань–костнопластический материал // Морфология. 2023. Т. 161, № 4. С. XX–XX.
DOI: <https://doi.org/10.17816/morph.629963>

Рукопись получена: 04.04.24 Рукопись одобрена: 23.04.2024 Опубликовано online: 07.06.2024

Статья доступна по лицензии CC BY-NC-ND 4.0 International
© Эко-Вектор, 2023

Regenerative osteogenesis at the interface of tissue–osteoplastic material

Evgeniy V. Presnyakov^{1,6}, Khurshed R. Kurbonov², Irina P. Sorochanu³, Nikita I. Zhemkov³, Dzhamal F. Galbatsov³, Pavel S. Podluzhny⁴, Ivan A. Larionov⁵, Viktor B. Bessonov⁵, Aleksey M. Emelin⁷, Il'ya Ya. Bozo^{1,6}, Roman V. Deev^{1,6,7}

¹ Russian Scientific Center for Surgery named after Academician B.V. Petrovsky, Moscow, Russia;

² Samarkand State Medical University, Samarkand, Republic of Uzbekistan;

³ North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, Saint Petersburg, Russia;

⁴ The N.N. Petrov National Medicine Research Center, Saint Petersburg, Russia;

⁵ Saint Petersburg Electrotechnical University "LETI", Saint Petersburg, Russia;

⁶ Histograft LLC, Moscow, Russia;

⁷ Avtsyn Research Institute of Human Morphology of Petrovsky National Research Centre of Surgery, Moscow, Russia

ABSTRACT

BACKGROUND: About a half a century ago, the concept of physiological regeneration of bone tissue was developed, which is based on the functioning of basic multicellular units (BMUs). Later it was shown that such an approach can also be used to understand the regularities of reparative regeneration. Bone grafting with the use of gene-activated synthetic replacement materials introduces additional features into the reparative process, consisting in the fact that the material itself becomes a direct participant in the process. Bone graft sequentially undergoes resorption, metabolism, becomes a matrix on the basis of which the basic multicellular units implement the process of regenerative osteogenesis.

AIM: To reveal the work of BMUs in a human bone wound during implantation of a gene-activated osteoplastic material from octacalcium phosphate.

MATERIALS AND METHODS: The results were obtained using microfocal computed tomography, histological and immunohistochemical studies, histomorphometry with statistical processing of the data obtained.

RESULTS: According to the results of the study, both in the case of using an ordinary product and when using a gene-activated material based on octacalcium phosphate, the bone regenerate was represented by a multi-tissue structure formed by bone beams surrounding non-resorbed fragments of bone replacement products. In histomorphometric analysis of gene-activated material, the median area of unresorbed granules was 0,039 [0,013; 0,079] mm², and the median area of osteoclasts was 67 [22; 235] cells/mm². In the group using an ordinary product — 0,029 [0,009; 0,068] mm² and 15 [0; 79] cells/mm², respectively.

CONCLUSION: It has been established that BMUs that are in various phases of functional activity: resorption, reversion, formation and rest can be detected at the gene-activated material–bone interface. The last phase appears only in those cases when the components of the material do not induce osteogenesis.

Keywords: regeneration; osteogenesis; octacalcium phosphate; gene-activated material; basic multicellular units.

TO CITE THIS ARTICLE:

Presnyakov EV, Kurbonov KhR, Sorochanu IP, Zhemkov NI, Galbatsov DF, Podluzhnyj PS, Larionov IA, Bessonov VB, Emelin AM, Bozo IYa, Deev RV. Regenerative osteogenesis at the interface of tissue–osteoplastic material. *Morphology*.2023;161(4):XX–XX. DOI: <https://doi.org/10.17816/morph.629963>

Received: 04.04.2024 Accepted: 23.04.2024 Published: 07.06.2024

Article can be used under the CC BY-NC-ND 4.0 International License
© Eco-Vector, 2023

ОБОСНОВАНИЕ

Ремоделирование костной ткани — постоянно находящийся в балансе механизм костеобразования, состоящий из последовательных процессов резорбции и остеогенеза посредством базисных многоклеточных единиц (БМЕ) [1]. Репаративная регенерация начинается с активации клеток покоящейся зоны при помощи специфических цитокинов (начальная фаза), в ходе которой на костном матриксе происходит разрушение протективного слоя и к оголённой поверхности мигрируют предшественники остеокластов. Затем начинается резорбтивная фаза, обуславливающая разрушение кости от периферии к центральной части. На следующем этапе — фазе реверсии— мононуклеарные клетки-макрофаги подготавливают поверхность кости, осуществляя удаление остатков неутилизованного органического матрикса, для последующего синтеза остеобластами нового костного вещества. На этом фоне продуцируются сигналы перехода от стадии резорбции к стадии формирования кости, осуществляющегося остеобластами. Завершением этой цепочки является сформированный за счёт нового костного матрикса остеон, находящийся в состоянии покоя [2, 3].

Таким образом, пространственно-временная интеграция основных (остеокластического, остеобластического) и вспомогательных (гистоцитарного, фиброцитарного, эндотелиального и др.) клеточных дифферонов костной ткани является важнейшим условием обеспечения гисто- и органотипического восстановления [4–6]. Естественным образом вышеописанный процесс реализуется, в частности, у пациентов после костной пластики при дентальной имплантации. Одними из наиболее распространённых методик по увеличению объёма костной ткани являются синус-лифтинг (внутреннее увеличение объёма костной ткани в области днагайморовой пазухи) и направленная костная регенерация (увеличение наружного объёма альвеолярного отростка с применением барьерных мембран для костной регенерации). И в том, и в другом случае для достижения будущей стабильности имплантата используются костнозамещающие скаффолды. Одним из наиболее перспективных изделий для костной пластики следует считать активированные остеопластические материалы, характеризующиеся наличием факторов роста (белками), живых клеток или генных конструкций, кодирующих факторы роста [7]. Механизм действия и влияние на процесс репаративной регенерации при их применении отличаются и имеют свои особенности, требующие углублённого изучения.

