

А.В. Люндуп, Ю.А. Медведев, К.В. Баласанова, Н.М. Золотопуп, С.Б. Бродская, П.А. Елистратов

Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, Российская Федерация

## Методы тканевой инженерии костной ткани в челюстно-лицевой хирургии

*В последнее время накоплено достаточно экспериментальных и клинических данных по исследованию и применению методов регенеративной медицины в челюстно-лицевой хирургии. Для лучшего восстановления костной ткани часто используют мезенхимальные стволовые клетки. Учитывая общую настороженность исследователей в некоторых аспектах клеточной терапии, методы изучения и технологии использования мезенхимальных стволовых клеток постоянно совершенствуются. В обзоре описаны методы тканевой инженерии, применяемые для регенерации костной ткани при дефектах в челюстно-лицевой области.*

**Ключевые слова:** регенеративная медицина, тканевая инженерия, челюстно-лицевая хирургия, мезенхимальные стромальные клетки, мезенхимальные стволовые клетки, клеточная терапия, матриксы, костный мозг, костные дефекты.

### Введение

10

Утрата альвеолярной кости обычно ассоциируется с заболеваниями или потерей зубов, но может происходить в результате травмы, а также быть связана с дефектами развития, резекционными вмешательствами, направленными на устранение патологических образований. Недостаток кости является основной проблемой, с которой сталкивается клиницист при необходимости восстановления зубного ряда или структур лица. Альвеолярная кость играет исключительно важную роль при изготовлении и стабилизации как традиционных протезов, так и конструкций с опорой на имплантаты. В течение первого года после удаления зуба происходит необратимая атрофия альвеолярной кости. Кроме того, потеря альвеолярной кости часто случается в результате пародонтита, что ведет к формированию значительных костных дефектов.

В настоящее время «золотым стандартом» восстановления объема альвеолярной кости остается аутотрансплантация костной ткани [1–3]. Однако и этот метод имеет определенные ограничения, касающиеся объема костной ткани и значительных дефектов в месте ее забора [3–7]. С другой стороны, уже разработана новая клиническая платформа регенеративной медицины, позволяющая лечить целый спектр трудноизлечимых заболеваний, используя методы клеточной терапии стволовыми клетка-

ми, а также методы тканевой инженерии [8–10]. Концепция тканевой инженерии заключается в регенерации тканей с использованием тканеинженерных конструкций, которые состоят из трех компонентов: стволовых клеток, матриксов-подложек и сигнальных молекул. Ключевая роль в данной концепции отводится именно стволовым клеткам.

### Источники стволовых клеток для регенерации кости

В настоящее время исследования в области регенерации костной ткани ведутся с использованием эмбриональных стволовых, индуцированных плюрипотентных и соматических стволовых клеток. Эмбриональные стволовые и индуцированные плюрипотентные клетки из-за проблем, связанных с онкогенностью, возможной нестабильностью генома, безопасностью и этикой, в клинической практике не применяются [11–13]. Соматические стволовые клетки, и особенно мезенхимальные стволовые (прогениторные) клетки (МСК), выделенные из таких тканей, как костный мозг (КМ), жировая ткань, кожа, пупочный канатик и плацента, уже применяют для лечения больных в рамках клинических испытаний.

Также существуют работы, посвященные применению определенных клеток, выделенных из пульпы зуба, перио-

A.V. Lyundup, J.A. Medvedev, K.V. Balasanova, N.M. Zolotopup, S.B. Brodskaja, P.A. Elistratov

Sechenov First Moscow State Medical University, Russian Federation

## Methods of Tissue Engineering of Bone Tissue in Maxillofacial Surgery

*For the last decade many experimental and clinical data about the study and application of regenerative medicine methods in the maxillofacial surgery were accumulated. For better bone regeneration mesenchymal stem cells are often used. Considering the general wariness of researchers in some aspects of cell therapy, methods of study of mesenchymal stem cells and the technologies of its clinical application are constantly being upgraded. This review will consider methods of tissue engineering used to regenerate bone tissue defects in maxillofacial surgery.*

**Key words:** regenerative medicine, tissue engineering, maxillofacial surgery, mesenchymal stromal cells, mesenchymal stem cells, cell therapy, matrices, bone marrow, bone defects.

