

Влияние имплантационных материалов, созданных на основе внеклеточного матрикса ксенокости лошади и быка, на формирование экстрацеллюлярных нейтрофильных ловушек (экспериментальное исследование)

О.В. Дюрягина¹, М.В. Чепелева¹, Е.И. Кузнецова¹, М.А. Ковинька¹, А.Н. Накоскин²

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии имени академика Г.А. Илизарова»
Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Курган, Россия

²Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
«Курганский государственный университет», г. Курган, Россия

The effect of implantation materials based on equine and bovine xenogenic bone extracellular matrix on the formation of extracellular neutrophilic traps (experimental study)

O.V. Diuriagina¹, M.V. Chepeleva¹, E.I. Kuznetsova¹, M.A. Kovinka¹, A.N. Nakoskin²

¹Iizarov National Medical Research Centre for Traumatology and Orthopedics, Kurgan, Russian Federation

²Kurgan State University, Kurgan, Russian Federation

Цель. Изучить влияние костно-пластических материалов, созданных на основе внеклеточного ксеноматрикса костной ткани быка и лошади, на формирование экстрацеллюлярных нейтрофильных ловушек (NETs) в периферической крови кроликов в раннем послеоперационном периоде после имплантации. **Материалы и методы.** Исследование было выполнено на 18 кроликах-самцах породы Советская шиншилла в возрасте от 8 месяцев до 1,2 года, весом от 3,0 до 4,5 кг. Животным моделировали несквозной дефект кости цилиндрической формы размером 2 × 6 мм в дистальном метафизе правого и левого бедра. Кролики были разделены на три группы по 6 животных в каждой. В группе I костный дефект оставили незаполненным, в группе II дефект заполняли ксеноматриком костной ткани быка, животным III группы имплантировали ксеноматрикс костной ткани лошади. Имплантационный материал имел вид крошки желтоватого цвета с величиной частиц 0,5–1 мм. Для подсчета экстрацеллюлярных нейтрофильных ловушек (NETs) использовали мазки крови, окрашенные по Романовскому–Гимзе. Подсчитывали процент нейтрофилов, прошедших стадии трансформации ядра и выбросивших во внеклеточное пространство свободный хроматин в виде сетеподобных структур. **Результаты.** На 3–7 сутки эксперимента повышалось количество NETs на ранних стадиях нетоза во всех группах. Достоверных отличий между группами не определялось. В группе I на 7 и 14 сутки количество ранних форм NETs (стадии 1a и 1b) возвращалось к значениям дооперационного периода. В группах II и III нормализации NETs (стадия 1a) не произошло, а содержание NETs (стадия 1b) вернулось к исходному уровню только к 30 суткам эксперимента. На 3, 7, 14 сутки количество зрелых NETs повышалось во всех группах. Наиболее высокие значения показателя отмечались в группе II, где проводилась имплантация матрикса ксенокости быка. **Заключение.** Имплантационные материалы, созданные на основе внеклеточного матрикса ксенокости лошади и быка, стимулируют избыточное образование ранних NETs на 14–30 сутки экспериментального периода в ответ на ксенотрансплантацию. Ксеноматериалы костной ткани быка, в сравнении с ксеноматериалами костной ткани лошади, вызывают более выраженную воспалительную реакцию в ближайшие сроки после замещения дефекта, что проявляется наиболее высокой продукцией зрелых NETs на 3–14 сутки эксперимента. **Ключевые слова:** нейтрофильные экстрацеллюлярные ловушки (NETs), костный дефект, ксеноматрикс костной ткани быка, ксеноматрикс костной ткани лошади

