

DOI: 10.18481/2077-7566-2022-18-3-114-118
УДК 616.314–089.23

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ОСТЕОРЕГЕНЕРАЦИИ ЧЕРЕЗ ЧЕТЫРЕ МЕСЯЦА ПОСЛЕ ИМПЛАНТАЦИИ «БАК-1000» В КОМБИНАЦИИ С АНГИОСТИМУЛИРОВАННЫМИ МСК

Демяшкин Г.А.^{1,2}, Иванов С.Ю.^{1,3}, Орлов А.А.⁴, Сабурин И.Н.⁴, Нуруев Г.К.³, Фидаров А.Ф.³, Вадюхин М.А.¹, Бондаренко Ф.Н.²

¹ Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова (Сеченовский университет), г. Москва, Россия

² Медицинский радиологический научный центр им. А. Ф. Цыба — филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии», г. Обнинск, Россия

³ Российский университет дружбы народов, г. Москва, Россия

⁴ НИИ общей патологии и патофизиологии, г. Москва, Россия

Аннотация

Апробация остеопластических материалов с изучением механизмов и разработкой методов остеорегенерации остается одним из актуальных направлений исследований в хирургической и ортопедической стоматологии, требующих комплексного подхода на различных уровнях организации живых систем.

Цель исследования: оценка остеорегенерации в модели костного диастаза с использованием «БАК-1000» в комбинации с VEGF-стимулированными МСК.

Материалы и методы. Самцы крыс породы Спрег-Дуоли (n = 45) были поделены на две группы: I — контрольная (n = 15) и опытные — II (n = 15) и III (n = 15). Создание модели остеоинтеграции включало два хирургических этапа: на первом этапе культивировали МСК, на втором — проводили остеотомию (I — III группы), образовавшиеся дефекты заполняли имплантационным материалом (II, III группы) в комбинации с аутологичными МСК (только III группа).

Результаты. На 120-е сутки после завершения второго этапа операции во II группе наблюдали низкую интенсивность ангиогенеза и остеогенеза с частичным локальным разрушением ячеисто-каналликулярного матрикса. В III группе отмечали умеренную остеорегенерацию и явления интенсивного ангиогенеза. Тем не менее, в обеих группах образование микрокристаллов желтого цвета послужило причиной развития признаков некробиоза.

Обсуждение. На основании проведенного исследования установлено, что во II и III группах в периимплантационной ткани действительно имела место резкая гиперплазия кровеносных сосудов, которая сочеталась по времени с начальными признаками остеогенеза. Выявленные негативные изменения перимплантационной области, вероятно, были связаны с биологическими свойствами имплантированного материала.

Выводы. Признаки выраженной остеорегенерации отсутствовали, а предложенную методику устранения костного дефекта с помощью «БАК-1000» в комбинации с VEGF-стимулированными МСК можно считать неэффективной.

Ключевые слова: остеорегенерация, имплантация, алюмосиликатный материал, мезенхимальные стволовые клетки, перимплантационная зона

Авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Григорий Александрович ДЕМЯШКИН ORCID ID 0000-0001-8447-2600

к. м. н., заведующий лабораторией гистологии и иммуногистохимии, Институт Трансляционной Медицины и Биотехнологий, Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова, г. Москва; заведующий отделом патоморфологии, Медицинский радиологический научный центр им. А. Ф. Цыба, г. Обнинск, Россия
dr.dga@mail.ru

Сергей Юрьевич ИВАНОВ ORCID ID 0000-0001-5458-0192

член-корреспондент РАН, д. м. н., профессор, заведующий кафедрой челюстно-лицевой хирургии, Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова; заведующий кафедрой челюстно-лицевой хирургии и хирургической стоматологии, Российский университет дружбы народов, г. Москва, Россия
ivanov-sy@rudn.ru

Андрей Алексеевич ОРЛОВ ORCID ID 0000-0001-2436-8278

д. м. н., профессор, главный научный сотрудник лаборатории клеточных технологий НИИ общей патологии и патофизиологии, г. Москва, Россия
doctororlov@gmail.com