донтальной связки, зубного фолликула и ткани десны [14–17]. Их принадлежность к МСК была подтверждена способностью к самообновлению и дифференцировке в разные типы клеток соединительной ткани.

В челюстно-лицевой хирургии для восстановления костной ткани чаще других типов клеток используют МСК КМ [18–21]. Регенеративный потенциал МСК КМ был продемонстрирован как в экспериментальных исследованиях [22–24], так и в клинических испытаниях [25, 26]. Важной особенностью МСК является иммуносупрессивное воздействие на Т и В клетки и натуральные клетки-киллеры, которые могут быть полезными при лечении патологий мезенхимальной ткани, а также для подавления возможной воспалительной реакции на компоненты тканеинженерного продукта.

Y. Yamada и соавт. [27] использовали аутологичные МСК КМ в своих клинических и экспериментальных исследованиях, где показали высокую эффективность восстановления костных дефектов. В эксперименте на собаках [28] (выбор обоснован большой челюстью животного) эта группа исследователей создавала дефекты костной ткани на поверхности альвеолярного отростка нижней челюсти глубиной 10 мм, куда были имплантированы костно-заместительные материалы в следующих сериях экспериментов: с использованием плазмы, обогащенной тромбоцитами (PRP); МСК КМ совместно с PRP; МСК молочного зуба совместно с PRP; МСК дентального сосочка совместно с PRP; контрольная серия без использования костно-заместительного материала.

Степень костной регенерации и резорбцию имплантата контролировали гистологически на 2, 4 и 8-й нед. Контрольный дефект и дефект с PRP имплантатом имели низкую скорость остеогенеза, в то время как дефекты, заполненные МСК КМ совместно с PRP, МСК молочного зуба/PRP, МСК дентального сосочка/PRP, показали хорошую степень костной регенерации. При этом авторы предположили, что скорость образования кости пропорциональна скорости рассасывания имплантатов. На 2, 4 и 8-й нед одинаково забирали и подготавливали образцы для гистологического исследования во всех сериях эксперимента. В области, заполненной PRP, и в контрольной области было найдено несколько остеонов; в целом же дефекты были заполнены фиброзной тканью на всех сроках эксперимента. В то же время в сериях, где дефекты заполнялись МСК из разных источников совместно с PRP, обнаруживали высокую степень костной регенерации с активными остеоцитами уже после 4-й нед эксперимента, а на 8-й нед наблюдения — зрелую губчатую костную ткань с многочисленными полостями КМ. При этом степень костной регенерации в дефекте, заполненном МСК молочного зуба/PRP, была незначительно ниже, нежели в дефектах, восстановленных с помощью МСК КМ совместно с PRP и МСК дентального сосочка/PRP.

Способность костной регенерации всех имплантатов определяли путем измерения площади кортикальной и медуллярной костной ткани на фотографиях.

В дефектах группы контроля и группы с применением PRP не отмечалось существенного возрастания регенерации кортикальной или медуллярной кости. Однако в дефектах, где применяли МСК КМ совместно с PRP, МСК молочного зуба совместно с PRP, выявлено значительное повышение уровня костной регенерации по сравнению с контролем, а также по сравнению с МСК дентального сосочка совместно с PRP согласно данным гистологического исследования.

Существенных различий между новообразованной костной тканью в дефектах, где применяли МСК КМ совместно с PRP, МСК молочного зуба совместно с PRP и МСК дентального сосочка совместно с PRP не было выявлено.

### Биоматериалы и матрицы

Биоматериалы в тканевой инженерии с использованием стволовых клеток выполняют не только опорную роль, но и создают искусственную нишу, которая способствует таким характерным для стволовых клеток процессам, как самообновление, пролиферация, дифференцировка, идущим на фоне васкуляризации, интеграции, адгезии и функционирования новой ткани [11, 29]. Внедрение в матрикс специфических стимуляторов-остеоиндукторов — факторов роста и дифференцировки — позволяет интенсифицировать перечисленные выше процессы, что приводит к повышению репаративной эффективности конструктора. Основными требованиями к биоматериалам, используемым для тканевой инженерии, являются инертность (отсутствие выраженной воспалительной реакции); достаточная прочность и стабильность; прогнозируемая биodeградируемость. Инертные и полностью стабильные матрицы обеспечивают жесткость, но в то же время у них отсутствует способность ремоделированию.

