



ДЕМИНЕРАЛИЗОВАННЫЙ КОСТНЫЙ ТРАНСПЛАНТАТ КАК СТИМУЛЯТОР ОСТЕОГЕНЕЗА: СОВРЕМЕННЫЕ КОНЦЕПЦИИ

И.А. Кирилова

Новосибирский НИИ травматологии и ортопедии

В обзоре обобщены данные отечественной и зарубежной литературы о деминерализованном костном трансплантате как стимуляторе остеогенеза. Приведены данные по остеостимулирующим факторам и механизмам их действия. Рассматриваются преимущества деминерализованного костного матрикса в сравнении с керамическими и полимерными материалами. Подробно анализируются механизмы репаративной регенерации.

Ключевые слова: эксперимент, остеогенез, деминерализованный костный трансплантат.

DEMINERALIZED BONE GRAFT AS AN OSTEOGENESIS STIMULATOR: CURRENT LITERATURE REVIEW

I.A. Kirilova

The review summarizes Russian and foreign literature on a demineralized bone graft as a stimulator of osteogenesis. Osteostimulative factors and mechanisms of their action are discussed. Advantages of demineralized bone matrix are considered in comparison with ceramic and polymer materials. Reparative regeneration mechanisms are analyzed in detail.

Key words: experiment, osteogenesis, demineralized bone graft.

Одна из центральных проблем современной травматологии и ортопедии – проблема получения костно-пластического материала, эквивалентного по своим качествам аутокости.

Эффективные с биологической и клинической точек зрения пересадки свежей, полученной во время операции аутологичной спонгиозы чреватые осложнениями, такими, например, как инфекция, тромбоэмболическая болезнь, повреждение кровеносных сосудов и нервов и др. Кроме того, количество такой ткани ограничено [3, 8]. По этим причинам во всем мире ведутся поиски путей замены аутокости.

Специалисты сформулировали основные требования к свойствам трансплантатов-заменителей. Трансплантаты должны заполнять костный дефект на определенный период времени, не вызывать реакции иммунологического отторжения, обладать

способностью к биодеградации с постепенным замещением костью [4, 6]. Помимо этих классических требований, высказывается пожелание о придании трансплантатам биологической активности.

Существующие материалы, в той или иной степени отвечающие указанным требованиям, делятся на три группы [5]:

- биоорганические (демине- рализованный костный матрикс, коллаген, фибриновый клей, фибрин- коллагеновая паста);
- керамические (β-трикальцийфос- фатная керамика, коралл, париж- ский пластырь и др.);
- синтетические полимеры (поли- молочная кислота, полиактид-поли- гликолиид сополимер, полиан- гидрид и полиортоэстер).

Среди материалов наибольший интерес вызывает деминерализован- ный костный матрикс (ДКМ), содер-

жащий протеины, стимулирующие остеогенез [11, 40]. Получают кост- ный матрикс путем деминерализации костной ткани, в которой к концу процесса сохраняется менее 5 % каль- цифицированной целлюлярной суб- станции [1, 3].

Хотя деминерализованная кость не является такой эффективной в об- разовании новой кости, как эндоген- ная губчатая кость, она имеет преимущ- ества перед консервированной ал- логенной костью. Преимуществами матрикса являются стерильность и сниженная антигенность [6, 8, 10].

Еще в 1889 г. Senn [36] впервые ис- пользовал деминерализацию как этап подготовки кости к трансплантации. Urist [41] в эксперименте показал, что недеминерализованная кость ока- зывает лишь незначительный остео- индуктивный эффект, в то время как при имплантации деминерализован- ной кости доля формирования новой

костной ткани возрастает до 90 %.

