

## СОВРЕМЕННЫЕ КОНЦЕПЦИИ СТИМУЛЯЦИИ РЕГЕНЕРАЦИИ КОСТНОЙ ТКАНИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СКАФФОЛДОВ

© 2019 г. И. Н. Щаницын<sup>1</sup>, А. Н. Иванов<sup>1</sup>, \*, В. Ю. Ульянов<sup>1</sup>, И. А. Норкин<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского, Научно-исследовательский институт травматологии, ортопедии и нейрохирургии Министерства здравоохранения РФ, Саратов, 410002 Россия

\*E-mail: lex558452@gmail.com

Поступила в редакцию 05.07.2018 г.

После доработки 01.08.2018 г.

Принята к публикации 02.08.2018 г.

В настоящее время основными методами лечения дефектов кости являются имплантация ауто- или аллографтов и применение недеградируемых имплантатов, которые имеют ряд значительных недостатков. Технологии тканевой инженерии позволяют преодолевать эти ограничения и являются альтернативой для стимуляции регенерации при больших дефектах, обусловленных травмой или патологией костей. В последние несколько десятилетий интенсивно развиваются методы тканевой инженерии и активно исследуется применение различных видов клеток и факторов роста для регенерации костной ткани. В настоящем обзоре рассматриваются результаты исследований, обосновывающих целесообразность использования различных биологически активных веществ при создании трехмерных матриц или скаффолдов, а также приводятся примеры применения различных их типов для восстановления костной ткани. Обобщены результаты последних разработок в области тканевой инженерии костной ткани, посвященных факторам роста, стволовым клеткам, ангио- и остеогенезу. Представленные данные литературы свидетельствуют о том, что тканевая инженерия, клеточная терапия и трансдукция генов открывают новые возможности для развития технологий стимуляции регенерации костной ткани.

**Ключевые слова:** кость, регенерация, скаффолд, тканевая инженерия, факторы роста, стволовые клетки

**DOI:** 10.1134/S0041377119010061

Замена и регенерация поврежденной кости являются серьезной проблемой в ортопедии. Костная ткань уступает только крови по количеству трансплантаций – ежегодно проводится более 2 млн операций трансплантации кости (Giannoudis et al., 2005; Laurencin et al., 2006). Золотым стандартом при лечении больших или сложных дефектов костей является применение ауто- или аллотрансплантатов, которые составляют 58 и 34% соответственно от всех

костных трансплантатов (James et al., 2011). Однако как алло-, так и аутоотрансплантация имеют недостатки. Так, не всегда можно осуществить забор аутоотрансплантата, для его получения необходимо дополнительное оперативное вмешательство, что сопряжено с риском возникновения местных осложнений. При аллотрансплантации доступность донорской кости ограничена, а также есть риск передачи болезней и инфицирования. Ограничения этих двух подходов можно преодолеть за счет использования синтетических заменителей костей или скаффолдов. Целью настоящего обзора является рассмотрение эволюции скаффолдов в контексте механизма регенерации костной ткани, а также результатов исследований современных биоактивных композитных скаффолдов с акцентом на васкуляризацию и остеоинтеграцию.

### ЭВОЛЮЦИЯ СКАФФОЛДОВ ДЛЯ РЕГЕНЕРАЦИИ КОСТНОЙ ТКАНИ

Выделяют четыре поколения материалов для трансплантации кости (рис. 1). Костные трансплантаты первого поколения, металлы и сплавы, имеют

**Принятые сокращения:** ММСК – мультипотентные мезенхимные стромальные клетки, ПТГ – паратиреоидный гормон, ФР – фактор роста, BMP – костный морфогенетический белок, CGRP – пептид, связанный с геном кальцитонина, EGF – эпидермальный фактор роста, FGF – фактор роста фибробластов, HGF – фактор роста гепатоцитов, IGF-1 – инсулиноподобный фактор роста, IL – интерлейкин, M-CSF – макрофагальный колониестимулирующий фактор, OGP – пептид остеогенного роста, PDGF – тромбоцитарный фактор роста, PRP – обогащенная тромбоцитами плазма, RANKL – лиганд рецептора-активатора ядерного фактора каппа-B, RGD – аргинилглициласпарагиновая кислота, RUNX2 – связанный с Runt транскрипционный фактор 2, TGF-β – трансформирующий фактор роста-β, TNF-α – фактор некроза опухоли-альфа, VEGF – фактор роста эндотелия сосудов, Wnt – семейство сигнальных белков.

Генерации скаффолдов		Свойства				
		Прочность	Упругость	Остеокондуктивность	Биорезорбция	Биоактивность
1	Металлы	+	+	-	-	-
2	Керамика Полимеры	+	-	+	-	-
3	Композитные полимер-керамические скаффолды	-	+	-	+	-
4	Биоактивные композитные скаффолды	+	+	+	+	+

Рис. 1. Эволюция материалов для трансплантации кости.

отличные механические свойства, но не биоактивны и не резорбируются. Продолжительность жизни этих трансплантатов ограничена, и, следовательно, их необходимо удалять и заменять хирургическим путем. К материалам второго поколения относят биоактивную керамику и рассасывающиеся полимеры. Полимерные скаффолды не обладают достаточной биологической активностью и требуемыми механическими свойствами, в то время как керамические скаффолды слишком хрупкие, чтобы их можно было использовать при больших нагрузках. Трансплантаты третьего поколения представлены композитными скаффолдами, которые сочетают в себе прочность, жесткость и остеокондуктивность керамики с гибкостью и способностью к резорбции полимеров. Трансплантаты четвертого поколения представляют собой полимер-керамические композитные скаффолды с включением остеогенных клеток, факторов роста (ФР) или костных морфогенетических белков отдельно или сочетанно (Yunus Basha et al., 2015).

Производство современных биокомпозитных скаффолдов представляет собой сложный процесс, учитывающий многие критерии – биосовместимость и низкую иммуногенность, механическую прочность, контролируемую биорезорбируемость, остеокондуктивность, остеоиндуктивность, определенные поверхностные свойства, пори-

стость и в особенности васкуляризацию (Mohammedi et al., 2018).

Считается, что скаффолды должны способствовать образованию новой ткани без выраженных воспалительных и гистопатогенных реакций (Ivanov et al., 2015). Однако исследования показали, что в полностью инертных скаффолдах из полиуретана васкуляризация выражена весьма слабо (Laschke et al., 2009). Напротив, умеренная стимуляция воспаления активизирует миграцию клеток и ангиогенез (Santos et al., 2013; Иванов, 2015). Следовательно, биосовместимость скаффолдов не подразумевает полного отсутствия воспалительного ответа (Santos et al., 2013).

Кроме того, трансплантат должен быть достаточно прочным для сдерживания гидростатического давления и механических нагрузок. Также показана зависимость продукции клетками внеклеточного матрикса от жесткости скаффолда (Correia et al., 2012).

Биодеградация скаффолда необходима для того, чтобы образовывался собственный внеклеточный матрикс. Трансплантат должен деградировать с контролируемой скоростью, создавая пространство для роста новой костной ткани. Продукты деградации не должны оказывать токсическое действие и вызывать воспаление. Предпочтительной считается поверхностная деградация, поскольку она позволяет поддерживать объемную структуру, обеспечивая более длительную

механическую стабильность (Goonoo et al., 2017). Кроме того, скорость резорбции скаффолда должна меняться в зависимости от области применения; например, для хирургии позвоночника продолжительность резорбции составляет не менее 9 мес, для челюстно-лицевой хирургии – 3–6 мес. (Bose et al., 2012).

Костный трансплантат должен способствовать миграции и направлять рост и дифференцировку остеогенных клеток (Goonoo et al., 2017). Остеоиндуктивность – способность стимулировать дифференцировку экзогенных мультитипотентных мезенхимных стромальных клеток (ММСК) или других клеток в остеогенном направлении, тем самым вызывая образование эктопической кости (Goonoo et al., 2017). На остеокондуктивность и остеоиндуктивность влияют кроме химического состава пористость, поверхностные свойства и нанотопография скаффолда (шероховатость и умеренная гидрофильность) (Goonoo et al., 2017).

Взаимодействие клеток с микроокружением и нанотопография определяют успех имплантации скаффолда. Использование нанотехнологий (микрожидкостные системы синтеза, 3D-биопечать и электроспиннинг) для изготовления структур на молекулярном уровне повышает функциональность скаффолдов (Mohammadi et al., 2018). Для улучшения адгезии клеток и белков внеклеточного матрикса, а также для ограничения адгезии и пролиферации бактерий применяют методы поверхностной нанокристаллизации, поверхностного структурирования посредством литографии, фототравления и анодирования (Lin et al., 2014).

Пористая структура естественной костной ткани, воспроизводимая в искусственных трансплантатах, создает благоприятные условия для заселения и роста экзогенных клеток, миграции собственных клеток и усиленной остеогенной дифференцировки. Кроме того, наличие пористой структуры играет важную роль в неоваскуляризации (Goonoo et al., 2017). Для создания пористых каркасов используют различные методы, такие как выщелачивание солей, газовое вспенивание и лиофилизация, 3D-биопечать и электроспиннинг. Выбор метода изготовления зависит исключительно от типа материала. Например, пористые скаффолды из биостекла, стекло-керамики и кристаллической керамики могут быть получены только путем процесса лазерного спекания (Karageorgiou, Kaplan, 2005).

Для регенерации большинства тканей решающее значение имеет создание функциональной сосудистой системы. В костях кровеносные сосуды не только служат источником кислорода и питательных веществ, но также обеспечивают поступление ионов кальция и фосфатов для минерализации. Недостаточная васкуляризация скаффолдов в конечном итоге приводит к нарушению формирования кости (Bose et al., 2012; Иванов и др., 2015). Для модулирования микрососудистой геометрии в скаффолдах и

стимуляции васкуляризации предложены различные методы – микрожидкостные системы синтеза, электроспиннинг, биопринтинг и фотолитография (Pearlin et al., 2018).

Несмотря на бурное развитие методов получения скаффолдов с любыми заданными механическими свойствами, биологически инертные трансплантаты значительно уступают аутокости, что в первую очередь связано с тем, что регенерация дефекта кости представляет собой комплекс сложных, скоординированных по времени процессов, включающих в себя взаимодействие множества молекулярных, клеточных, биохимических и механических сигналов, среди которых васкуляризация и остеointegrация имеют особое значение (Cao et al., 2014).

Вышеупомянутые проблемы привели к разработке многофункциональных и биоактивных скаффолдов, которые способствуют ангио- и остеогенезу. Введение определенных биологически активных молекул в структуру скаффолда ускоряет процесс заживления и регенерации кости, повышая концентрацию препарата в месте имплантации и снижая при этом системную токсичность (Bagherifard, 2017). Среди наиболее распространенных биоактивных агентов отмечают антибиотики, противовоспалительные препараты, ФР, цитокины, ферменты и другие белки, а также гены, кодирующие ФР, в составе плазмидных и вирусных векторов или стволовых клеток (Cao et al., 2014) (рис. 2). Успешность применения скаффолдов определяется их способностью корректировать собственные регуляторные механизмы, обеспечивающие адекватное протекание всех этапов восстановления кости. В этой связи в качестве биологически активных компонентов скаффолдов наиболее часто используются аналоги гуморальных и клеточных факторов, участвующих в репаративной регенерации костной ткани.