Ирина Николаевна САБУРИНА ORCID ID 0000-0001-1836-9483

д. б. н., профессор, заведующая лабораторией клеточной биологии и патологии развития, НИИ общей патологии и патофизиологии, г. Москва, Россия
saburina@mail.ru

Гаси Каравич НУРУЕВ ORCID ID 0000-0001-5458-0124

аспирант кафедры челюстно-лицевой хирургии и хирургической стоматологии, Российский университет дружбы народов, г. Москва, Россия
gasident@mail.ru

Асламбек Феликсович ФИДАРОВ ORCID ID 0000-0003-4857-7629

Аспирант кафедры челюстно-лицевой хирургии и хирургической стоматологии, Российский университет дружбы народов, г. Москва, Россия
08082012@bk.ru

Матвей Анатольевич ВАДЮХИН ORCID ID 0000-0002-6235-1020

студент Института клинической медицины, Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова, г. Москва, Россия
vta20@mail.ru

Федор Николаевич БОНДАРЕНКО ORCID ID 0000-0001-8952-4174

аспирант отдела патоморфологии, Медицинский радиологический научный центр им. А. Ф. Цыба, г. Обнинск, Россия
bondarenko@mail.ru

Адрес для переписки: Матвей Анатольевич ВАДЮХИН

125368, г. Москва, ул. Барышиха, д. 32/1

+7 (916) 4417920

vta20@mail.ru

Образец цитирования:

Демяшкин Г.А., Иванов С.Ю., Орлов А.А., Сабурин И.Н., Нуруев Г.К., Фидаров А.Ф., Вадюхин М.А., Бондаренко Ф.Н. МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ОСТЕОРЕГЕНЕРАЦИИ ЧЕРЕЗ ЧЕТЫРЕ МЕСЯЦА ПОСЛЕ ИМПЛАНТАЦИИ «БАК-1000» В КОМБИНАЦИИ С АНГИОСТИМУЛИРОВАННЫМИ МСК. Проблемы стоматологии. 2022; 3: 114-118.

© Демяшкин Г.А. и др., 2022

DOI: 10.18481/2077-7566-2022-18-3-114-118

Поступила 19.09.2022. Принята к печати 24.10.2022

DOI: 10.18481/2077-7566-2022-18-3-114-118

MORPHOLOGICAL AND FUNCTIONAL FEATURES OF OSTEOREGENERATION FOUR MONTHS AFTER IMPLANTATION OF «BAK-1000» IN COMBINATION WITH ANGIOSTIMULATED MSCS

Demyashkin G.A.^{1,2}, Ivanov S.Yu.^{1,3}, Orlov A.A.⁴, Saburina I.N.⁴, Nuruev G.K.³, Fidarov A.F.³, Vadyukhin M.A.¹, Bondarenko F.N.²

¹ I. M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia

² A. F. Tsyba Medical Radiological Research Center — a branch of the «National Medical Research Center of Radiology», Obninsk, Russia

³ Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia

⁴ Institute of General Pathology and Pathophysiology, Moscow, Russia

Annotation

Approbation of osteoplastic materials with the study of the mechanisms and development of methods of osteoregeneration remains one of the topical areas of research in surgical and orthopedic dentistry, requiring an integrated approach at various levels of organization of living systems.

The aim of the study was to evaluate osteoregeneration in a model of bone diastasis using «BAK-1000» in combination with VEGF-stimulated MSCs.

Materials and methods. Male Sprague-Dawley rats (n = 45) were divided into two groups: I — control (n = 15) and experimental — II (n = 15) and III (n = 15). The creation of the osseointegration model included two surgical stages: at the first stage, MSCs were cultured; on the second stage, osteotomy was performed (groups I — III), the resulting defects were filled with implant material (groups II, III) in combination with autologous MSCs (only group III).

Results. On the 120th day after completion of the second stage of the operation in group II, a low intensity of angiogenesis and osteogenesis was observed with partial local destruction of the cellular canalicular matrix. Group III showed moderate osteoregeneration and intense angiogenesis. However, in both groups, the formation of yellow microcrystals caused the development of signs of necrobiosis.