11

### Экспериментальные модели в челюстно-лицевой хирургии для тканевой инженерии

Моделирование на животных *in vivo* обычно используют для проверки функциональности новой кости, полученной методами клеточной терапии и тканевой инженерии. Исследования на животных — промежуточный этап разработки подобных технологий, они располагаются между исследованиями *in vitro* и клиническим применением [30]. Для исследований в челюстно-лицевой области применяют животные модели, которые позволяют получать эктопическую кость при подкожной или внутримышечной имплантации; модели формирования кости *in situ* у мелких (крысы, кролики) и крупных животных (собаки, свиньи, козы, обезьяны). Модели позволяют изучать восстановление дефектов челюсти, увеличение вертикального альвеолярного гребня, лифтинг синусов и восстановление других дефектов челюстно-лицевой области.

#### Модели дефектов нижней челюсти

Для изучения эффективности клеточных и тканеинженерных технологий чаще всего используют крыс, собак, коз и обезьян. У животных при этом создают критические дефекты, т.е. дефекты без спонтанного восстановления в течение всей жизни животного. Для крыс, например, это круглое отверстие диаметром 5 мм; для собак — дефект размером 20×10 мм или сегментарный дефект длиной 30 мм [5, 31]; для кроликов можно использовать отверстие диаметром 10 мм и глубиной 10 мм.

#### Модели вертикальной аугментации альвеолярного гребня

Развитие эффективных способов дентальной имплантации позволяет клиницистам устранять выраженные дефекты анатомических структур и обеспечивать скелетную опору для протезов зубов с опорой на имплантаты. Подобный подход позволяет проводить реабилитацию пациентов с адентией: несъемные протезы с опорой на

имплантаты обладают лучшими функциональными возможностями, более долговечны, эстетичны, нежели съемные конструкции, опирающиеся на мягкие ткани.

Для изучения оптимальных условий проведения вертикальной аугментации альвеолярного гребня было разработано множество моделей на крупных животных. В модели, предложенной N. Kawakatsu [32, 33], с помощью стального хирургического бора после удаления зубов создавался дефект с двух сторон челюсти собаки длиной 30 мм в мезио-дистальном направлении, шириной 8 мм в щечно-лингвальном направлении. Похожая модель была предложена Z. Zhang [5] для проведения вертикальной аугментации гребня у собак [34]. Вертикальная аугментация гребня выполнялась после удаления премоляров и моляров, в область дефекта помещался конструкт, состоящий из матрикса на основе трикальцийфосфата (размером 20×6×6 мм) и аутогенных остеобластов. Восстановление костной ткани в данной модели сопоставимо с уровнем регенерации костной ткани при использовании аутогенных трансплантатов подвздошной кости.

#### **Модели вертикальной аугментации дна гайморовой пазухи**

Восстановление резорбированного альвеолярного гребня верхней челюсти после экстракции зубов также представляет собой распространенную проблему, с которой сталкиваются клиницисты при восстановлении дефектов зубного ряда при помощи дентальных имплантатов в дистальных отделах верхней челюсти.

Было разработано несколько моделей для изучения возможности поднятия дна верхнечелюстного синуса и вертикальной аугментации альвеолярного гребня верхней челюсти. Наиболее «эффективными» животными являются кролики и собаки, т.к. у них имеется схожее с человеческим анатомическое строение верхней челюсти и гайморовых пазух [34]. В предложенных моделях изучали эффективность и степень костной регенерации с использованием костнозаместительных материалов по сравнению с применением аутогенной костной ткани.

#### **Модель устранения повреждений челюсти после удаления опухоли**

Еще одной сложной проблемой с реконструктивной и ортопедической точки зрения является реабилитация пациентов с помощью имплантатов при нарушении анатомии челюстных костей после удаления новообразований или при наличии врожденных дефектов челюстных костей (расщелины твердого и мягкого неба).

В исследовании Z. Zhang [5] альвеолярный дефект размером 10×5×15 мм создавали у собак между 2 резцом и клыком. Удалось показать высокую эффективность тканеинженерной конструкции с β-TCP (трикальцийфосфат) и МСК КМ, при использовании которой происходило формирование костной ткани в объеме, необходимом для восстановления альвеолярного отростка. Функционально новая кость была эквивалентна аутологичной кости, что подтверждалось приживлением зуба в данном участке.