## МЕХАНИЗМ РЕГЕНЕРАЦИИ КОСТНОЙ ТКАНИ

Процесс регенерации кости можно разделить на четыре последовательных этапа. Первый этап начинается с образования гематомы, за которым следует воспалительная фаза удаления потенциальных антигенов и посторонних агентов (Stroncek, Reichert, 2008). Содержащиеся в гематоме лейкоциты выделяют ряд провоспалительных цитокинов, пик продукции которых происходит в первые 24 ч после травмы и завершается в течение 1 нед. Провоспалительные цитокины – фактор некроза опухоли-альфа (TNF- $\alpha$ ), интерлейкины (IL)-1, -6, -11 и -18, макрофагальный колониестимулирующий фактор (M-CSF) и трансформирующий ФР- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) стимулируют ангиогенез, выработку эндотелиального ФР (EGF), а также дифференцировку остеобластов и остеокластов. ММСК мигрируют в область перелома из окружающих мягких тканей, костного мозга и с током крови (Marsell, Einhorn, 2011). Сгусток крови постепенно

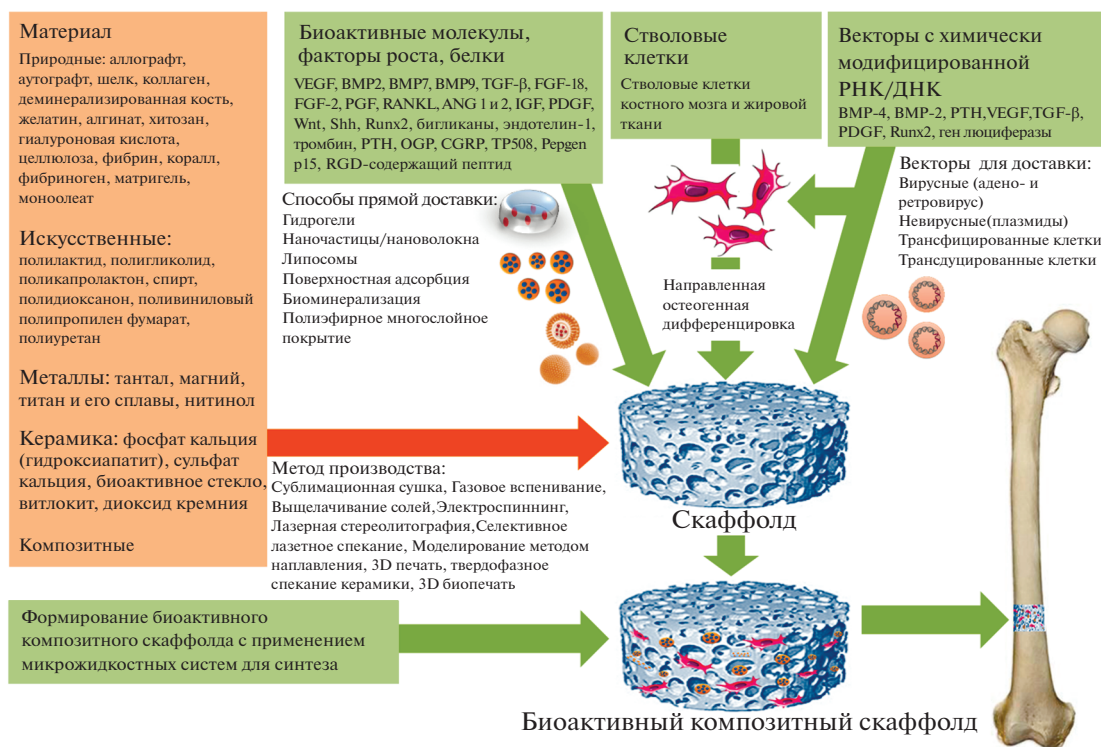


Рис. 2. Схема производства современных биоактивных композитных скаффолдов.

заменяется грануляционной тканью, решающую роль в этом процессе играют ФР эндотелия сосудов (VEGF) и ангиопоэтины (Baо et al., 2009). TGF-β, основной ФР фибробластов (FGF), тромбоцитарный ФР (PDGF, platelet-derived growth factor) и инсулиноподобный ФР-1 (IGF-1) способствуют образованию в грануляционной ткани первичной мозоли, состоящей из соединительной и хрящевой тканей (Marzona, Pavolini, 2009). Формирование мягкого каллуса происходит через 7–9 сут после травмы (Ogayan et al., 2014).

Третий этап характеризуется дальнейшей клеточной пролиферацией и дифференцировкой, уплотнением и минерализацией межклеточного матрикса (Ogayan et al., 2014). Происходит окостенение соединительнотканых (интрамембранозная оссификация) и хрящевых (энхондральное окостенение) элементов первичной мозоли, которая замещается твердым каллусом. Значительную роль в этом процессе играют белки семейства Wnt. В резорбции хряща принимают участие M-CSF, лиганд рецептора-активатора ядерного фактора каппа-В (RANKL), остеопротегерин и TNF-α (Ai-Aqi et al., 2008).

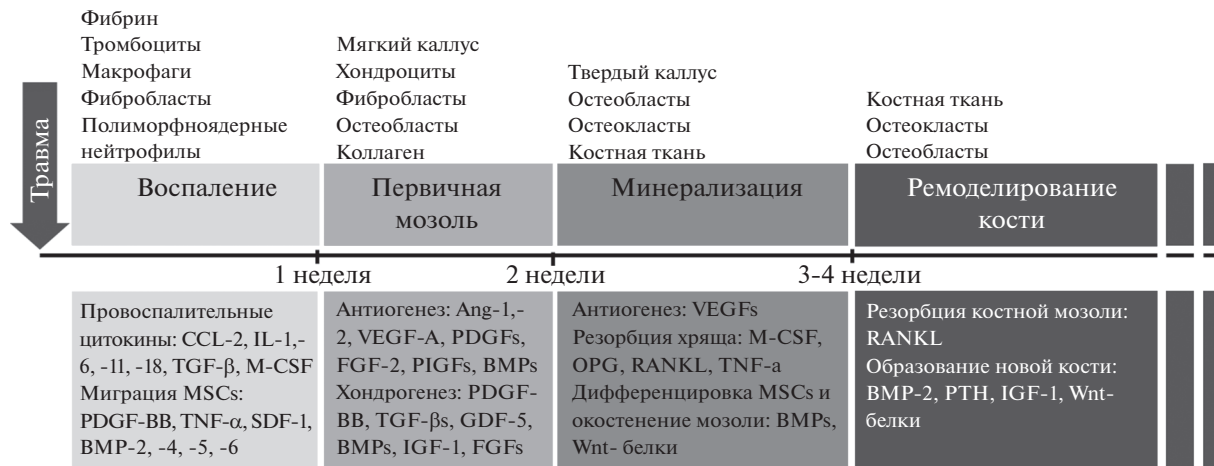
Конечной стадией заживления кости является фаза ремоделирования, когда M-CSF и RANKL опосредуют активность макрофагов и остеокластов для резорбции остатков твердых тел (Ai-Aqi et al., 2008). Эти фазы способствуют формированию полностью перестроенной кости, которая структурно и функционально подобна нативной кости. Процесс ремоделирова-

ния осуществляется при поддержании баланса резорбции остеокластами твердой костной мозоли и пластинчатым осаждением кости остеобластами. Этот процесс начинается уже на 3–4-й нед., однако может продолжаться годами до полной регенерации (Mohammadi et al., 2018) (рис. 3).

### ФАКТОРЫ, СТИМУЛИРУЮЩИЕ ОСТЕОГЕНЕЗ И ВАСКУЛЯРИЗАЦИЮ

Важность кровеносных сосудов в образовании скелета и в восстановлении кости определили еще в XVIII в. (Kanczler, Oreffo, 2008). Тем не менее, исследование остеогенеза в течение следующего столетия было сосредоточено в основном на роли и функции остеобластов. В 1963 г. Труерта с коллегами предположили существование сосудистого стимулирующего фактора, который высвобождается в области перелома (Kanczler, Oreffo, 2008). Более глубокое понимание молекулярных и клеточных процессов, организующих ангиогенный каскад, может помочь разработать новые методы лечения травмы костей, особенно в клинических ситуациях с ограниченной ангиогенной реакцией организма при больших дефектах костей или переломах с обширной травмой мягких тканей.

Ключевые факторы, необходимые для васкуляризации, включают в себя ФР эндотелия сосудов (VEGF, vascular endothelial growth factor), семейство трансформирующего ФР (TGF-β, BMP-2, BMP-7 и



**Рис. 3.** Цитокины и факторы роста, принимающие участие в различных этапах регенерации кости. RANKL – Лиганд рецептора-активатора ядерного фактора каппа-В, OPG – остеопротегерин, M-CSF – макрофагальный колониестимулирующий фактор, TNF- $\alpha$  – фактор некроза опухоли-альфа, IL – интерлейкин, TGF- $\beta$  – трансформирующий фактор роста- $\beta$ , IGF-1 – инсулиноподобный фактор роста-1, PIGF – плацентарный фактор роста, PTH – паратиреоидный гормон, SDF-1 – фактор стромальных клеток-1, VEGF – эндотелиальный фактор роста сосудов, BMP – костный морфогенетический белок, FGF – фактор роста фибробластов, PDGF – тромбоцитарный фактор роста, MSCs – мезенхимальные стволовые клетки, Wnt – семейство сигнальных белков, GDF – фактор роста и дифференцировки, Ang – ангиопоэтин, CCL – фактор хемотаксиса моноцитов семейства CC-хемокин.

BMP-9), FGF, плацентарный ФР (PIGF, placental growth factor), RANKL, ФР гепатоцитов (HGF, hepatocyte growth factor), PDGF, семейство инсулиноподобных факторов роста, ангиопоэтины (ANG 1 и 2, angiopoietin), библиканы, эндотелин-1 и нейротрофины (Kanczler, Oreffo, 2008; Pearlin et al., 2018) (табл. 1).

Важнейшим условием при разработке скаффолдов с контролируемой системой доставки является выбор одного или более ФР для максимального улучшения регенерации костной ткани. В табл. 1 представлены основные ФР и другие белки, принимающие участие в регенерации кости. Подробный обзор вклада различных ФР можно найти в обзоре Каналис с соавторами (Canalis et al., 1993).

Различные ФР изучены в доклинических и клинических испытаниях (Mohammadi et al., 2018). Члены семейства трансформирующего ФР (TGF- $\beta$ , активины, факторы дифференцировки роста, BMP и их различные изоформы) играют важную роль в эмбриональном развитии, морфогенезе, пролиферации и дифференцировке клеток (Vo et al., 2012). Известно, что TGF- $\beta$  влияет на метаболизм остеопрогениторных клеток, модулирует воспалительный ответ и способствует ангиогенезу (Kim et al., 2005). IGF способствует пролиферации, минерализации и миграции остеопрогениторных клеток (Matsuda et al., 1992).