Purpose To study the effect of osteoplastic materials based on the extracellular xenomatrix of bovine and equine bone tissue on the formation of neutrophil extracellular traps (NETs) in the peripheral blood of rabbits in the early post-operative period after implantation. **Materials and methods** The study was carried out on 18 male rabbits of the Soviet Chinchilla breed, aged from 8 months to 1.2 years, weighing from 3.0 to 4.5 kg. A perforated bone defect of a cylindrical shape measuring 2 × 6 mm in the distal metaphysis of the right and left femurs was modeled in the animals. The rabbits were divided into three groups, six animals each. In group I, the bone defect was left unfilled; in group II, the defect was filled with a bovine bone tissue xenomatrix, and an equine bone tissue xenomatrix was implanted in group III animals. The implantation material had the appearance of a yellowish crumb with a particle size of 0.5–1 mm. Blood smears stained according to Romanovsky-Giemsa were used for counting extracellular neutrophil traps (NETs). The percentage of neutrophils that passed the stages of nuclear transformation and emitted free chromatin into the extracellular space in the form of network-like structures was calculated. **Results** On days 3–7 of the experiment, the number of NETs increased in the early stages of NETosis in all groups. There were no significant differences between the groups. In group I, on days 7 and 14, the number of early forms of NETs (stages 1a and 1b) returned to the values of the preoperative period. In groups II and III, normalization of NETs (stage 1a) did not occur, and the content of NETs (stage 1b) returned to the initial level only by day 30 of the experiment. On days 3, 7, 14, the number of mature NETs increased in all groups. The highest values were noted in group II, where the bovine xenogenic matrix was implanted. **Conclusion** Implantation materials based on the extracellular matrix of equine and bovine xenogenic bone stimulate excessive formation of early NETs on days 14–30 of the experimental period in response to xenotransplantation. Xenomaterials of bovine bone tissue, in comparison with xenomaterials of equine bone tissue, induce a more pronounced inflammatory reaction in the nearest time after defect filling, which is manifested by higher production of mature NETs on days 3–14 of the experiment.

Keywords: neutrophil extracellular traps (NETs), bone defect, xenomatrix of bovine bone tissue, xenomatrix of equine bone tissue

ВВЕДЕНИЕ

Дефекты костей, возникающие в результате травм, болезней, хирургических вмешательств или врожденных пороков развития, являются серьезной проблемой современной ортопедии и травматологии [1].

В настоящее время наблюдается чрезвычайно высокий спрос на трансплантаты из костной ткани. При

этом использование аутологичной кости ограничено в связи со сложностью получения больших объемов материала и дополнительной травматизации при заборе костной ткани [2]. Альтернативой аутопластике является применение ксеноматериалов из костной ткани, которые, в свою очередь, содержат в своей структуре

Влияние имплантационных материалов, созданных на основе внеклеточного матрикса ксенокости лошади и быка, на формирование экстрацеллюлярных нейтрофильных ловушек (экспериментальное исследование) / О.В. Дюрягина, М.В. Чепелева, Е.И. Кузнецова, М.А. Ковинька, А.Н. Накоскин // Гений ортопедии. 2020. Т. 26, № 4. С. 571-575. DOI 10.18019/1028-4427-2020-26-4-571-575

Diuriagina O.V., Chepeleva M.V., Kuznetsova E.I., Kovinka M.A., Nakoskin A.N. The effect of implantation materials based on equine and bovine xenogenic bone extracellular matrix on the formation of extracellular neutrophilic traps (experimental study). *Genij Ortopedii*, 2020, vol. 26, no 4, pp. 571-575. DOI 10.18019/1028-4427-2020-26-4-571-575

чужеродные антигены, которые могут стать причиной биологической несовместимости, приводя к развитию иммунной клеточно-опосредованной реакции отторжения, острому гуморальному ответу, первоначально опосредованному формированием антител IgM, преимущественно к эпитопу gal, с последующим увеличением уровня IgG, гиперпродукции цитокинов [3, 4]. Хорошо известны сложные взаимодействия между воспалением, коагуляцией и иммунным ответом [5]. При этом роль воспаления при применении ксеноматрикса костной ткани до конца не изучена. Следовательно,

исследование иммунологических показателей может быть использовано для оценки течения послеоперационного периода после применения имплантационных ксеноматериалов костной ткани и «приживаемости» имплантата.