Reddi, Huggens [31] на основании собственных наблюдений высказали предположение, что минеральная фаза кости дезактивирует или маскирует ее остеоиндуктивные свойства. Важность декальцинации подтверждают другие исследователи [3, 7–9, 26, 43]. Для деминерализации использовались разные кислоты (соляная, азотная, ортофосфорная и др.) в различных концентрациях и с разной экспозицией, при различных соотношениях объема обрабатываемой массы (грамм трансплантата) и кислоты (мл) [3, 7, 12, 13, 43].

Исследования показали, что больше всего для деминерализации подходит соляная кислота (0,6 N) при соотношении массы кости и объема кислоты 1 : 10. Относительно требуемой степени деминерализации (тотальная, субтотальная) мнения ученых расходятся. Исследованиями Kakiuchi [27] было показано, что в параскелетном ложе поверхностно деминерализованная кортикальная кость превосходит полностью деминерализованную костную ткань, а при их интраскелетной имплантации не наблюдается никаких различий. Причину этого Kakiuchi видел в связанной со степенью деминерализации резорбции, которая в полностью декальцинированных имплантатах протекает столь быстро, что параллельно идущий остеогенез не успевает за ней в количественном отношении.

О том, что остеоиндуктивная активность частично деминерализованных костных трансплантатов (ДКТ) выше, чем у подвергнутых более жесткой деминерализующей обработке, сообщали Gupta [25], Савельев В.И. [7]. Таким образом, перспективными и теоретически обоснованными являются щадящие методы приготовления ДКМ с целью максимально возможного сохранения всех активных компонентов матрикса в их нативном состоянии и оптимальных количественных соотношениях [3, 9, 23, 31].

Костный матрикс в том виде, в каком он используется в клинике,

не идентичен органическому матриксу костной ткани в теоретическом понимании этого термина. Основное различие состоит в том, что костный матрикс не является полностью деминерализованным и лишенным клеточных элементов. Такая неполнота деминерализации имеет положительное значение, поскольку часть костного морфогенетического белка (остеоиндуктора) очень прочно связана с минеральной фазой кости [9].

На основании многочисленных экспериментальных исследований можно говорить о том, что ДКТ обладает остеоиндуктивными свойствами, демонстрируемыми после гетеротопической и ортотопической имплантации [7, 9, 23, 30, 32, 41, 43].

Для получения достоверного теста, позволяющего определить способность ДКТ производить новые костные образования путем индукции, необходимо имплантировать его эктопически, то есть в какую-то мягкую ткань, не являющуюся частью скелета, где обычно кость не образуется [8, 11, 38, 43, 44]. Это так называемый чистый эксперимент по Solheim [38], где исключен такой феномен, как «ползучее замещение со стороны костного ложа». При ортотопической имплантации за счет реакции костного ложа процессы оссификации протекают интенсивнее [8]. Кроме того, данный эксперимент позволяет установить факторы, имеющие значение при формировании кости, и факторы, оказывающие влияние на остеогенез, так называемые остеостимулирующие факторы. Эти знания можно будет использовать при лечении переломов костей, когда запаса остеогенных клеток недостаточно или когда их реакция на повреждение кости не соответствует в должной мере успешной репарации.

Reddi et al. [32], Solheim E. [38] предполагают наличие каскадного механизма в формировании кости. Данный механизм осуществляется посредством высвобождения ряда факторов из деминерализованного костного матрикса.

Продолжаются эксперименты

по дальнейшему биохимическому определению остеоиндуктивных факторов, экстрагированию костного морфогенетического протеина (BMP – bone morphogenetic protein), определению его биохимической структуры. Наиболее частыми источниками BMP являются дентин, кость и ткань остеосаркомы. Для получения 10 мг BMP требуется не менее 10 кг исходного материала. В настоящее время из костной ткани выделено и идентифицировано 15 типов BMP, действующих на разных этапах фенотипирования индуцибельных остеопродромальных клеток в остеобласты. Каждый тип костного морфогенетического белка состоит из 4–5 субъединиц. Морфогенетическими свойствами обладает только одна его часть, являющаяся гидрофобным гликопротеидом [38, 40, 41, 43]. Биологическую активность в максимальной степени проявляет кислоторастворимая форма BMP. Значимое проявление остеоиндуктивности имеют белковые субъединицы BMP-2, BMP-3, BMP-4, BMP-6, BMP-7 [34, 38].