Семейство BMP, в частности BMP-2, BMP-4 и BMP-7, являются наиболее широко изученными остеогенными молекулами для индукции образования кости *de novo*, включая дефекты трубчатых костей критического размера (Vo et al., 2012). Есть данные, свидетельствующие о том, что применение BMP на различных моделях костных дефектов у жи-

вотных приводит к увеличению в 1.2–50 раз костной массы и улучшению регенерации (Gothard et al., 2014). FDA одобрило использование BMP-2 при острых открытых переломах большеберцовой кости, поскольку большие многоцентровые рандомизированные исследования подтвердили его эффективность при переломах длинных трубчатых костей (Mohammadi et al., 2018). Продолжительное высвобождение BMP-2 способствует клеточной инфильтрации скаффолда и соответственно остеогенезу (Bagherifard, 2017). Исследования подтвердили зависимость регенерации от типа доставки и дозы BMP-2. Кроме того, BMP-2 стимулирует ангиогенез, что также в значительной степени увеличивает скорость заживления кости (Bagherifard, 2017) (табл. 2).

Ангиогенез регулируется в основном такими ФР, как VEGF, PDGF, FGF и IGF. Исследования ангиогенных факторов для стимуляции регенерации костной ткани в основном фокусировались на роли VEGF в васкуляризации и миграции остеогенных клеток. Показано, что адресная доставка VEGF в область дефекта увеличивает плотность кровеносных сосудов и стимулирует регенерацию кости у кроликов и крыс (Vo et al., 2012). Недавние исследования показали, что комбинированная доставка VEGF с остеоиндуктивными ФР синергически усиливает остеогенез (Vo et al., 2012).

В табл. 2 представлены результаты исследований применения различных ФР в биоактивных композитных скаффолдах *in vivo* при больших дефектах длинных трубчатых костей у животных и человека. В последние годы выявлены новые ангиогенные факторы, которые секретируются остеобластами. Так,

**Таблица 1.** ФР и белки, принимающие участие в регенерации костей

ФР и белки	Миграция ММСК	Рост и пролиферация ММСК	Остеогенная дифференцировка ММСК	Синтез матрикса	Ангиогенез	Индукция VEGF	Литературный источник
EGF		+		+	+		D'Mello et al., 2017
PDGF-BB	+	+		+	+	+	Nyberg et al., 2016; D'Mello et al., 2017
TGF-β		+	+	+	+	+	То же
BMP	+	+	+		+	+	»
VEGF	+	+	+		+		»
FGF			+	+	+	+	»
Активин		+		+			D'Mello et al., 2017
IGF-1		+	+	+	+	+	Nyberg et al., 2016; D'Mello et al., 2017
Wnt			+				D'Mello et al., 2017
Runx2		+	+				Pearlin et al., 2018
Ангиопоэтин 1 и 2			+		+		Stegen et al., 2015
TNF-α	+		+				Vo et al., 2012
Интерлейкин 1 и 6	+		+				То же
Интерферон-γ	+		+				»
Простагландины	+		+				»
PTH		+	+		+		»
Тромбин (TP508)	+	+			+	+	Pountos et al., 2016
OGP		+	+	+	+		То же
CGRP		+	+		+		»
Peripen p15	+	+	+	+			»
RGD-содержащий пептид	+	+	+				»

идентифицирован фактор DJ-1, продуцируемый ММСК человека (Kim et al., 2012), который индуцирует прямой ангиогенный ответ посредством активации FGF и косвенно регулирует ангиогенез путем повышения продукции VEGF остеобластами. Кроме того, DJ-1 стимулирует дифференцировку ММСК, а экзогенное введение DJ-1 улучшает регенерацию костных дефектов у грызунов.

Провоспалительные цитокины и ФР, включая TNF-α, IL, интерферон-γ и простагландины, стимулируют миграцию и дифференциацию остеобластов и остеокластов (Vo et al., 2012). Кроме того, их высвобождение активирует вторичный сигнальный каскад, необходимый для усиления ангиогенеза и восстановления кости. Для направленного прорегенеративного и прорезорбтивного действия воспалительных агентов, ряд исследователей предлагают также включать в скаффолды контролируемое высвобождение иммуномодулирующих и противовос-

палительных агентов, таких как пептидные факторы, кортикостероиды и нестероидные противовоспалительные препараты (Vo et al., 2012) (табл. 2).

Поскольку повреждение кости связано с системным физиологическим ответом, важная роль в остеогенезе и ангиогенезе принадлежит системным регуляторам минерального обмена, таким как паратиреоидный гормон (ПТГ), гормон роста, стероиды, кальцитонин и витамин Д (Vo et al., 2012). Хотя механизм их влияния на остеогенную активность не изучен полностью, исследования показали, что периодическое действие ПТГ может стимулировать образование костей у крыс и людей. Введение кальцитонина и витамина Д также может усиливать ограниченное формирование кости и дифференцировку остеобластов (Vo et al., 2012).

Несмотря на явный потенциал и наличие методов, позволяющих производить факторы роста высокой чистоты в больших количествах, их применение

**Таблица 2.** Применение биоактивных композитных скаффолдов с прямой доставкой ФР при большом дефекте длинных трубчатых костей

Биоактивный материал (БМ)	Скаффолд	Модель	Результаты использования БМ	Литературный источник
ВМР-2	Коллаген	Крыса	Большая площадь новой кости и улучшенные результаты механических испытаний	Tölli et al., 2011
	Желатин–ТКФ	Лошадь	Ускоренная регенерация кости	Tsuzuki et al., 2012
	Коллаген	Мышь	БМ важен на ранних этапах регенерации, индуцируя пролиферацию и дифференцировку ММСК в хрящевую и костную ткань	Yu et al., 2010
	Альгинат	Крыса	Функциональные осевые нагрузки и БМ увеличивают объем кости в пределах дефекта	Boerckel et al., 2012
	ПЛГК	Овца	Лечение больших сегментных дефектов костей	Kirker-Head et al., 1998
	ПЛГК–желатин	Собака	Потенциальный костный трансплантат у собак	Itoh et al., 1998
	Коллаген	Кролик	БМ ускоряет скорость развития костной мозоли и коркового слоя, но не влияет на количество продуцируемой кости и хряща	Bax et al., 1999
	Хитозан–ПЛГК	»	Раннее формирование кости со значительно улучшенной прочностью.	Jiang et al., 2010
	ПКЛ–ТКФ	Овца	Ускоренное формирование кости, но структурные свойства аналогичны скаффолдам без БМ	Cipitria et al., 2015
	Коллаген или желатин–ПКЛ или ПЛГК	Кролик	Результаты регенерации лучше при долгосрочном высвобождении БМ (до 4 нед). Быстрая доставка БМ приводит к тяжелому воспалительному ответу	Shim et al., 2014
	Титан–гепарин или апатит	Крыса	Усиление горизонтального и вертикального образования кости. Наличие БМ не влияет на контакт кости с имплантом	Ishibe et al., 2009
	ППФ–ТКФ	»	Улучшает регенерацию кости	Chu et al., 2007
	Хитозан	Кролик	Применение БМ значительно увеличивает васкуляризацию с полным восстановлением через 12 нед	Cao et al., 2014
	Альгинат	Крыса	Применение окисленного альгината для доставки БМ значительно повышает минеральную плотность костей через 8 нед и предполагает наличие более зрелой кости через 12 нед	Priddy et al., 2014
	Коллаген–хитозан	Кролик	Перспективный носитель БМ при лечении дефектов костей	Hou et al., 2012
	ПЭГ	»	Результаты лечения в группе БМ через 12 нед намного лучше, чем в контрольной	Yang et al., 2013a
	Коллаген	Человек	Усиление заживления раны и сращения перелома	Govender et al., 2002
	Коллаген	»	Сокращение времени операции и снижение в 1.4 раза интраоперационной кровопотери	Tressler et al., 2011

Таблица 2. Продолжение

Биоактивный материал (БМ)	Скаффолд	Модель	Результаты использования БМ	Литературный источник
	Аллографт–коллаген	»	БМ безопасен и эффективен аналогично традиционной аутотрансплантации	Jones et al., 2006
	Коллаген	»	БМ при открытых переломах снижает частоту трансплантации кости и вторичных вмешательств. Доказана клиническая эффективность применения скаффолда для лечения тяжелых открытых переломов	Swiontkowski et al., 2006
	ПМК–пара-Д-ПЭГ	Собака	В группе с БМ через 12 нед восстановлены дефекты костей	Murakami et al., 2003
ВМР-7	Альгинат–хитозан–ДП-Г-ФХ	Кролик	Локальное контролируемое высвобождение, остеогенность и биосовместимость сводят к минимуму терапевтические дозы БМ и ускоряют дистракционный остеогенез	Haidar et al., 2010
	Коллаген	Обезьяна	Возможная альтернатива аллотрансплантации, устраняющая осложнения, связанные с забором аутокости, и риск заражения	Cook et al., 2002
		Собака	Увеличение образования костной ткани в 1.5 раза	Takigami et al., 2007
		Коза	Увеличение образования костной ткани в 1.25 раза	Blokhuys et al., 2001
	Ауто- и аллографт	Собака	Увеличение образования костной ткани в 8.3 раза	Salkeld et al., 2001
	Коллаген	Крыса	Улучшение регенерации дефектов кости в 29.5 раза	Kidder et al., 2009
		Крыса	БМ сохраняет остеоиндуктивную способность при инфицированном сегментарном дефекте	Chen et al., 2002
		Человек	В группе с БМ отмечено значительное ускорение образование новой кости, что подтвердило остеогенную активность ОР-1	Geesink et al., 1999
		»	Скаффолд с БМ – безопасное и эффективное средство при несращенном переломе большеберцовой кости. Результаты сопоставимы с аутотрансплантацией	Friedlaender et al., 2001
	Аутографт	»	Добавление БМ к аутотрансплантату приводит к регенерации несрастающихся переломов в 100% случаев	Giannoudis et al., 2009
	Коллаген	»	Стоимость лечения несрастающихся переломов можно уменьшить ранним применением БМ в случае сложного перелома или ложного сустава	Dahabreh et al., 2007
		Собака	Аллогенный коллагеновый трансплантат в сочетании с БМ – эффективная замена аутотрансплантату	Fukuroku et al., 2007
		Коза	Локальное введение БМ на любом носителе ускоряет регенерацию закрытого перелома	den Boer et al., 2002



