

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2018

УДК 612.75-018.4:001.8

Стамболиев И.А.<sup>1</sup>, Гажва Ю.В.<sup>2</sup>, Ивашкевич С.Г.<sup>1</sup>, Рябова В.М.<sup>2</sup>

## СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ ИНЖЕНЕРИИ КОСТНОЙ ТКАНИ

<sup>1</sup> ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», 117198, Москва, Россия;

<sup>2</sup> ГБОУ ВПО «Нижегородская государственная медицинская академия» Минздрава России, 603005, Нижний Новгород, Россия

*В данной обзорной статье рассматриваются современные методы тканевой инженерии костной ткани, которые применяются в хирургической стоматологии и челюстно-лицевой хирургии для восстановления обширных дефектов челюстных и других костей черепа. Представлена характеристика сложных скаффолдов, содержащих стволовые клетки, а также отражены критерии выбора каркасных материалов, их положительные и отрицательные свойства.*

**Ключевые слова:** костная ткань; тканевая инженерия; стволовые клетки; скаффолды; 3D-моделирование; регенерация; дефекты костной ткани; обзор.

**Для цитирования:** Стамболиев И.А., Гажва Ю.В., Ивашкевич С.Г., Рябова В.М. Современные подходы инженерии костной ткани. *Российский стоматологический журнал*. 2018; 22(2): 113-120. <http://dx.doi.org/10.18821/1728-2802-2018-22-2-111-116>  
Stamboliev I.A.<sup>1</sup>, Gazhva Ju.V.<sup>2</sup>, Ivashkevich S.G.<sup>1</sup>, Ryabova V.M.<sup>2</sup>

### CURRENT APPROACHES OF BONE TISSUE ENGINEERING

<sup>1</sup> People's Friendship University of Russia, 117198, Moscow, Russian Federation;

<sup>2</sup> Post graduate education in Nizhny Novgorod medical state academy, 603005, Nizhny Novgorod, Russian Federation

*This article discusses the modern approaches of bone tissue engineering in oral and maxillofacial surgery for repair of bone integrity. Describes the new biomaterials in bone tissue engineering, complex scaffolds containing MSC for bone repair of large and critical bone defects, the criteria for selecting biomaterial scaffolds, as well as their positive and negative properties.*

**Key words:** bone tissue; tissue engineering; mesenchymal stromal cells; scaffolds; 3D modeling; regeneration; bone tissue defects; review.

**For citation:** Stamboliev I.A., Gazhva Ju.V., Ivashkevich S.G., Ryabova V.M. Current approaches of bone tissue engineering. *Ros-siyskii stomatologicheskii zhurnal*. 2018; 22(2): 111-116. <http://dx.doi.org/10.18821/1728-2802-2018-22-2-111-116>

**For correspondence:** Gazhva Julia Vladimirovna, PhD, Tutor, assistant of the Department of Maxillofacial Surgery and Implantology NNSMA, E-mail: [gazhva@yandex.ru](mailto:gazhva@yandex.ru).

### Information about authors:

Stamboliev I.A., <https://orcid.org/0000-0001-8091-6323>

Gazhva Ju.V., <https://orcid.org/0000-0002-6286-9516>

Ivashkevich S.G., <https://orcid.org/0000-0001-6995-8629>

Ryabova V.M., <https://orcid.org/0000-0003-1329-1815>

**Acknowledgments.** The work was supported by RFBR. Project No. 15-29-04862.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

Received 09.02.18

Accepted 16.02.18

### Актуальность

В настоящее время разработка новых методик регенерации костной ткани остаётся актуальной проблемой в хирургической стоматологии, челюстно-лицевой хирургии и травматологии. Каждый год около 12% населения России получают травмы, из которых 80% приходится на население молодого и трудоспособного возраста [1]. Кроме того, в последнее время отмечается рост числа больных с заболеваниями, сопровождающимися обширными дефектами костной ткани (опухоли, туберкулёз). Нуждаемость населения в стоматологической помощи по поводу полного отсутствия зубов составляет около 18%, и эта цифра ежегодно растёт. Так, по данным ряда авторов, к 2020 г. она составит 15 млн человек [2]. У 30% стоматологических пациентов хирургического профиля при лечении необходимо использование костезамещающих материалов [3, 4]. Эти данные свидетельствуют о

возрастающей актуальности применения костезамещающих материалов во всех областях реконструктивной медицины, а также о необходимости разработки объективных и информативных методов контроля эффективности их применения.

