

© Коллектив авторов, 2018
УДК 611.018.4:616-003.93]-089.843-092.9

Накоскин А.Н.², Силантьева Т.А.¹, Накоскина Н.В.¹, Талашова И.А.¹, Тушина Н.В.¹

Репаративные процессы при алло- и ксеноимплантации внеклеточного матрикса кости

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский научный центр «Восстановительная травматология и ортопедия» имени академика Г.А. Илизарова» Минздрава России, 640014, г. Курган, Россия, ул. М. Ульяновой, д. 6

² Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений», 117216, г. Москва, Россия, ул. Грина, д. 7, стр. 1

В настоящее время потребность в костно-пластическом материале возрастает при проведении реконструктивно — восстановительных операций на костной ткани в травматологии и ортопедии, челюстно-лицевой хирургии, костной онкологии и в других случаях хирургической практики. Среди имплантационных материалов на основе костной ткани лидирующее место занимают импланты ауто- и аллогенного происхождения. Аутогенные импланты — лучшие с биологической точки зрения, но их достойной альтернативой являются материалы из ксенокости в силу своей доступности и биосовместимости. **Цель** исследования — изучение репаративных процессов в зоне регенерации при алло — и ксеноимплантации материала, полученного из костной ткани, в полуциркулярный дефект диафиза бедренной кости крыс. Материалы готовили по одинаковой технологии. **Методика.** Биохимические и морфологические исследования проведены на 18 крысах-самцах линии Вистар в возрасте 6—8 месяцев. Животные были распределены на 3 группы. Первая группа (n = 6) — ксеноимплантация, вторая (n = 6) — аллоимплантация, третья контроль (n = 6) — здоровые животные. Изучены биохимические показатели сыворотки крови на 60-е сут. эксперимента: активность общей щелочной фосфатазы и тартратрезистентного изофермента кислой фосфатазы, содержание кальция, фосфата, общего белка, С-реактивного белка, белковых фракций и проведены морфологические исследования. **Результаты и обсуждение.** Биохимические исследования белковых фракций и С-реактивного белка сыворотки крови свидетельствуют об отсутствии выраженной воспалительной реакции у крыс при алло — и ксеноимплантации внеклеточного матрикса костной ткани в области дефекта метафиза бедренной кости. В обеих опытных группах отмечена активация репаративных процессов. Гистологический анализ выявил остеоинтеграцию как аллогенных, так и ксеногенных фрагментов губчатой кости, имплантированных в область полуциркулярного дефекта бедренной кости крыс. При использовании аллоимплантатов отмечен более высокий темп их биодеградации и органотипическая перестройка оперированного участка кости реципиента. Во всех случаях показано отсутствие реакции отторжения либо инкапсуляции импланта и признаков воспаления в тканях реципиента. Полученные нами данные биохимического и гистологического исследований являются доказательством возможности использования внеклеточного матрикса ксеногенной природы для замещения дефектов костной ткани.

Ключевые слова: репаративные процессы, внеклеточный матрикс кости, костная ткань; алло- и ксеноимплантация; сыворотка крови; биохимическое исследование; гистологическое исследование.

Для цитирования: Накоскин А.Н., Силантьева Т.А., Накоскина Н.В., Талашова И.А., Тушина Н.В. Репаративные процессы при алло — и ксеноимплантации внеклеточного матрикса кости. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2018; 62(3): 60—66.

DOI: 10.25557/0031-2991.2018.03.60-66

Для корреспонденции: Накоскин Александр Николаевич, доктор биол. наук, гл. науч. сотр. лаб. метаболизма, e-mail: Nakoskin_a@mail.ru

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 11.04.2018

Nakoskin A.N.², Silantjeva T.A.¹, Nakoskina N.V.¹, Talashova I.A.¹, Tushina N.V.¹

Reparative processes in allo- and xenoinplantation of extracellular bone matrix

¹ Ilizarov Russian Scientific Center «Restorative Traumatology and Orthopedics», M. Ulyanovoy Str. 6, 640014, Kurgan, Russia

² Federal State Scientific Institution «All-Russian Scientific Research Institute medicinal and aromatic plants»
d. 7 p.1, Green St., 117216, Moscow, Russia

The need for bone-plastic material is presently rapidly increasing, particularly for reconstructive and restorative surgeries on bone tissue in traumatology and orthopedics, maxillofacial surgery, bone oncology, and other cases of surgical practice.