Таблица 2. Продолжение

Биоактивный материал (БМ)	Скаффолд	Модель	Результаты использования БМ	Литературный источник
	ПКЛ–ТКФ	Овца	Результаты трансплантации эквивалентны аутотрансплантации или высокой дозе БМ	Cipitria et al., 2013
	Коллаген	Человек	БМ ускоряет сращение переломов большеберцовой кости в условиях внешней фиксации	Ristiniemi et al., 2007
VEGF	ПМК	Мышь	Увеличение образования костной ткани в 1.65 раза. Повышение васкуляризации	Kanczler et al., 2008b
FGF	Нейлон-титан	»	Увеличение процентного объема кости в 5 раз	Carli et al., 2012
PDGF	Коллаген	Крыса	Увеличение регенерация дефекта в 2.4–9 раз, объема кости – в 1.9–2.4 раза	Moore et al., 2009
BMP-2 + VEGF	ППФ/желатин–ПЛГК	»	Эктопическое формирование костной ткани и отсутствие значимого синергетического эффекта от VEGF	Kempen et al., 2009
BMP-2 + TGF- $\beta$	Титан–ПВБФ–со-ГМ	Кролик	Улучшенная способность к остеоинтеграции	Thorey et al., 2011
BMP-2 + TGF- $\beta$	ПЛГК–АГАК–альгинат	Крыса	Неполное сращение и образование плотной минерализованной матрицы с достаточной интеграцией и механической прочностью по сравнению с контролем	Oest et al., 2007
BMP-2 + FGF	Желатин	»	Стимуляция регенерации кости для BMP-2, тогда как bFGF не влиял на скорость регенерации. Совместное применение БМ тормозило остеогенез в условиях данного эксперимента	Wang et al., 2013b
BMP-2 + FGF	Пористый титан–желатин	»	Включение в пористый титановый скаффолд наноструктурированных коллоидных желатиновых гелей, позволяющих осуществлять время- и дозозависимую доставку BMP-2 и FGF-2, является многообещающей стратегией улучшения регенерации больших дефектов костей	van der Stok et al., 2013
BMP-7 + PDGF	биостекло–шелк	»	Увеличение объема костей в области дефекта в 2 раза	Zhang et al., 2012
BMP-7 + PDGF	ПКЛ–ТКФ	Овца	Скаффолды без ММСК и с их включением показали меньшую остеоиндуктивность по сравнению с аутотрансплантатами БМ. <i>In vivo</i> применение БМ позволяет преодолеть ограничения аутотрансплантата	Reichert et al., 2012
BMP-7 + PTH	ТКФ	Кролик	Комбинация ФР приводит к увеличению объема кости, а также лучшей микроструктурной организации и интеграции этой кости с окружающими тканями	Morgan et al., 2008
TGF- $\beta$ + PDGF	ПЛГК	»	Увеличение образования костной ткани в 10 раз	Reyes et al., 2012

Таблица 2. Окончание

Биоактивный материал (БМ)	Скаффолд	Модель	Результаты использования БМ	Литературный источник
ВМР-2 + тобрамицин	Коллаген	Крыса	Площадь кости <i>in vivo</i> увеличена почти на 20% по сравнению с группой ВМР-2 + тобрамицин	Glatt et al., 2009
ОГР	ПЛГК	Кролик	Повышение скорости формирования и объема кости	Shuqiang et al., 2008
ТР508	ППФ	»	Улучшенная регенерация кости	Hedberg et al., 2005
	ППФ–ПЛГК	»	Инъекция БМ значительно улучшает процесс консолидации кости в модели distractionного остеогенеза. Доставка БМ в микрочастицах ППФ–ПЛГК улучшает качество костного образования по сравнению с доставкой в солевом растворе	Wang et al., 2008
Биологически активный белок Р-15	ГАП + коллаген	Крыса	Имплантация неорганического костного матрикса с БМ оказывает положительное влияние на заживление костей, без иммунной реакции и риска инфицирования, в отличие от алло- и аутотрансплантации	Cakmak et al., 2006
		Человек	Полная консолидация переломов достигнута в 90% случаев. Применение неорганического костного матрикса с БМ – безопасная, экономичная и клинически полезная альтернатива аутотрансплантату	Gomar et al., 2007

Примечание. АГАК – Аргининглицинаспарагиновая кислота, ГАП – гидроксиапатит, ГК – гиалуроновая кислота, ДП-Г-ФХ – 1,2-дипальмитоил-Sn-глицеро-3-фосфохолин, КМЦ – карбоксиметилцеллюлоза, пара-Д-ПЭГ – пара-диоксанон-полиэтиленгликоль, ПВБФ-со-ГМ – поливинилбензола фосфонат-со-глицидилметакрилат, ПКЛ – поликапролактон, ПЛГК – полилактокогликолевая кислота, ПМК – полимолочная кислота, ППФ – полипропилен фумарат, ПЭГ – полиэтиленгликоль, ТКФ – трикальций-фосфат, ФС – фосфатидилсерин, ТР508 – пептид тромбина 508.

ние при лечении переломов костей все еще значительно ограничено. Системное введение ФР малоэффективно и может представлять опасность из-за нестабильности белка, неравномерного распределения *in vivo* и возможных нежелательных побочных эффектов. Требуется тщательное дозирование ФР, поскольку высокая доза и неконтролируемое высвобождение могут приводить к аномальному формированию костей и сосудов, фиброзу костного мозга, остеолиту, почечной недостаточности и экстрамедуллярному гемопоэзу (Кузнецова и др., 2014; Stegen et al., 2015; Bagherifard, 2017). Кроме того, при системном введении существует теоретическая опасность стимуляции канцерогенеза (Pountos et al., 2016).

Для разработки оптимального скаффолда требуются сохранение биоактивности ФР и контролируемое их высвобождение локально в оптимальной концентрации в течение необходимого периода времени (Кузнецова и др., 2014). Предложены различные стратегии доставки ФР в скаффолд. Возможно прямое включение за счет ковалентного или нековалентного связывания с полимером скаффолда или доставка с обогащенной тромбоцитами плазмой

(PRP, platelet rich plasma), однако данный метод не позволяет контролировать процесс высвобождения ФР (Luginbuehl et al., 2004).

Возможно включение в состав скаффолда микрочастиц (микросферы, липосомы, гидрогели, наночастицы и нановолокна) (Luginbuehl et al., 2004), которые позволяют регулировать скорость резорбции. Однако есть ограничения при обработке скаффолдов, т.к. растворители и высокая температура разрушают микрочастицы.

Одним из подходов, который отвечает основным требованиям, необходимым для регенерации костей (остеокондуктивность и остеоиндуктивность), является использование скаффолдов, содержащих различные остеогенные клетки. Проведены успешные исследования биоактивных скаффолдов с добавленными *in vitro* культурами эндотелиальных клеток и ММСК (Park et al., 2012; Wang et al., 2013a). Показано, что ММСК модулируют иммунный ответ за счет секреции противовоспалительных цитокинов, таких как простагландины, оксид азота и IL-10, и подавления Т-клеточного ответа (Almubarak et al., 2016).

Методы тканевой инженерии позволяют использовать как соматические, так и стволовые клетки (D'Mello et al., 2017). В отличие от стволовых, соматические клетки обладают ограниченной потенциальностью, не обладают способностью к самообновлению и образуют только один тип клеток. В результате большая часть исследований сосредоточена на использовании ММСК, которые получают из жировой ткани, костного мозга, пуповины и зубов (зубная пульпа и периодонтальные связки). Эти клетки способны дифференцироваться в клетки костной ткани под влиянием соответствующих стимулов. Генетически модифицированные ММСК можно культивировать для получения различных комбинаций ФР, таких как FGF и VEGF, BMP-2 и BMP-7, а также VEGF и BMP-4 (D'Mello et al., 2017).

Проведены исследования различных материалов для культивирования клеток. При применении скаффолдов на основе фосфатов, гидроксиапатита и демиелинизированной кости наблюдали лучшие результаты по сравнению с бычьей губчатой костью (Huan, Chang, 2009; Verboket et al., 2018). Максимальный рост клеток и остеогенную дифференцировку отмечали при использовании демиелинизированной кости (Huan, Chang, 2009).

Появление 3D-печати позволило значительно расширить возможности включения в состав полимерных и керамических скаффолдов различных материалов, выступающих в качестве носителей биологически активных веществ. В 2017 г. Донг с соавторами методом 3D-печати получили скаффолд из поликапролактона в сочетании с чувствительными к температуре гидрогелем на основе хитозана и ФР (BMP-2) (Dong et al., 2017). При его трансплантации отмечали более высокую степень пролиферации, улучшенную адгезию ММСК, более эффективный остеогенез и формирование костной матрицы.

Еще одним активно изучаемым материалом стало биоактивное боратное стекло из-за его способности усиливать ангиогенез. Скаффолд из 3D-биоактивного стекла в сочетании с поликапролактоном, заселенный ММСК из жировой ткани, показал потенциальное улучшение остеогенеза *in vitro* (Murphy et al., 2017). Добавление мезопористого биологически активного стекла в скаффолд также привело к повышенной пролиферации костных стволовых клеток, адгезии, экспрессии остеогенных маркеров и увеличению образования костной ткани после трансплантации *in vivo* (Qi et al., 2017).

Несмотря на значительное количество успешных доклинических исследований применения ММСК в регенерации кости (табл. 3), существует ряд проблем, ограничивающих дальнейший переход в клинику: низкая выживаемость после имплантации, высокая стоимость культивирования, риск малигнизации и этические проблемы (Vo et al., 2012; Mohammadi et al., 2018). Чтобы увеличить продолжительность жизни клеток, которая напрямую зависит

от васкуляризации, предложены методы совместной трансплантации ММСК с ангиогенными клетками, такими как эндотелиальные стволовые клетки (Zigdon-Giladi et al., 2015). Для получения достаточного количества клеток требуется несколько недель, что значительно увеличивает срок до проведения операции по замещению дефекта кости. Имеются свидетельства того, что в ходе этого процесса ММСК могут накапливать генетические мутации (Verboket et al., 2018).

## ГЕННОАКТИВИРОВАННЫЕ СКАФФОЛДЫ

Генная терапия позволяет осуществлять доставку необходимых для регенерации кости ФР и других белков посредством переноса нуклеиновых кислот в соматические клетки. Преимущество не прямой доставки заключается в том, что соответствующие концентрации остеогенных ФР стабильно создаются в конкретном участке. Показана возможность использования различных векторов для не прямой доставки ФР, таких как генетически модифицированные клетки или векторы с химически модифицированной РНК/ДНК (вирусные и невирусные), для естественного высвобождения ФР (Wang, Wang, 2006). Существуют две основные стратегии генной терапии для регенерации костной ткани. Как обсуждалось ранее, генная терапия на основе клеток включает в себя введение в организм генетически модифицированных клеток, несущих терапевтические гены. Более простой подход заключается в использовании прямой генной терапии, при которой терапевтические гены доставляются в организм с помощью вирусных или невирусных векторов. Эффективность прямой генной терапии для восстановления кости продемонстрирована с различными векторами на разных видах животных (табл. 3).