#### **Стратегии неоваскуляризации и остеоинтеграции**

Формирование новой кости при использовании тканеинженерных конструктов ограничено выживаемостью клеток, которые находятся в центре конструкта и не получают в достаточной мере питательные вещества и кислород. Для решения этой проблемы исследовате-

ли разрабатывают методы васкуляризации конструктов. В челюстно-лицевой области существует 2 стратегии для улучшения васкуляризации:

- стимуляция ангиогенеза и васкулогенеза посредством факторов роста и приживлением в эктопические участки;
- хирургическая неоваскуляризация.

Для преваскуляризации *in vivo* временно вживляют матрикс в хорошо васкуляризированные ткани с развитой сосудистой сетью, например, под кожу, внутрибрюшинно, в межмышечные ткани, для того, чтобы в матриксе проросла собственная сосудистая сеть [35]. Преваскуляризация *in vitro* предполагает совместное культивирование в конструкте эндотелиальных клеток или МСК с остеогенными клетками. При таком способе эндотелиальные клетки или МСК используют для реализации их потенций к формированию новых сосудов в матриксе, а также для дальнейшего формирования анастомозов с сосудами реципиента. Возможность применения преваскуляризованного костного конструкта, включающего эндотелиальные клетки микрососудов кожи и первичные остеобласты, была продемонстрирована R. Carano и соавт. [36].

В данной стратегии для ускорения васкуляризации имплантированного конструкта также применяют цитокины — ангиогенные и транскрипционные факторы, например, сосудистый фактор роста VEGF, тромбоцитарный фактор роста PDGF, фактор роста фибробластов FGF. Ростовые факторы могут быть непосредственно включены в состав конструкта, а транскрипционные факторы можно доставить в клетки генно-терапевтическими методами [37, 38]. Так, недавно была продемонстрирована возможность применения транскрипционного фактора HIF-1α, который способствовал ангиогенезу и остеогенезу, в модели критического дефекта кости у крыс [39].

Установка дентального имплантата в область новообразованной кости является показателем функционального восстановления дефектов челюсти. Остеоинтеграция, которая определяется гистологически «прямым контактом кость–имплантат», предполагает обеспечение жесткой фиксации между дентальным имплантатом и костью (в т.ч. с новообразованной костью). Выделяют 2 компонента успешного увеличения остеоинтеграции:

- состояние остео- и ангиогенеза в костном трансплантате влияет на остеоинтеграцию дентального имплантата;
- химический состав и форма соприкасающейся поверхности имплантата влияют на такие важные процессы остеоинтеграции, как адсорбция белков и прикрепление клеток.

#### **Стратегии костной регенерации в челюстно-лицевой области**

Цель исследований по изучению регенерации костной ткани заключается в решении клинической проблемы — восстановлении утерянной функции кости. В исследованиях в данной области применяют различные подходы и методы, которые можно объединить в следующие стратегии.

#### **Тканевая инженерия на основе мононуклеарных клеток костного мозга**

В данном случае аспират КМ выступает в роли источника стволовых и прогениторных клеток для регенерации костной ткани, при этом отсутствует этап долговременно-

го и дорогостоящего культивирования клеток, но и число получаемых прогениторных клеток крайне мало. Тканеинженерный конструктор, состоящий из резорбируемого коллагена и аспирата костного мозга, может успешно восстанавливать дефекты альвеолярного гребня, что было продемонстрировано на клинических примерах [40].

#### Регенерация кости с применением цитокинов

В клинической практике изучалось множество цитокинов, регулирующих рост костной ткани, в т.ч. группа факторов роста кости — костных морфогенетических протеинов (BMPs). В нескольких клинических случаях была продемонстрирована эффективность коллагеновой губки с абсорбированным BMP-2 в восстановлении костного дефекта критического размера [41]. Важно отметить, что при данном подходе эффективность регенерации кости можно значительно повысить, если в конструкцию ввести аспират КМ. В 2004 г. в клинической практике был применен конструктор, состоящий из блоков гидроксиапатита, заключенных в титановую сетку, покрытой BMP-7. На гидроксиапатит были посажены клетки аспирата КМ. Перед имплантацией в место дефекта конструктор предварительно был приживлен в широчайшей мышце спины [42].