Among the implantation materials based on bone tissue the leading place is occupied by auto- and allogeneic implants. Autogenic implants are the best from the biological point of view but xenobone materials are their worthy alternative due to their availability and biocompatibility. **The aim** of this research was to study reparative processes in the regeneration zone during allo- and xenotransplantation of a material obtained from bone tissue into a semicircular defect in the rat femoral diaphysis. The materials were prepared using the same technology. **Methods.** Biochemical and morphological studies were performed on 18 male Wistar rats aged 6—8 months. The rats were divided into 3 groups. The first group ($n = 6$), xenotransplantation; the second group ($n = 6$), allotransplantation, and the third group, healthy control ($n = 6$). On the 60th day of experiment, biochemical indexes of blood serum were studied, including activities of total alkaline phosphatase (TCA) and tartrate-resistant isoenzyme of acid phosphatase (TrAP), calcium, phosphate, total protein (TP), C-reactive protein, protein fractions, and morphological studies. **Results.** Measuring serum protein fractions and C-reactive protein showed the absence of a significant inflammatory reaction to allo- and xenotransplantation of extracellular bone matrix into the defect of femoral metaphysis. Activation of reparative process was noted in both experimental groups. Histological analysis found osteointegration of both allogeneic and xenogenic fragments of the spongy bone implanted into the semicircular defect of rat femur. When allotransplants were used a high rate of their biodegradation and organotypic remodeling of the operated recipient's bone were observed. However, in all cases, there was no evidence of a rejection reaction, encapsulation of the implant or inflammation in tissues of the maternal bed.

The study produced biochemical and histological evidence supporting for a possible use of extracellular matrix of xenogenic nature for replacement of bone tissue defects.

Keywords: bone issue, allo- and xenotransplantation, blood serum, biochemical study, histological study.

For citation: Nakoskin A.N., Silantjeva T.A., Nakoskina N.V., Talashova I.A., Tushina N.V. Reparative process in allo- and xenotransplantation extracellular bone matrix. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2018; 62(3): 60—66. (in Russian).

DOI: 10.25557/0031-2991.2018.03.60-66

For correspondence: Alexander N. Nakoskin, Doctor of Biological Sciences, Chief Researcher, Federal State Scientific Institution «All-Russian Scientific Research Institute medicinal and aromatic plants» d. 7 p.1, Green St., 117216, Moscow, Russia, e-mail: Nakoskin_A@mail.ru

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgment. The study had no sponsorship.

Information about authors:

Nakoskin A.N., <https://orcid.org/0000-0003-1169-280X>

Received 11.04.2018

Введение

В настоящее время потребность в костно-пластическом материале возрастает [1, 2]. Особенно это актуально при проведении реконструктивно — восстановительных операций на костной ткани в травматологии и ортопедии, челюстно-лицевой хирургии, костной онкологии и в других случаях хирургической практики. Кроме случаев использования имплантационных металлоконструкций, все чаще возникает необходимость заполнения дефектов кости. Предпочтение отдается материалам на основе костной ткани, которая обладает необходимыми биоиндуктивными и биоиндуктивными свойствами [3—9]. Известно также применение биополимеров для оптимизации репаративных процессов в костной ткани [10].

Среди имплантационных материалов на основе костной ткани лидирующее место занимают импланты аутогенного происхождения. Достойной альтернативой современным аутогенным имплантам являются аллогенные материалы из ксенокости в силу их доступности и биосовместимости материала [3, 11, 12].

Цель исследования — изучение репаративных процессов в зоне регенерации при алло- и ксеноимплантации материала, полученного из костной ткани по одинаковой технологии.

Методика

Все экспериментальные исследования проводили, руководствуясь требованиями, изложенными в «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях» (1986 г.), с соблюдением этических норм и гуманного отношения к объектам изучения [13] и с одобрения Комитета по этике при ФГБУ «РНИЦ «ВТО» им. акад. Г.А. Илизарова» Минздрава России.