Discussion. On the basis of the study, it was found that in groups II and III in the peri-implantation tissue, there was indeed a sharp hyperplasia of blood vessels, which was combined in time with the initial signs of osteogenesis. The identified negative changes in the peri-implant area were probably associated with the biological properties of the implanted material.

Conclusions. There were no signs of pronounced osteoregeneration, and the proposed method for eliminating a bone defect using BAK-1000 in combination with VEGF-stimulated MSCs can be considered ineffective.

Keywords: osteoregeneration, implantation, aluminosilicate material, mesenchymal stem cells, peri-implant zone

The authors declare no conflict of interest.

Grigory A. DEMYASHKIN ORCID ID 0000-0001-8447-2600

PhD in Medical Sciences, Head of the Laboratory of Histology and Immunohistochemistry, ITM in Sechenov University, Moscow; Head of the Department of pathomorphology, Medical Radiological Research Center named after A. F. Tsyba, Obninsk, Russia
dr.dga@mail.ru

Sergey Y. IVANOV ORCID ID 0000-0001-5458-0192

Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Grand PhD in Medical sciences, Professor, Head of the Department of Oral and Maxillofacial Surgery in Sechenov University; Head of the Department of Maxillofacial Surgery and Surgical Dentistry, Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia
ivanov-syu@rudn.ru

Andrey A. ORLOV ORCID ID 0000-0001-2436-8278

Grand PhD in Medical sciences, Professor, Chief Researcher, Laboratory of Cell Technologies, Research Institute of General Pathology and Pathophysiology, Moscow, Russia
doctororlov@gmail.com

Irina N. SABURINA ORCID ID 0000-0001-1836-9483

Grand PhD in Biological sciences, Professor, Head of the Laboratory of Cell Biology and Pathology of Development, Research Institute of General Pathology and Pathophysiology, Moscow, Russia
saburina@mail.ru

Gasi K. NURUEV ORCID ID 0000-0001-5458-0124

Postgraduate student of the Department of Maxillofacial Surgery and Surgical Dentistry, Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia
gasident@mail.ru

Aslanbek F. FIDAROV ORCID ID 0000-0003-4857-7629

Postgraduate student of the Department of Maxillofacial Surgery and Surgical Dentistry, Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia
08082012@bk.ru

Matvey A. VADYUKHIN ORCID ID 0000-0002-6235-1020

Student of the Institute of Clinical Medicine in Sechenov University, Moscow, Russia
vma20@mail.ru

Fedor N. BONDARENKO ORCID ID 0000-0001-8952-4174

Post-graduate student of the Department of pathomorphology, Medical Radiological Research Center named after A. F. Tsyba, Obninsk, Russia
bondarenko@mail.ru

Correspondence address: Matvey A. VADYUKHIN

125368, Moscow, str. Baryishiha, 32/1

+7 (916) 4417920

vma20@mail.ru

For citation:

Demyashkin G.A., Ivanov S.Yu., Orlov A.A., Saburina I.N., Nuruev G.K., Fidarov A.F., Vadyukhin M.A., Bondarenko F.N.
MORPHOLOGICAL AND FUNCTIONAL FEATURES OF OSTEOREGENERATION FOUR MONTHS AFTER IMPLANTATION OF «BAK-1000» IN COMBINATION WITH ANGIOSTIMULATED MSCS. *Actual problems in dentistry*. 2022; 3: 114-118. (In Russ.)

© Demyashkin G.A. et al., 2022

DOI: 10.18481/2077-7566-2022-18-3-114-118

Received 19.09.2022. Accepted 24.10.2022

Введение

Одними из наиболее важных проблем в современной хирургической и ортопедической стоматологии по-прежнему остаются изучение механизмов и разработка методов остеорегенерации. Причины возникновения дефектов кости различны, часто это связано с новообразованиями, воспалением или травмами оро-фациальной области.