Цель исследования – изучить влияние костно-пластических материалов, созданных на основе внеклеточного ксеноматрикса костной ткани быка и лошади, на формирование экстрацеллюлярных нейтрофильных ловушек (NETs) в периферической крови кроликов в раннем послеоперационном периоде после имплантации.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование выполнено на 18 кроликах-самцах породы Советская шиншилла в возрасте от 8 месяцев до 1,2 года, весом от 3,0 до 4,5 кг. Животным моделировали несквозной дефект кости цилиндрической формы размером 2 × 6 мм в дистальном метафизе правого и левого бедра. Кролики были разделены на три группы по 6 животных в каждой. В группе I (контрольной) костный дефект оставляли незаполненным, в группе II дефект заполняли ксеноматриksom костной ткани быка, животным III группы имплантировали ксеноматрикс костной ткани лошади. Имплантационный материал имел вид крошки желтоватого цвета с величиной частиц 0,5–1 мм. Ксеноимплантационные материалы изготавливали из губчатой кости быка и лошади по единой технологии [6].

Содержание животных и выполнение манипуляций осуществляли при соблюдении принципов гуманного обращения с лабораторными животными в соответствии с требованиями нормативных документов и Европейской Конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или иных научных целей, и Директивой 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза по охране животных, используемых в научных целях [7, 8, 9, 10]. Проведение исследования одобрено локальным этическим комитетом (протокол № 2/57 от 17.05.2018 г.).

Забор крови у животных всех групп проводили из краевой вены уха в следующие временные сроки: до имплантации, на 7, 14 и 30 сутки эксперимента.

Подсчет нейтрофильных внеклеточных ловушек (NETs) осуществлялся в мазках крови, окрашенных по

Романовскому–Гимзе. Подсчитывали процент нейтрофилов, прошедших стадии трансформации ядра и выбросивших во внеклеточное пространство свободный хроматин в виде сетеподобных структур. Учет NETs осуществлялся при помощи светового микроскопа Axio Lab.A 1 (Karl Zeiss MicroImaging GmbH; объектив 100 (МИ), окуляр 12,5x) с использованием иммерсии.

Статистическая обработка проводилась с помощью программного обеспечения AtteStat, являющегося надстройкой «Microsoft Excel». Результаты исследования представлены в виде медианы, первого, третьего квартилей. Для выявления групповых различий на каждом из этапов исследования выполнялся статистический анализ множественных сравнений с применением критерия Краскела–Уоллиса. Для принятия или отклонения нулевой гипотезы исходный уровень α был принят равным 0,05. Если выявлялось различие между исследуемыми группами (отвергалась нулевая гипотеза), то дополнительно, при помощи апостериорных попарных сравнений с применением критерия Манна–Уитни определялось, между какими именно группами (I–II, I–III, II–III) имеются достоверно значимые различия. Статистическая значимость апостериорных сравнений (для $p < 0,05$) с учетом количества групп (3) принималась как $0,05 / 3 = 0,0167$. Кроме того, с помощью критерия Краскела–Уоллиса были определены статистически значимые отличия между периодом до операции и каждым из последующих этапов исследования (3, 7, 14, 30 сутки) в каждой из групп. В этом случае статистическая значимость парных сравнений с учетом количества групп (5) принималась как $0,05 / 5 = 0,010$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В первые трое суток после операции общее состояние кроликов во всех сериях эксперимента было удовлетворительным. Животные мало передвигались, щадили конечности. Отмечалось незначительное повышение температуры тела на 0,2–0,3 °С, снижение аппетита и потеря веса от 100 до 350 граммов. С 5–6 суток и далее общее состояние животных улучшалось, аппетит восстанавливался, функции органов и систем нормализовались. Кролики свободно передвигались в клетке, вставали на тазовые конечности. Отмечалась постепенный прирост массы тела на 150–380 граммов.

Status localis. В первые сутки после операции отмечали развитие умеренного послеоперационного отека мягких тканей в зонах оперативных вмешательств. Болезненность мягких тканей была незначительная. Отмечали необильное выделение серозного экссудата из операционных ран. К седьмым суткам данные симптомы исчезали, линия шва покрывалась сухим струпом шириной 2 мм. Заживление операционных ран у всех животных отмечали на 10–11 день после операции.

На поздних сроках в зонах имплантации кожа была гладкая, подвижная, эластичная, послеоперационные рубцы бледные ритевидные. Болезненности, припухлостей, развития деформаций коленного сустава не отмечалось.