Цель исследования—изучение тканевого состава костного регенерата, сформированного под влиянием ген-активированного материала, с теоретических позиций выявления базисных многоклеточных единиц на различных этапах функционирования.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

ДИЗАЙН ИССЛЕДОВАНИЯ

Проведено экспериментальное проспективное выборочное неконтролируемое исследование 30 биоптатов костной ткани, полученных через 6 мес после классической (двухэтапной) дентальной имплантации в области верхней и нижней челюстей с использованием материала на основе ксеногенного костного матрикса (ККМ) Bio-Oss (Geistlich, Швейцария) ($n=150$) и синтетического ген-активированного материала (ГАМ) «Гистографт» («Гистографт», Россия) ($n=15$), состоящего из гранул октакальциевого фосфата (ОКФ) и плазмидной ДНК, несущей ген фактора роста эндотелия сосудов *vegf*. Биоптаты забирали трепанами с внутренним диаметром 3 мм, которые использовали вместо пилотных свёрл при подготовке ложа для установки дентальных имплантатов. Результаты оценивали посредством микрофокусной компьютерной томографии, гистологического и иммуногистохимического исследований, а также гистоморфометрии.

Микрофокусная компьютерная томография. После завершения операции сформированные биоптаты костной ткани фиксировали в 10% забуференном растворе формалина и проводили рентгенологическое исследование на образце отечественного микрофокусного томографа, разработанного на кафедре электронных приборов и устройств СПбГЭТУ «ЛЭТИ». Образец костного регенерата размещали на специализированном предметном столике, расположенном между источником и детектором рентгеновского излучения. Набор проекционных данных был получен при неподвижных детекторе и источнике излучения, а также привращении объекта контроля вокруг своей оси. Контроль производили при ускоряющем анодном напряжении 100 кВ, токе 20 мкА, время экспозиции — 1000 мс. Реконструкцию полученного набора проекционных данных осуществляли на основе алгоритма обратного проецирования с фильтрацией и свёрткой. Размер вокселя реконструированного объёма объекта контроля составил менее 10 мкм. Анализ полученных

результатов проводили с помощью программного обеспечения для объёмной визуализации CTvox (Bruker, США).

Гистологическое и иммуногистохимическое исследования. Изготовление гистологических препаратов осуществляли на кафедре патологической анатомии Северо-Западного государственного медицинского университета имени И.И. Мечникова по стандартной методике для костной ткани (включая этап декальцинации), которую проводили в растворе «Софтидек» («БиоВитрум», Россия) при соотношении объёма объекта и объёма декальцинирующей жидкости 1:50 в течение 12 ч [8]. После завершения декальцинации образцы промывали водопроводной водой в течение 30 мин. Гистологическую проводку, заливку и микротомию при толщине срезов 3–5 мкм осуществляли по стандартной методике. Препараты окрашивали обзорными красителями (гематоксилином и эозином), по Маллори, по Массону–Голднеру, осуществляли импрегнацию нитратом серебра по Гордону, проводили иммуногистохимическое исследование с антителами к карбоангидразе II (AP08499HR-N; OriGene, США, CA2) в разведении 1:2000 для подсчёта резорбирующих материал клеток и CD31 (NB600-562SS; Novus Biologicals, США) в разведении 1:100 для визуализации вновь образованных кровеносных сосудов.

Гистоморфометрическое исследование. Для изучения способности графтов к резорбции были подсчитаны остаточная площадь фрагментов исследуемых материалов и число резорбирующих материал клеток на поверхности каждого из них в пределах биоптата. Кроме того, введён параметр индекса резорбции, представляющего собой число остеокластов на мм^2 площади остатков имплантируемого материала:

$$\text{Индекс резорбции} = \frac{\text{Количество резорбирующих клеток (шт)}}{S \text{ фрагмента остеопластического материала (мкм}^2\text{)}}$$

Для нивелирования влияния выбросов параметров площади на предполагаемо-зависимый параметр плотности остеокластов измерения, пересекающие полуторный межквартильный интервал ниже и выше медианных значений, удалены из данных статистических анализов: 237 измерений (суммарно по двум группам) приведены к размеру выборки в 226 измерений.

СТАТИСТИЧЕСКАЯ ОБРАБОТКА ДАННЫХ

Размер выборки предварительно не рассчитывался. Для обработки полученных данных использовали пакет программ SPSS Statistics 26.0 (IBM, США). Описательные статистики представляли в виде медианы, первого и третьего квартилей (Me [Q1; Q3]). В каждой группе оценивали характер распределения с использованием критерия Колмогорова–Смирнова. Для сравнения двух выборок, несоответствующих нормальному распределению, применяли критерий Манна–Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ

По результатам микрофокусной компьютерной томографии установлено, что микрогранулы ККМ распространены по всему объёму исследуемого биоптата. Рентгеновская плотность материала крайне близка к плотности вновь образованной костной ткани, в связи с чем часть фрагментов этого ординарного изделия не различалась с костным регенератом. Межбалочное пространство и пространство вокруг микрогранул, не окружённых костью, было занято волокнистой соединительной тканью.

При исследовании биоптатов с имплантированным ГАМ фрагменты ОКФ аналогичным образом были распределены по всей площади биоптата. Микрогранулы изделия обладали более высокой по сравнению с костной тканью рентгенологической плотностью, были окружены сетью однородных костных балок, формирующих каркас регенерата. Признаков формирования соединительнотканной капсулы, окружающей исследуемые материалы, не обнаружено (рис. 1).