Биохимические и морфологические исследования проведены на 18 крысах-самцах Вистар в возрасте 6—8 мес. Животные были распределены на 3 группы: 1-я группа ($n = 6$) — ксеноимплантация, 2-я ($n = 6$) — аллоимплантация, 3-я контроль ($n = 6$) — здоровые животные. Внеклеточный костный матрикс готовили по одинаковой технологии. Губчатую

кость механически очищали от остатков хрящевой ткани, затем помещали на 6 ч в емкость с раствором, состоящим из хлорида натрия и твина-100 (концентрация 0,8% и 0,1% соответственно). Раствор меняли через каждые 2 ч. Затем губчатую кость перемещали в раствор перекиси водорода с концентрацией 6% и продолжали перемешивание на магнитной мешалке в течение 24 ч. Раствор меняли с периодичностью 6 ч, после этого кость извлекали из раствора и центрифугировали при 3000 об/мин. Полученные образцы погружали в смесь этанола и хлороформа в соотношении 1:1 и перемешивали на магнитной мешалке в течение 12 ч. Далее губчатую кость проветривали в токе воздуха в течение 12 ч, замораживали при -70°С и лиофильно высушивали (Heto lyolab 3000).

Внеклеточный костный матрикс подвздошной кости крыс (аллоимплантация) и губчатое вещество головки бедренной кости человека (ксеноимплантация) имплантировали в полуциркулярный дефект (размер 4 мм) средней трети бедренной кости крыс. Относительная величина дефекта диафиза составляла 18,4% длины кости. Имплантат был изготовлен из целостного, однородного фрагмента донорской костной ткани. Перед использованием имплантату придавали форму дефекта (материнского костного ложа). Животных декапитировали под рометар-золетилловым наркозом на 60-е сут. после операции.

В сыворотке крови определяли концентрацию кальция, фосфата, общего белка (ОБ) и С-реактивного белка (СРБ), активность общей щелочной фосфатазы (ОЩФ) и тартратрезистентного изофермента кислой фосфатазы (ТрКФ). Рассчитывали индекс фосфатаз (ИФ = ОЩФ/ТрКФ), показывающий соотношение остеосинтетической и остеолитической фазы репаративного остеогенеза. Исследования проводили на автоматическом биохимическом анализаторе HITACHI 902 (Япония) с использованием наборов фирмы «Vital Diagnostics» (Россия). Белковые фракции определяли на анализаторе Helena (Великобритания).

Для выполнения гистологического исследования, бедренные кости крыс фиксировали в 10% нейтральном формалине, декальцинировали в жидкости Рихмана-Гельфанда-Хилла, после чего вырезали фрагменты, содержащие имплантированный материал и прилежащие участки материнского ложа. Полученные блоки обезжизняли в спиртах возрастающей концентрации и уплотняли в парафине по стандартным методикам [14]. На санном микротоме (Reichert, Германия) изготавливали продольные гистологические парафиновые срезы, которые окрашивали гематоксилином и эозином и по Массону. Светооптическое микроскопическое исследование гистологических препаратов выполнено с использованием стереомикроскопа AxioScore.A1 и цифровой камеры AxioCam ICc 5 в комплекте с программным обеспечением Zen blue («Carl Zeiss Microimaging GmbH», Германия).

Статистическую обработку результатов осуществляли с помощью методов непараметрической статистики. Статистическую значимость различий между контрольной и экспериментальными группами оценивали с помощью критерия Манна—Уитни для независимых выборок, используя программы «Microsoft Excel-97» и «AtteStat» Версия 1.0 [15].

Результаты и обсуждение

По результатам биохимического исследования сыворотки крови на 60-е сут. эксперимента наблюдалась однотипная реакция организма животных на имплантацию в обеих экспериментальных группах по сравнению с показателями контроля (табл. 1). Так, отмечено статистически значимое снижение доли фракции альбуминов в обеих группах сравнения и повышенное содержание α₁-глобулиновой фракции, относительно группы здоровых животных. Фракции α₂- и γ-глобулинов имели высокие значения, но значимо от нормы не отличались. Фракция β-глобулинов статистически значимо отличалась только в группе с ксеноимплантацией.