До операции статистически значимые отличия в отношении количества нейтрофильных ловушек между группами отсутствовали (табл. 1, 2, 3). Реакция на хирургическое вмешательство во всех группах заключалась в активации нетоза. В сравнении с дооперационными значениями повышалось содержание как ранних, так и зрелых форм нейтрофильных ловушек. На 3, 7 сутки эксперимента во всех группах повышалось количество NETs на ранних стадиях (1a и 1б). Достоверных отличий между группами не определялось. В группе I на 7 и 14 сутки количество ранних форм NETs (стадии 1a и 1б соответственно) возвращалось к дооперационным значениям. В группах II и III нормализации содержания незрелых NETs (стадия 1a) в послеоперационном периоде не произошло, а количество NETs в стадии «1б» вернулось к исходному уровню только к 30 суткам эксперимента.

Таблица 1

Количество ранних NETs (стадия 1а)

Этап исследования		I группа	II группа	III группа	Критерий Краскела-Уоллиса (различия между группами)
До операции	%	3,5 (3,0-4,0)	3,5 (3,0-4,75)	3,5 (3,0-4,7)	p > 0,05
	10 ⁹ /л	0,1 (0,075-0,15)	0,09 (0,07-0,16)	0,1 (0,072-0,16)	p > 0,05
3 сут.	%	5,5 (5,0-6,75)	6,0 (5,0-7,0)	6,0 (5,25-6,0)	p > 0,05
	10 ⁹ /л	0,18 (0,14-0,21)	0,23 (0,16-0,26)	0,22 (0,15-0,25)	p > 0,05
7 сут.	%	4,0 (3,25-7,25)	6,0 (5,25-6,75)	5,0 (5,0-7,25)	p > 0,05
	10 ⁹ /л	0,15 (0,11-0,2)	0,2 (0,15-0,22)	0,17 (0,17-0,2)	p > 0,05
14 сут.	%	2,5 (2,0-3,5)	7,5 (7,0-8,75)	7,0 (6,25-7,75)	H = 11,17, p = 0,0038 I-II: p = 0,0039 I-III: p = 0,0037
	10 ⁹ /л	0,068 (0,055-0,082)	0,21 (0,19-0,3)	0,24 (0,22-0,26)	H = 10,98, p = 0,008 I-II: p = 0,0044 I-III: p = 0,0038
30 сут.	%	3,5 (3,0-4,75)	7,5 (6,25-8,0)	8,0 (7,25-8,75)	H = 8,7, p = 0,013 I-II: p = 0,012 I-III: p = 0,008
	10 ⁹ /л	0,1 (0,088-0,139)	0,176 (0,146-0,188)	0,22 (0,17-0,31)	H = 9,2, p = 0,02 I-III: p = 0,011
Критерий Краскела-Уоллиса (различия между дооперационным периодом и последующими сроками исследования, %)		H = 10,32, p = 0,035 д/о-3 сут.: p = 0,008	H = 11,64, p = 0,02 д/о-3 сут.: p = 0,008 д/о-7 сут.: p = 0,010 д/о-14 сут.: p = 0,002 д/о-30 сут.: p = 0,007	H = 11,3, p = 0,025 д/о-3 сут.: p = 0,0086 д/о-7 сут.: p = 0,010 д/о-14 сут.: p = 0,010 д/о-30 сут.: p = 0,004	

Таблица 2

Количество ранних NETs (стадия 1б)

