

Мезенхимальные стволовые клетки и остеогенез (обзор литературы)

В.П. Шахов, А.В. Карлов, И.А. Хлусов

Mesenchymal stem cells and osteogenesis (review of literature)

V.P. Shakhov, A.V. Karlov, I.A. Khlousov

Центр ортопедии и медицинского материаловедения Томского научного центра СО РАМН, г. Томск

В организме взрослого человека и животных существует пул мезенхимальных стволовых клеток, которые способны дифференцироваться практически во все известные ростки, в частности, в остеогенные и хондрогенные клетки. Описаны их пролиферативный и дифференцировочный потенциал, технологии получения и перспективы применения стволовых клеток нужного типа, в том числе биомиметический подход для лечения травматологических и ортопедических больных.

Ключевые слова: стволовые клетки, колониеобразующие единицы, морфогенетические белки кости, костная ткань.

There is a pool of mesenchymal stem cells in the organism of adults and animals, which are able to be differentiated practically into all known sprouts, in particular – into osteogenic and chondrogenic cells. Their proliferative and differentiative potentials as well as the technologies to make and the outlooks to use stem cells of the required type are described, including a biomimetic approach to treat traumatological and orthopaedic patients.

Keywords: stem cells, colony-forming units, morphogenetic bone proteins, bone tissue.

Костные клетки имеют мезенхимальное (мезенхимное, мезодермальное) происхождение. Во взрослом организме они образуются из остеогенных стволовых клеток-предшественников, которые локализуются на границе между костью и хрящевой или костномозговой тканью. Дифференцируясь, они превращаются в остеобласты, а затем - в остециты. Рост длинных трубчатых костей осуществляется путем энхондрального окостенения. Причем увеличение диафизов в ширину происходит только со стороны периоста, а метафизов – только со стороны эндоста. Процесс костной резорбции имеет, соответственно, обратное направление [10].

Образование костной ткани представляет собой сложный многоступенчатый процесс, при котором клетки различных гистогенетических линий проходят последовательную трансформацию путем пролиферации, дифференцировки и специализации с образованием композитной структуры, называемой костью. При этом следует подчеркнуть, что если костная и хрящевая ткани формируются в эмбриогенезе из дорсального сомита мезодермы, то кроветворная ткань, из которой ведут свое происхождение остеокласты - через стадию спланхнической мезодермы. По своему гистогенезу остециты и остеобласты ближе к соединительно-тканым, мышечным и кожным элементам, а остеокласты - к клеткам крови и эндотелию. Наличие в остеокластобла-

стомах эпителиальной и мышечной тканей, по-видимому, подтверждает эту точку зрения [15].

В культуре ткани *in vitro* родоначальные клетки образуют прообраз хрящевой или костной ткани, который может быть представлен в форме колоний или так называемых колониеобразующих единиц фибробластов (КОЕф) [7, 8, 9]. С помощью хромосомных и биохимических маркеров на радиационных химерах было показано, что КОЕф имеют клональную природу, отличную от гемопоэтических клеток костного мозга, остеобластов и остецитов [11, 53].

Общей закономерностью для пула родоначальных клеток любой ткани, в том числе и костной, является постепенное снижение способности к самообновлению и пролиферации, утрата полипотентности, увеличение доли прекурсоров, находящихся в S-периоде клеточного цикла, повышение чувствительности к действию ростовых факторов, гормонов, цитокинов и других регуляторных молекул. Теоретически этот процесс может идти равномерно или скачкообразно. Вследствие этого остеогенез может протекать в различных режимах с образованием костной ткани, качественно и количественно отличной по своим морфофункциональным свойствам. На наш взгляд, имплантация биоматериалов в кость может включать тот или иной путь развития остеогенных клеток. Однако работ, выполненных в этом чрезвычайно интересном направлении, мы,

к сожалению, не обнаружили.