Таблица 1

Белковые фракции сыворотки крови крыс

Показатель, ед.измерения	1-я группа	2-я группа	3-я группа
ОБ, г/л	72,39* (68,33-72,39)	40,27 (37,80-42,73)	54,65 (53,19-55,38)
Альбумин, г/л	19,17* (17,46-19,17)	5,32* (5,02-5,61)	32,43 (31,37-33,02)
α ₁ -глобулины, г/л	18,56* (15,85-18,56)	8,11* (6,52-9,70)	3,22 (3,03-3,55)
α ₂ -глобулины, г/л	7,89 (6,14-7,89)	3,03 (2,90-3,16)	3,55 (3,35-3,64)
β-глобулины, г/л	17,34* (17,02-17,34)	10,41 (9,29-11,53)	9,95 (9,84-10,64)
γ-глобулины, г/л	10,70 (9,65-10,70)	13,41 (12,73-14,08)	5,12 (4,72-5,23)
А/Г	0,351 (0,338-0,351)	0,152* (0,151-0,153)	1,42 (1,39-1,51)

Примечание. 1-я группа — ксеноимплантация; 2-я группа — аллоимплантация; 3-я группа — контроль. В таблице приведены значения в виде: медианы (25 перцентиль — 75 перцентиль); * — отмечены статистически значимые различия с нормой при p ≤ 0,05.

Биохимические показатели сыворотки крови самцов крыс при алло- и ксеноимплантации внеклеточного матрикса костной ткани представлены в табл. 2. Статистическая обработка полученных данных не выявила статистически значимых различий между результатами контрольной и опытных групп животных. Следует отметить, что С-реактивный белок, относящийся к группе белков острой фазы и использующийся в качестве маркера процесса воспаления при ксеноимплантации, не превышает значений в группе здоровых животных [16]. В группе с ксеноимплантацией отмечена низкая активность щелочной фосфатазы по отношению к группе с аллоимплантацией. Однако высокие значения ИФ в обеих опытных группах (192,65 усл.ед.; 163,51 усл.ед.) в сравнении с контрольной (41,98 усл.ед.) указывают на активацию репаративных процессов [17].

Полученные результаты свидетельствуют об отсутствии выраженной воспалительной реакции в организме крыс при алло- и ксеноимплантации внеклеточного матрикса костной ткани в дефект метафиза бедренной кости.

Эффективность замещения дефекта определяется не только воспалительным ответом реципиента, но и способностью замещаться собственной костной тканью. При гистологическом исследовании препаратов бедренной кости в области заполнения полуциркулярного дефекта аллоимплантатом губчатой кости установлено, что через 60 сут. участок трубчатой кости в области операции подвергся органотипической перестройке. Область имплантации по периферии была ограничена тонкой новообразованной компактной пластинкой, на периостальной поверхности которой обнаруживались грубоволокнистые трабекулы (рис. 1, а).

В центральной части импланта располагалась обширная полость, заполненная красным костным мозгом с редкой сетью новообразованных грубоволокнистых трабекул (рис. 1, б). Трабекулы включали микрофрагменты пластинчатой костной ткани импланта с пустыми остеонитарными лакунами.

Компактная пластинка материнского ложа аллоимпланта имела типичное остеонное строение с узки-

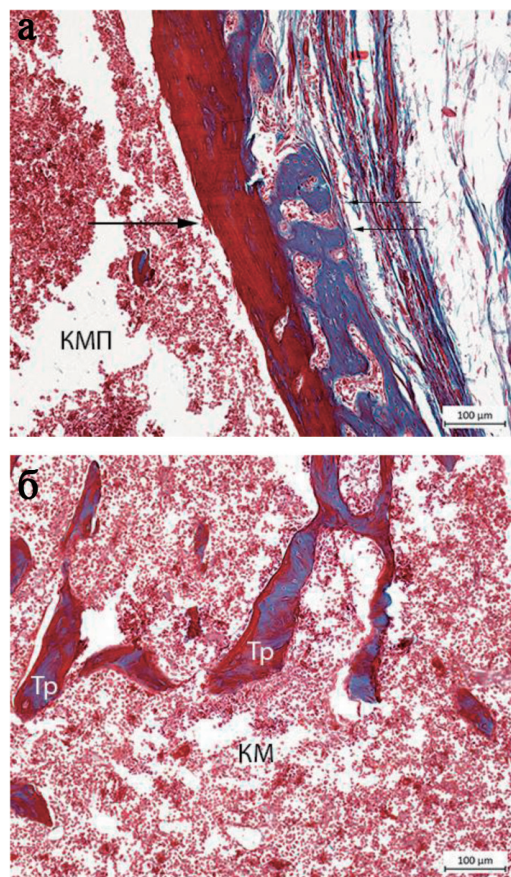


Рис. 1. Имплантация аллогенного костного блока в полуциркулярный дефект бедренной кости крысы:

а — новообразованная компактная костная пластинка (одиночная стрелка) с периостально образованными грубоволокнистыми трабекулами (двойные стрелки), ограничивающая костномозговую полость (КМП) в области имплантации; б — гипопластические грубоволокнистые трабекулы (Тр) в центре полости новообразованного участка диафиза, заполненного красным костным мозгом (КМ). Срок эксперимента 60 сут. Парафиновые срезы. Окраска по Массону. Об. х20, ок. х10

ми внутрикостными каналами, содержащими сосуды без выраженных признаков нарушения микроциркуляции. В костных лакунах обнаруживались ядродержащие остециты (рис. 2, а).