По результатам гистологического исследования структура костного регенерата, сформированного при имплантации ККМ, представлена сетью костных трабекул преимущественно пластинчатой костной ткани, окружающих нерезорбированные фрагменты остеопластического материала (рис. 2, а). Вместе с тем ряд межбалочных пространств был заполнен рыхлой волокнистой соединительной тканью, диффузно инфильтрированной единичными гистиоцитами и лимфоцитами. Часть соединительной ткани граничила с фрагментами ксенографта. В единичных полях зрения были выявлены участки активного неоостеогенеза: на поверхности фрагментов материала визуализирован остеоид (рис. 2, в). Тем не менее проникновения коллагена непосредственно в структуру гранул не происходило, волокна выстилали поверхность фрагментов ксеногенного материала (рис. 2, е). Единичные резорбирующие материал клетки, характерные для стадии резорбции, определялись на поверхности гранул и характеризовались отсутствием гофрированной

каёмки (рис. 2, g). Остеобласты, необходимые для синтеза костного матрикса, не обнаружены ни в одном биоптате.

Костные биоптаты с имплантированным ГАМ представлены мультитканевым регенератом, состоящим из костной ткани смешанного типа, волокнистой соединительной ткани, а также фрагментов ОКФ. Микрогранулы изделия в большинстве случаев были диффузно распространены по всей площади гистологического микропрепарата и окружены сетью трабекул костной ткани смешанного строения (рис. 2, b). Большая часть гранул через 6 мес была полностью замкнута в балочной системе — поверхность ОКФ плотно соприкасалась с вновь образованной пластинчатой костной тканью. Однако встречались гранулы, на поверхности которых были сформированы остеоид и тонкие трабекулы ретикулофиброзной костной ткани (рис. 2, d).

При импрегнации нитратом серебра отчётливо визуализировались аргирофильные волокна, выстилающие поверхность ОКФ и проникающие непосредственно в его структуру (рис. 2, f).

На поверхности гранул, частично замкнутых в трабекулярную сеть, расположено множество резорбирующих клеток; в ряде случаев гранулы были полностью ими окружены (рис. 2, h). Вместе с тем на поверхности вновь образованных костных балок определялись активные остеобласты, синтезирующие костный матрикс (рис. 3).

Признаки воспалительной реакции, формирования соединительнотканной капсулы не выявлены ни в одном из исследуемых биоптатов.

При иммуногистохимическом исследовании на эндотелиоциты (CD31) выявлена богаторазвитая кровеносная сеть, включающая все звенья микроциркуляторного русла от артериол до венул и более крупных сосудов во всём исследуемом костном регенерате. Как при использовании ГАМ, так и при использовании материала на основе ККМ кровеносные сосуды располагались в волокнистой соединительной ткани, окружающей костнозамещающие материалы и заполняющей межбалочные пространства. Проникновения кровеносных сосудов непосредственно в толщу фрагментов остеопластических графтов не выявлено (рис. 4, a, b).

По результатам иммуногистохимического исследования с антителами к карбоангидразе II, вовлечённой во внеклеточную ацидификацию и необходимой для костной резорбции поверхности кости остеокластами [6], клетки $CA2^+$, резорбирующие микрогранулы ККМ, практически отсутствовали. Вместе с тем поверхность фрагментов ГАМ была обильно выстлана активными гигантскими многоядерными клетками-остеокластами (рис. 4, c, d).

По результатам гистоморфометрического исследования в группе с использованием ГАМ медианная площадь нерезорбированных гранул составила $0,039 [0,013; 0,079]$ мм², а плотность остеокластов — $67 [22; 235]$ кл./мм². В группе с использованием ККМ медианная площадь составила $0,029 [0,009; 0,068]$ мм² и $15 [0; 79]$ кл./мм². При использовании критерия Колмогорова–Смирнова выявлено, что данные в выборках не соответствуют закону нормального распределения ($p < 0,05$). В ходе сравнения данных с помощью критерия Манна–Уитни установлено отсутствие статистических значимых различий в показателях площади остаточного имплантируемого материала в биоптатах ($p = 0,129$) и наличие статистических значимых различий по плотности остеокластов ($p < 0,0001$) (рис. 5, 6).

ОБСУЖДЕНИЕ

При использовании ГАМ в качестве костного заменителя обнаружено, что репаративная регенерация имеет ряд особенностей, присущих нативной регенерации костной ткани. Каждый исследуемый костный регенерат содержал БМЕ на разных стадиях ремоделирования. На начальной стадии клетки-предшественники остеокластов перемещались на поверхность гранул ГАМ, обуславливая последующую резорбцию остеопластического материала. Осуществляющие разрушение материала клетки были визуализированы при окраске по Массону–Голднеру, а также в ходе иммуногистохимической реакции с антителами к карбоангидразе II, необходимой остеокластам для ацидификации как костного матрикса, так и матрикса синтетического. На стадии реверсии БМЕ характеризовались одновременным содержанием резорбирующих клеток, макрофагов и предшественников остеобластов в одной локализации. Остеокластоподобные клетки в этот период обладали сниженной активностью: их размеры и количество были меньшими в сравнении с фазой резорбции. Фаза образования характеризовалась активным синтезом костного матрикса на поверхности гранул ГАМ за счёт активных остеобластов и молодых остецитов. Финалом процесса ремоделирования следует считать фрагмент ГАМ без признаков продолжающейся резорбции, полностью окружённый вновь образованной костью со всех сторон.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведённого исследования установлено, что процесс репаративной регенерации при использовании ген-активированного остеопластического материала на основе октакальциевого фосфата осуществляется за счёт последовательной работы базисных многоклеточных единиц, что делает его максимально близким к оригинальному процессу естественного восстановления костной ткани.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

Конфликт интересов. Е.В. Пресняков, И.Я. Бозо, Р.В. Деев являются действующими сотрудниками ООО «Гистографт». Другие члены авторского коллектива декларируют отсутствие явных ипотенциальных конфликтов интересов, связанных публикацией настоящей статьи.