Следует отметить, что все категории родона- чальных клеток представляют собой чрезвычайно гетерогенную популяцию, внутри которой морфофункциональные свойства варьируют в широком диапазоне. Кроме того, для каждой из стадий их развития имеется значительное количество переходных форм, которые не могут быть идентифицированы с помощью имеющихся технологий. Несмотря на то, что методы выявления стромальных и остеогенных прекурсоров были открыты еще в начале 70-х годов, явного прогресса в понимании их свойств, способов регуляции и роли в процессах ремоделирования костной ткани достигнуто не было [4, 5, 7, 11].

Следует отметить, что стволовые и коммитированные клетки-предшественники костной и хрящевой тканей находятся под контролем локальных (короткоранговых) и дистантных регуляторных механизмов. В последнюю группу входят факторы, оказывающие свое действие через нейроэндокринную, иммунную, опиятную и другие системы путем выработки или связывания дальноранговых мессенджеров (эстрогены, глюкокортикоиды, эндорфины, адреналин и т.п.). Локальные механизмы действуют через прямое изменение морфофункциональных свойств микроокружения костной ткани, межклеточные контакты, локальную выработку цитокинов, медиаторов, короткоживущих биоактивных веществ и т.п.

Межклеточные взаимодействия относятся к морфогенетическим процессам, они контролируют дифференцировку, специализацию, морфообразование клеток в тканях и органах. Они осуществляются с помощью позиционно-информационных и индукционных взаимодействий, которые еще мало изучены [15, 22]. Тем не менее, согласно концепции позиционной информации, в организме существует морфогенетическое поле. Оно контролируется с помощью экспрессии гомеозисных генов типа *HOX1*, *HOX2*, *HOX3*, *HOX4*, *HOX7* и заставляет клетки помнить не только место своей локализации в соответствии с координационными осями, но и выполнять миссию, которую они должны осуществить в процессе своей жизни (например, восстановление кости при ее повреждении). Считается, что в сохранении позиционной информации большую роль играют мезенхимальные элементы, в частности макрофаги, остеобласты, остециты, остеокласты, эндотелий и фибробласты [6, 20, 21].

Индукционные взаимодействия регулируют процессы пролиферации и дифференцировки самообновляющихся клеточных популяций с помощью цитокинов, ростовых факторов, различных метаболитов и короткоранговых мессенджеров, вплоть до прямых клеточных взаимодействий. Особенностью выбора направления

дифференцировки поли- и бипотентных остеогенных предшественников является то, что он, в первую очередь зависит от парциального давления кислорода. Если это давление достаточно высоко, прекурсоры развиваются в направлении остеогенеза. При низком давлении, напротив, образуется хрящевая ткань [12]. Следует учитывать, что адекватное поступление кислорода к клеткам возможно только при наличии развитой сети микроциркуляторного русла: максимальная величина удаления костных прекурсоров не должна превышать 100 мкм [7].

Мезенхимальные клетки со стволовым потенциалом способны к дифференцировке в различные типы тканей (гемопозитическая, эпидермальная и интерстициальная), которые характеризуются высоким уровнем самоподдержания [39, 58]. Наиболее частым источником мезенхимальных стволовых клеток (МСК) у взрослых особей является костный мозг, хотя они могут быть выделены из кожи, жировой и нервной тканей. МСК способны дифференцироваться при систематическом введении донорам в самые разнообразные органы и ткани (печень, нервы, адипоциты, мышцы, кость и хрящ).

Так, трансплантация КОЕф под капсулу почки или подкожно приводит к образованию костной и хрящевой тканей, но если их ввести в желудочки мозга или белое вещество мозга - дифференцируются в глию, реже - в нейроны. Мезенхимальные стволовые клетки до культивирования являются SHD^+ , $CD 29^+$, $CD34^+$, $CD 14^-$, $CD 45^-$ [7, 25, 41, 47, 54]. Остаются не ясными пути репрограммирования МСК. Возможно, они подчиняются стохастической модели и образуются прекурсоры с возможностью дифференцировки во все направления. Однако специфическое микроокружение не дает им реализовывать свои потенции [24].