Доказательством остеоиндуктивности BMP служит появление после эктопической имплантации ДКТ энхондральной оссификации, чего не наблюдается при имплантации других материалов [8, 40].

Согласно современным представлениям, комплекс BMP влияет на дифференцировку полипотентных стволовых клеток в хондроциты или остеобласты, ускоряет созревание и кальцификацию костного матрикса [17]. Некоторые морфогенетические протеины – BMP-2, BMP-3, BMP-4, BMP-6, BMP-7 – определяют путь дифференцировки полипотентных мезинхимальных клеточных линий в остеобластическую линию [14, 15].

Наряду с BMP костная ткань содержит трансформирующий β -фактор роста (TGF- β), эпидермальный фактор роста (PDGF), инсулиноподобные факторы роста I и II (IGF I, IGF II), основной и кислотный факторы роста фибробластов (bFGF, aFGF) [38, 40]. Эти факторы роста комплексуются с цитоплазматическими рецепторами

клеток-мишеней, активируют внутриклеточные ферменты, их многоступенчатую (каскадную) систему, конечными продуктами которой могут быть несколько биологически активных соединений, регулирующих многие стороны внутри- и внеклеточного метаболизма [2].

Локальное применение различных факторов роста влияет на пролиферацию и дифференцировку предшественников остеогенных клеток в их культурах с образованием костной ткани [38, 39].

Таким образом, факторы роста и костные морфогенетические белки могут стимулировать синтез костных коллагеновых белков остеобластами и пополнять количество последних за счет воздействия на дифференцировку их предшественников. В настоящее время ВМР и факторы роста применяются в некоторых странах в клинической практике. Однако трудность их выделения и очистки, трудоемкость синтеза методами генной инженерии делают их использование ограниченным.

Другой проблемой применения факторов роста для стимуляции остеогенеза является их доставка в зону дефекта. Введение факторов роста непосредственно в область обширного костного дефекта инъекционным путем не обеспечивает их длительного присутствия в зоне повреждения кости и пролонгированной стимуляции остеогенеза [38]. Поэтому факторы роста должны быть доставлены в область дефекта с помощью различных имплантатов, способных адсорбировать их и затем выделять в течение времени, достаточного для завершения регенерации.

Для успешного развития процессов остеогенеза существенное значение имеют свойства помещаемого в него имплантата. Идеальный имплантат должен обладать следующими характеристиками: высокой остеогенной потенцией и отсутствием антигенности, простотой получения и постоянной доступностью, удобной для клинического применения геометрической формой и способностью к биодеградации [4, 6, 38, 45].

Большинство вышеперечисленных материалов не отвечает в полной мере критериям идеальной системы доставки факторов роста в область регенерации. Так, β -трикальцийфосфатная керамика [42], полиактид-полигликолид сополимер [34], полимолочная кислота [28] обнаруживаются в костном дефекте дольше шести месяцев. Фибрин-коллагеновая паста и фибриновый клей индуцируют развитие хронического воспалительного процесса и угнетают гетеротопический остеогенез [29, 39]. Перспективным, по данным проведенных исследований, является синтетический материал полиортоэстер. Имплантаты из него вызывают минимальную воспалительную реакцию, не угнетают остеогенез, резорбируются в течение четырех недель после помещения в костный дефект [33, 39]. Однако отдаленные результаты применения этого материала пока неизвестны.