Вклад авторов. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией). Наибольший вклад распределён следующим образом: Е.В. Пресняков, Н.И. Жемков, Д.Ф. Галбацов, А.М. Емелин — сбор и обработка материала, написание текста; Х.Р. Курбанов, И.П. Сорочану — обзор литературы, сбор и обработка материала, написание текста; П.С. Подлужный — сбор и обработка материала; И.А. Ларионов, В.Б. Бессонов — проведение микрофокусной компьютерной томографии, обработка полученных результатов; И.Я. Бозо, Р.В. Деев — концепция и дизайн исследования, написание и редактирование текста.

ADDITIONAL INFORMATION

Funding source. This study was not supported by any external sources of funding.

Competing interests. E.V. Presnyakov, I.Ya. Bozo, R.V. Deev are current employees of Histograf LLC. Other authors declare that they have no competing interests.

Authors' contribution. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the work.

E.V. Presnyakov, N.I. Zhemkov, D.F. Galbatsov, A.M. Emelin — collection and processing of material, writing the text; KhR. Kurbanov, I.P. Sorochanu — literature review, collection and processing of material, writing the text; P.S. Podluzhny — collection and processing of material; I.A. Larionov, V.B. Bessonov — conducting microfocus computed tomography, processing the results; I.Ya. Bozo, R.V. Deev — conception and design of the study, writing and editing the text.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бонарцев А.П., Мураев А.А., Деев Р.В., Волков А.В. Материал-ассоциированная костная резорбция // Современные технологии в медицине. 2018. Т. 10, № 4. С. 26–33. EDN: YUVDQD doi: 10.17691/stm2018.10.4.03
2. Деев Р.В. Анализ репаративной регенерации костей крыши черепа // Морфология. 2007. Т. 132, № 6. С. 64–69. EDN: MUYNHJ
3. Деев Р.В., Плакса И.Л., Мавликеев М.О., и др. Ранние стадии регенерационного гистогенеза в периостальной части костной мозоли у человека // Морфология. 2018. Т. 153, № 2. С. 63–69. EDN: XNKVDF
4. Гололобов В.Г., Деев Р.В. Стволовые стромальные клетки и остеобластический клеточный дифферон // Морфология. 2003. Т. 123, № 1. С. 9–19. EDN: WJKHPL
5. Морфофункциональная организация, реактивность и регенерация костной ткани / под ред. В.Г. Гололобова, Р.К. Данилова. Санкт-Петербург: Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова, 2006. 47 с. EDN: QKOLRV
6. Гололобов В.Г., Дедух Н.В., Деев Р.В. Скелетные ткани и органы. В кн.: Руководство по гистологии. 2-е издание / под ред. Р.К. Данилова. Санкт-Петербург: СпецЛит, 2011. С. 238–322.
7. Deev R.V., Bozo I.Y., Isaev A.A., Drobyshev A.Y. Ordinary and activated bone grafts: applied classification and the main features // BioMed Research International. 2015. Vol. 2015. P. 365050. EDN: VEQAAD doi: 10.1155/2015/365050

8. Микроскопическая техника: руководство для врачей и лаборантов / под ред. Д.С.Саркисова, Ю.Л. Перова. Москва: Медицина, 1996. 542 с.
9. Шурыгина И.А., Шурыгин М.Г., Родионова Л.В., и др. Карбоангидраза как маркер активности остеокластов при репарации зоны перелома длинной кости // Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра Сибирского отделения Российской академии медицинских наук. 2012. № 5-2. С. 120–122. EDN: PJBNSN
10. Волков А.В., Большакова Г.Б. Гистоморфометрия костной ткани в регенеративной медицине // Клиническая и экспериментальная морфология. 2013. № 3. С. 65–72. EDN: RGROAZ
11. Бозо И.Я., Майорова К.С., Дробышев А.Ю., и др. Сравнительная оценка биологической активности ген-активированных остеопластических материалов из октакальциевого фосфата и плазмидных ДНК, несущих гены VEGF и SDF: часть 1 — in vitro // Гены и Клетки. 2016. Т. 11, № 4. С. 34–42. EDN: YHENYH doi: 10.23868/201707028

REFERENCES

1. Bonartsev AP, Muraev AA, Deyev RV, Volkov AV. Material-associated bone resorption. *Sovremennye tehnologii v medicine [Modern Technologies in Medicine]*. 2018;10(4):26–33. EDN: YUVDQD doi: 10.17691/stm2018.10.4.03
2. Deev RV. Analysis of reparative regeneration of skull roof bones. *Morphology*. 2007;132(6):64–69. EDN: MUYNHJ
3. Deev RV, Plaksa IL, Mavlikeev MO, et al. Early stages of regenerative histogenesis in the periosteal part of the human callus. *Morphology*. 2018;153(2):63–69. EDN: XNKVDF
4. Gololobov VG, Deev RV. Stem stromal cells and osteoblastic cell differon. *Morphology*. 2003;123(1):9–19. (In Russ). EDN: WJKHPL
5. Gololobov VG, Danilov RK, editors. *Morphofunctional organization, reactivity and regeneration of bone tissue*. Saint Petersburg: Military Medical Academy S.M. Kirov; 2006. 47 p. (In Russ). EDN: QKOLRV
6. Gololobov VG, Dedukh NV, Deev RV. Skeletal tissues and organs. In: Danilov RK, editor. *Manual of Histology. 2nd edition*. Saint Petersburg. SpetsLit; 2011. P. 238–322. (In Russ).
7. Deev RV, Bozo IY, Isaev AA, Drobyshev AY. Ordinary and activated bone grafts: applied classification and the main features. *BioMed Research International*. 2015;2015:365050. EDN: VEQAAD doi: 10.1155/2015/365050
8. Sarkisov DS, Perov YuL, editors. *Microscopic technique: a guide for doctors and laboratory assistants*. Moscow: Meditsina; 1996. 542p. (In Russ).
9. Shurygina IA, Shurygin MG, Rodionova LV, et al. Carbonic anhydrase as a marker of osteoclast activity during repair of a long bone fracture zone. *Byulleten' Vostochno-Sibirskogo nauchnogo tsentra Sibirskogo otdeleniya Rossiyskoy akademii meditsinskikh nauk*. 2012;(5-2):120–122. EDN: PJBNSN
10. Volkov AV, Bol'shakova GB. Bone histomorphometry in regenerative medicine. *Clinical and Experimental Morphology*. 2013;(3):65–72. EDN: RGROAZ
11. Bozo IYa, Mayorova KS, Drobyshev AY, et al. Biological activity comparative evaluation of the gene-activated bone substitutes made of octacalcium phosphate and plasmid DNA carrying VEGF and SDF genes: part 1 — in vitro. *Genes & cells*. 2016;11(4):34–42. EDN: YHENYH doi: 10.23868/201707028