Этап исследования		I группа	II группа	III группа	Критерий Краскела-Уоллиса (различия между группами)
До операции	%	2,5 (2,0-3,0)	2,0 (0,5-2,75)	2,5 (2,0-3,0)	p > 0,05
	10 ⁹ /л	0,075 (0,06-0,085)	0,051 (0,02-0,07)	0,073 (0,05-0,084)	p > 0,05
3 сут.	%	5,0 (4,0-6,0)	8,5 (5,75-9,75)	4,5 (3,25-5,75)	p > 0,05
	10 ⁹ /л	0,166 (0,14-0,198)	0,33 (0,23-0,38)	0,17 (0,13-0,22)	p > 0,05
7 сут.	%	4,5 (4,0-7,25)	6,0 (5,25-7,5)	6,5 (6,0-8,5)	p > 0,05
	10 ⁹ /л	0,17 (0,15-0,21)	0,2 (0,15-0,22)	0,2 (0,16-0,22)	p > 0,05
14 сут.	%	3,5 (2,25-4,75)	6,0 (4,25-10,0)	4,5 (4,0-5,0)	p > 0,05
	10 ⁹ /л	0,1 (0,06-0,13)	0,16 (0,14-0,18)	0,14 (0,11-0,15)	p > 0,05
30 сут.	%	2,0 (1,25-2,0)	2,5 (2,0-3,0)	2,5 (2,0-3,0)	p > 0,05
	10 ⁹ /л	0,06 (0,045-0,06)	0,065 (0,05-0,085)	0,08 (0,07-0,085)	p > 0,05
Критерий Краскела-Уоллиса (различия между дооперационным периодом и последующими этапами, %)		H = 17,15, p = 0,0018 д/о-3 сут.: p = 0,004 д/о-7 сут.: p = 0,004	H = 17,39, p = 0,0016 д/о-3сут.: p = 0,003 д/о-7 сут.: p = 0,0019 д/о-14 сут.: p = 0,008	H = 17,86, p = 0,0013 д/о-3сут.: p = 0,008 д/о-7 сут.: p = 0,0019 д/о-14 сут.: p = 0,002	

Таблица 3

Количество зрелых NETs

Этап исследования		I группа	II группа	III группа	Критерий Краскела-Уоллиса (различия между группами)
До операции	%	1,0 (0,25-1,0)	0,5 (0,0-1,0)	0,5 (0,0-1,0)	p > 0,05
	10 ⁹ /л	0,03 (0,007-0,03)	0,012 (0,0-0,026)	0,015 (0,0-0,029)	p > 0,05
3 сут.	%	9,5 (9,0-10,0)	14,5 (13,25-22,5)	12,0 (8,5-14,5)	H = 6,1, p = 0,04 I-II: p = 0,010
	10 ⁹ /л	0,31 (0,3-0,33)	0,35 (0,3-0,5)	0,4 (0,3-0,054)	p > 0,05
7 сут.	%	7,5 (6,25-8,75)	11,0 (9,25-14,25)	7,5 (6,25-8,75)	H = 9,8, p = 0,075 I-II: p = 0,016
	10 ⁹ /л	0,29 (0,25-0,34)	0,37 (0,31-0,49)	0,3 (0,21-0,32)	p > 0,05
14 сут.	%	3,5 (3,0-5,5)	8,5 (8,0-9,0)	6,0 (5,25-7,5)	H = 8,05, p = 0,018 I-II: p = 0,010
	10 ⁹ /л	0,096 (0,08-0,15)	0,23 (0,21-0,3)	0,21 (0,18-0,26)	H = 7,9, p = 0,018 I-II: p = 0,016
30 сут.	%	1,0 (1,0-1,75)	2,0 (1,25-2,0)	1,5 (1,0-2,75)	p > 0,05
	10 ⁹ /л	0,029 (0,029-0,05)	0,046 (0,029-0,046)	0,05 (0,034-0,09)	p > 0,05
Критерий Краскела-Уоллиса (различия между дооперационным периодом и последующими сроками, %)		H = 25,8, p = 0,0001 д/о-3 сут.: p = 0,0019 д/о-7 сут.: p = 0,002 д/о-14 сут.: p = 0,002	H = 23,5, p = 0,0001 д/о-3 сут.: p = 0,0019 д/о-7 сут.: p = 0,002 д/о-14 сут.: p = 0,002 д/о-30 сут.: p = 0,008	H = 22,8, p = 0,0001 д/о-3 сут.: p = 0,0011 д/о-7 сут.: p = 0,0011 д/о-14 сут.: p = 0,002	

Несколько иной выглядела динамика в отношении зрелых нейтрофильных ловушек. На 3, 7, 14 сутки относительное количество NETs повышалось во всех группах. Статистически значимые отличия были выявлены между I и II группами. Наиболее высокие значения показателя отмечались в группе, где проводилась имплантация ма-

трикса ксенокости быка. К 30 суткам эксперимента во всех группах наблюдалось снижение количества зрелых NETs, статистически значимые отличия между группами отсутствовали. При этом в I и III группах к этому сроку показатель достигал до-операционных значений, а в группе II – превышал исходный уровень.