Все разновидности материалов, предлагаемых для помещения в костные дефекты в качестве носителей аутоклеток или факторов роста, могут быть использованы и самостоятельно для остеокондуктивного остеогенеза [21]. Они не оказывают прямого стимулирующего влияния на репаративный остеогенез, но способствуют направленному росту новой кости. Являясь основой для прорастания в область дефекта первичных сосудов, остеокондукторы постепенно утилизируются и замещаются новообразованной костью [38]. Denner K. et al. [22] экспериментально определили размер пор трансплантата (не менее 100 мкм), обладающего остеокондуктивными свойствами. Трансплантат, используемый в качестве остеокондуктора, должен сочетать в себе такие свойства, как пористость и способность к резорбции до построения на его месте первичного костного регенерата и заполнения им костного дефекта.

Остеокондуктивный имплантат из пористой керамики и гидроксипатита не отвечает этим требованиям [20, 45]. При помещении такого имплантата в костный дефект формирующийся костный регенерат образует

вокруг него футляр. Кроме того, данный материал, обладая высокой пористостью и хорошей прочностью, не подвергается полной резорбции, вследствие чего не происходит глубокого прорастания костной ткани в имплантат. В результате восстановление часто заканчивается переломами в области операции [42, 45].

Материалом, сочетающим в себе остеокондуктивные и остеоиндуктивные свойства, является ДКМ [3, 5, 8, 30, 38, 39, 43]. Он имеет значительную пористость и хорошо резорбируется при помещении в костный дефект, так как его волокнистая основа является естественным для организма субстратом. Длительность резорбции имплантируемого ДКМ можно регулировать степенью деминерализации исходной нативной кости [8, 9]. В процессе резорбции ДКМ, состоящий из коллагеновых волокон, служит строительным материалом для образующейся новой кости [18, 31]. Добавление аутологичного костного мозга в место имплантации ДКМ при костных дефектах приближает ДКМ к аутоотрансплантату с сохраненным кровообращением [45].

ДКТ обладает следующими преимуществами по сравнению с керамическими и полимерными имплантатами:

- содержит факторы роста (стимулирует остеогенез, ангиогенез, ускоряет созревание и кальцификацию костного матрикса);
- способен к биодеградации (рассасыванию) с замещением костной тканью;
- инертен по отношению к окружающим тканям;
- волокнистая основа ДКТ является естественным субстратом для организма;
- деминерализованный трансплантат может являться матрицей для прорастания первичных сосудов;
- матрикс имеет значительную пористость;
- способен адсорбировать и затем выделять в течение определенного времени лекарственные средства, стимуляторы остеогенеза (например, гормоны).

С теоретических позиций остеогенная активность пластического материала не является единственным условием успеха. Хорошо известно, какую роль здесь играют и такие факторы, как состояние воспринимающего ложа и организма реципиента в целом. Наличие выраженных рубцовых изменений в зоне вмешательства, слабая ее васкуляризация, хроническая («дремлющая») инфекция и другие местные причины могут свести на нет удачно выполненную операцию не только при алло-, но и при аутопластике. Вот почему восстановлению репаративного потенциала в мягких тканях, окружающих трансплантат, оптимизации условий, способствующих его нормальной ассимиляции и перестройке, например, с помощью лекарственных средств или физических агентов, уделяют пристальное внимание [8].

Репаративный остеогенез – многокомпонентный процесс, основными составляющими которого являются дифференцирование клеток, их пролиферация, резорбция погибшей кости и новообразуемой кости при

ее ремоделировании, формирование органического внеклеточного матрикса, его минерализация. Все эти процессы реализуются одновременно, но на разных этапах репаративного остеогенеза, один из них может быть преобладающим. Что касается воздействия трансплантата или имплантата на процессы регенерации кости, то в соответствии с современными знаниями существуют четыре основных механизма [3, 5, 8].

Для наглядности основные механизмы представлены схемой (рис.).

Остеобластический остеогенез – это стимуляция за счет трансплантации детерминированных остеогенных продромальных клеток (ДОПК), обладающих собственной потенцией костеобразования. Данный принцип издавна известен в связи с трансплантацией аутологичной губчатой кости [11].