РИСУНКИ

ВЕРСТАЛЬЩИКУ! Вставила формулу в текст. Вместо «Количество» написать «Число». «шт.» с точкой через запятую без скобок. «мкм²» через запятую без скобок. После формулы точка.

$$\text{Индекс резорбции} = \frac{\text{Количество резорбирующих клеток (шт)}}{S \text{ фрагмента остеопластического материала (мкм}^2\text{)}}$$

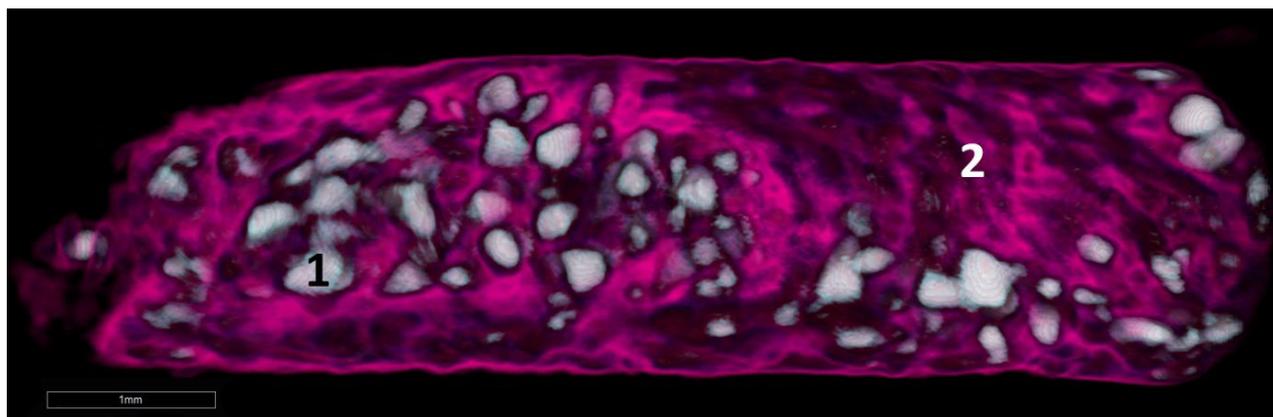


Рис. 1. Компьютерная томограмма, показывающая распределение гранул остеопластического материала в биоптате: 1 — фрагменты материала «Гистографт»; 2 — костный регенерат. Бар — 1 мм.

Fig. 1. Istration of granules of osteoplastic material in the biopsy specimen, mCT scan: 1 — fragments of the “Histograft” material; 2 — bone regenerate. Scale bar — 1 mm.