ОБСУЖДЕНИЕ

При использовании ксеноматериалов особенности течения воспалительного процесса оказывают существенное влияние на исход трансплантации. Анализ литературных источников показал, что для оценки иммунного ответа и активности воспаления при ксенотрансплантации использовались следующие иммунологические показатели и тесты: TNF α , TNF β , IFN- γ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TGF, IL-12P70, IL-12, иммуноглобулины, субпопуляции лимфоцитов, С-реактивный белок, тест трансформации лимфоцитов (LTT), анализ иммуностимуляции лимфоцитов памяти (MELISA), тест ингибирования миграции лейкоцитов (LIF), тест активации лимфоцитов (LAT) [11–15].

Ни в одной из работ мы не встретили данных по исследованию нетоза для оценки течения послеоперационного периода при использовании ксенотрансплантатов при замещении дефектов костной ткани. Возможно, это связано с тем, что третья защитная стратегия нейтрофилов (формирование нейтрофильных внеклеточных ловушек) была открыта сравнительно недавно (в 2004 году), и исследование процессов нетоза при различных патологических состояниях и хирургических вмешательствах в настоящее время находится на этапе накопления данных [16].

На начальной стадии нетоза (1a) внутри нейтрофила образовывались отдельные вакуоли (визуально – светлые пятна округлой формы) на фоне хроматина, имеющего плотную структуру и распределенного по всей внутренней поверхности клетки. Оболочка клетки оставалась плотной, объём клетки увеличивался в 1,5–2 раза (рис. 1). На следующей стадии (1б) хроматин занимал всю внутреннюю поверхность клетки, приобретал сетчатую структуру. Сетка становилась нитевидной, утонченной, вакуоли уже не просматривались. Клетка теряла округлую форму, оболочка нейтрофила истончалась, ее толщина становилась неравномерной, на поверхности оболочки появлялись выпячивания, однако выхода волокон ДНК на данной стадии нетоза еще не происходило. На стадии зрелой ловушки хроматин вместе с высокоактивными антимикробными белками и ферментами в виде сети выбрасывался во внеклеточное пространство [17].

В группе I (дефект без замещения) выявленные изменения отражали реакцию непосредственно на хирургическое вмешательство. В группах II и III наблюдалась сочетанная реакция на операционную травму и имплантированный ксеноматрикс костной ткани. Согласно полученным данным, активация нетоза в ответ на ксеноимплантацию отмечалась во всех группах. При этом в группе I без имплантации продукция ранних форм нейтрофильных ловушек возвращалась к дооперационному уровню к 14 суткам, зрелых – к 30 суткам эксперимента. В группах, где применялись материалы, созданные на основе внеклеточного костного матрикса лошади и быка, также наблюдалась нормализация количества зрелых форм NETs к 30 суткам послеоперационного периода, что свидетельствовало об отсутствии на данном этапе активного воспалительного процесса в зоне имплантации. При этом продолжалось повышенное образование ранних форм нейтрофильных ловушек. Ранее мы представляли данные о том, что стимулировать нетоз способны не только бактериальные агенты, но и факторы немикробной природы. В этом случае нейтрофильные ловушки остаются на стадии трансформации ядра, выброса сетей ДНК не происходит [18]. Следовательно, ксеноматрикс костной ткани лошади или быка воспринимался организмом кролика как чужеродный и оказывал легкий стимулирующий эффект.

Известно, что ксеноматрикс костной ткани быка подвергается резорбции и органотипической перестройке быстрее ксеноматрикса лошади [19]. Можно предположить, что это связано с развитием более выраженной ответной воспалительной реакции на имплантацию костного матрикса быка, чем на костнопластический материал лошади, на который организм реагирует более инертно.

Таким образом, ксенотрансплантация оставляет большое поле для исследований и содержит ряд нерешенных задач. Поиск путей обеспечения безопасной и эффективной интеграции ксеногенного костного материала позволит глубже понять механизмы послеоперационных осложнений и разработать способы улучшения результатов лечения.