Одной из основных проблем, связанных с использованием традиционных методик и материалов при восстановлении костных дефектов в челюстно-лицевой хирургии является недостаточное структурное и функциональное соответствие имплантируемых изделий с живой тканью. Живая ткань, в частности костная, является гибридной динамической системой, состоящей из клеток и внеклеточного материала. В такой системе живые клетки находятся внутри сложно структурированного матрикса внеклеточного вещества, которое они синтезируют и подвергают деструкции, создавая тем самым необходимую микроструктуру всей системы. Костная ткань обладает сложной микроструктурой и составом, включающим композитный полимерно-неорганический материал, который определяет её физико-химические свойства, а её регенерация протекает с контролируемой скоростью и интенсивностью, зависящей от микроокружения при воздействии функциональной нагрузки, а также под управлением различных эндогенных биологических

**Для корреспонденции:** Гажва Юлия Владимировна, канд. мед. наук, ассистент кафедры челюстно-лицевой хирургии и имплантологии ФПКВ НижГМА, E-mail: [gazhva@yandex.ru](mailto:gazhva@yandex.ru).

активных веществ. В то же время современные костезамещающие остеопластические материалы в большинстве своём обладают остеокондуктивными свойствами за счёт своих матричных характеристик или биоактивными свойствами благодаря стимуляции отдельных стадий остеогенеза [5].

Создание сложных комбинированных остеопластических материалов или костных имплантатов с расширенными структурными и функциональными свойствами стало возможным благодаря развитию регенеративной медицины и инженерных направлений в биологии и медицине: биоинженерии (в частности, тканевой инженерии) и биотехнологии. Тканевая инженерия кости предлагает перспективные подходы для создания костезамещающих материалов и имплантатов с контролируемыми во времени остеоиндуктивными свойствами.

Актуальность развития инженерии костной ткани отражена в научной литературе. Так, при анализе баз данных по ключевым словам «инженерия костной ткани» (bone engineering) получены следующие данные: e-library.ru – 34 455 источников (статьи, патенты), <http://www.sciencedirect.com> – 126 459 источников, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed> – 34 516 источников.

### Регенерация костной ткани

Физиологический и репаративный остеогенез кости изучен достаточно хорошо. При переломе разрушается костная матрица, повреждаются сосуды и формируется гематома. Цитокины из матрицы и дегрануляция тромбоцитов в области перелома образуют среду биологически активных белков, привлекающих мультипотентные мезенхимальные стволовые клетки (МСК), которые мигрируют в область повреждения. Остеокласты разрушают повреждённые фрагменты кости, стимулируя остеобласты, а также привлекая МСК. Далее МСК пролиферируют и под воздействием внеклеточного матрикса, эндогенной стимуляции цитокинами, ростовыми факторами образуют предшественников остеобластов, хондробластов или фибробластов в зависимости от их локального микроокружения в области перелома. Таким образом, МСК в благоприятных для регенерации кости или хряща биохимических и биомеханических свойствах среды претерпевают дифференциацию в остеогенном или хондрогенном направлении [6]. Эти клетки продуцируют матрикс с образованием костной и хрящевой ткани, создавая костную мозоль. Минерализованные костные и хрящевые ткани подвергаются эндохондральному окостенению, образуя кость до полного заполнения дефекта. Костная мозоль в процессе реконструкции приобретает необходимые геометрические и физические свойства для противодействия приложенных к ней нагрузок.

Таким образом, клеточными реакциями по заживлению костных дефектов являются химиоаттракция, миграция, пролиферация и дифференцировка, а основными предшественниками этой клеточной группы являются МСК.