Таблица 2

Биохимические показатели сыворотки крови крыс

Показатель	1-я группа	2-я группа	3-я группа
ЩФ, Е/л	308,24 (281,21-465,07)	948,35 (876,87-1019,82)	442,51 (365,28-512,06)
ТрКФ, Е/л	1,60 (0,80-3,80)	5,80 (4,40-7,20)	10,54 (9,23-10,98)
СРБ, мг/л	3,59 (2,81-3,88)	6,64 (6,40-6,87)	4,27 (3,87-4,61)
Са, ммоль/л	2,60 (2,59-2,64)	2,40 (2,37-2,43)	2,02 (1,97-2,10)
Р, ммоль/л	2,07 (1,97-2,20)	2,57 (2,36-2,79)	2,15 (1,86-2,19)

Примечание. 1-я группа — ксеноимплантация; 2-я группа — аллоимплантация; 3-я группа — контроль. В таблице приведены значения в виде: медианы (25 перцентиль — 75 перцентиль)

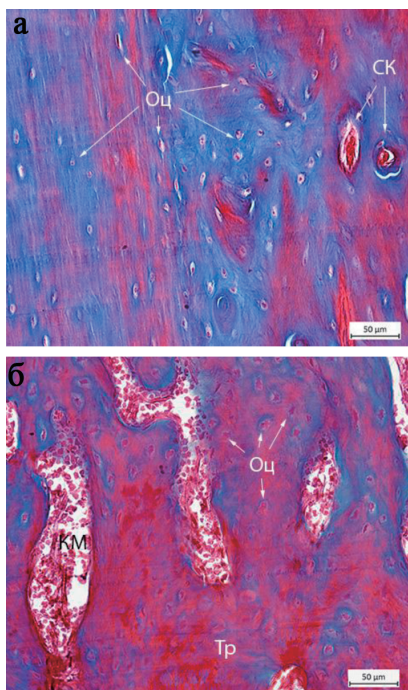


Рис. 2. Костная ткань материнского ложа на границе с аллоимплантом: а — компактная пластинка с ядродержащими остеоцитами (Оц) и сосудистыми каналами (СК); б — мелкопетлистая сеть грубоволокнистых трабекул (Тр) с многочисленными остеоцитами (Оц). Срок эксперимента 60 сут. Окраска по Массону. Об. х40, ок. х10

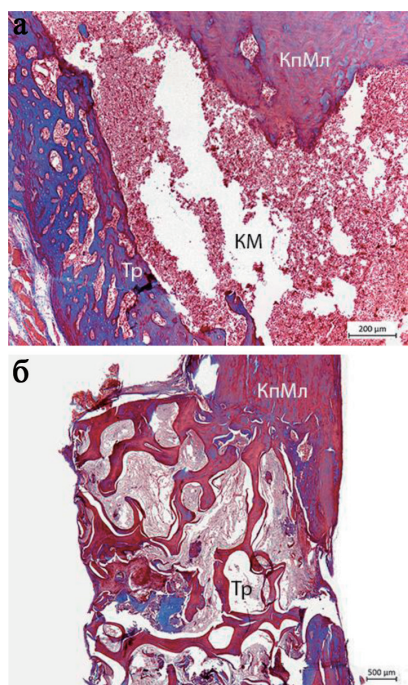


Рис. 3. Имплантация ксеногенного костного блока в полуциркулярный дефект бедренной кости крысы: а — проксимальная часть полости в области имплантации, заполненная красным костным мозгом (КМ); б — сращение импланта (Тр) с компактной пластинкой материнского ложа (КпМл) по проксимальной и боковой поверхности. Срок эксперимента 60 сут. Окраска по Массону. а — об. 10х, ок. 10х; б — об. 2,5х, ок. 10х

Губчатое костное вещество ложа включало мелкопетлистую сеть массивных грубоволокнистых трабекул, в промежутках которой содержался красный костный мозг, васкуляризованный узкими синусоидными капиллярами (рис. 2, б). Признаки воспалительно-клеточной инфильтрации не были выявлены ни в области имплантации, ни в прилежащих участках кости материнского ложа.