Хотя большинство исследователей показали высокую пластичность МСК, полученных из различных тканей взрослых людей, лучше они проявляют свои свойства в условиях травмы или повреждения, вызванного, например, облучением, химической травмой, генетическими заболеваниями или инфарктом. При этом доля МСК в костном мозге составляет около 0,01% и уменьшается с возрастом [25, 29, 30, 47].

Предполагается, что сниженное количество стволовых клеток в поврежденном участке компенсируется за счет высокой активности микроокружения, что приводит к восстановлению образовавшегося дефекта [43]. Однако, как этот процесс протекает в реальной ткани, остается только догадываться [29].

Одной из категорий МСК являются костномозговые стромальные клетки, описанные А.Я. Фриденштейном еще в 1974 году. В стандартной системе *in vitro* они образуют колонии, состоящие из стромальных, остеогенных, хондроген-

ных и жировых клеток. Позднее было показано, что они способны также формировать «линейные» нейроны и кардиомиоциты [21, 44]. Как оказалось, стромальные клетки костного мозга представляют собой гетерогенную популяцию предшественников, которые в постнатальном мозге плотно контактируют с гемопоэтическими клетками и поддерживают их пролиферацию и дифференцировку [13, 53]. В культуре ткани они проявляют выраженные клональные свойства, в связи с чем получили название колониеобразующие единицы фибробластов (КОЕф). Колонии способны к многократным репассевам с сохранением исходной морфологии и фенотипа [7, 15, 42]. Считается, что КОЕф - главная популяция остеогенных прекурсоров, ответственных за кругооборот костных клеток в течение их жизни в норме и патологии [14, 16].

Существование МСК в какой-то мере можно считать подтверждением господствовавшего до 60-х годов учения о так называемом гемоцитобласте (гемобласте, ретикулярной клетке), дающем начало кроветворным и стромальным (включая эндотелиальные) элементам [1, 2].

Открытие в 1961 г Till и McCulloch [56] селезеночных колониеобразующих единиц (КОЕс) казалось бы навсегда перечеркнуло это направление. Действительно, в данной системе доминирующими элементами были колонии, состоящие из эритроидных, лейкоцитарных, тромбоцитарных клеток. Тем не менее, встречались и недифференцированные, бластные колонии, составлявшие около 1-2% от общего числа КОЕс. Они выявлялись на 12-14 сутки культивирования, их роль и функция оставались малопонятными. Можно думать, данная технология неприемлема для количественного выявления МСК, т.к. они быстро расселяются по другим тканям, и только небольшое количество оседает в селезенке. Кроме того, авторы и их последователи долгое время ограничились описанием КОЕ, дающих начало кроветворной и лимфоидной тканям. Лишь через 40 лет, при трансплантации клеток костного мозга смертельно облученным животным с использованием хромосомных маркеров, было показано, что из клеток донора могут образовываться также мышечная, нервная и другие типы тканей.

Первые сомнения появились, когда Dexter в 1982 г. [23] создал систему длительного культивирования костного мозга *in vitro*. Оказалось, что в культуре шло активное кроветворение, формирование стромальных, жировых, эндотелиальных и мышечных клеток. Позднее были вскрыты принципиальные факты того, что кроветворение может идти в отсутствие костных клеток. Наряду с кроветворными стволовыми клетками были выявлены и другие родоначальные элементы, включая МСК.

Количество МСК, представляющих собой

фибробластоподобные клетки, составляет около 1 на 10^5 адгезирующих стромальных клеток [20, 49, 51]. Этого количества недостаточно для клинического использования, в связи с чем обычно используют дополнительное культивирование, очистку от примесей других, нежелательных клеток. В идеале требуемое количество МСК необходимо получать во время одной процедуры без субкультивирования и сортировки клеток. Поэтому взятие костного мозга, ограниченного по объему, количеству клеточного материала и причиняющее пациенту боль и дискомфорт, не всегда приемлемо [63].