Необходимым фактором генной терапии является разработка систем доставки, способных преодолеть клеточные барьеры для эффективной трансфекции клеток *in vivo* (Malafaya et al., 2007). Вирусные и невирусные векторы имеют определенные недостатки. Вирусопосредованная доставка использует внутреннюю инфекционную способность аденовирусов, адено-ассоциированных вирусов (AAV) и ретровирусов, таких как лентивирус, для эффективной доставки генов (Vo et al., 2012). Вирусные векторы обладают иммунологическими рисками, ограниченным тропизмом и ограничением на размер введенного трансгена (Vo et al., 2012). Контролируемая доставка генов с использованием невирусных векторов включает в себя доставку ДНК в клетки либо напрямую, инъекцией, либо в натуральных или синтетических полимерных комплексах – липосомах (Vo et al., 2012). Эффективность невирусных систем трансфекции и соответственно уровень экспрессии трансгена низкие. С другой стороны, они обладают небольшой иммуногенностью, не имеют ограничений по размеру генов и просты в обращении

**Таблица 3.** Применение биоактивных композитных скаффолдов с непрямой доставкой ФР вирусными и невирусными векторами и стволовыми клетками *in vivo* при большом дефекте длинных трубчатых костей

Биоактивный материал (БМ)	Скаффолд	Модель	Результаты использования БМ	Литературный источник
BMP-2 (pDNA)	Коллаген + ТКФ	Крыса	Улучшение регенерации костной ткани, снижение дозы плазмидной ДНК	Endo et al., 2006
VEGF (pDNA)	Коллаген	Кролик	Улучшение образования костей и сосудов через 12 нед	Geiger et al., 2005
VEGF (pDNA)	Коллаген–ТКФ	Мышь	Проведение трансфекции без дополнительных векторов и формирование кости	Keeney et al., 2010
PTH и (или) BMP-4 (pDNA)	Коллаген	Крыса	Исследование демонстрирует, что можно генетически управлять восстановлением фибробластов кости <i>in vivo</i>	Fang et al., 1996
PTH 1–34 (pDNA)	»	Собака	Имплантация ген-активированной матрицы в область дефекта позволяет осуществлять экспрессию плазмидной ДНК не менее 6 нед, и стабильно, воспроизводимо, время- и дозозависимо повышать регенерацию кости	Bonadio et al., 1999
BMP-7 + PDGF (аденовирус)	Биостекло–шелк	Крыса	Исследование демонстрирует потенциальную способность генной терапии повышать остеоиндуктивность за счет замедленного высвобождения БМ, что может быть особенно полезно при переломах на фоне остеопороза	Zhang et al., 2012
BMP-7 (ММСК)	Коралл	Коза	Увеличение образования костной ткани в 2.5 раза	Zhu et al., 2010
VEGF (ММСК)	»	Кролик	В группах с доставкой VEGF прямым способом и VEGF-трансфицированными ММСК отмечена усиленная васкуляризация, остеогенез и резорбция скаффолда по сравнению с контрольной группой. Наибольшую степень остеогенеза отмечали в группе с ММСК костного мозга, а самую высокую васкуляризацию и быструю резорбцию скаффолда – в группе с VEGF-трансфицированными ММСК	Geiger et al., 2007
FGF-2 (ММСК)	ТКФ	»	Применение FGF-трансфицированных ММСК может ускорить регенерацию кости, особенно при атрофических ложных суставах.	Guo et al., 2006
ММСК костного мозга	ПКЛ	Овца	Доказана возможность заселения ПКЛ-скаффолда аутологичными ММСК	Rodrigues et al., 2011
	Биостекло–коллаген–ГК–ФС	Крыса	Скаффолд биосовместим и остеокондуктивен, включение трансплантированных ММСК усиливает регенерацию дефекта кости	Xu et al., 2010
	ПМК–ПКЛ	Мышь	Усиление роста костной ткани в группе с ММСК костного мозга по сравнению с группой носителей скаффолда без клеток и контрольной группой	Khan et al., 2010
	ПЛГК–ГАП	Кролик	Через 12 нед дефекты кости полностью восстановились со значительно лучшим образованием кости в группе ММСК костного мозга, засеянных на скаффолд ПЛГК–ГАП. Применение ГАП значительно улучшает жизнеспособность и скорость пролиферации клеток на ПЛГК-скаффолдах	Wang et al., 2013a

Таблица 3. Окончание

Биоактивный материал (БМ)	Скаффолд	Модель	Результаты использования БМ	Литературный источник
ММСК костного мозга + VEGF + PDGF	Гелевая мембрана PRP	»	Усиление регенерации костной ткани	El Backly et al., 2013
ММСК жировой ткани	ПЛГК	Крыса	Восстановление дефекта большеберцовой кости ускоряется	Park et al., 2012
	ТКФ-коллаген	Кролик	Усиление остеогенеза в дефектах кости	Yang et al., 2013b
	Коллаген-ПЛГК-ТКФ	»	Улучшение остеогенеза	Hao et al., 2010

Примечание. ГАП – Гидроксиапатит, ПКЛ – поликапролактон, ПЛГК – полилактидогликолевая кислота, ПМК – полимолочная кислота, ППФ – полипропиленфумарат, ТКФ – трикальций-фосфат, ФС – фосфатидилсерин.

нии, что делает их пригодными для массового производства.

Имплантированные скаффолды с генноактивной матрицей в своем составе облегчают экспрессию генов и производство белка в течение длительного периода времени, тем самым стимулируя остеогенез и восстановление кости (Fang et al., 1996; Bonadio et al., 1999; Geiger et al., 2005; Endo et al., 2006; Keeney et al., 2010; Zhang et al., 2012). Локализованная генная терапия снижает системную токсичность, возникающую в результате демпинга дозы, который может возникать при прямой доставке ФР (D'Mello et al., 2017). Производить *in vitro* плазмидную ДНК в больших количествах относительно просто и экономично по сравнению с производством белка (D'Mello et al., 2017). Однако отсутствие доклинических испытаний на крупных животных вследствие высокой стоимости и трудоемкости производства оставляет серьезным барьером для клинических исследований. Кроме того, не исключена пока токсичность самих частиц для человека. Таким образом, необходимы дополнительные исследования для оценки иммунных и воспалительных реакций, возникающих при имплантации скаффолдов, содержащих плазмиды.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Развитие тканевой инженерии способствует появлению альтернативных подходов к восстановлению костной ткани, которые потенциально могут повлиять на повседневную клиническую практику. Представленные данные литературы позволяют заключить, что на сегодняшний день методы тканевой инженерии позволяют создавать скаффолды, которые не уступают, а по ряду характеристик и превосходят ауто- и аллотрансплантаты костной ткани.

Эволюция скаффолдов для стимуляции регенерации костной ткани характеризуется постепенным смещением акцентов от оптимальных биомеханических и остеоиндуктивных характеристик у недегра-

дируемых имплантатов к биорезорбции и остеиндуктивным свойствам, позволяющим активировать естественные репаративные процессы костей. Современные скаффолды для костной ткани являются многокомпонентными трехмерными системами, сочетающими высокую биомеханическую прочность, оптимальную геометрию, включая большое соотношение площади поверхности к объему, с биосовместимостью и способностью к биорезорбции с определенной скоростью. Изготовление таких скаффолдов требует иерархического проектирования от нано- до микроструктурного уровня для имитации костной матрицы и создания платформ, которые можно было бы фиксировать в зоне дефекта. Сочетание нанотехнологий с другими технологиями производства, такими как компьютерные методы изготовления и биообработки материала, обеспечивает возможность создания скаффолдов, обладающих требуемыми физико-химическими свойствами, из неорганических, природных и синтетических материалов в различных конфигурациях.

Характерным признаком современного этапа развития технологий получения скаффолдов является использование разнообразных биологически активных компонентов. Результаты исследований физиологических и репаративных механизмов остеогенеза позволяют выделить ряд ключевых регуляторов для использования при создании скаффолдов. Кроме того, следует отметить, что в рамках данного направления уже в течение многих лет разрабатывается концепция терапевтического ангиогенеза. Как обсуждалось в настоящем обзоре, доклинические данные указывают на то, что локальная доставка ангиогенных ФР коррелирует с положительным результатом регенерации костей. На сегодняшний день среди ангиогенных и остеогенных факторов роста наиболее часто в состав скаффолдов включаются молекулы семейств BMP, VEGF и FGF. Вместе с тем исследование других факторов, обеспечивающих функциональные взаимосвязи ангио- и остеогенеза, в том числе цитокинов и микроРНК, может помочь

в разработке новых методов лечения, а идентификация наиболее эффективного фактора или комбинаций факторов роста и их профилей высвобождения в разных дефектах костей может повысить остеогенность *in vivo*.

Идеальный скаффолд для поддержания роста кости должен обеспечивать устойчивое высвобождение ФР и ангиогенных факторов. В литературе имеется целый комплекс современных исследований технологий адресной доставки биологически активных веществ скаффолдами, которые посвящены решению проблем, связанных с пространственно-временным высвобождением ФР, долговечностью, биоактивностью и кинетикой их высвобождения. Данные литературы свидетельствуют о том, что использование композитных скаффолдов, содержащих различные биоматериалы, гидрогели и полимеры, позволяет осуществлять успешную доставку и долгосрочную активность ФР.

Альтернативным вариантом создания высоких концентраций ФР в зоне имплантации скаффолдов является генная терапия с использованием вирусных/невирусных векторов и стволовых клеток. Эффективность генной терапии продемонстрирована с различными векторами на различных животных моделях, что обуславливает перспективы ее использования для доставки ФР *in vivo*. Однако использование технологий генной терапии требует дальнейшего поиска более безопасных и эффективных средств доставки, а также новых остеогенных генов. Применение стволовых клеток, в том числе предварительно дифференцированных популяций остеогенных клеток, повышает терапевтическую эффективность скаффолдов. Данные ряда авторов демонстрируют хорошие результаты применения биоактивных скаффолдов с генетически модифицированными ММСК (продуцирующими различные комбинации ФР) для стимуляции регенерации костной ткани в эксперименте (Park et al., 2012; Wang et al., 2013a; D'Mello et al., 2017). Дальнейшее понимание механизмов формирования костей при использовании различных видов клеток и идентификация новых источников клеток позволят усовершенствовать технологии регенерации костной ткани.

Разработки в области тканевой инженерии имеют многочисленные ограничения, некоторые из которых уже решаются к этому времени, а многие другие еще должны быть решены. Ожидается, что тенденции в развитии генной инженерии, связанные с использованием новаторских технологий производства соответствующих платформ для создания комбинированных биоактивных скаффолдов, позволят значительно снизить финансовое и социальное бремя болезней, уменьшить частоту хирургических осложнений, сократить время госпитализации, минимизировать цитотоксичность и побочное действие, обеспечивая своевременное индивидуальное