Исследование гистоструктуры ксеноимпланта губчатого костного вещества в области заполнения дефекта бедренной кости также выявило их остеоинтеграцию у всех экспериментальных животных. В одном экспериментальном случае отмечалась резорбция значительной части ксеноимпланта с формированием компактизирующейся костной пластинки и полости, заполненной красным костным мозгом с отдельными гипопластическими костными трабекулами (рис. 3, а). По периферии полость была ограничена костной пластинкой, образованной компактизирующейся трабекулярной костной тканью. В проксимальной и дистальной части дефекта новообразованная кость была сращена с периостальной поверхностью кости материнского ложа. В других экспериментальных случаях ксеноимплант определялся в виде фрагмента губчатой кости, сращенного с материнским ложем по проксимальной, боковой и частично — по дистальной поверхности (рис. 3, б).

Остеоинтеграцию импланта осуществляла мелкопетлистая сеть эндостально и периостально образованных грубоволокнистых костных трабекул (рис. 4 а, б).

Пластинчатые трабекулы губчатой кости импланта имели гладкую поверхность без выступающих клеток и признаков резорбции. Остеоцитарные лакуны были пустыми, в матриксе определялись щелевидные трещины, ориентированные вдоль линий склеивания между параллельными пластинами костного вещества. Межтрабекулярные пространства заполняла рыхлая волокнистая соединительная ткань, бедная сосудистыми и клеточными элементами, морфологические признаки воспалительной реакции не наблюдались ни в одном из опытов (рис. 5, а).

В губчатой костной ткани материнского ложа были отмечены реактивные изменения, выражающиеся в уплотнении трабекулярной сети, активизации эндостального остеогенеза, неравномерном кровенаполнении сосудов микроциркуляторного русла, отеке периваскулярных и перитрабекулярных пространств (рис. 5, б). Однако ни в одном из случаев не были обнаружены воспалительно-клеточные инфильтраты.

В компактной костной пластинке материнского ложа определялись широкие сосудистые каналы, содержащие рыхлую соединительную ткань и гиперемированные кровеносные сосуды. Остеонная структура

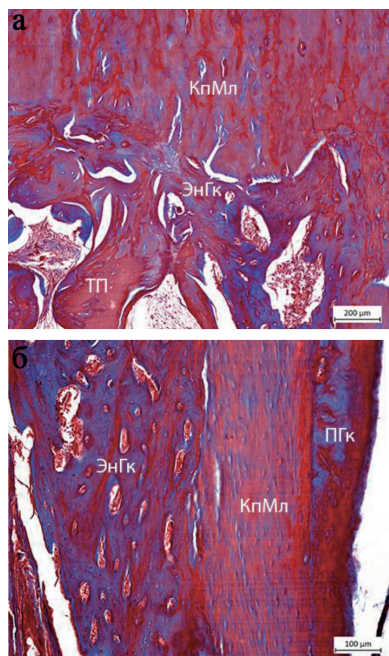


Рис. 4. Сращение ксеноимпланта (ТП) с компактной пластинкой материнского ложа (КпМл): эндостальное сращение (ЭнГк) с проксимальной поверхностью материнского ложа; эндостальное (ЭнГк) и периостальное (ПГк) — с боковой поверхностью материнского ложа. Срок эксперимента 60 сут. Окраска по Массону. а — об. 10х, ок. 10х; б — об. 20х, ок. 10х