Остеокондуктивный остеогенез (остеокондукция) – это способ пассивной стимуляции ДОПК с помощью полусинтетических и синтетических заменителей кости, а также с помощью аллогенных костных трансплантатов [24]. Здесь процесс прямого ос-

теобластического остеогенеза, как это бывает при пересадке жизнеспособных трансплантатов, невозможен, так как используется авитальный материал, который не может оказать подобного действия. Авитальные биологические и синтетические имплантаты выполняют роль остова для прорастания кровеносных сосудов. Затем происходит вращение клеток из костного ложа. Этот механизм сочетает процессы резорбции и отложения новой кости, начиная от границ дефекта. Клеточные механизмы резорбции имплантата и формирования новой кости протекают аналогично консолидации перелома в условиях остеосинтеза [20, 24, 37]. Axhausen [16] ввел в этой связи понятие «получное замещение», обозначающее первичное рассасывание имплантата с вторичным, последующим, вращением новой кости из ложа. По-видимому, в материнском ложе, богатом ДОПК, происходит активизация клеток под действием имплантата. Имплантат соединяется с костным ложем при помощи грануляционной ткани, резорбируется и постепенно



Рис.
Механизмы регенерации костной ткани при пересадке деминерализованного костного трансплантата (ДКТ)

замещается новой костью [19].

Остеоиндуктивный остеогенез (остеоиндукция) осуществляется через фенотипическое преобразование неспецифических соединительных клеток, так называемых индуцибельных остеопродромальных клеток [11] под воздействием специфических субстанций, например костного морфогенетического белка (КМБ). По данным Reddi et al. [32], клеточные и молекулярные процессы протекают по определенному каскадному типу.

Стимулированный остеогенез (остеостимуляция) – это воздействие теми или иными факторами, которые способствуют усилению уже про-

текающих процессов остеогенеза, то есть стимулируют их (например, фактор роста) [38].

В ДКМ в качестве механизмов управляемого остеогенеза сочетаются остеоиндукция и остеокондукция. Более важным компонентом при этом является остеоиндукция, осуществляемая через высвобождаемые из экстрацеллюлярного матрикса КМБ. Остеоиндукция представляет интерес не только с экспериментальной, но и с клинической точки зрения, так как в отличие от процессов, протекающих при остеокондукции, позволяет активно воздействовать на слабое в остеогенном отношении ложе,

побуждая кость к заживлению. В то время как полусинтетические имплантаты, помещенные в гетеротическое ложе, не индуцируют костеобразования, ДКМ неизменно вызывает этот процесс [35].

Таким образом, деминерализованная аллогенная кость представляет собой интересную альтернативу всем видам небиологических средств замещения кости ввиду наличия остеоиндуктивности. А применение ДКТ в качестве стимулятора остеогенеза представляется теоретически обоснованным и перспективным.