лечение. Наиболее перспективные результаты могут быть достигнуты при разработке мультидисциплинарных подходов, которые интегрируют биологические и инженерные разработки в тесном сотрудничестве с материаловедами, клиницистами и инженерами.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Иванов А.Н., Козадаев М.Н., Пучиньян Д.М., Сальковский Ю.Е., Норкин И.А. 2015. Изменения микроциркуляции при стимуляции регенерации тканей скаффолдом на основе поликапролактона. Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 14 : 70–75. (Ivanov A.N., Kozadaev M.N., Puchin'yan D.M., Sal'kovskii Yu.E., Norkin I.A. 2015. Microcirculatory changes during stimulation of tissue regeneration by polycaprolactone scaffold. Regional Haemodynamics and Microcirculation. 14 : 70–75.)
- Кузнецова Д.С., Тимашев П.С., Баграташвили В.Н., Загайнова Е.В. 2014. Костные имплантаты на основе скаффолдов и клеточных систем в тканевой инженерии (обзор). Современные технологии в медицине. 6 : 201–212. (Kuznetsova D.S., Timashev P.S., Bagratashvili V.N., Zagainova Ye.V. 2014. Scaffold- and cell system-based bone grafts in tissue engineering (review). Modern technologies in Medicine. 6 : 201–212.)
- Ai-Aql Z.S., Alagl A.S., Graves D.T., Gerstenfeld L.C., Einhorn T.A. 2008. Molecular mechanisms controlling bone formation during fracture healing and distraction osteogenesis. J. Dent. Res. 87 : 107–118.
- Almubarak S., Nethercott H., Freeberg M., Beaudon C., Jha A., Jackson W., Marcucio R., Miclau T., Healy K., Bahney C. 2016. Tissue engineering strategies for promoting vascularized bone regeneration. Bone. 83 : 197–209.
- Bagherifard S. 2017. Mediating bone regeneration by means of drug eluting implants: from passive to smart strategies. Mater. Sci. Eng. C. Mater. Biol. Appl. 71 : 1241–1252.
- Bao P., Kodra A., Tomic-Canic M., Golinko M. S., Ehrlich H. P., Brem H. 2009. The role of vascular endothelial growth factor in wound healing. J. Surg. Res. 153 : 347–358.
- Bax B.E., Wozney J.M., Ashhurst D.E. 1999. Bone morphogenetic protein-2 increases the rate of callus formation after fracture of the rabbit tibia. Calcified tissue international. 65 : 83–89.
- Blokhuis T.J., den Boer F.C., Bramer J.A., Jenner J.M., Bakker F.C., Patka P., Haarman H.J. 2001. Biomechanical and histological aspects of fracture healing, stimulated with osteogenic protein-1. Biomaterials. 22 : 725–730.
- Boerckel J.D., Kolambkar Y.M., Stevens H.Y., Lin A.S.P., Dupont K.M., Goldberg R.E. 2012. Effects of *in vivo* mechanical loading on large bone defect regeneration. J. Orthop. Res. 30 : 1067–1075.
- Bonadio J., Smiley E., Patil P., Goldstein S. 1999. Localized, direct plasmid gene delivery *in vivo*: prolonged therapy results in reproducible tissue regeneration. Nature Medicine. 5 : 753–759.
- Bose S., Roy M., Bandyopadhyay A. 2012. Recent advances in bone tissue engineering scaffolds. Trends in Biotechnol. 30 : 546–554.

- Cakmak G., Bolukbasi S., Simsek A., Erdem O., Yilmaz G., Senkoylu A.* 2006. Effect of synthetic cell-binding peptide on the healing of cortical segmental bone defects. *Saudi Med. J.* 27 : 777–780.
- Canalis E., Pash J., Varghese S.* 1993. Skeletal growth factors. *Critical Reviews in Eukaryotic Gene Expression.* 3 : 155–166.
- Cao L., Wang J., Hou J., Xing W., Liu C.* 2014. Vascularization and bone regeneration in a critical sized defect using 2-N,6-O-sulfated chitosan nanoparticles incorporating BMP-2. *Biomaterials.* 35 : 684–698.
- Carli A., Gao C., Khayyat-Kholghi M., Li A., Wang H., Ladel C., Harvey E.J., Henderson J.E.* 2012. FGF18 augments osseointegration of intra-medullary implants in osteopenic FGFR3(–/–) mice. *Europ. Cells & Materials.* 24 : 107–167.
- Chen X., Kidder L.S., Lew W.D.* 2002. Osteogenic protein-1 induced bone formation in an infected segmental defect in the rat femur. *J. Orthop. Res: Official Publication of the Orthopaedic Research Society.* 20 : 142–150.
- Chu T.-M.G., Warden S.J., Turner C.H., Stewart R.L.* 2007. Segmental bone regeneration using a load-bearing biodegradable carrier of bone morphogenetic protein-2. *Biomaterials.* 28 : 459–467.
- Cipitria A., Reichert J.C., Epari D.R., Saifzadeh S., Berner A., Schell H., Mehta M., Schuetz M.A., Duda G.N., Hutmacher D.W.* 2013. Polycaprolactone scaffold and reduced rhBMP-7 dose for the regeneration of critical-sized defects in sheep tibiae. *Biomaterials.* 34 : 9960–9968.
- Cipitria A., Wagermaier W., Zaslansky P., Schell H., Reichert J.C., Fratzl P., Hutmacher D.W., Duda G.N.* 2015. BMP delivery complements the guiding effect of scaffold architecture without altering bone microstructure in critical-sized long bone defects: A multiscale analysis. *Acta biomaterialia.* 23 : 282–294.
- Cook S.D., Salkeld S.L., Patron L.P., Sargent M.C., Rueger D.C.* 2002. Healing course of primate ulna segmental defects treated with osteogenic protein-1. *J. Invest. Surg.* 15 : 69–79.
- Correia C., Bhumiratana S., Yan L.-P., Oliveira A.L., Gimble J.M., Rockwood D., Kaplan D.L., Sousa R.A., Reis R.L., Vunjak-Novakovic G.* 2012. Development of silk-based scaffolds for tissue engineering of bone from human adipose-derived stem cells. *Acta biomaterialia.* 8 : 2483–2492.
- Dahabreh Z., Dimitriou R., Giannoudis P.V.* 2007. Health economics: a cost analysis of treatment of persistent fracture non-unions using bone morphogenetic protein-7. *Injury.* 38 : 371–377.
- Den Boer F.C., Bramer J.A.M., Blokhuis T.J., Van Soest E.J., Jenner J.M.G.T., Patka P., Bakker F.C., Burger E.H., Haarman H.J.T.M.* 2002. Effect of recombinant human osteogenic protein-1 on the healing of a freshly closed diaphyseal fracture. *Bone.* 31 : 158–164.
- D’Mello S., Atluri K., Geary S.M., Hong L., Elangovan S., Salem A.K.* 2017. Bone regeneration using gene-activated matrices. *The AAPS J.* 19 : 43–53.
- Dong L., Wang S.-J., Zhao X.-R., Zhu Y.-F., Yu J.-K.* 2017. 3D-printed poly( $\epsilon$ -caprolactone) scaffold integrated with cell-laden chitosan hydrogels for bone tissue engineering. *Scientific Reports.* 7 : 13412.
- El Backly R.M., Zaky S.H., Muraglia A., Tonachini L., Brun F., Canciani B., Chiapale D., Santolini F., Cancedda R., Mastrogiacomo M.* 2013. A platelet-rich plasma-based membrane as a periosteal substitute with enhanced osteogenic and angiogenic Properties: a new concept for bone repair. *Tissue Eng. Part A.* 19 : 152–165.
- Endo M., Kuroda S., Kondo H., Maruoka Y., Ohya K., Kasugai S.* 2006. Bone regeneration by modified gene-activated matrix: effectiveness in segmental tibial defects in rats. *Tissue Eng.* 12 : 489–497.
- Fang J., Zhu Y.Y., Smiley E., Bonadio J., Rouleau J.P., Goldstein S.A., McCauley L.K., Davidson B.L., Roessler B.J.* 1996. Stimulation of new bone formation by direct transfer of osteogenic plasmid genes. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 93 : 5753–5758.
- Friedlaender G.E., Perry C.R., Cole J.D., Cook S.D., Cierny G., Muschler G.F., Zych G.A., Calhoun J.H., LaForte A.J., Yin S.* 2001. Osteogenic protein-1 (bone morphogenetic protein-7) in the treatment of tibial nonunions. *J. Bone Joint Surg. Amer.* 83–A. Suppl 1 : S151–158.
- Fukuroku J., Inoue N., Rafiee B., Sim F.H., Frassica F.J., Chao E.Y.S.* 2007. Extracortical bone-bridging fixation with use of cortical allograft and recombinant human osteogenic protein-1. *J. Bone Joint Surg. Amer.* 89 : 1486–1496.
- Geesink R.G., Hoefnagels N.H., Bulstra S.K.* 1999. Osteogenic activity of OP-1 bone morphogenetic protein (BMP-7) in a human fibular defect. *J. Bone Joint Surg. Br.* 81 : 710–718.
- Geiger F., Bertram H., Berger I., Lorenz H., Wall O., Eckhardt C., Simank H.-G., Richter W.* 2005. Vascular endothelial growth factor gene-activated matrix (VEGF165-GAM) enhances osteogenesis and angiogenesis in large segmental bone defects. *J. Bone and Mineral Res.* 20 : 2028–2035.
- Geiger F., Lorenz H., Xu W., Szalay K., Kasten P., Claes L., Augat P., Richter W.* 2007. VEGF producing bone marrow stromal cells (BMSC) enhance vascularization and resorption of a natural coral bone substitute. *Bone.* 41 : 516–22.
- Giannoudis P.V., Dinopoulos H., Tsiridis E.* 2005. Bone substitutes: an update. *Injury.* 36, Suppl. 3 : S20–S27.
- Giannoudis P.V., Kanakaris N.K., Dimitriou R., Gill I., Koli-marala V., Montgomery R.J.* 2009. The synergistic effect of autograft and BMP-7 in the treatment of atrophic non-unions. *Clin. Orthop. Relat. Res.* 467 : 3239–3248.
- Glatt V., Kwong F.N., Park K., Parry N., Griffin D., Vrahas M., Evans C.H., Harris M.* 2009. Ability of recombinant human bone morphogenetic protein 2 to enhance bone healing in the presence of tobramycin: evaluation in a rat segmental defect model. *J. Orthop. Trauma.* 23 : 693–701.
- Gomar F., Orozco R., Villar J.L., Arrizabalaga F.* 2007. P-15 small peptide bone graft substitute in the treatment of non-unions and delayed union. A pilot clinical trial. *Int. Orthop.* 31 : 93–99.
- Goonoo N., Bhaw-Luximon A., Passanha P., Esteves S.R., Jhurry D.* 2017. Third generation poly(hydroxyacid) composite scaffolds for tissue engineering. *J. Biomed. Mater. Res. B. Appl. Biomater.* 105 : 1667–1684.
- Gothard D., Smith E.L., Kanczler J.M., Rashidi H., Qutachi O., Henstock J., Rotherham M., El Haj A., Shakesheff K.M.,*