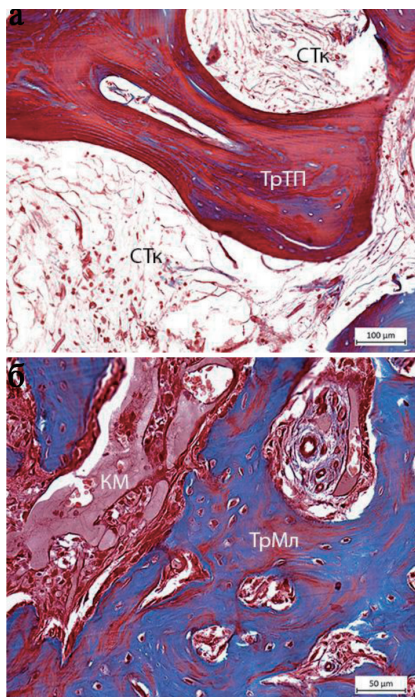


Рис. 5. Губчатая костная ткань в области ксеноимплантации: а — пластинчатая костная трабекула импланта (ТрТП) с пустыми остеоцитарными лакунами, трещинами, в окружении рыхлой соединительной ткани (СТк); б — мелкопетлистая сеть трабекул материнского ложа (ТрМл) с отеком костным мозгом (КМ) межтрабекулярных пространств. Срок эксперимента 60 сут. Окраска по Массону. а — об. 20х, ок. 10х; б — об. 40х, ок. 10х

компактной кости была нарушена. Наличие многочисленных вставочных пластинок свидетельствовало о завершении циклов резорбции и образование костного матрикса. Процесс перестройки костной ткани был слабо выраженным, встречались единичные очаги активного остеогенеза и остеокластической резорбции (рис. 6, а).

На периостальной поверхности компактной костной пластинки обнаруживалась сеть новообразованных грубоволокнистых трабекул, в межтрабекулярных промежутках которой располагалась рыхлая соединительная либо скелетогенная ткань (рис. 6 б). Трабекулы были выстланы многорядным слоем активных остеобластов. Явления воспаления и активной остеокластической резорбции не были отмечены.

Заключение

Биохимические исследования белковых фракций и С-реактивного белка сыворотки крови свидетельствуют об отсутствии выраженной воспалительной реакции в организме крыс при алло — и ксеноимплантации внеклеточного матрикса костной ткани в дефект метафиза бедренной кости.

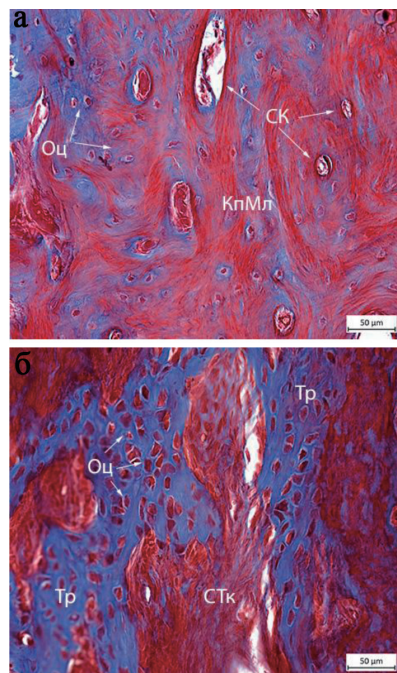


Рис. 6. Компактная костная пластинка материнского ложа (КпМл) в области ксеноимплантации: а — широкие сосудистые каналы (СК) и ядросодержащие остеоциты (Оц) в составе костного матрикса; б — периостально образованные грубоволокнистые трабекулы (Тр) с многочисленными остеоцитами (Оц) в окружении реактивно измененной соединительной ткани (СТк). Срок эксперимента 60 сут. Парафиновые срезы. Окраска по Массону. Об. 40х, ок. 10х

В группе с ксеноимплантацией активность щелочной фосфатазы имеет более низкие значения по сравнению с аллоимплантацией. Однако индекс фосфатаз в обеих группах практически одинаков и имеет высокие значения, что указывает на активацию репаративных процессов.

Гистологический анализ выявил остеоинтеграцию как аллогенных, так и ксеногенных фрагментов губчатой кости, имплантированных в полуциркулярный дефект бедренной кости крыс. При использовании аллоимплантов отмечен более высокий темп их биодеградации и органотипическая перестройка оперированного участка кости реципиента. Тем не менее, во всех экспериментальных случаях показано отсутствие реакции отторжения либо инкапсуляции имплантата и воспаления в тканях материнского ложа.

Данные биохимического и гистологического исследований являются доказательством возможности использования внеклеточного матрикса ксеногенной природы для замещения дефектов костной ткани.