МСК можно выделить из различных тканей - гранулярной, мышечной, эмбриональной, соединительной [37, 45]. Однако наиболее перспективным можно считать получение МСК из жировой ткани, например, во время липоаспирации, у людей различной конституции и в любом количестве [63]. Из 1 см³ можно получить около $2-6 \times 10^8$ клеток. От одного донора можно выделить более 300 см³, т.е. около 150×10^9 кариоцитов. Этого достаточно, чтобы получить необходимое количество МСК для терапевтических процедур без предварительного культивирования. В то же время при культивировании можно увеличить концентрацию МСК нужного фенотипа в сотни раз. Так, для наработки остеогенных клеток-предшественников в стандартную культуру добавляют бета-глицерофосфат (донор неорганического фосфата), аскорбиновую кислоту и дексаметазон. Для роста хондроцитов используют инсулин, бета-трансформирующий фактор роста и аскорбиновую кислоту [63]. При воспроизведении методики необходимо помнить, что культивирование МСК - чрезвычайно капризный процесс и во многом зависит от качества реактивов, выбора сред и сывороток [31, 32].

Основным фактором роста костной ткани являются морфогенетические белки костной ткани (МБК). МБК - это димерные гликопротеины с массой 30 кД, которые входят в семейство β -трансформирующих факторов роста (ТФР), ответственных за процессы хемотаксиса, деления и дифференцировки костных клеток [38]. В настоящее время известно более 14 типов таких белков, 6 из которых имеют очень схожую структуру. Из них при ремоделировании кости большую роль играют МБК-2,4,7 [22, 39].

В раннем эмбриогенезе для образования хрящевой модели кости из мезенхимных клеток необходим МБК-4, затем подключаются МБК-2 и МБК-6 [38]. Причем последний фактор определяется в кальцифицированной зоне, а МБК-2 - в периостальной. Для образования небольших костей (ребра, стопа, кисть) важная роль принадлежит МБК-5. Он принимает участие в регуляции механизма конденсации мезенхимальных стволовых клеток в местах их роста.

Среди МБК-2 выделяют две формы – МБК-2 α и МБК-2 β (ранее идентифицированный как МБК-4), гены которых расположены в 20 и 14 хромосомах человека соответственно. МБК-3 (остеогенин) и МБК-3 β (ростовой дифференцировочный фактор 10-го типа) контролируются генами 4-й и 10-й хромосом. МБК-7,8,8 β или остеогенные протеины 1, 2 или 3-го типов соответственно локализируются в 20-й хромосоме. МБК-14, 13, 12 имеют синонимы “хрящевые высвобождающиеся морфогенетические протеины 1,2 и 3-го типов” [50].

Следует отметить, что морфогенетические протеины оказывают влияние и на формирование нервных волокон, сосудов, зубов, сердца, лимфатической, кроветворной тканей, часто в кооперации с другими регуляторными макромолекулами типа ТФР- β [38]. Это свойство придает МБК черты мультифакторного цитокина. При его введении происходит локальное образование костной ткани [50, 52], в том числе процесс эктопического костеобразования [57, 58, 61]. Данный процесс получил название остеоиндукции [19, 59, 60]. МБК является единственным из всех известных фактором, обладающим истинными остеоиндуктивными свойствами. Другие цитокины, как правило, являются синергистами МБК [38].