- Oreffo R.O.C. 2014. Tissue engineered bone using select growth factors: a comprehensive review of animal studies and clinical translation studies in man. *Eur. Cells and Materials*. 28 : 166–208.
- Govender S., Csimma C., Genant H.K., Valentin-Opran A., Amit Y., Arbel R., Aro H., Atar D., Bishay M., Börner M.G., Chiron P., Choong P., Cinats J., Courtenay B., Feibel R., Geulette B., Gravel C., Haas N., Raschke M., Hammacher E., van der Velde D., Hardy P., Holt M., Josten C., Ketterl R.L., Lindeque B., Lob G., Mathevon H., McCoy G., Marsh D., Miller R., Munting E., Oevre S., Nordsletten L., Patel A., Pohl A., Renne W., Reynders P., Rommens P.M., Rondia J., Rossouw W.C., Daneel P.J., Ruff S., Rüter A., Santavirta S., Schildhauer T.A., Gekle C., Schnettler R., Segal D., Seiler H., Snowdowne R.B., Stapert J., Taglang G., Verdonk R., Vogels L., Weckbach A., Wentzensen A., Wisniewski T., *BMP-2 Evaluation in Surgery for Tibial Trauma (BESTT) Study Group*. 2002. Recombinant human bone morphogenetic protein-2 for treatment of open tibial fractures: a prospective, controlled, randomized study of four hundred and fifty patients. *J. Bone Joint Surg. Amer.* 84–A : 2123–2134.
- Guo X., Zheng Q., Kulbatski I., Yuan Q., Yang S., Shao Z., Wang H., Xiao B., Pan Z., Tang S. 2006. Bone regeneration with active angiogenesis by basic fibroblast growth factor gene transfected mesenchymal stem cells seeded on porous beta-TCP ceramic scaffolds. *Biomed. Materials (Bristol, England)*. 1 : 93–99.
- Haidar Z.S., Tabrizian M., Hamdy R.C. 2010. A hybrid rhOP-1 delivery system enhances new bone regeneration and consolidation in a rabbit model of distraction osteogenesis. *Growth Factors (Chur, Switzerland)*. 28 : 44–55.
- Hao W., Pang L., Jiang M., Lv R., Xiong Z., Hu Y.-Y. 2010. Skeletal repair in rabbits using a novel biomimetic composite based on adipose-derived stem cells encapsulated in collagen I gel with PLGA-beta-TCP scaffold. *J. Orthop. Res.* 28 : 252–257.
- Hedberg E.L., Kroese-Deutman H.C., Shih C.K., Crowther R.S., Carney D.H., Mikos A.G., Jansen J.A. 2005. Effect of varied release kinetics of the osteogenic thrombin peptide TP508 from biodegradable, polymeric scaffolds on bone formation *in vivo*. *J. Biomed. Mater. Res. A*. 72 : 343–353.
- Hou J., Wang J., Cao L., Qian X., Xing W., Lu J., Liu C. 2012. Segmental bone regeneration using rhBMP-2-loaded collagen/chitosan microspheres composite scaffold in a rabbit model. *Biomed. Materials (Bristol, England)*. 7 : 35002.
- Huan Z., Chang J. 2009. Novel bioactive composite bone cements based on the  $\beta$ -tricalcium phosphate–monocalcium phosphate monohydrate composite cement system. *Acta Biomaterialia*. 5 : 1253–1264.
- Ishibe T., Goto T., Kodama T., Miyazaki T., Kobayashi S., Takahashi T. 2009. Bone formation on apatite-coated titanium with incorporated BMP-2/heparin *in vivo*. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics*. 108 : 867–75.
- Itoh T., Mochizuki M., Nishimura R., Matsunaga S., Kadosawa T., Kokubo S., Yokota S., Sasaki N. 1998. Repair of ulnar segmental defect by recombinant human bone morphogenetic protein-2 in dogs. *J. Vet. Med. Sci.* 60 : 451–458.
- Ivanov A.N., Kozadaev M.N., Bogomolova N.V., Matveeva O.V., Puchin'yan M.D., Norkin I.A., Salkovsky Y.E., Lyubun G.P. 2015. Biocompatibility of polycaprolactone and hydroxyapatite matrices *in vivo*. *Cell and Tissue Biol.* 9 : 422–429.
- James R., Deng M., Laurencin C.T., Kumbar S.G., James R., Deng M., Laurencin C.T., Kumbar S.G. 2011. Nanocomposites and bone regeneration. *Frontiers of Materials Science*. 5 : 342–357.
- Jiang T., Nukavarapu S.P., Deng M., Jabbarzadeh E., Kofron M.D., Doty S.B., Abdel-Fattah W.I., Laurencin C.T. 2010. Chitosan-poly(lactide-co-glycolide) microsphere-based scaffolds for bone tissue engineering: *in vitro* degradation and *in vivo* bone regeneration studies. *Acta biomaterialia*. 6 : 3457–3470.
- Jones A.L., Bucholz R.W., Bosse M.J., Mirza S.K., Lyon T.R., Webb L.X., Pollak A.N., Golden J.D., Valentin-Opran A., *BMP-2 Evaluation in Surgery for Tibial Trauma-Allgraft (BESTT-ALL) Study Group*. 2006. Recombinant human BMP-2 and allograft compared with autogenous bone graft for reconstruction of diaphyseal tibial fractures with cortical defects. A randomized, controlled trial. *J. Bone Joint Surg. Amer.* 88 : 1431–1441.
- Kanczler J.M., Ginty P.J., Barry J.J.A., Clarke N.M.P., Howdle S.M., Shakesheff K.M., Oreffo R.O.C. 2008. The effect of mesenchymal populations and vascular endothelial growth factor delivered from biodegradable polymer scaffolds on bone formation. *Biomaterials*. 29 : 1892–1900.
- Kanczler J.M., Oreffo R.O.C. 2008. Osteogenesis and angiogenesis: the potential for engineering bone. *Eur. Cells & Materials*. 15 : 100–114.
- Karageorgiou V., Kaplan D. 2005. Porosity of 3D biomaterial scaffolds and osteogenesis. *Biomaterials*. 26 : 5474–5491.
- Keeney M., van den Beucken J.J.J.P., van der Kraan P.M., Jansen J.A., Pandit A. 2010. The ability of a collagen/calcium phosphate scaffold to act as its own vector for gene delivery and to promote bone formation via transfection with VEGF165. *Biomaterials*. 31 : 2893–2902.
- Kempen D.H.R., Lu L., Heijink A., Hefferan T.E., Creemers L.B., Maran A., Yaszemski M.J., Dhert W.J.A. 2009. Effect of local sequential VEGF and BMP-2 delivery on ectopic and orthotopic bone regeneration. *Biomaterials*. 30 : 2816–2825.
- Khan F., Tare R.S., Kanczler J.M., Oreffo R.O.C., Bradley M. 2010. Strategies for cell manipulation and skeletal tissue engineering using high-throughput polymer blend formulation and microarray techniques. *Biomaterials*. 31 : 2216–2228.
- Kidder L.S., Chen X., Schmidt A.H., Lew W.D. 2009. Osteogenic protein-1 overcomes inhibition of fracture healing in the diabetic rat: a pilot study. *Clin. Orthop. Related Research*. 467 : 3249–3256.
- Kim I.Y., Kim M.M., Kim S.-J. 2005. Transforming growth factor-beta: biology and clinical relevance. *J. Biochem. Mol. Biol.* 38 : 1–8.
- Kim J.-M., Shin H.-I., Cha S.-S., Lee C. S., Hong B. S., Lim S., Jang H.-J., Kim J., Yang Y.R., Kim Y.-H., Yang Y.R., Kim Y.H., Yun S., Rijal G., Lee-Kwon W., Seo J.K., Gho Y.S., Ryu S.H., Hur E.M., Suh P.G. 2012. DJ-1 promotes angiogenesis and



- osteogenesis by activating FGF receptor-1 signaling. *Nature Commun.* 3 : 1296.
- Kirker-Head C.A., Gerhart T.N., Armstrong R., Schelling S.H., Carmel L.A. 1998. Healing bone using recombinant human bone morphogenetic protein 2 and copolymer. *Clin. Orthop. Relat. Res.* 349 : 205–217.
- Laschke M.W., Strohe A., Scheuer C., Eglin D., Verrier S., Alini M., Pohlemann T., Menger M.D. 2009. *In vivo* biocompatibility and vascularization of biodegradable porous polyurethane scaffolds for tissue engineering. *Acta Biomaterialia.* 5 : 1991–2001.
- Laurencin C., Khan Y., El-Amin S. F. 2006. Bone graft substitutes. *Expert Review of Medical Devices.* 3 : 49–57.
- Lin L., Wang H., Ni M., Rui Y., Cheng T.-Y., Cheng C.-K., Pan X., Li G., Lin C. 2014. Enhanced osteointegration of medical titanium implant with surface modifications in micro/nanoscale structures. *J. Orthop. Translation.* 2 : 35–42.
- Luginbuehl V., Meinel L., Merkle H.P., Gander B. 2004. Localized delivery of growth factors for bone repair. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 58 : 197–208.
- Malafaya P.B., Silva G.A., Reis R.L. 2007. Natural–origin polymers as carriers and scaffolds for biomolecules and cell delivery in tissue engineering applications. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 59 : 207–233.
- Marsell R., Einhorn T.A. 2011. The biology of fracture healing. *Injury.* 42 : 551–555.
- Marzona L., Pavolini B. 2009. Play and players in bone fracture healing match. *Clin. Cases Miner. Bone Metab.* 6 : 159–162.
- Matsuda N., Lin W.-L., Kumar N.M., Cho M.I., Genco R.J. 1992. Mitogenic, chemotactic, and synthetic responses of rat periodontal ligament fibroblastic cells to polypeptide growth factors *in vitro*. *J. Periodontol.* 63 : 515–525.
- Mohammadi M., Mousavi Shaegh S.A., Alibolandi M., Ebrahimzadeh M.H., Tamayol A., Jaafari M.R., Ramezani M. 2018. Micro and nanotechnologies for bone regeneration: recent advances and emerging designs. *J. Controlled release.* 274 : 35–55.
- Moore D.C., Ehrlich M.G., McAllister S.C., Machan J.T., Hart C.E., Voigt C., Lesieur-Brooks A.M., Weber E.W. 2009. Recombinant human platelet-derived growth factor-BB augmentation of new-bone formation in a rat model of distraction osteogenesis. *J. Bone Joint Surg. Amer.* 91 : 1973–1984.
- Morgan E.F., Mason Z.D., Bishop G., Davis A.D., Wigner N.A., Gerstenfeld L.C., Einhorn T.A. 2008. Combined effects of recombinant human BMP-7 (rhBMP-7) and parathyroid hormone (1-34) in metaphyseal bone healing. *Bone.* 43 : 1031–1038.
- Murakami N., Saito N., Takahashi J., Ota H., Horiuchi H., Nawata M., Okada T., Nozaki K., Takaoka K. 2003. Repair of a proximal femoral bone defect in dogs using a porous surfaced prosthesis in combination with recombinant BMP-2 and a synthetic polymer carrier. *Biomaterials.* 24 : 2153–2159.
- Murphy C., Kolan K., Li W., Semon J.A., Semon J., Day D., Leu M. 2017. 3D bioprinting of stem cells and polymer/bioactive glass composite scaffolds for bone tissue engineering. *Int. J. Bioprint.* 33 : 53–63.
- Nyberg E., Holmes C., Witham T., Grayson W.L. 2016. Growth factor-eluting technologies for bone tissue engineering. *Drug Deliv. Transl. Res.* 6 : 184–194.
- Oest M.E., Dupont K.M., Kong H.-J., Mooney D.J., Guldberg R.E. 2007. Quantitative assessment of scaffold and growth factor-mediated repair of critically sized bone defects. *J. Orthop. Res.* 25 : 941–950.
- Oryan A., Alidadi S., Moshiri A., Maffulli N. 2014. Bone regenerative medicine: classic options, novel strategies, and future directions. *J. Orthop. Surg. Res.* 9 : 18.
- Park B.-H., Zhou L., Jang K.Y., Park H.S., Lim J.M., Yoon S.J., Lee S.Y., Kim J.R. 2012. Enhancement of tibial regeneration in a rat model by adipose-derived stromal cells in a PLGA scaffold. *Bone.* 51 : 313–323.
- Pearlin J., Nayak S., Manivasagam G., Sen D. 2018. Progress of regenerative therapy in orthopedics. *Curr. Osteoporosis Rep.* 16 : 169–181.
- Pountos I., Panteli M., Lampropoulos A., Jones E., Calori G.M., Giannoudis P.V. 2016. The role of peptides in bone healing and regeneration: a systematic review. *BMC Medicine.* 14 : 103.
- Priddy L.B., Chaudhuri O., Stevens H.Y., Krishnan L., Uhrig B.A., Willett N.J., Guldberg R.E. 2014. Oxidized alginate hydrogels for bone morphogenetic protein-2 delivery in long bone defects. *Acta biomaterialia.* 10 : 4390–4399.
- Qi X., Pei P., Zhu M., Du X., Xin C., Zhao S., Li X., Zhu Y. 2017. Three dimensional printing of calcium sulfate and mesoporous bioactive glass scaffolds for improving bone regeneration *in vitro* and *in vivo*. *Sci. Rep.* 7 : 42556.
- Reichert J.C., Cipitria A., Epari D.R., Saifzadeh S., Krishnakanth P., Berner A., Woodruff M.A., Schell H., Mehta M., Schuetz M.A., Duda G.N., Hutmacher D.W. 2012. A tissue engineering solution for segmental defect regeneration in load-bearing long bones. *Sci. Translational Med.* 4 : 141ra93.
- Reyes R., De la Riva B., Delgado A., Hernández A., Sánchez E., Évora C. 2012. Effect of triple growth factor controlled delivery by a brushite-PLGA system on a bone defect. *Injury.* 43 : 334–342.
- Ristiniemi J., Flinkkilä T., Hyvönen P., Lakovaara M., Pakarinen H., Jaloavaara P. 2007. RhBMP-7 accelerates the healing in distal tibial fractures treated by external fixation. *J. Bone Joint Surg. Br.* 89 : 265–272.
- Rodrigues M.T., Gomes M.E., Viegas C.A., Azevedo J.T., Dias I.R., Guzón F.M., Reis R.L. 2011. Tissue-engineered constructs based on SPCL scaffolds cultured with goat marrow cells: functionality in femoral defects. *J. Tissue Eng. Regen. Med.* 5 : 41–49.
- Salkeld S.L., Patron L.P., Barrack R.L., Cook S.D. 2001. The effect of osteogenic protein-1 on the healing of segmental bone defects treated with autograft or allograft bone. *J. Bone Joint Surg. Amer.* 83 : 803–816.
- Santos S.G., Lamghari M., Almeida C.R., Oliveira M.I., Neves N., Ribeiro A.C., Barbosa J.N., Barros R., Maciel J., Martins M.C.L., Gonçalves R.M., Barbosa M.A. 2013. Adsorbed fibrinogen leads to improved bone regeneration and correlates with differences in the systemic immune response. *Acta biomaterialia.* 9 : 7209–7217.