Одним из актуальных методов восстановления костной ткани после повреждения является стимуляция остеогистогенеза за счет одновременно протекающих процессов пролиферации остеогенных клеток с последующей их дифференцировкой по остеобластическому пути и неоангиогенеза, ключевую роль в которых играют многочисленные факторы роста (VEGF, FGF, IGF, PDGF, TGF- β), а также костный морфогенетический протеин. По данным специализированной литературы, эти биологически активные вещества высвобождаются клетками окружающих тканей, тромбоцитами и экстрацеллюлярным матриксом в ответ на травматическое повреждение костной ткани [1–3].

После образования костного дефекта часто необходимо применение различных остеоиндуктивных материалов, таких как октакальций-фосфатная керамика, синтетические аналоги костной ткани, арагонит. В нашем исследовании в качестве имплантата был выбран биосовместимый остеокондуктивный апатитосиликатный композит БАК-1000. Известно, что его гранулированную форму используют для заполнения полостей апикальных кист после цистэктомии. Некоторые авторы указали, что рассасывание большей части этого материала и его замещение костной тканью происходило в течение одного года [4, 5].

В последнее время появляются данные о способности мезенхимальных стволовых клеток (МСК) жировой ткани перемещаться в область повреждения, что связывают с физиологическими механизмами их мобилизации в условиях стресса, которые, однако, остаются малоизученными [6–8].

Некоторые авторы утверждают, что МСК высокопластичны и способны к дифференцировке в хондрогенном, адипогенном и/или остеогенном направлении [9].

Таким образом, апробация остеопластических материалов до сих пор остается одним из актуальных направлений исследований в хирургической и ортопедической стоматологии, требующих комплексного подхода на различных уровнях организации живых систем.

Цель исследования: оценка остеорегенерации в модели костного диастаза с использованием «БАК-1000» в комбинации с VEGF-стимулированными МСК.

Материалы и методы

Самцы крыс породы Спрег-Доули (возраст 13–15 недель, $n = 45$) были поделены на две группы: I — контрольная ($n = 15$) и опытные — II ($n = 15$) и III ($n = 15$).

Дизайн эксперимента. Создание модели остеинтеграции с использованием остеопластического материала включало два хирургических этапа: на первом этапе в паховой области резецировали жировую ткань, из которой культивировали МСК; на втором — в области диафиза бедренной кости проводили остеотомию (I — III группы), образовавшиеся дефекты заполняли имплантационным материалом БАК-1000 (II, III группы) в комбинации с аутологичными МСК (только III группа).

Животных всех групп выводили из эксперимента путем введения высоких доз анестетика через 120 суток после второго хирургического этапа.

Имплантационный материал. Нерезорбируемый биоактивный апатитосиликатный композит «БАК-1000» (регистрационное удостоверение 98/218/433, Россия) представлен алюминий-силикатной матрицей, обеспечивающей его ячеисто-каналликулярную структуру с распределенными в ней фосфатами кальция, главным образом гидроксипатита (ГА) в различных пропорциях Ca/P. В состав материала входит силикатная матрица, волостанин (CaSiO_3); гидроксипатит ($\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$); β -трикальцийфосфат ($\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$).

Стромальные клетки жировой ткани (СКЖТ). Клетки стромально-сосудистой фракции выделяли у крыс по стандартному протоколу из ткани подкожного жира брюшной области. Затем осуществляли 2D- и 3D-культивирование. Полученные микросферы в количестве 3000 шт. помещали на остеопластический материал БАК-1000 и культивировали в полной ростовой среде в течение 7 суток. Визуализацию морфологии клеток и микросфер осуществляли с помощью фазово-контрастного микроскопа СКХ41 (Olympus, Япония), фоторегистрацию производили цифровой камерой Invenio³S (Olympus, Япония) в программе DeltaPix (Olympus, Япония).

Индукция васкулогенной дифференцировки. На четвертом пассаже этапа 2D-культивирования в монослойную культуру СКЖТ в полную ростовую среду добавляли индуктор ангиогенеза — фактор роста эндотелия сосудов (VEGF, 10 нг/мл).