Естественные процессы регенерации костной ткани достаточны для осуществления своевременного восстановления целостности скелета только при условии сопоставления костных отломков и обеспечения их внутренней жёсткой фиксации. Однако в некоторых ситуациях необходимо усиление естественных регенеративных механизмов и включение дополнительных мер для восстановления обширных дефектов, включающих в себя значительную потерю костной ткани из-за обширной травмы, резекции опухоли, метаболических заболеваний, эндопротезирования, снижения регенераторного потенциала человека.

Использование тканевой инженерии позволяет преодолеть указанные неблагоприятные факторы для оптимизации регенерации костной ткани. Наибольший интерес в современной тканевой инженерии кости представляют, во-первых, технологии изготовления скаффолдов (матриц) заданной

индивидуальной формы с приближенными механическими свойствами и сроками резорбции, характерными для нативной кости; во-вторых, технологии насыщения скаффолдов факторами роста и морфогенами для придания им свойств биологической активности и остеоиндукции; в третьих, технологии культивирования и использования МСК в составе костных имплантатов, что позволит придать им свойство остеогенности [7].

### Материалы для получения скаффолдов

Разработка и выбор подходящего каркаса является одним из важнейших аспектов тканевой инженерии. Каркасы действуют не только в качестве физической поддержки, но и как искусственная внеклеточная матрица (ИВМ), что способствует присоединению, пролиферации и дифференциации посеянных клеток [8].

Идеальный каркасный материал должен соответствовать следующим критериям [9].

- Обладать механической прочностью и эластичностью, достаточной для хирургических манипуляций;
- Не быть токсичным;
- Иметь способность полностью биорезорбироваться до продуктов, метаболизирующихся в организме;
- Быть биосовместимым на биохимическом и клеточном уровнях;
- Иметь скорость резорбции матрикса, соответствующую скорости восстановления костной ткани в области дефекта;
- Отличаться технологичностью изготовления – должен легко формироваться в виде пористой структуры, обеспечивая процессы роста, развития ткани и неоваскуляризации;
- Обладать возможностью стерилизации стандартными способами без изменения их медико-технических свойств.

Материалы для каркасов в тканевой инженерии условно можно разделить на 2 группы: природные и синтетические. Синтетические полимерные материалы, такие как полигликолевая кислота, полимолочная кислота (ПМК), поликапролактон используются для изготовления медицинских швов, каркасных мембран, стентов сосудов и носителей для доставки лекарств [10]. Природные полимеры, включая коллаген, фибрин, хитозан и поли-3-оксиспироканаты (ПОА), являются биологически совместимыми и дают положительные результаты при использовании их в качестве матриц для тканевой инженерии [11].

Перспективным направлением в изготовления костных матриц (скаффолдов) являются CAD/CAM-технологии (от *англ.* Computer-aided design/Computer-aided manufacturing), в частности аддитивное производство — послойное наложение материала слой за слоем на основе компьютерной 3D-модели (Solid free form (SFF) fabrication techniques). К аддитивному производству относятся лазерная стереолитография (Stereo Lithography Apparatus; 3D Systems, F&S Stereolithographytechnik GmbH, Институт проблем лазерных и информационных технологий РАН); технологии лазерного спекания (SLS, Selective Laser Sintering – лазерное спекание порошковых материалов; 3D Systems, F&S Stereolithographytechnik GmbH, The ExOne Company / Prometal, EOS GmbH); послойного наплавления (FDM, Fused Deposition Modeling – послойное наложение расплавленной полимерной нити (Stratasys Inc.); струйного моделирования (Ink Jet Modelling, 3D Systems, Objet Geometries Ltd., Solidscape, Inc.); склеивания порошков (binding powder by adhesives, Z Corporation) [12–14].

**Природные полимеры** (альгинаты, коллаген, желатин, хитозан и др.) помимо того, что проявляют высокую степень биосовместимости с тканями и клетками организма, являются также высокоэффективными биостимуляторами. Они распадаются на более простые соединения, которые выделяются из организма, либо принимают активное участие в биосинтезе, происходящем на клеточном уровне.