Рис. 1. Стадии образования нейтрофильной экстрацеллюлярной ловушки (NET)

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Имплантационные материалы, созданные на основе внеклеточного матрикса ксенокости лошади и быка, стимулируют избыточное образование ранних форм NETs на 14–30 сутки экспериментального периода в ответ на ксенотрансплантацию, в отличие от контрольной группы, где нормализация количества ранних NETs отмечалась на 14 сутки (на этапе заживления раны).

Ксеноматериалы костной ткани быка, в сравнении с ксеноматериалами костной ткани лошади, вызывают более выраженную воспалительную реакцию в ближайшие сроки после замещения дефекта, что проявляется наиболее высокой продукцией зрелых NETs на 3–14 сутки эксперимента.

ЛИТЕРАТУРА

1. Костнопластические остеоиндуктивные материалы в травматологии и ортопедии / М.В. Лекишвили, Е.Д. Сялянчук, В.С. Акатов, А.А. Очкурченко, В.В. Гурьев, И.С. Рагинов, С.Н. Бугров, А.Ю. Рябов, И.С. Фадеева, Ю.Б. Юрасова, А.С. Чеканов // Гений ортопедии. 2015. № 4. С. 62-67.
2. Bone grafts: which is the ideal biomaterial? / H.J. Naugen, S.P. Lyngstadaas, F. Rossi, G. Perale // J. Clin. Periodontol. 2019. Vol. 46, No Suppl. 21. P. 92-102. DOI: 10.1111/jcpe.13058
3. Современные перспективы разработки материалов для стабилизирующих вмешательств на позвоночнике с применением спондиллодеза (обзор) / А.Е. Боков, С.Г. Млявых, Н.Ю. Широкова, Д.В. Давыденко, Н.Ю. Орлинская // Современные технологии в медицине. 2018. Т. 10, № 4. С. 203-219.
4. Xenogeneic bone matrix immune risk assessment using GGTA1 knockout mice / A. Shao, Y. Ling, L. Xu, S. Liu, C. Fan, Z. Wang, B. Xu, C. Wang // Artif. Cells Nanomed. Biotechnol. 2018. Vol. 46, No sup3. P. S359-S369. DOI: 10.1080/21691401.2018.1493489
5. Evidence for the important role of inflammation in xenotransplantation / J. Li, H. Hara, Y. Wang, C. Esmon, D.K.C. Cooper, H. Iwase // J. Inflamm. (Lond). 2019. Vol. 16, P. 10. DOI: 10.1186/s12950-019-0213-3
6. Способ получения и консервации минерализованного костного матрикса : патент 2495567 Рос. Федерация / Лунева С.Н., Накоскин А.Н., Ковинька М.А. ; заявитель и патентообладатель: ФГБУ «РНЦ «ВТО» им. акад. Г.А. Илизарова Минздравсоцразвития России». № 2012112186/15 ; заявл. 29.03.2012 ; опубл. 20.10.2013, Бюл. 29.
7. СП 2.2.1.3218-14 Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев). URL: <http://docs.cntd.ru/document/420219460>
8. ГОСТ 33215-2014 Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила оборудования помещений и организации процедур. URL: <http://docs.cntd.ru/document/1200127789>
9. ГОСТ 33216-2014. Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами. URL: <http://docs.cntd.ru/document/1200127506>
10. ГОСТ Р ИСО 10993-1-2009. Национальный стандарт Российской Федерации. Изделия медицинские. Оценка биологического действия медицинских изделий. Часть 1. Оценка и исследования. (утвержден и введен в действие Приказом Ростехрегулирования от 06.08.2009 № 281-ст). URL: <http://docs.cntd.ru/document/1200073860>
11. Immunologic testing of xeno-derived osteochondral grafts using peripheral blood mononuclear cells from healthy human donors / V.J. Hetherington, J.S. Kawalec, D.S. Dockery, O.S. Targoni, P.V. Lehmann, D. Nadler // BMC Musculoskelet. Disord. 2005. Vol. 6. P. 36. DOI: 10.1186/1471-2474-6-36
12. Depletion of cytotoxic (CD8+) T cells impairs implant fixation in rat cancellous bone / M. Bernhardtsson, F. Dietrich-Zagonel, L. Tättning, P. Eliasson, P. Aspenberg // J. Orthop. Res. 2019. Vol. 37, No 4. P. 805-811. DOI: 10.1002/jor.24246
13. The assessment of xenogeneic bone immunotoxicity and risk management study / X. Sun, C. Liu, Y. Shi, C. Li, L. Sun, L. Hou, X. Wang // Biomed. Eng. Online. 2019. Vol. 18, No 1. P. 108. DOI: 10.1186/s12938-019-0729-z
14. Local induction of inflammation affects bone formation / M. Croes, M.C. Kruyt, L. Loozen, A.H. Kragten, H. Yuan, W.J. Dhert, F.C. Öner, J. Alblas // Eur. Cell. Mater. 2017. Vol. 33. P. 211-226. DOI: 10.22203/eCM.v033a16
15. Lohmann C.H., Hameister R., Singh G. Allergies in orthopaedic and trauma surgery // Orthop. Traumatol. Surg. Res. 2017. Vol. 103, No 1S. P. S75-S81. DOI: 10.1016/j.otsr.2016.06.021
16. Borregaard N. Neutrophils, from marrow to microbes // Immunity. 2010. Vol. 33, No 5. P. 657-670. DOI: 10.1016/j.immuni.2010.11.011
17. Understanding the role of neutrophils in chronic inflammatory airway disease / A.E. Jasper, W.J. McIver, E. Sapely, G.M. Walton // F1000Res. 2019. Vol. 8, F1000 Faculty Rev-557. DOI: 10.12688/f1000research.18411.1
18. Формирование нейтрофильных внеклеточных ловушек у пациентов с остеоартрозом и исходом эндопротезирования тазобедренного сустава / Е.И. Кузнецова, М.В. Чепелева, О.К. Чегуров, Н.М. Ключин, Н.В. Сазонова, А.В. Каминский, А.М. Ермаков Ю.В. Абабков, Б.В. Камшилов // Сибирский научный медицинский журнал. 2016. Т. 36, № 6. С. 60-64.
19. Дюрягина О.В., Ковинька М.А., Накоскин А.Н. Ксеноимплантация матрикса костной ткани при замещении дефектов кости у кроликов // Ветеринария Кубани. 2016. № 6. С. 19-21.