Accepted for publication

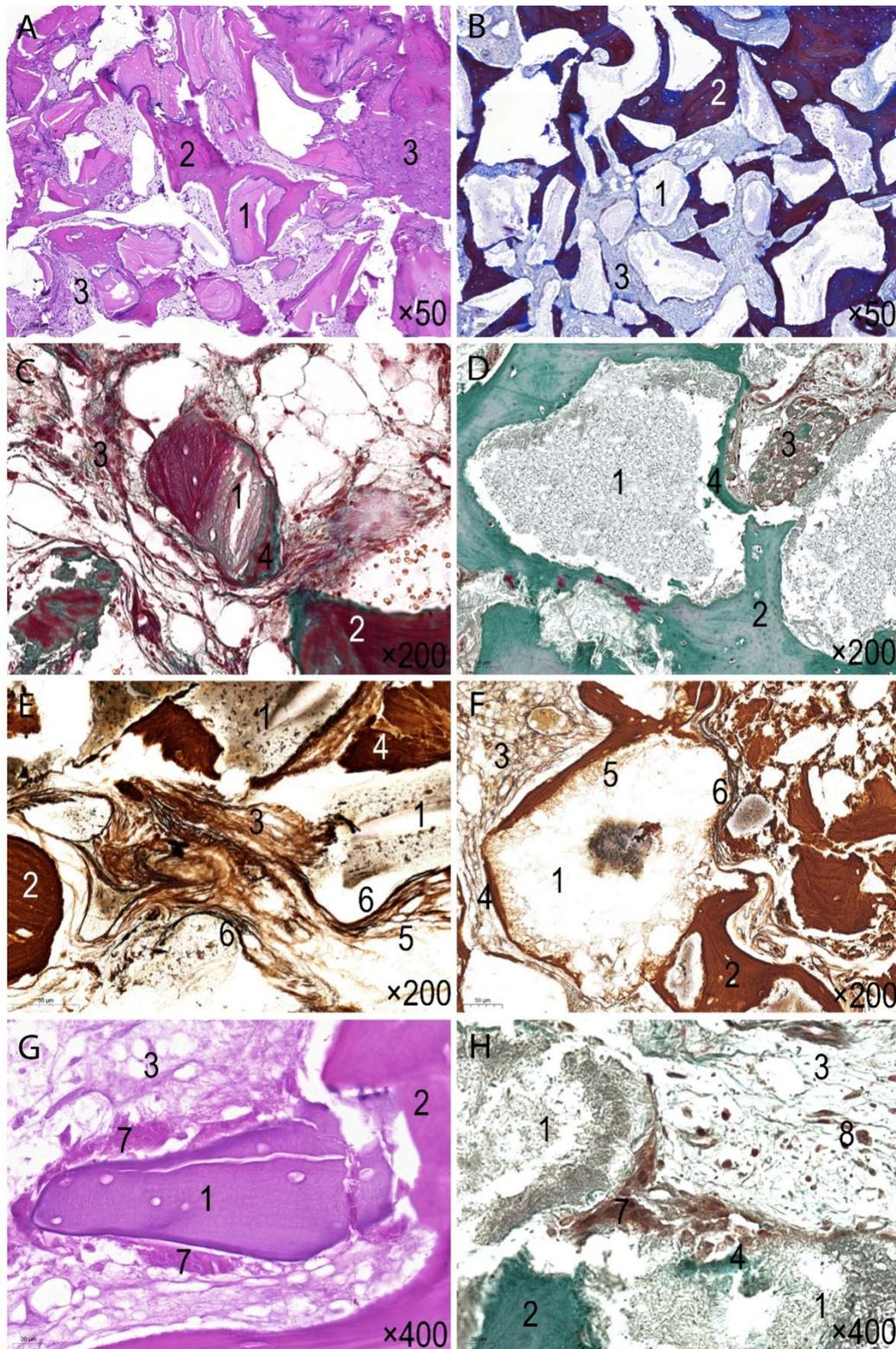


Рис. 2. Особенности костного регенерата при использовании ксеногенного костного матрикса (левый столбец) и ген-активированного материала (правый столбец): 1 — фрагменты остеопластического материала; 2 — вновь образованная костная ткань; 3 — соединительная ткань с разной степенью упорядоченности коллагеновых волокон; 4 — остеоид; 5 — коллагеновые волокна (коричневые); 6 — аргирофильные волокна (чёрные); 7 — многоядерные клетки, резорбирующие материал; 8 — макрофаги. Окраска: а,г— гематоксилин и эозин; б— трихром по Маллори; с,д,г— трихром по Массону–Голднеру, е,ф— импрегнация нитратом серебра. Увеличение: А, В ×50; С, D, E, F ×200; G, H ×400

Fig. 2. Features of bone regenerate using xenogenic bone matrix(left column) and gene activated material(right column): 1 — fragments of osteoplastic material; 2 — newly formed bone tissue; 3 — connective tissue with varying degrees of ordering of collagen fibers; 4 — osteoid; 5 — collagen fibers (brown); 6 — argyrophilic fibers (black); 7 — multinucleated cells resorbing material; 8 — macrophages. Staining: a,g— hematoxylin and eosin; b— trichrome according to Mallory; c,d,h— Masson–Goldner trichrome, e,f— impregnation with silver nitrate. Magnification: A, B ×50; C, D, E, F ×200; G, H ×400

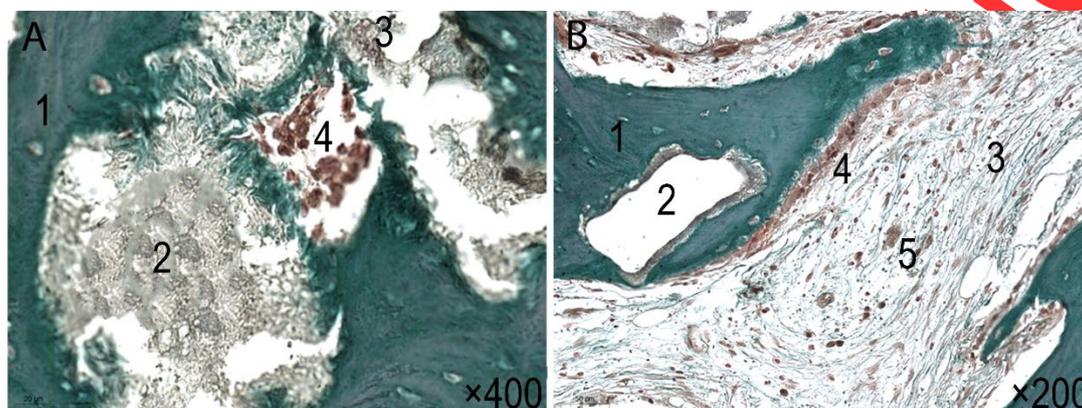


Рис. 3. Поверхность остеобластической активности при использовании остеопластического материала на основе октакальциевого фосфата: 1 — вновь образованная костная ткань; 2 — микрогранулы октакальциевого фосфата; 3 — плотная волокнистая соединительная ткань; 4 — активные остеобласты, синтезирующие костный матрикс; 5 — макрофаги.. Окраска: трихром по Массону–Голднеру. Увеличение: А ×400; В ×200

Fig. 3.Surface osteoblastic activity when using octacalcium phosphate-based osteoplastic material:1 — newly formed bone tissue; 2 —octacalcium phosphate microgranules; 3 — dense fibrous connective tissue; 4 — active osteoblasts synthesizing bone matrix; 5 — macrophages. Staining: Masson–Goldner trichrome. Magnification: A ×400; B ×200