К недостаткам естественных полимеров относят низкую

механическую прочность, сложность обработки, слишком быстрое время резорбции с невозможностью его контроля, они также имеют склонность вызывать ксеногенные осложнения, так как большинство этих материалов животного или растительного происхождения.

*Коллаген* – является основным структурным компонентом внеклеточного матрикса (ВКМ), а также основной частью соединительной ткани. Он составляет около 30% от общей массы белков у млекопитающих и входит в состав почти каждой ткани, обеспечивая прочность и структурную стабильность [15]. При введении коллагена в организм он подвергается быстрой резорбции, расщепляясь, стимулирует репаративные процессы, в частности, образование собственного коллагена организма, обладает гемостатическими свойствами. В связи с этим коллаген и его производные широко используются в косметологии и медицине [16]. Однако серьёзным недостатком коллагена является неконтролируемое время резорбции (до 1 мес) в условиях живого организма, которого недостаточно для полного восстановления тканей, что приводит к образованию рубцовой ткани.

*Денатурированная форма коллагена – желатин* – также используется для создания твердотельных пористых и гелевых матриксов. Пористые желатиновые губки исследовали в качестве транспорта для зрелых мезенхимальных стволовых клеток в хрящевой регенерирующей терапии [17].

Из природных полимеров, относящихся к классу полисахаридов, можно упомянуть альгинаты и хитозан. Главным недостатком хитозана является низкий уровень механической прочности, что решается комбинированием хитозана с другими материалами, а скорость биодеградация альгината является довольно медленным и малоконтролируемым процессом. Данные полимеры по своим структурным характеристикам имеют сходство с такими компонентами костного матрикса как гликозаминогликаны [18]. Гликозаминогликаны – гидратные составляющие ВКМ, находятся в соединительной ткани в виде комплексов с белками, связаны с ними слабыми и прочными межмолекулярными взаимодействиями.

*Хитин - поли-β(1→4)-N-ацетил-В-глюкозамин* – хитозаны, производные от хитина, полученные при его очистке путем ацетилирования, содержат в своей структуре больше 50% не связанного амина.

Высокая биосовместимость, биодеградируемость, низкая токсичность, лёгкость формирования в виде плёнок, мембран, губок, фотосшиваемых гидрогелей и низкая стоимость привлекают интерес к данному материалу в тканевой инженерии. Хитин и его производные используют самостоятельно либо в комбинации с другими материалами, такими как альгинат, желатин и др.

Основным недостатком этого природного полимера является малый уровень прочности, изменение структуры при стерилизации различными методами [19].

*Альгинат* – природный линейный полисахарид, экстрагируемый из бурых морских водорослей. Он состоит из 1–4 связанных остатков α-L гулуруновой и β-D-маннуруновой кислот. Блоки полиманнуруновой кислоты придают вязкость альгинатным растворам, блоки гулуруновой кислоты ответственны за специфическое связывание альгинатом двухвалентных ионов металлов. Прореагировав с дивалентными катионами, такими как Ca, Ba, Sr, особенно с Mg, альгинаты формируют гидрогели, используют также тривалентные катионы Al и Fe. Приготовление таких гидрогелей заключается в добавлении альгината натрия в раствор, содержащий сшивающие катионы. [18].

Матрикс на основе альгината применяли для восстановления хрящевой ткани. Отмечается, что альгинат, содержащий Р-трикальций фосфат, способен поддерживать рост и дифференцировку остеогенных клеток *in vitro* [20]. Тем не менее, к недостаткам альгината относят то, что данный полимер не обладает распознающими биологическими домена-

ми, в отличие, например, от коллагена (адгезивный пептид - RGD), что приводит к плохой адгезии клеток на его поверхность. Также свойства альгинатных гидрогелей могут неконтролируемым образом изменяться вследствие потери гелем ионных сшивок [21].