Животные содержались в виварии в стандартных условиях. Все манипуляции осуществляли согласно Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации и Руководствам по проведению медико-биологических исследований по уходу и использованию лабораторных животных (ILAR, DELS), а также они были одобрены Локальным этическим комитетом.

Гистологическое исследование. Фрагменты кости с имплантационным материалом после фиксации

в забуференном растворе формалина и декальцинации готовили по стандартному протоколу, окрашивали гематоксилином и эозином. Полученные гистологические микропрепараты анализировали в 10 полях зрения светового микроскопа при увеличении $\times 100$ с помощью системы видеомикроскопии (микроскоп Leica DM2000) и программного обеспечения Leica Application Suite, Version 4.9.0.

Результаты

В контрольной группе в области искусственного костного дефекта на первом месяце после второго этапа операции отмечали диффузное умеренное воспаление, степень которого снижалась ко второму месяцу на фоне костной регенерации.

На 120-е сутки после завершения второго этапа операции во II группе наблюдали гистологическую картину умеренного остеогенеза с образованием губчатой костной ткани, подверженной ремоделированию, которое подтверждалось появлением по периметру костной ткани гигантских многоядерных остеокластов. Локально обнаруживали участки сниженной клеточности, макрофагальной инфильтрации или выраженного отека прилегающей ткани. Ячеисто-каналликулярный матрикс в части срезов оказался сохранен, а в другой части разрушен и инфильтрирован микрочастицами желтого цвета. Таким образом, отмечали низкую интенсивность ангиогенеза и остеогенеза с частичным локальным разрушением ячеисто-каналликулярного матрикса (рис. 1а).

В то же время, в III группе сохранялись явления интенсивного ангиогенеза в периимплантационной зоне. По всему периметру наблюдали многочисленные клетки, фагоцитировавшие кристаллические частицы желтого цвета, которые мигрировали за пределы имплантационного материала и обнаруживались в стенках и просветах капилляров, нередко приводя к лизису контактирующих с ними сосудистых мембран. У всех животных выявили картину панваскулита, который сопровождался активной пролиферацией и воспалительной инфильтрацией сосудистых стенок и свидетельствовал о развитии в них признаков некробиоза и некроза, и был связан с интенсивным отложением кристаллических микро-частиц (рис. 1б).

Обсуждение

В проведенном исследовании остеогистогенез и неоангиогенез изучали на модели заживления искусственного костного дефекта. Этот процесс классически включает в себя четыре стадии: воспаление, образование хрящевой мозоли, формирование трабекулярной кости, ремоделирование костной ткани. Именно на стадии формирования мягкой (хрящевой) мозоли образующиеся гипертрофированные хондро-

циты и остеобластические прогениторы находятся в состоянии гипоксии, инициируя каскад гипоксии-индуцируемого фактора (HIF), который приводит к интенсификации ангиогенеза, синтезу протеинов межклеточного вещества и особенно аутокринных молекул VEGF-A, которые в совокупности с костным морфогенетическим белком (BMP) являются основными синергетическими регуляторами процессов костной регенерации и ангиогенеза [10, 11].

Поскольку в представленной работе на поверхности имплантационного материала «БАК-1000» были адгезированы аутогенные МСК, обладающие специфическим ангиостимулирующим действием, необходимо было оценить интенсивность ангиогенеза на основании данных гистоморфологического исследования.

На основании проведенного исследования установлено, что во II и III группах на 120-е сутки после второго этапа операции в периимплантационной ткани действительно имело место резкое увеличение количества капилляров (гиперплазия). Явления ангиогенеза сочетались по времени с начальными признаками остеогенеза, что подтверждает существование корреляционной связи этих процессов.

В то же время, наблюдали расширение слоя остеобластов и появление участков гиперплазии остеобластических клеток, связанных со стимуляцией и мультипликацией этих клеток в результате активации каскадов факторов роста и активации процесса дифференцировки ангиостимулированных МСК в остеогенном направлении.