Литература

1. Американская ассоциация тканевых банков: Стандарты консервирования тканей. 1990.
2. Балаболкин М.И. Эндокринология. М., 1998.
3. Верзен Р. Подготовка деминерализованного костного матрикса к клиническому использованию // Деминерализованный костный трансплантат и его применение. СПб., 1993. С. 4–11.
4. Коваленко П.П. Основы трансплантологии. Ростов н/Д., 1975.
5. Омеляненко Н.П., Миронов С.П., Денисов-Никольский Ю.И. и др. Современные возможности оптимизации репаративной регенерации костной ткани // Вестн. травматол. и ортопед. 2002. № 4. С. 85–88.
6. Савельев В.И., Родюкова Е.Н. Трансплантация костной ткани. Новосибирск, 1992.
7. Савельев В.И., Хлебович Н.В. Первый опыт оценки индуктивных свойств костных трансплантатов, деминерализованных ортофосфорной кислотой // Деминерализованный костный трансплантат и его применение. СПб., 1993. С. 125–129.
8. Савельев В.И. Получение и сохранение деминерализованной костной ткани для клинического применения // Деминерализованные костные трансплантаты и их использование в восстановительной хирургии. СПб., 1996. С. 3–12.
9. Слущкий Л.И., Севастьянова Н.А. Органический матрикс кости: новые биохимические данные // Ортопед, травматол. 1986. № 8. С. 82–87.
10. Сумароков Д.Д., Гуткин Д.В., Швырков М.Б. и др. Влияние соматотропного гормона и ретаболила на остеоиндуктивную активность костной ткани // Ортопед, травматол. 1989. № 2. С. 66–69.
11. Фриденштейн А.Я., Лалыкина К.С. Индукция костной ткани и остеогенные клетки-предшественники. М., 1973.
12. Хлебович Н.В. Применение бромистоводородной кислоты для деминерализации костных трансплантатов // Деминерализованный костный трансплантат и его применение. СПб., 1993. С. 53–61.
13. Шамсудинов А.Х. Сравнительная биохимическая оценка свойств деминерализованного в различных растворах костного матрикса и его применение для костной пластики: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 1984.
14. Ahrens M., Ankenbauer T., Schroder D. et al. Expression of human bone morphogenetic proteins-2 or -4 in murine mesenchymal progenitor C3H10T1/2 cells induces differentiation into distinct mesenchymal cell lineages // DNA Cell Biol. 1993. Vol. 12. P. 871–880.
15. Amedee J., Barelle R., Rouais F. et al. Osteogenin (bone morphogenic protein 3) inhibits proliferation and stimulates differentiation of osteoprogenitors in human bone marrow // Differentiation. 1994. Vol. 58. P. 157–164.
16. Axhausen G. Die histologischen und klinischen Gesetze der freien Osteoplastik auf Grund von Tierversuchen. 1909. Цит. по [22].
17. Bostrom M.P., Lane J.M., Berberian W.S. et al. Immunolocalization and expression of bone morphogenetic proteins 2 and 4 in fracture healing // J. Orthop. Res. 1995. Vol. 13. P. 357–367.
18. Buckwalter J.A., Glimcher M.J., Cooper R.R. et al. Bone biology. II: Formation, form, modeling, remodeling, and regulation of cell function // J. Bone Joint Surg. Am. 1995. Vol. 77. P. 1276–1289.
19. Burchardt H. The biology of bone graft repair // Clin. Orthop. 1983. Vol. 174. P. 28–42.
20. Cohn M.J., Izpisua-Belmonte J.C., Abud H. et al. Fibroblast growth factors induce additional limb development from the flank of chick embryos // Cell. 1995. Vol. 80. P. 739–746.
21. Cornell C.N., Lane J.M. Current understanding of osteoconduction in bone regeneration // J. Clin. Orthop. 1998. Vol. 355. P. 267–273.
22. Denner K., von Versen R. Habilitationsschrift Med. Fakultät der Humboldt-Universität. Berlin, 1991.
23. Gendler E. Perforated demineralised bone matrix: a new form of osteoinductive biomaterial // J. Biomed. Mater. Res. 1986. Vol. 20. P. 687–697.
24. Glowacki J., Mulliken J.B. Demineralized bone implants // Clin. Plast. Surg. 1985. Vol. 12. P. 233–241.
25. Gupta D., Tuli S.M. Osteoinductivity of partially decalcified alloimplants in healing of large osteoperiosteal defects // Acta Orthop. Scand. 1982. Vol. 53. P. 857–865.
26. Harakas N.K. Demineralized bone matrix induced osteogenesis // J. Clin. Orthop. 1984. Vol. 188. P. 239–251.
27. Kakiuchi M., Ono K. The relative clinical efficacy of surface-decalcified and wholly decalcified bone alloimplants // Int. Orthop. 1987. Vol. 11. P. 89–94.
28. Lovell T.P., Dawson E.G., Nilsson O.S. et al. Augmentation of spinal fusion with bone morphogenetic protein in dogs // J. Clin. Orthop. 1989. Vol. 243. P. 266–274.