*Поли-3-оксикалканоаты (ПОА)*. Благодаря своей высокой биосовместимости наиболее известный представитель ПОА – поли-3-оксибутират. При контакте с плёнками или полимерными клеточными каркасами на основе БПОБ мышечные и человеческие фибробласты, мезенхимальные стволовые клетки, остеобласты костной ткани кролика, остеогенные клетки саркомы человека, хондроциты суставного хряща кролика и клетки гладкой мускулатуры кролика проявляют удовлетворительный уровень клеточной адгезии, пролиферации и жизнеспособности. Доказано, что фибробласты, эндотелиальные клетки и изолированные гепатоциты, посеянные на поверхность плёнок ПОБ, проявляют высокий уровень клеточной адгезии и роста.

Высокая жизнеспособность и пролиферация макрофагов и фибробластов отмечались при их культивации в присутствии частиц низкомолекулярного ПОБ, однако рост клеток на плёнках был относительно мал при клеточной плотности в интервале от  $1 \cdot 10^3$  до  $2 \cdot 10^5$ . Вместе с тем, такие характеристики полимера, как химический состав, морфология поверхности, поверхностная энергия и гидрофобность полимера оказывают большое влияние на жизнеспособность клеток и их рост. Таким образом, ПОБ может быть использован в качестве клеточного каркаса в условиях *in vivo* для контролируемой клеточной пролиферации [22].

В большинстве случаев получение каркасов из ПОБ для клеточной инженерии основано на модификации поверхностных свойств этого биополимера, что достигается, например, методом выщелачивания – вымывания предварительно введённой соли или обработки поверхности ферментами химическими и физическими методами. Роль поверхности наиболее важна, поскольку ключевым фактором, определяющим использование биополимера в клеточной инженерии, является адгезия клеток, которая в свою очередь определяет клеточную физиологию. Наиболее эффективными методами, повышающими клеточную адгезию к ПОБ и рост клеток на поверхности, является обработка поверхности эстеразами, щелочью или электрофизической плазменной обработкой. Обработка липазой увеличивает число здоровых клеток в 200 раз по сравнению с необработанным образцом ПГБ, обработка щёлочью (NaOH) усиливает данный эффект в 25 раз. Воздействие на поверхность плёнок БПОБ в плазме низкого давления с присутствием аммиака увеличивает рост фибробластов человека и эпителиальных клеток респираторной мукозы как результат возрастания гидрофильности полимерной поверхности. Таким образом, возрастание гидрофильности поверхности вследствие ферментативной обработки (липаза), щелочной обработки (NaOH) или плазмой приводит к гидрофилизации поверхности, что упрощает протекание адгезии к таким модифицированным поверхностям. Морфология поверхности ПОБ существенно влияет на адгезию и рост клеток, причём различные клетки предпочитают различные по структуре поверхности. Так, остеобласты преимущественно развиваются на грубых шероховатых поверхностях с подходящим размером углублений и пор, тогда как фибробласты предпочитают гладкие поверхности как и эпителиальные клетки, выбирающие для адгезии гладкие поверхности. Подобная чувствительность клеток к размерам пор и шероховатости поверхности, по-видимому, связана с жизнедеятельностью клеток, с необходимостью газового обмена и обмена различными веществами, т. е. с возможностью реализовать некоторые диффузионные и гидродинамические условия подачи питательных веществ для клеток, а также с особенностями адсорбции белков. Плёнки ПОБ, приводимые в контакт с кровью, не активируют (не смещают) гемостаз



системы на клеточном уровне, но могут активировать систему коагуляции и реакцию комплемента, т.е. воздействовать на молекулярном уровне [23].

*Поли-3-оксибутират-ко-3-оксигексаноат* (ПОБГК) является естественным биологическим полиэфирным материалом, который принадлежит к семейству ПОА [24]. Наряду с другими хорошо известными полимерами из группы ПОА, поли-3-оксибутиратом (ПОБ) и поли-3-оксибутират-ко-3-оксивалератом (ПОБВ) ПОБГК имеет хорошую способность к биологическому разложению и обладает механическими свойствами. ПОБГК биосовместим с различными типами клеток, в том числе с клетками гладкой мускулатуры, фибробластами, полученными из суставных хрящей хондроцитами, остеобластами, а также клетками костного мозга [25].