Исключением из этого правила служит, по видимому, ТФР. Так, в присутствии рекомбинантного ТФР-1 вокруг кальцийфосфатной (КФ) керамики повышается объем новообразованной кости, возрастает площадь остеонидной поверхности на 5-6% и активность остеокластической резорбции. При этом процессы остеогенеза преобладают над остеоллизисом, т.е. активность остеобластов выше, чем остеокластов. В результате происходит замещение КФ новой костью, т.е. биомеханическое усиление процесса связывания имплантата с костной тканью [34,48]. Однако следует отметить, что этот эффект во многом зависит от дозы применяемого ТФР и обычно не превышает 4-5 недель, очевидно, за счет элиминации данного фактора из организма. Обладает ли ТФР прямыми остеоиндуктивными или остеокондуктивными свойствами остается не совсем понятно, т.к. используемые модели *in vivo* и *in vitro* не позволяют однозначно ответить на этот вопрос [35].

Терапевтический потенциал МСК для терапии разнообразных заболеваний и тканевого инжиниринга чрезвычайно важен и перспективен. Концептуально существуют два главных типа применяемых стволовых клеток. Один основан на использовании клеток эмбрионального происхождения (ЭСК), другой связан с аутоло-

гичными специализированными и (или) мезенхимальными стволовыми клетками (МСК). Хотя теоретически применение ЭСК более привлекательно, т.к. можно получить огромное число клонов данной категории предшественников, существует ряд методических и этических ограничений по их использованию в медицине. В противоположность этому аутологичные МСК не вызывают иммунологических конфликтов и их применение не имеет правовых и нравственных ограничений. Кроме того, при использовании ЭСК всегда существует потенциальная возможность их перерождения в опухолевые клетки [46, 55].

Самостоятельное использование МСК в травматологии и ортопедии для восполнения их дефицита или стимуляции костеобразования до настоящего времени не нашло широкого применения, т.к. оказалось малоэффективно. В последнее время активно развивается так называемый биомиметический принцип [27, 28]. Согласно ему для восстановления костного дефекта используется гибридный имплантат, состоящий из носителя (гидроксилapatит, трикальцийфосфат, коллаген, полимеры и т.п.), МСК и ростового фактора, преимущественно МБК и (или) ТФР [26, 36, 40]. Иногда дополнительно включают адгезирующие факторы [15]. Опыты по эктопическому костеобразованию показывают, что данная система может работать в прямом и опосредованном режиме. В первом случае в ней присутствуют экзогенные МСК, а во втором стволовые клетки мигрируют из окружающих тканей и аккумулируются на носителе [61].

Таким образом, представленные данные свидетельствуют о том, что в организме взрослого человека существует пул мезенхимальных стволовых клеток, которые способны дифференцироваться практически по всем известным направлениям, в частности, в остеогенные и хондрогенные клетки. Изучение их свойств, пролиферативного и дифференцировочного потенциала, отработка технологии трансформации в клетки нужного типа позволит разработать новые методы клеточной терапии многих заболеваний, в том числе связанных с патологией опорно-двигательного аппарата. Вместе с тем процесс коммитирования МСК в направлении остеогенеза – сложный, многоступенчатый процесс, многие детали которого остаются нераскрытыми. Требуется проведение более углубленных фундаментальных исследований в этом направлении с последующим практическим использованием выявленных закономерностей при лечении той или иной формы патологии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Заварзин А.А. Избранные труды. Очерки эволюционной гистологии крови и соединительной ткани. - М. - Л.: Изд-во АН СССР, 1953. - Т.4. - 718 с.