29. **Pinholt E.M., Solheim E., Bang G. et al.** Bone induction by composites of bioresorbable carriers and demineralized bone in rats: a comparative study of fibrin-collagen paste, fibrin sealant, and polyorthoester with gentamicin // *J. Oral. Maxillofac. Surg.* 1992. Vol. 50. P. 1300–1304.
30. **Russell J.L., Block J.E.** Surgical harvesting of bone graft from the ilium: point of view // *Med. Hypotheses.* 2000. Vol. 55. P. 524–531.
31. **Reddi A.N., Huggens C.B.** Biochemical sequences in the transformation of normal fibroblasts in adolescent rats // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1972. Vol. 69. P. 1601.
32. **Reddi A.H., Anderson W.A.** Collagenous bone matrix-induced endochondral ossification and hemopoiesis // *J. Cell. Biol.* 1976. Vol. 69. P. 557–572.
33. **Sudmann B., Anfinson O.G., Bang G., et al.** Assessment in rats of a new bioerodible bone-wax-like polymer // *Acta Orthop. Scand.* 1993. Vol. 64. P. 336–339.
34. **Schmitsz J.P., Hollinger J.O.** A preliminary study of the osteogenic potential of a biodegradable alloplastic-osteoinductive alloimplant // *Clin. Orthop.* 1988. Vol. 2. P. 245–255.
35. **Schwarz N., Schlag G.** Osteogenesis durch demineralisierten allogenen Knochen in Experiment und Klinik // *Unfallchirurg.* 1987. Vol. 90. P. 355–362.
36. **Senn N.** On the healing of septic bone cavities by implantation of antiseptic decalcified bone. 1889. Цит. по [22].
37. **Simmons D.J.** Fracture healing perspectives // *Clin. Orthop.* 1985. Vol. 200. P. 100–113.
38. **Solheim E.** Osteoinduction by demineralised bone // *Int. Orthop.* 1998. Vol. 22. P. 335–342.
39. **Solheim E., Pinnolt E.M., Bang G. et al.** The effect of composite of polyorthoester and demineralized bone on the healing of large segmental defects of the radius in rats // *J. Bone Joint Surg. Am.* 1992. Vol. 74. P. 1456–1463.
40. **Urist M.R.** Bone formation by autoinduction // *Science.* 1965. Vol. 150. P. 839–899.
41. **Urist M.R., Iwata H.** Preservation and biodegradation of the morphogenetic property of bone matrix // *J. Theor. Biol.* 1973. Vol. 38. P. 155–167.
42. **Urist M.R., Nilsson O., Rasmussen et al.** Bone regeneration under the influence of bone morphogenetic protein (BMP) beta tricalcium phosphate (TCP) composite in skull trephine defects in dogs // *J. Clin. Orthop.* 1987. Vol. 214. P. 295–304.
43. **Van de Putte K.A., Urist M.R.** Osteogenesis in the interior of intramuscular implants of decalcified bone matrix // *Clin. Orthop.* 1965. Vol. 40. P. 48–56.
44. **Von Versen R., Starke R.** The peracetic acid/low pressure cold sterilization -A new method to sterilize corticocancellous bone and soft tissue // *Z. Exp. Chir. Transplant Kunstliche. Organe.* 1989. Vol. 22. P. 18–21.
45. **Wittbjer J., Rohlin M., Thorngren K.G.** Bone formation in demineralized bone transplants treated with biosynthetic human growth hormone. // *Scand J. Plast. Reconstr. Surg.* 1983. Vol. 17. P. 109–117.

Адрес для переписки:

Кирилова Ирина Анатольевна
630091, Новосибирск, ул. Фрунзе, 17,
НИИТО,
IKirilova@niito.ru