Наряду с BMPs в тканевой инженерии костной ткани применяют перспективные цитокины семейства факторов роста фибробластов FGF [43]. FGF успешно использовали в комбинации с трикальцийфосфатом и коллагеном 1-го типа для восстановления костных дефектов в эксперименте [44], что указывает на потенциал семейства FGF в тканевой инженерии костной ткани.

#### Регенерация костной ткани с применением белковых и небелковых структур внеклеточного матрикса

Данный подход рассматривают в качестве альтернативы применению дорогостоящих факторов роста. Эффективность компонентов внеклеточного матрикса была показана в эксперименте на кроликах с критическим дефектом черепа, которым имплантировали матрикс из полимолочной кислоты с фибронектином [45].

#### Тканевая инженерия на основе мезенхимальных стволовых клеток

Этот подход предусматривает использование культуры клеток, обогащенных МСК, или культуры МСК, культи-

рованных *in vitro*. Экспансия клеток *in vitro* необходима для получения эффективной дозы МСК. Клиническим примером эффективности применения клеток могут служить операции спондилодеза на 41 пациенте с ауто-трансплантацией кости и поверхностным нанесением суспензии аутологичных МСК с  $\beta$ -трикальцийфосфатом [46]. Также очень перспективным является метод «инъекцируемой кости» (МСК КМ в геле из плазмы, обогащенной тромбоцитами), который применили на 14 пациентах для одномоментной аугментации альвеолярного гребня и установки дентального имплантата [28].

#### Заключение

Методы тканевой инженерии предоставляют широкие возможности для решения трудных клинических задач в челюстно-лицевой хирургии. Эти возможности связаны с высокой регенерационной активностью трансплантируемых в составе тканеинженерного конструктора стволовых/прогениторных клеток. МСК (за счет паракринного эффекта, стимулирующих воздействий на ангиогенез и возможности дифференцироваться в остеобласты) способны в соответствующем микроокружении регулировать восстановление костной ткани.

Представляется перспективным использование в челюстно-лицевой хирургии для реконструкции обширных костных дефектов тканеинженерных конструкторов, состоящих из матриксов с заданной биодеградацией и внешних каркасов из титановых сетей с покрытием цитокинами-активаторами ангиогенеза и стимуляторами костной регенерации. Кроме того, для усиления эффективности любых видов конструкций в клинической практике возможно совместное применение аутологичной плазмы, обогащенной тромбоцитами, в качестве источника множества регенераторных сигнальных молекул.

Для более полного суждения о регенераторных возможностях тканевой инженерии при восстановлении костных дефектов необходимо последовательно проводить доклинические и клинические испытания под контролем информативных клинических, лабораторных и морфологических методов исследования, позволяющих в динамике оценивать степень выраженности и направленность регенераторных процессов.

#### REFERENCES

1. He Y., Zhang Z.Y., Zhu H.G., Qiu W., Jiang X., Guo W. Experimental study on reconstruction of segmental mandible defects using tissue engineered bone combined bone marrow stromal cells with three dimensional tricalcium phosphate. *J. Craniofac. Surg.* 2007; 18 (4): 800–805.
2. Davo R., Malevez C., Rojas J. Immediate function in the atrophic maxilla using zygoma implants: a preliminary study. *J. Prosth. Dent.* 2007; 97 (Suppl. 6): 44–51.
3. Sjoström M., Sennerby L., Nilson H., Lundgren S. Reconstruction of the atrophic edentulous maxilla with free iliac crest grafts and implants: a 3-year report of a prospective clinical study. *Clin. Implant. Dent. Relat. Res.* 2007; 9 (1): 46–59.
4. Taylor G.I. The current status of free vascularized bone grafts. *Clin. Plast. Surg.* 1983; 10 (1): 185–209.
5. Zhao J., Zhang Z., Wang S., Sun X., Zhang X., Chen J., Kaplan D.L., Jiang X. Apatite-coated silk fibroin scaffolds to healing mandibular border defects in canines. *Bone.* 2009; 45 (3): 517–527.
6. Joshi A. An investigation of post-operative morbidity following chin graft surgery. *Brit. Dent. J.* 2004; 196 (4): 215–218, discussion 211.
7. Clavero J., Lundgren S. Ramus or chin grafts for maxillary sinus inlay and local onlay augmentation: comparison of donor site morbidity and complications. *Clin. Implant. Dent. Relat. Res.* 2003; 5 (3): 154–160.
8. Crane G.M., Ishaug S.L., Mikos A.G. Bone tissue engineering. *Nat. Med.* 1995; 1 (12): 1322–1324.
9. Hollinger J.O., Winn S., Bonadio J. Options for tissue engineering to address challenges of the aging skeleton. *Tissue Eng.* 2000; 6 (4): 341–350.
10. Torroni A. Engineered bone grafts and bone flaps for maxillofacial defects: state of the art. *J. Oral Maxillofac. Surg.* 2009; 67 (5): 1121–1127.
11. Sanchez-Lara P.A., Zhao H., Bajpai R., Abdelhamid A.I., Warburton D. Impact of stem cells in craniofacial regenerative medicine. *Front. Physiol.* 2012; 3: 188.
12. Li J.Y., Christophersen N.S., Hall V., Soulet D., Brundin P. Critical issues of clinical human embryonic stem cell therapy for brain repair. *Trends Neurosci.* 2008; 31: 146–153.
13. Nelson T.J., Martinez-Fernandez A., Terzic A. Induced pluripotent stem cells: developmental biology to regenerative medicine. *Nat. Rev. Cardiol.* 2010; 7: 700–710.