- Shim J.-H., Kim S.E., Park J.Y., Kundu J., Kim S.W., Kang S.S., Cho D.-W.* 2014. Three-dimensional printing of rhBMP-2-loaded scaffolds with long-term delivery for enhanced bone regeneration in a rabbit diaphyseal defect. *Tissue Eng. Part A.* 20 : 1980–1992.
- Shuqiang M., Kunzheng W., Xiaoqiang D., Wei W., Mingyu Z., Daocheng W.* 2008. Osteogenic growth peptide incorporated into PLGA scaffolds accelerates healing of segmental long bone defects in rabbits. *J. Plast. Reconstr. Aesthet. Surg.* 61 : 1558–60.
- Stegen S., van Gastel N., Carmeliet G.* 2015. Bringing new life to damaged bone: the importance of angiogenesis in bone repair and regeneration. *Bone.* 70 : 19–27.
- Stroncek J.D., Reichert W.M.* 2008. Overview of wound healing in different tissue types. In: *Indwelling neural implants: strategies for contending with the in vivo environment.* Atlanta: CRC Press/Taylor and Francis. 153 p.
- Swiontkowski M.F., Aro H.T., Donell S., Esterhai J.L., Goulet J., Jones A., Kregor P.J., Nordsletten L., Paiement G., Patel A.* 2006. Recombinant human bone morphogenetic protein-2 in open tibial fractures. A subgroup analysis of data combined from two prospective randomized studies. *J. Bone Joint Surg. Amer.* 88 : 1258–1265.
- Takigami H., Kumagai K., Latson L., Togawa D., Bauer T., Powell K., Butler R.S., Muschler G.F.* 2007. Bone formation following OP-1 implantation is improved by addition of autogenous bone marrow cells in a canine femur defect model. *J. Orthop. Res.* 25 : 1333–1342.
- Thorey F., Menzel H., Lorenz C., Gross G., Hoffmann A., Windhagen H.* 2011. Osseointegration by bone morphogenetic protein-2 and transforming growth factor beta2 coated titanium implants in femora of New Zealand white rabbits. *Ind. J. Orthop.* 45 : 57–62.
- Tölli H., Kujala S., Jämsä T., Jalovaara P.* 2011. Reindeer bone extract can heal the critical-size rat femur defect. *Int. Orthopaedics.* 35 : 615–622.
- Tressler M.A., Richards J.E., Sofianos D., Comrie F.K., Kregor P.J., Obremskey W.T.* 2011. Bone morphogenetic protein-2 compared to autologous iliac crest bone graft in the treatment of long bone nonunion. *Orthopaedics.* 34 : e877–e884.
- Tsuzuki N., Otsuka K., Seo J., Yamada K., Haneda S., Furuoka H., Tabata Y., Sasaki N.* 2012. *In vivo* osteoinductivity of gelatin  $\beta$ -tri-calcium phosphate sponge and bone morphogenetic protein-2 on an equine third metacarpal bone defect. *Res. Vet. Sci.* 93 : 1021–1025.
- Van der Stok J., Wang H., Amin Yavari S., Siebelt M., Sandker M., Waarsing J.H., Verhaar J.A.N., Jahr H., Zadpoor A.A., Leeuwenburgh S.C.G., Weinans H.* 2013. Enhanced bone regeneration of cortical segmental bone defects using porous titanium scaffolds incorporated with colloidal gelatin gels for time- and dose-controlled delivery of dual growth factors. *Tissue Eng. Part A.* 19 : 2605–2614.
- Verboket R., Leiblein M., Seebach C., Nau C., Janko M., Bellen M., Bönig H., Henrich D., Marzi I.* 2018. Autologous cell-based therapy for treatment of large bone defects: from bench to bedside. *Eur. J. Trauma Emerg. Surg.* 44 : 649–665.
- Vo T.N., Kasper F.K., Mikos A.G.* 2012. Strategies for controlled delivery of growth factors and cells for bone regeneration. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 64 : 1292–1309.
- Wang D.-X., He Y., Bi L., Qu Z.-H., Zou J.-W., Pan Z., Fan J.-J., Chen L., Dong X., Liu X.-N., Pei G.X., Ding J.D.* 2013a. Enhancing the bioactivity of Poly(lactic-co-glycolic acid) scaffold with a nano-hydroxyapatite coating for the treatment of segmental bone defect in a rabbit model. *Int. J. Nanomed.* 8 : 1855–1865.
- Wang H., Zou Q., Boerman O.C., Nijhuis A.W.G., Jansen J.A., Li Y., Leeuwenburgh S.C.G.* 2013b. Combined delivery of BMP-2 and bFGF from nanostructured colloidal gelatin gels and its effect on bone regeneration *in vivo*. *J. Control. Release.* 166 : 172–181.
- Wang M., Wang M.* 2006. Composite scaffolds for bone tissue engineering. *Amer. J. Biochem. Biotechnol.* 2 : 80–84.
- Wang Y., Wan C., Szöke G., Ryaby J.T., Li G.* 2008. Local injection of thrombin-related peptide (TP508) in PPF/PLGA microparticles-enhanced bone formation during distraction osteogenesis. *J. Orthop. Res.* 26 : 539–546.
- Xu C., Su P., Wang Y., Chen X., Meng Y., Liu C., Yu X., Yang X., Yu W., Zhang X., Xiang A.P.* 2010. A novel biomimetic composite scaffold hybridized with mesenchymal stem cells in repair of rat bone defects models. *J. Biomed. Mater. Res. A.* 95 : 495–503.
- Yang F., Wang J., Hou J., Guo H., Liu C.* 2013a. Bone regeneration using cell-mediated responsive degradable PEG-based scaffolds incorporating with rhBMP-2. *Biomaterials.* 34 : 1514–1528.
- Yang P., Huang X., Wang C., Dang X., Wang K.* 2013b. Repair of bone defects using a new biomimetic construction fabricated by adipose-derived stem cells, collagen I, and porous beta-tricalcium phosphate scaffolds. *Exp. Biol. Med. (Maywood).* 238 : 1331–1343.
- Yu Y.Y., Lieu S., Lu C., Colnot C.* 2010. Bone morphogenetic protein 2 stimulates endochondral ossification by regulating periosteal cell fate during bone repair. *Bone.* 47 : 65–73.
- Yunus Basha R., Sampath Kumar T.S., Doble M.* 2015. Design of biocomposite materials for bone tissue regeneration. *Mater. Sci. Eng. C Mater. Biol. Appl.* 57 : 452–463.
- Zhang Y., Cheng N., Miron R., Shi B., Cheng X.* 2012. Delivery of PDGF-B and BMP-7 by mesoporous bioglass/silk fibrin scaffolds for the repair of osteoporotic defects. *Biomaterials.* 33 : 6698–6708.
- Zhu L., Chuanchang D., Wei L., Yilin C., Jiasheng D.* 2010. Enhanced healing of goat femur-defect using BMP7 gene-modified BMSCs and load-bearing tissue-engineered bone. *J. Orthop. Res.* 28 : 412–418.
- Zigdon-Giladi H., Bick T., Lewinson D., Machtei E.E.* 2015. Co-transplantation of endothelial progenitor cells and mesenchymal stem cells promote neovascularization and bone regeneration. *Clin. Implant Dent. Relat. Res.* 17 : 353–359.

## MODERN CONCEPTS OF BONE TISSUE REGENERATION STIMULATION BY BIOACTIVE SCAFFOLDS

I. N. Shchanitsyn<sup>a</sup>, A. N. Ivanov<sup>a,\*</sup>, V. Yu. Ulyanov<sup>a</sup>, I. A. Norkin<sup>a</sup>

<sup>a</sup>*Razumovsky Saratov State Medical University, Research Institute of Traumatology, Orthopedics and Neurosurgery of the Ministry of Healthcare of Russia Federation, Saratov, 410002 Russia*

*\*e-mail: lex558452@gmail.com*

Current procedures to repair bone defects include the use of auto- and allografts or implants. These approaches face significant limitations due to insufficient supply, potential disease transmission, cost and the inability to integrate with the surrounding host tissue. To overcome these limitations, bone tissue engineering is an excellent alternative for the regeneration of large bone defects caused by trauma or bone pathologies. Bone tissue engineering and the research surrounding stem cells and growth factors has expanded significantly over the last few decades. Herein, the results of studies that substantiate the benefits of using various biologically active factors in the creation of three-dimensional matrices or scaffolds are reviewed. The review provides an overview of recent developments in bone tissue engineering focusing on growth factors, stem cells, angiogenesis and osteogenesis. The examples of different types of scaffolds are given. Studies regarding the application of bioactive composite scaffolds in vivo for repair bone defects are described. The current strategies of cell therapy, gene transfer, and tissue engineering offer the exciting therapeutic opportunities for skeletal repair and bone tissue regeneration.

**Keywords:** bone, regeneration, scaffold, tissue engineering, growth factors, stem cells