Выявленные негативные изменения периимплантационной области, такие как воспалительная реакция, отек периваскулярных зон, а также апоптоз остеогенных и клеток сосудистой стенки с высокой долей вероятности могли быть связаны с химическими свойствами силикат-содержащего матрикса БАК-1000, так как в других органах этот элемент вызывает широкий спектр местных и генерализованных повреждающих эффектов. Учитывая отсутствие исследований, специально посвященных действию апатитосиликатных частиц *in situ*, мы провели гистологическое исследование эффектов,

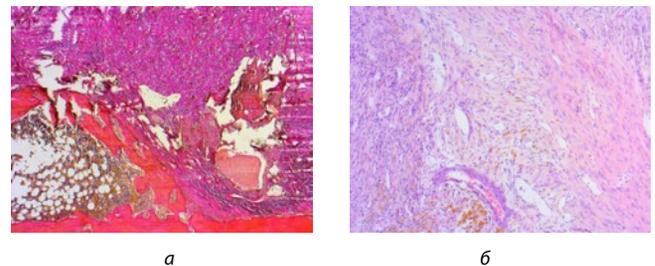


Рис. 1. Место имплантации на 120-е сутки во II (А) и III (Б) группах. Окраска гематоксилином и эозином, увелич. $\times 100$
Fig. 1. Place of implantation on the 120th day in II (A) and III (B) groups. Stained with hematoxylin and eosin, magn. $\times 100$

наблюдаемых в области инокулирования композита БАК-1000, и процессов, протекающих в результате его взаимодействия с окружающей тканью. Следует подчеркнуть, что описанные ниже характеристики присущи прежде всего наблюдениям в III группе.

В процессе анализа мы сочли необходимым подразделить исследуемые структуры на две основные зоны:

а) «тело» имплантата, которое включало в себя сам материал имплантата, подвергающегося преформированию, поскольку наблюдаемые нами ярко-желтые частицы в области «тела» имплантата и вне его имели микрокристаллическую форму и формировали многочисленные сrostки.

б) периимплантационная зона, включающая в себя тканевые структуры, окружающие имплантационный материал.

Обнаруженные микрокристаллические частицы желтого цвета активно фагоцитировались макрофагами, которые проявляли значительную двигательную активность, вероятно, связанную с действием синтезируемых МСК соответствующих гуморальных факторов. Этот факт объясняет дислокацию этих продуктов разрушения силикатного матрикса из области имплантации в окружающую ткань. На основании наблюдаемых нами изменений и данных в специализированной литературе с высокой вероятностью можно говорить о наличии корреляционной зависимости между стимуляцией МСК в ангиогенном и остеогенном направлениях и активацией макрофагов [12, 13].

Еще одним выявленным феноменом является индуцированная МСК сосудистая гиперплазия с преимущественным образованием сосудов капиллярного типа, сопровождающаяся интенсивным остеогенезом

de novo со значительным расширением слоя остеобластов в зоне регенерации костной ткани, связанным с активной пролиферацией клеток остеобластической линии вне тела имплантационного материала.

Как показало проведенное гистоморфологическое исследование, под воздействием аутогенных ангиоиндуцированных МСК алюмосиликатный матрикс оказался подвержен разрушению в результате активации системы макрофагов в ответ на активное формирование ярко-желтых кристаллов, предположительно кварца (цитрина), в результате разрушения силикатсодержащей матрицы БАК-1000. Эти же частицы, вероятно, послужили причиной развития воспалительных реакций и отека периваскулярной области, хронизирующихся и ведущих к фиброзированию соединительнотканной основы во II группе. К 120-м суткам эксперимента к этим процессам присоединились явления панваскулита, также связанные с взаимодействием сосудистых стенок с кристаллами кварца.

Заключение

В результате проведенного исследования через четыре месяца после имплантации в модели диастаза бедренной кости был выявлен «феномен трансдукции» с генерацией многочисленных микрокристаллов, плотно упакованных и частично окруженных тонкой соединительнотканной капсулой и инвазированными макрофагами, в сочетании с выраженным панваскулитом окружающей ткани. При этом признаки выраженной остеорегенерации отсутствовали, а предложенную методику устранения костного дефекта с помощью «БАК-1000» в комбинации с VEGF-стимулированными МСК можно считать неэффективной.