2. Кассирский И.А., Алексеев Г.А. О номенклатуре клеток крови // Проблемы гематологии и переливания крови. - 1960. - N 8. - С. 3-8.
3. Мажуга П.М. Кровеносные капилляры и ретикулоэндотелиальная система костного мозга. - Киев: Наукова Думка, 1978. - 191 с.
4. Омелянченко Н.П., Илизаров Г.А., Стецулла В.И. Регенерация костной ткани. Травматология и ортопедия: Руководство для врачей / Под ред. Ю.Г. Шапошникова. - М.: Медицина, 1997. - С.393-482.
5. Стецулла В.И., Девятков А.А. Чрескостный остеосинтез в травматологии. - Киев: Здоров'я, 1987. - 200 с.
6. Улумбеков Э.Г., Челышев Ю.А. Гистология (введение в патологию). - М.: ГЭОТАР, 1997. - 960 с.
7. Фриденштейн А.Я., Лалыкина К.С. Индукция костной ткани и остеогенные клетки-предшественники. - М.: Медицина, 1973. - 220 с.
8. Фриденштейн А.Я., Лурия Е.А. Клеточные основы кроветворного микроокружения. - М.: Медицина, 1980. - 210 с.
9. Влияние сред кондиционированных костномозговых клеток, на пролиферативную активность стромальных клоногенных клеток / А.Я. Фриденштейн, Ю.Ф. Горская, Н.В. Лациник. и др. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 1999. - Т.127, № 2. - С. 218-220.
10. Хэм А., Кормак Д. Гистология / Пер. с англ. - М.: Мир, 1983. - Т.3. - 292 с.
11. Чертков И.И., Гуревич О.А. Стволовая кроветворная клетка и ее микроокружение. - М.: Медицина, 1984. - 238 с.
12. Bassett C., Herrmann D. Influence of oxygen concentration and mechanical factor on differentiation of connective tissue in vitro // Nature. - 1961. - Vol. 190. - P. 460.
13. Bentley S.A. Bone marrow connective tissue and haemopoietic microenvironment // Am. J. Haemopoietic. - 1982. - Vol. 50. - P. 1-6.
14. Beresford J.N. Osteogenic stem cell and the stromal system of bone and marrow // Clin. Orthop. - 1989. - N 240. - P. 270-280.
15. Bianchi G., Muraglia A., Daga A. et al. Microenvironment and stem properties of bone marrow-derived mesenchymal cells // Wound Rep. Reg. - 2001. - Vol. 9. - P. 460-466.
16. Bianco P., Robey P. Diseases of bone and stromal cell system of bone and marrow // J. Bone Mineral Res. - 1999. - Vol. 14. - P. 336-341.
17. Bradley T.R., Metcalf D. The growth of mouse bone marrow cells in vitro // Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci. - 1966. - Vol. 44. - P. 287-300.
18. Bruijn J.D. Calcium phosphate biomaterials: Bone-bonding and biodegradation properties. - Leiden, 1993. - 170 p.
19. The ultrastructure of the bone hydroxyapatite interface in vitro / J.D. Bruijn, C.P. Klein, K. de Groot, C.A. Blitterswijk // Sixth World biomaterials congress, 15-20 May 2000. - Hawaii, USA, 2000. - P. 454.
20. Bruder S.P., Jaiswal N., Haynesworth S.E. Growth kinetics self-renewal, and the osteogenic potential of purified human mesenchymal stem cells during extensive subcultivation and following cryopreservation // J. Cell. Biochem. - 1997. - Vol. 64. - P. 278.
21. Caplan A.I. Mesenchymal stem cell // J. Orthoped. Res. - 1991. - Vol. 9. - P. 641-650.
22. Cytokines: A practical approach / Ed. F.R. Balkwill. - Oxford, UK, 1995. - 417 p.
23. Dexter T.M. Stromal cell associated haemopoiesis // J. Cell Physiol. - 1982. - Vol. 1, Suppl. - P. 87-94.
24. Skeletal myogenic potential of human and mouse neural stem cells / R. Galli, U. Borello, A. Gritti et al. // Nat. Neurosci. - 2000. - Vol. 3. - P. 986-991.
25. Muscle regeneration bone marrow-derived myogenic progenitor / G. Ferrari, G. Cusella-De Angelis, M. Coletta et al. // Science. - 1998. - Vol. 279. - P. 1528-1530.
26. Recombinant osteogenin with collagen binding domain composed with porous resorbable ceramic stimulates repair of bone and cartilages in dogs / B. Han, O. Reyes, B.W. Tang et al. // Sixth World biomaterial congress, 15-20 May 2000. - Hawaii, USA, 2000. - P. 490.
27. Hench L. Lead presentation: biomimetic processing: a critical review // Sixth World biomaterial congress, 15-20 May 2000. - Hawaii, USA, 2000. - P. 404.