Accepted for publication

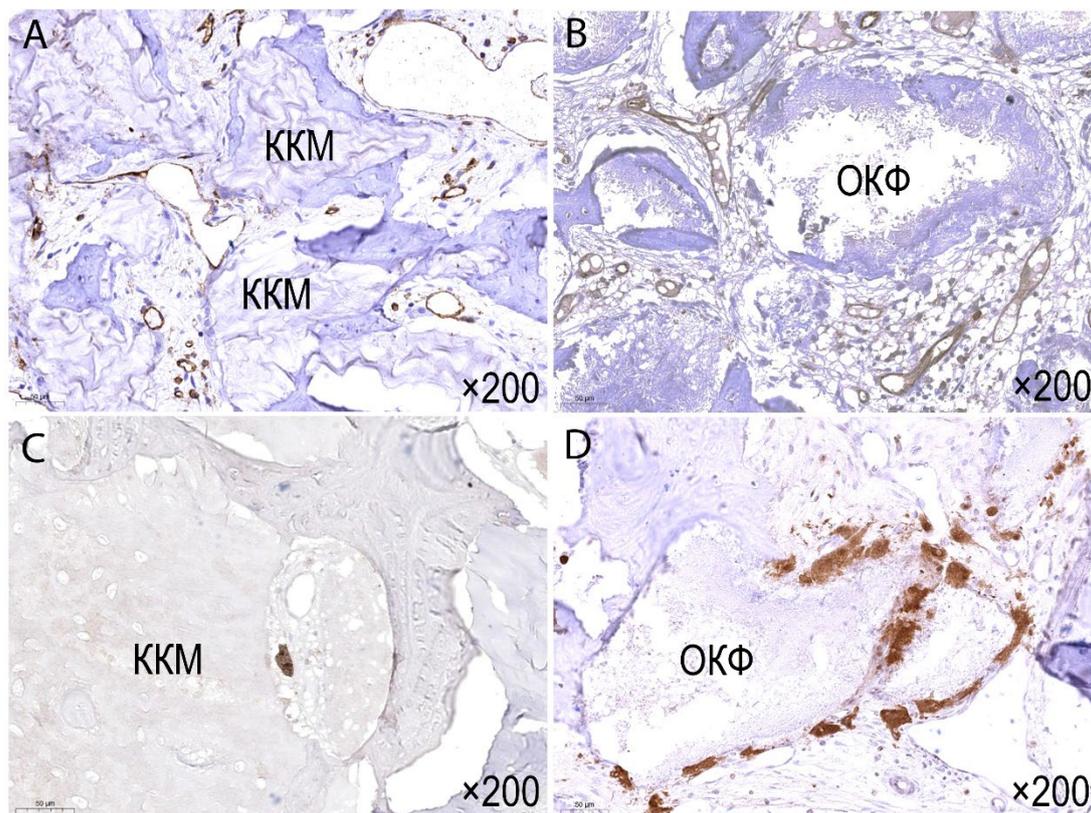


Рис. 4. Пример иммуногистохимической реакции с антителами к CD31 (верхний ряд): эндотелиоциты — клетки с цитоплазматическим паттерном окрашивания; остеокласты — крупные многоядерные клетки с цитоплазматическим паттерном окрашивания; продукт реакции — коричневого цвета; а,с — материал на основе ксеногенного костного матрикса (KKM); b,d — материал на основе октакальциевого фосфата (OKФ). Докраска гематоксилином Майера. Увеличение: А, В, С, D ×200

Fig. 4. Example of an IHC reaction with antibodies to CD31 (top row) and to CA2 (bottom row): endotheliocytes are cells with a cytoplasmic staining pattern; osteoclasts are large multinucleated cells with a cytoplasmic staining pattern; the reaction product is brown; a, c — material based on xenogenic bone matrix (KKM); b, d — material based on octacalcium phosphate (OKФ). Counter-staining with Mayer's hematoxylin. Magnification: A, B, C, D ×200

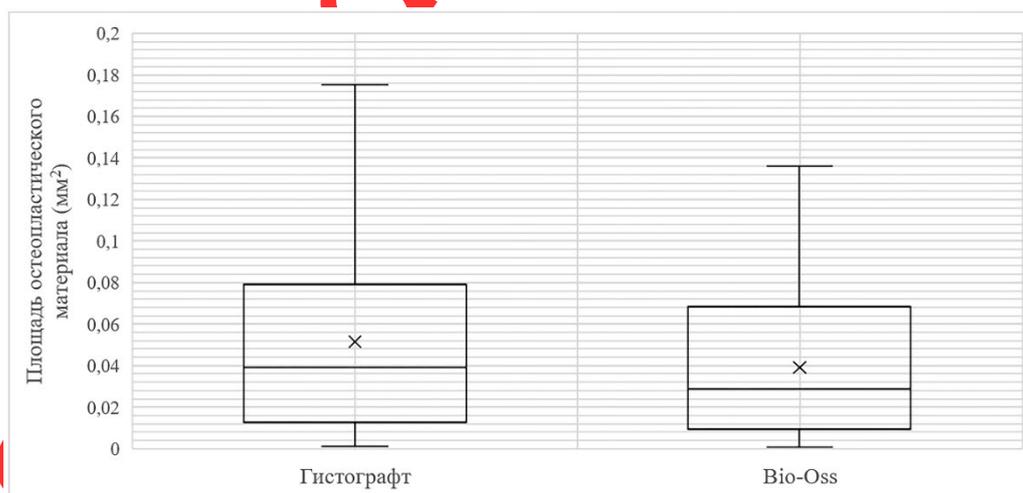


Рис. 5. Площадь нерезорбированных фрагментов остеопластических материалов через 6 мес после имплантации: Bio-Oss — обычные изделия на основе ксеногенного костного матрикса; «Гистографт» — ген-активированные синтетические изделия на основе октакальциевого фосфата.

Fig. 5. The area of non-resorbed fragments of osteoplastic materials 6 months after implantation: "Bio-Oss" — ordinary products based on xenogeneic bone matrix; "Histograфт" — gene-activated synthetic products based on octacalcium phosphate.