14. Levi B., Glotzbach J.P., Wong V.W., Nelson E.R., Hyun J., Wan D.C., Gurtner G.C., Longaker M.T. Stem cells: update and impact on craniofacial surgery. *J. Craniofac. Surg.* 2012; 23 (1): 319–322.
15. Mitrano T.I., Grob M.S., Carrion F., Nova-Lamperti E., Luz P.A., Fierro F.S., Quintero A., Chaparro A., Sanz A. Culture and characterization of mesenchymal stem cells from human gingival tissue. *J. Periodontol.* 2010; 81 (6): 917–925.
16. Tang L., Li N., Xie H., Jin Y. Characterization of mesenchymal stem cells from human normal and hyperplastic gingiva. *J. Cell Physiol.* 2011; 226 (3): 832–842.
17. Zhang Q.Z., Su W.R., Shi S.H., Wilder-Smith P., Xiang A.P., Wong A., Nguyen A.L., Kwon C.W., Le A.D. Human gingiva-derived mesenchymal stem cells elicit polarization of m2 macrophages and enhance cutaneous wound healing. *Stem Cells.* 2010; 28 (10): 1856–1868.
18. Filho Cerruti H., Kerkis I., Kerkis A., Tatsui N.H., da Costa Neves A., Bueno D.F., da Silva M.C. Allogeneous bone grafts improved by bone marrow stem cells and platelet growth factors: clinical case reports. *Artif. Organs.* 2007; 31 (4): 268–273.
19. Gao J., Dennis J.E., Solchaga L.A., Awadallah A.S., Goldberg V.M., Caplan A.I. Tissue-engineered fabrication of an osteochondral composite graft using rat bone marrow-derived mesenchymal stem cells. *Tissue Eng.* 2001; 7 (4): 363–371.
20. Krebsbach P.H., Kuznetsov S.A., Satomura K., Emmons R.V., Rowe D.W., Robey P.G. Bone formation *in vivo*: comparison of osteogenesis by transplanted mouse and human marrow stromal fibroblasts. *Transplantation.* 1997; 63 (8): 1059–1069.
21. Lee C.H., Shah B., Moiola E.K., Mao J.J. CTGF directs fibroblast differentiation from human mesenchymal stem/stromal cells and defines connective tissue healing in a rodent injury model. *J. Clin. Invest.* 2010; 120 (9): 3340–3349.
22. Lyundup A.V., Onishchenko N.A., Shagidulin M.Yu., Krashennikov M.E. Stem / progenitor cells of the liver and bone marrow as regulators of reparative regeneration of damaged liver. *The bulletin of transplantology and artificial organs- Vestnik transplantologii i iskusstvennykh organov.* 2010; 2 (XII): 100–107.
23. Lyundup A.V., Deev R.V., Trubitsina I.E., Knyazev O.V., Krashennikov M.E., Shagidulin M.Yu., Onishchenko N.A. Role of bone marrow mesenchymal stromal cells in regeneration of toxic damaged liver in rats. *The bulletin of transplantology and artificial organs- Vestnik transplantologii i iskusstvennykh organov.* 2010; XII: 291–292.
24. Holtorf H.L., Jansen J.A., Mikos A.G. Ectopic bone formation in rat marrow stromal cell/titanium fiber mesh scaffold constructs: effect of initial cell phenotype. *Biomaterials.* 2005; 26 (31): 6208–6216.
25. Macchiarini P., Jungebluth P., Go T., Asnaghi M.A., Rees L.E., Cogan T.A., Dodson A., Martorell J., Bellini S., Parnigotto P.P., Dickinson S.C., Hollander A.P., Mantero S., Conconi M.T., Birchall M.A. Clinical transplantation of a tissue-engineered airway. *Lancet.* 2008; 372 (9655): 2023–2030.
26. Marcacci M., Kon E., Moukhachev V., Lavroukov A., Kutepov S., Quarto R., Mastrogiacomo M., Cancedda R. Stem cells associated with macroporous bioceramics for long bone repair: 6- to 7-year outcome of a pilot clinical study. *Tissue Eng.* 2007; 13 (5): 947–955.
27. Yamada Y., Nakamura S., Ito K., Kohgo T., Hibi H., Nagasaka T., Ueda M. Injectable tissue-engineered bone using autogenous bone marrow-derived stromal cells for maxillary sinus augmentation: clinical application report from a 2-6-year follow-up. *Tissue Eng. Part A.* 2008 Oct; 14 (10): 1699–707.
28. Yamada Y., Ito K., Nakamura S., Ueda M., Nagasaka T. Promising cell-based therapy for bone regeneration using stem cells from deciduous teeth, dental pulp, and bone marrow. *Cell Transplant.* 2011; 20 (7): 1003–13.