Рукопись поступила 03.06.2020

Сведения об авторах:

1. Дюрягина Ольга Владимировна, к. в. н., ФГБУ «НМИЦ ТО имени академика Г.А. Илизарова» Минздрава России, г. Курган, Россия, Email: diuriagina@mail.ru
2. Чепелева Марина Владимировна, к. м. н., ФГБУ «НМИЦ ТО имени академика Г.А. Илизарова» Минздрава России, г. Курган, Россия, Email: marina.barbara7@yandex.ru
3. Кузнецова Елена Ивановна, ФГБУ «НМИЦ ТО имени академика Г.А. Илизарова» Минздрава России, г. Курган, Россия, Email: citoz@mail.ru
4. Ковинька Михаил Александрович, к. б. н., ФГБУ «НМИЦ ТО имени академика Г.А. Илизарова» Минздрава России, г. Курган, Россия
5. Накоскин Александр Николаевич, д. б. н., ФГБОУ ВО «Курганский государственный университет», г. Курган, Россия

Information about the authors:

1. Olga V. Diuriagina, Ph.D. of Veterinary Sciences, Ilizarov National Medical Research Centre for Traumatology and Orthopedics, Kurgan, Russian Federation, Email: diuriagina@mail.ru
2. Marina V. Chepeleva, Ilizarov National Medical Research Centre for Traumatology and Orthopedics, Kurgan, Russian Federation, Email: marina.barbara7@yandex.ru
3. Elena I. Kuznetsova, Ilizarov National Medical Research Centre for Traumatology and Orthopedics, Kurgan, Russian Federation, Email: citoz@mail.ru
4. Mikhail A. Kovinka, Ph.D. of Biological Sciences, Ilizarov National Medical Research Centre for Traumatology and Orthopedics, Kurgan, Russian Federation
5. Alexander N. Nakoskin, Ph.D. of Biological Sciences, Kurgan State University, Kurgan, Russian Federation