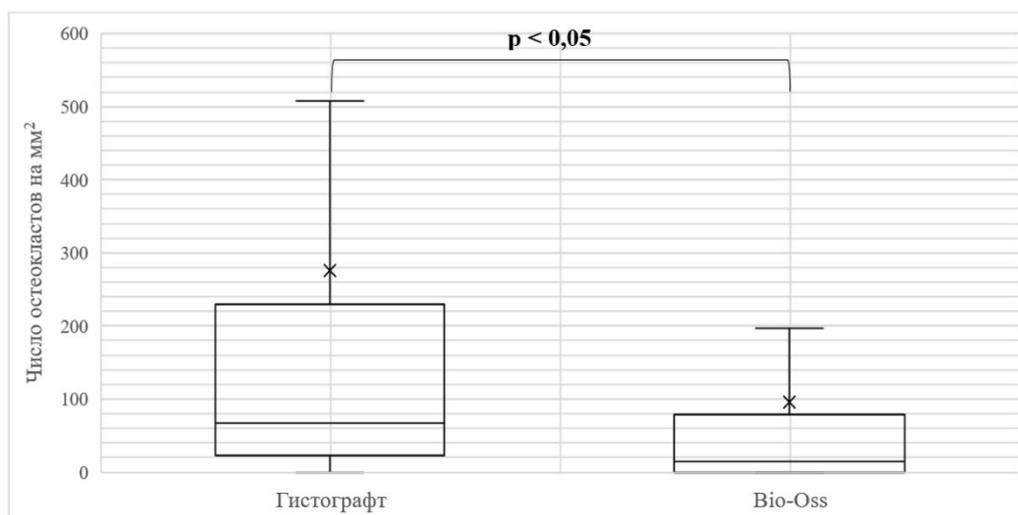


Рис. 6. Индекс остеокластов через 6 мес после имплантации: Bio-Oss — обычные изделия на основе ксеногенного костного матрикса; «Гистографт» — ген-активированные синтетические изделия на основе октакальциевого фосфата.

Fig. 6. Osteoclast index 6 months after implantation: "Bio-Oss" — ordinary products based on xenogeneic bone matrix; "Histograфт" — gene-activated synthetic products based on octacalcium phosphate.

ОБ АВТОРАХ	AUTHORS' INFO
* Пресняков Евгений Валерьевич; адрес: Россия, 119435, Москва, пер. Абрикосовский, д.2; ORCID: 0000-0003-1546-5129; eLibrarySPIN:4001-4715; e-mail: uvpres@gmail.com	* Evgeniy V. Presnyakov; address:2 Abrikosovsky lane, 119435Moscow, Russia; ORCID: 0000-0003-1546-5129; eLibrary SPIN: 4001-4715; e-mail: uvpres@gmail.com
Курбонов Хуршед Рахматуллоевич; ORCID:0009-0005-0554-4925; eLibrarySPIN: 7441-9038; e-mail:hakagureo@gmail.com	Khurshed R. Kurbonov; ORCID: 0009-0005-0554-4925; eLibrary SPIN: 7441-9038; e-mail:hakagureo@gmail.com
Сорочану Ирина Петровна; ORCID: 0000-0002-6909-8937; eLibrarySPIN: 4072-3845; e-mail: ipsorochanu@gmail.com	Irina P. Sorochanu; ORCID: 0000-0002-6909-8937; eLibrary SPIN: 4072-3845; e-mail: ipsorochanu@gmail.com
Жемков Никита Игоревич; ORCID:0009-0003-2423-6544; eLibrarySPIN: 3779-4360; e-mail: zhemkovni@gmail.com	Nikita I. Zhemkov; ORCID: 0009-0003-2423-6544; eLibrary SPIN: 3779-4360; e-mail: zhemkovni@gmail.com
Галбацов Джамал Фадиевич; ORCID: 0000-0002-7328-7503; eLibrary SPIN: 8317-9216; e-mail: dzhamal.galbatcov61@gmail.com	Dzhamal F. Galbatsov; ORCID: 0000-0002-7328-7503; eLibrary SPIN: 8317-9216; e-mail: dzhamal.galbatcov61@gmail.com
Подлужный Павел Сергеевич; ORCID: 0009-0003-0996-2759; eLibrarySPIN:7101-0526; e-mail: paul_podluzhny@mail.ru	Pavel S. Podluzhny; ORCID: 0009-0003-0996-2759; eLibrary SPIN: 7101-0526; e-mail: paul_podluzhny@mail.ru
Ларионов Иван Алексеевич, канд. техн.	Ivan A. Larionov, Cand. Sci. (Technology);

наук; ORCID: 0000-0001-9620-9471; eLibrary SPIN: 8210-9840; e-mail: ivan.al.larionov@gmail.com	ORCID: 0000-0001-9620-9471; eLibrary SPIN: 8210-9840; e-mail: ivan.al.larionov@gmail.com
Бессонов Виктор Борисович , д-р техн. наук, доцент; ORCID:0000-0001-9009-1011; eLibrarySPIN: 9644-2444; e-mail: vbbessonov@etu.ru	Viktor B. Bessonov , Dr. Sci (Technology), Assistant Professor; ORCID: 0000-0001-9009-1011; eLibrary SPIN: 9644-2444; e-mail: vbbessonov@etu.ru:
Емелин Алексей Михайлович ; ORCID: 0000-0003-4109-0105; eLibrarySPIN: 5605-1140; e-mail: eamar40rn@gmail.com	Aleksey M. Emelin ; ORCID: 0000-0003-4109-0105; eLibrary SPIN: 5605-1140; e-mail: eama40rn@gmail.com
Бозо Илья Ядигерович , канд. мед. наук; ORCID: 0000-0002-0138-5614; eLibrary SPIN: 9083-5715; e-mail: bozo.ilya@gmail.com	И'ya Ya. Bozo , MD, Cand. Sci. (Medicine); ORCID: 0000-0002-0138-5614; eLibrary SPIN: 9083-5715; e-mail: bozo.ilya@gmail.com
Деев Роман Вадимович , канд. мед. наук, доцент; ORCID: 0000-0001-8389-3841; eLibrary SPIN: 2957-1687; e-mail: romdey@gmail.com	Roman V. Deev , MD, Cand. Sci. (Medicine), Assistant Professor; ORCID: 0000-0001-8389-3841; eLibrary SPIN: 2957-1687; e-mail: romdey@gmail.com

Accepted for publication