29. Rossi C.A., Pozzobon M., De Coppi P. Advances in musculoskeletal tissue engineering: moving towards therapy. *Organogenesis.* 2010; 6: 167–172.
30. Tare R.S., Kanczler J., Aarvold A., Jones A.M., Dunlop D.G., Oreffo R.O. Skeletal stem cells and bone regeneration: translational strategies from bench to clinic. *Proc. Inst. Mech. Engl. H.* 2010; 224 (12): 1455–1470.
31. Zhao J., Hu J., Wang S.Y., Sun X., Xia L., Zhang X., Zhang Z., Jiang X. Combination of  $\beta$ -TCP and BMP-2 gene-modified bMSCs to heal critical size mandibular defects in rats. *Oral Dis.* 2010; 16 (1): 46–54.
32. Sato I., Akizuki T., Oda S., Tsuchioka H., Hayashi C., Takasaki A.A., Mizutani K., Kawakatsu N., Kinoshita A., Ishikawa I., Izumi Y. Histological evaluation of alveolar ridge augmentation using injectable calcium phosphate bone cement in dogs. *J. Oral Rehabil.* 2009; 36 (10): 762–769.
33. Kawakatsu N., Oda S., Kinoshita A., Kikuchi S., Tsuchioka H., Akizuki T., Hayashi C., Kokubo S., Ishikawa I., Izumi Y. Effect of rhBMP-2 with PLGA/gelatin sponge type (PGS) carrier on alveolar ridge augmentation in dogs. *J. Oral Rehabil.* 2008; 35 (9): 647–655.
34. Zhang Z. Bone regeneration by stem cell and tissue engineering in oral and maxillofacial region. *Front. Med.* 2011; 5 (4): 401–413.
35. Johnson E.O., Troupis T., Soucacos P.N. Tissue-engineered vascularized bone grafts: basic science and clinical relevance to trauma and reconstructive microsurgery. *Microsurgery.* 2011; 31 (3): 176–182.
36. Carano R.D., Filvaroff E.H. Angiogenesis and bone repair. *Drug Discov. Today.* 2003; 8 (21): 980–989.
37. Frohlich M., Grayson W.L., Wan L.Q., Marolt D., Drobnic M., Vunjak-Novakovic G. Tissue engineered bone grafts: biological requirements, tissue culture and clinical relevance. *Curr. Stem Cell Res. Ther.* 2008; 3 (4): 254–264.
38. Kneser U., Schaefer D.J., Polykandriotis E., Horch R.E. Tissue engineering of bone: the reconstructive surgeon's point of view. *J. Cell Mol. Med.* 2006; 10 (1): 7–19.
39. Zou D., Zhang Z., Ye D., Tang A., Deng L., Han W., Zhao J., Wang S., Zhang W., Zhu C., Zhou J., He J., Wang Y., Xu F., Huang Y., Jiang X. Repair of critical-sized rat calvarial defects using genetically engineered bone marrow-derived mesenchymal stem cells overexpressing hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$ . *Stem Cells.* 2011; 29 (9): 1380–1390.
40. Gimbel M., Ashley R.K., Sisodia M., Gabbay J.S., Wasson K.L., Heller J., Wilson L., Kawamoto H.K., Bradley J.P. Repair of alveolar cleft defects: reduced morbidity with bone marrow stem cells in a resorbable matrix. *J. Craniofac. Surg.* 2007; 18 (4): 895–901.
41. Herford A.S., Cicciu M. Recombinant human bone morphogenetic protein type 2 jaw reconstruction in patients affected by giant cell tumor. *J. Craniofac. Surg.* 2010; 21 (6): 1970–1975.
42. Warnke P.H., Springer I.N., Wiltfang J., Acil Y., Eufinger H., Wehmoller M., Russo P.A., Bolte H., Sherry E., Behrens E., Terheyden H. Growth and transplantation of a custom vascularised bone graft in a man. *Lancet.* 2004; 364 (9436): 766–770.
43. Du X., Xie Y., Xian C.J., Chen L. Role of FGFRs/FGFRs in skeletal development and bone regeneration. *J. Cell Physiol.* 2012; 227 (12): 3731–3743.
44. Komaki H., Tanaka T., Chazono M., Kikuchi T. Repair of segmental bone defects in rabbit tibiae using a complex of beta-tricalcium phosphate, type I collagen, and fibroblast growth factor-2. *Biomaterials.* 2006; 27: 5118–5126.
45. Di Bella C., Farlie P., Pennington A.J. Bone regeneration in a rabbit critical-sized skull defect using autologous adipose-derived cells. *Tissue Eng. Part A.* 2008; 14 (4): 483–490.
46. Gan Y., Dai K., Zhang P., Tang T., Zhu Z., Lu J. The clinical use of enriched bone marrow stem cells combined with porous  $\beta$ -tricalcium phosphate in posterior spinal fusion. *Biomaterials.* 2008; 29 (29): 3973–3982.