28. Kokubo T. Advantages problems of biomimetic process in preparation of artificial bone // Sixth World biomaterial congress, 15-20 May 2000. - Hawaii, USA, 2000. - P. 405.
29. Multi-organ, multilineage engraftment by signal bone marrow-derived stem cells / D.S. Krause, N.D. Theise, M.I. Collector et al. // Nat. Med. - 2000. - Vol. 6. - P. 1229-1234.
30. Purified hematopoietic stem cells can differentiate into hepatocytes in vivo / E. Lagasse, H. Connors, S. Al-Dhalimy et al. // Nat. Med. - 2000. - Vol. 6. - P. 1229-1234.
31. A chemical defined medium supports in vitro proliferation and maintains the osteochondral potential of rat marrow-derived mesenchymal stem cells / D.P. Lennon, S.E. Haynesworth, R.G. Young et al. // Exp. Cell Res. - 1995. - Vol. 219. - P. 211.
32. Human and animal mesenchymal progenitor cells from bone marrow: identification of serum for optimal selection and proliferation in vitro / D.P. Lennon, S.E. Haynesworth, S.P. Bruder et al. // Cell Dev. Biol. - 1996. - Vol. 32. - P. 602.
33. Li Y. Synthesis and characterisation of bone-like minerals. Macroscopic approach and microscopic emulation. - Leiden, 1994. - 118 p.
34. Transforming growth factor-b1 enhances bone healing to unloaded tricalcium phosphate coated implants: an experimental study in dogs / M. Lind, S. Overgaard, K. Saballe et al. // J. Orthop. Res. - 1996. - Vol. 14. - P. 343-350.
35. Transforming growth factor-b1 adsorbed to tricalcium phosphate coated implants increases peri-implant bone remodelling / M. Lind, S. Overgaard, H. Glerup et al. // Biomaterials. - 2001. - Vol. 22. - P. 189-193.
36. In vivo osteogenesis using genetically engineering human mesenchymal stem cell constructs / T. Livingston, K. Lee, J. Cole et al. // Sixth World biomaterial congress, 15-20 May 2000. - Hawaii, USA, 2000. - P. 562.
37. Mesenchymal stem cells from granulation tissue / P.A. Lucas, A.F. Calcutt, P. Ossi et al. // J. Cell Biochem. - 1993. - Vol. 17E. - P. 122.
38. Lyons K.M., Pelton R.W., Hogan B.L.M. Organogenesis and pattern formation in the mouse RNA distribution patterns suggest a role for bone morphogenetic protein-2A // Development. - 1990. - Vol. 109. - P. 833-844.
39. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells / M.F. Pittenger, A.M. Mackay, S.C. Beck et al. // Science. - 1999. - Vol. 284. - P. 143-147.
40. Use of qCT predict in vivo bone formation by human bone marrow stromal cell and hydroxyapatite/tricalcium phosphate transplants / M.H. Mankani, S.A. Kusnetsov, N. Avila et al. // Sixth World biomaterial congress, 15-20 May 2000. - Hawaii, USA, 2000. - P. 425.
41. Turing blood into brain: cells bearing neuronal antigen regenerated in vivo from bone marrow / E. Mezey, K.J. Chandross, G. Harta et al. // Science. - 2000. - Vol. 290. - P. 1779-1182.
42. Muraglia A., Cancedda R., Quarto R. Clonal mesenchymal progenitor from human bone marrow differentiate in vitro according to a hierarchical model // J. Cell Sci. - 2000. - Vol. 113. - P. 1161-1166.
43. Mobilized bone marrow cell repair the infarcted heart, improving functional survival / D. Oric, J. Kajstura, S. Chimenti et al. // Proc. Natl. Acad. Sci USA. - 2001. - Vol. 98. - P. 10344-10349.
44. Owen M. Marrow stromal cells // J. Cell Sci. - 1998. - Vol. 10, Suppl. - P. 63-76.
45. Isolation and differentiation of mesenchymal stem cells from rabbit muscle / D.W. Pate, S.S. Southerland, D.A. Gande et al. // Surg. Forum. - 1993. - Vol. XLIV. - P. 587.
46. Stromal associated hematopoiesis immortalization and characterization of a primate bone marrow-derived stromal cell line / S.R. Paul, Y.C. Yang, R.E. Donahue et al. // Blood. - 1991. - Vol. 77. - P. 1723.
47. Bone marrow as a potential source of hepatic oval cell / B.E. Petersen, W.C. Bowen, K.D. Patrene et al. // Science. - 1999. - Vol. 284. - P. 1168-1170.