Литература/References

1. Свенская Н., Белецкий Б. Силико-кальций-фосфатные биоконпозиционные материалы для костнопластической хирургии. Актуальные вопросы инновационной экономики. 2014;6:53–64. [N. Svenskaya, B. Beletsky. Silico-calcium-phosphate biocomposite materials for osteoplastic surgery. Topical issues of innovative economy. 2014;6:53–64. (In Russ.)]. <https://elibrary.ru/item.asp?id=23496562>
2. Albrektsson T., Johansson C. Osteoinduction, osteoconduction and osseointegration // Eur Spine J. Suppl. — 2001;10 (2):S96-S101. <https://doi.org/10.1007/s005860100282>
3. Buza J. A., Einhorn T. Bone healing in 2016 // Clin Cases Miner Bone Metab. — 2016;13 (2):101–105. <https://doi.org/10.11138/ccmbm/2016.13.2.101>
4. Evans J. F., Ricigliano A. E., Morante A. V., Martinez E., Vargas D., Thyagaraj J. Mesenchymal Stem Cell Regulation of Macrophage Phagocytosis; Quantitation and Imaging // J Vis Exp. — 2021;173. <https://doi.org/10.3791/62729>
5. Freeman F. E., Pitacco P., Van Dommelen L. H. A., et al. Development of a 3D Bioprinted Scaffold with Spatio-temporally Defined Patterns of BMP-2 and VEGF for the Regeneration of Large Bone Defects // Bio Protoc. — 2021;11 (21):e4219. <https://doi.org/10.21769/BioProtoc.4219>
6. Gaur M., Dobke M., Lunyak V. V. Mesenchymal Stem Cells from Adipose Tissue in Clinical Applications for Dermatological Indications and Skin Aging // Int J Mol Sci. — 2017;18 (1):208. <https://doi.org/10.3390/ijms18010208>
7. Guo X., Li M., Qi W., et al. Serial cellular events in bone formation initiated by calcium phosphate ceramics // Acta Biomater. — 2021;134:730–743. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2021.07.037>
8. Hwang N. S., Zhang C., Hwang Y. S., Varghese S. Mesenchymal stem cell differentiation and roles in regenerative medicine // Wiley Interdiscip Rev Syst Biol Med. — 2009;1 (1):97–106. <https://doi.org/10.1002/wsbm.26>
9. Jackson M. V., Morrison T. J., Doherty D. F., et al. Mitochondrial Transfer via Tunneling Nanotubes is an Important Mechanism by Which Mesenchymal Stem Cells Enhance Macrophage Phagocytosis in the In Vitro and In Vivo Models of ARDS // Stem Cells. — 2016;34 (8):2210–2223. <https://doi.org/10.1002/stem.2372>
10. Liu H., Li D., Zhang Y., Li M. Inflammation, mesenchymal stem cells and bone regeneration // Histochem Cell Biol. — 2018;149 (4):393–404. <https://doi.org/10.1007/s00418-018-1643-3>
11. Wang X., Wang Y., Gou W., Lu Q., Peng J., Lu S. Role of mesenchymal stem cells in bone regeneration and fracture repair: a review // Int Orthop. — 2013;37 (12):2491–2498. <https://doi.org/10.1007/s00264-013-2059-2>
12. Yun Y. R., Jang J. H., Jeon E. et al. Administration of growth factors for bone regeneration // Regen Med. — 2012;7 (3):369–385. <https://doi.org/10.2217/rme.12.1>
13. Zhang D., Lv F. L., Wang G. H. Effects of HIF-1 α on diabetic retinopathy angiogenesis and VEGF expression // Eur Rev Med Pharmacol Sci. — 2018;22 (16):5071–5076. https://doi.org/10.26355/eurrev_201808_15699