**CONTACT INFORMATION**

**Lyundup Aleksei Valer'evich**, PhD, Head of Department of Biomedical Research, Research Institute of Molecular Medicine, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University

**Address:** 119992, Moscow, Trubetskaya St., 8/2; **tel.:** (495) 609-14-00; **e-mail:** lyundup@gmail.com

**Medvedev Yurii Alekseevich**, PhD, Professor, Head of Oral & Maxillofacial Surgery Department, Head of Maxillo-Facial Surgery Hospital, University Hospital No.2, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University

**Address:** 119992, Moscow, Pogodinskaya St., 1; **tel.:** (499) 248-27-50; **e-mail:** uamedvedev@gmail.com

**Balasanova Kristina Vladimirovna**, Clinical Resident, Department of Oral & Maxillofacial Surgery, Laboratory Assistant of Research and Education Clinical Center of New Technologies, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University

**Address:** 119992, Moscow, Pogodinskaya St., 1; **tel.:** (499) 248-27-50; **e-mail:** midian\_89@mail.ru

**Zolotopup Nata'ya Mikhailovna**, Intern, Department of Oral & Maxillofacial Surgery, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University

**Address:** 119992, Moscow, Pogodinskaya St., 1; **tel.:** (499) 248-27-50; **e-mail:** golden\_n@inbox.ru

**Brodskaya Sof'ya Borisovna**, Research Worker, Research and Education Clinical Center of New Technologies in Maxillo-Facial Surgery Hospital, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University

**Address:** 119992, Moscow, Pogodinskaya St., 1; **tel.:** (499) 248-27-50; **e-mail:** sonyushka1@ya.ru

**Elistratov Pavel Alekseevich**, PhD, Research Worker of Department of Biomedical Research, Research Institute of Molecular Medicine, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University

**Address:** 119992, Moscow, Trubetskaya St., 8/2; **tel.:** (495) 609-14-00; **e-mail:** Flora85@yandex.ru