48. Concentration of transforming growth factor- β in human bone tissue: relationship to age, menopause, bone turnover, and bone volume / J. Pfeilschifter, I. Diel, B. Scheppach et al. // J. Bone Miner. Res. - 1998. - Vol. 13. - P. 716-730.
49. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells / M.F. Pittenger, A.M. Mackay, S.C. Beck et al. // Science. - 1999. - Vol. 284. - P. 143.
50. Reddi A.H. New biomaterials, stem cells and morphogens for tissue engineering // Bioceramics. - 2001. - Vol. 13. - P. 459-461.
51. Isolation and characterization of osteoblast precursor cells from human bone marrow / D.J. Rickard, M. Kassem, T.E. Hefferan et al. // J. Bone Miner. Res. - 1996. - Vol. 11, N 3. - P. 312-324.
52. Ripamonti U. Osteoinduction in porous hydroxyapatite implanted in heterotopic sites of different animal models // Biomaterials. - 1996. - Vol. 17. - P. 31-39.
53. Tavassoli M., Friedenstein A. Hemopoietic stromal microenvironment // Am. J. Haematol. - 1983. - Vol. 15. - P. 195-203.
54. Liver from bone marrow in humans / N.D. These, M. Nimmakurayalu, R. Garder et al. // Haematology. - 2000. - Vol. 32. - P. 11-16.
55. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts / J.A. Thomson, M.A. Waknitz, J.J. Swiergiel, V.S. Marshall // Science. - 1998. - Vol. 282. - P. 1061-1062.
56. Till J.E., McCulloch E.A. A direct measurement of the radiation sensitivity of normal bone marrow cells // Rad. Res. - 1961. - Vol. 14. - P. 213-322.
57. Urist M.R. Bone: formation by autoinduction // Science. - 1965. - Vol. 150. - P. 893.
58. Urist M.R., McLean F. Osteogenic potency and new bone formation by induction in transplants to anterior chamber of eye // J. Bone Jt. Surg. - 1952. - Vol. 34-A. - P. 443.
59. Osteogenic competence / M.R. Urist, P.H. Hay, F.L. Dubuc, K. Buring // Clin. Orthop. - 1969. - N 64. - P. 194.
60. Purification of bone morphogenetic protein by hydroxyapatite chromatography / M.R. Urist, A. Budy, F. McLean et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. - 1984. - Vol. 81. - P. 371-375.
61. Ectopic bone formation in BMP-loaded calcium Phosphate-coated titanium mesh / J.M. Vehof, J. Mahmood, H. Takita et al. // Sixth World biomaterial congress, 15-20 May 2000 - Hawaii, USA, 2000. - P. 640.
62. Watt F.M., Hogan B.L. Out of Eden: stem cells and their niches // Science. - 2000. - Vol. 287. - P. 1427-1430.
63. Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies / P.A. Zuk, M. Zhu, H. Mizuno et al. // Tissue Engineering. - 2001 - Vol. 4, N 2. - P. 211-228.

Рукопись поступила 17.03.03.