References

1. Bulatov A.A. Demineralized bone implants and induction osteogenesis. *Travmatologiya i ortopediya Rossii*. 2005; 2 (35): 53-59. (in Russian)
2. Ogorodova L.M. Report: The growing role of implants and minimally invasive surgery in the development of modern medicine. http://2013.forinnovations.ru/_src/ForumEvents.Report/40_file/64_62_oiforum2013_ludmila_ogorodova.pdf (reference date: 10.10.2016). (in Russian)
3. Kirilova I.A., Sadovoj M.A., Podorozhnaja V.T. Comparative characteristics of materials for bone plasty: composition and properties. *Hirurgiya pozvonochnika*. 2012; (3): 72-83. (in Russian)
4. Saveljev V.I. *Experience in the manufacture and use of demineralized bone tissue in an experiment and clinic. [Opyt izgotovleniya i primeneniya demineralizovannoy kostnoy tkani v ehksperimente i klinike. Biomeditsinskie tekhnologii]. Sb.nauch.tr. NIC BMT. Moscow; 2001; (17): 17- 24.* (in Russian)
5. Bauer T.W. Bone graft materials. *Clin. Orthop*. 2000; (371): 10-27.
6. Iwata H. Demineralized bone matrix and native bone morphogenetic protein in orthopaedic surgery. *Clin. Orthop*. 2002; (395): 99-109.
7. Oakes D.A. An evaluation of human demineralized bone matrices in a rat femoral defect model. *Clin. Orthop*. 2003; (413): 281-90.
8. Talashova I.A., Silantjeva T. A., Kononovich N.A., Luneva S.N. Biocompatibility of calcium phosphate materials of biogenic origin in implantation at bone defects of dogs. *Zhurnal klinicheskoy I eksperimental'noy ortopedii im. G.A. Ilizarova Geniy ortopedii*. 2016; (4): 95-10. (in Russian)
9. Talashova I.A., Silantjeva T. A. Qualitative and quantitative composition of implantation calcium phosphate materials. *Uspekhi sovremennogo estestvoznaniya*. 2007; (11): 15-9. (in Russian)
10. Belova S.V., Norkin I.A., Puchin'yan D.M. Influence of biopolymer chondroitin sulfate on reparative regeneration of connective tissue. *Patologicheskaya fiziologiya i ehksperimental'naya terapiya*. 2015; 59 (1): 76-9. (in Russian)
11. Nakoskin A.N., Djurjagina O.V., Kovinka M.A. Xenoinplantation of the matrix of bone tissue in bone defects replacement in rabbits. *Veterinariya Kubani*. 2016; (6): 19-21. (in Russian)
12. Ter-Asaturov G.P., Lekishvili M.V., Bigvaeva A.T. et al. A comparative experimental morphological study of the biological osteoplastic materials efficiency in the replacement of bone defects. *Kletochnaya implantologiya i tkanevaya inzheneriya*. 2012; (1): 81-85. (in Russian)
13. European Convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. *Voprosy rekonstruktivnoy i plasticheskoy khirurgii*. 2003; (4): 34-36; 2004. (1): 20-36; (2): 29-31. (in Russian)
14. Sarkisov D.S. *Microscopic technology: guide for doctors and laboratorians. [Mikroskopicheskaya tekhnika: rukovodstvo dlya vrachey i laborantov]*. Moscow; Meditsina; 1996. (in Russian)
15. Gajdyshev I.P. *Solution of scientific and engineering tasks using Excel. VBA i C/C++*. [Reshenie nauchnykh i inzhenernykh zadach sredstvami Excel. VBA i C/C++]. Sankt Peterburg Spb: BHV — Peterburg; 2004. (in Russian)
16. Tushina N.V., Talashova I.A., Kononovich N.A., Popkov A.V. Biochemical markers of inflammation in dogs during lengthening of shin bones by Ilizarov. *Uspekhi sovremennogo estestvoznaniya*. 2015; (8): 48-52. (in Russian)
17. Nakoskina N.V., Nakoskin A.N. Biochemical criteria of regeneration and energy supply in blood serum during experiment with local injection of bone extracts to the fracture zone. *Uspekhi sovremennogo estestvoznaniya*. 2015; (9-2): 219-22. (in Russian)

Сведения об авторах

Накоскин А.Н., доктор биол. наук, ст. науч. сотр. лаб. биохимии

Силантьева Т.А., канд. биол. наук, зав. лаб., вед. науч. сотр. лаб. морфологии

Накоскина Н.В., мл. науч. сотр. лаб. биохимии, e-mail: Tatika1981@mail.ru

Талашова И.А., канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаб. биохимии

Тушина Н.В., канд. биол. наук, науч. сотр. лаб. биохимии