ПОА, как правило, биоразлагаемые и термообработываемые, вследствие чего они получили широкое применение как в традиционных медицинских приборах, так и в тканевой инженерии. Из-за хорошей биосовместимости ПОА привлекают всё большее внимание как биоматериалы клеточных каркасов для тканевой инженерии. Ye C. и др. [26] показали, что трёхмерный каркас ПОБ/ПОБГК, засеянный дифференцированными стволовыми клетками человека из жировой ткани, способен производить хрящевые ткани после имплантации в подкожный слой голых мышей. Каркасы из ПОБ/ПОБГК были успешно применены в естественных условиях модели восстановления сухожилия, о чём свидетельствует облегчение восстановления движения сухожилия и полного восстановления несущей нагрузки у крыс-реципиентов [27]. К отрицательным свойствам относят хрупкость и большой срок резорбции, что ограничивает его практическое применение. Другой представитель группы ПОА – ПОБВ может быть получен в виде волокон, которые способствуют реэпителизации. После модификации поверхности ПОБ и ПОБВ могут способствовать остеоинтеграции [28].

#### **Синтетические полимеры.**

*Полигликолид* представляет собой высококристаллический полимер (45–55%) с большим пределом прочности по растяжению. Гликолид – это мономер, который используют в реакции полимеризации, синтезируется он из димеризации гликолевой кислоты, из-за своего большого предела прочности полигликолид впервые отмечен как рассасывающийся, синтетический шовный материал (Дексон) [29]. Полигликолид является одним из наиболее прочных синтетических биоматериалов, с модулем упругости при растяжении 12,5 ГПа. Вследствие чего полигликолид применялся в качестве материала для ортопедической фиксации переломов (Biofix), а также был использован в качестве покрытия швов для увеличения их биосовместимости и доставки антибиотиков в области закрытой раны [30].

*Полилактид* подобно гликолиду образуется путём димеризации молочной кислоты. Лактид проходит полимеризацию с раскрытием кольца для достижения конечной цели получения полимерного продукта. Лактид, или молочная кислота, имеется в 2 оптических изоформах – L-лактид и D-лактид. Полилактид представляет собой полимер с 35% кристалличности и модулем Юнга 4,8 ГПа, что делает его значительно более гибким, чем полигликолид. Из-за гидролиза сложного эфира основной цепи, полилактид теряет большую часть своей силы через 6 мес в естественных условиях. Подобно полигликолиду, полилактид подвергается в организме биодegradации с образованием в качестве конечного продукта молочной кислоты – компонента клеточного метаболизма. Имплантаты из полилактида в основном применяются в ортопедии из-за высокого модуля Юнга этого полимера и его способности выдерживать большие механические нагрузки, в частности, при сжатии. Клинически доступные ортопедические имплантаты из полилактида включают штифты, винты и другие фиксирующие устройства. Мембраны из полилактида также применялись при регенерации критических костных дефектов [31].

*Керамика и биоактивное стекло.* Благодаря своим механическим и структурным особенностям керамика играет важную роль в тканевой инженерии кости. Многие керамические материалы не резорбируются, однако это является положительным свойством при замещении обширных костных дефектов, которые требуют длительного периода заживления. В этом случае каркас служит механической поддержкой для повреждённых тканей, позволяя интеграцию клеток-хозяев. Некоторые виды керамики, такие как трикальций фосфат и кальций карбонат, могут разлагаться в естественных условиях, их применяют при лечении небольших костных дефектов.

Несмотря на то что биоактивное стекло уступает керамическим материалам по своей структуре, оно служит важным компонентом в интеграции каркаса. Биоактивное стекло в основном используется в сочетании с керамическими материалами из-за их способности стимулировать сращения тканей в естественных условиях. Биоактивное стекло может инициировать покрытие его поверхности гидрокарбонат апатитом. Этот слой структурно схож с минеральным гидроксипатитом, найденным в кости, и сцепление между материалами позволяет каркасу физически прирастать к костной ткани [32].

Большое количество приспособлений из керамики и биоактивного стекла одобрено для клинического использования. Керамические тазобедренные опоры и приспособления для фиксации используются в эндопротезировании тазобедренного сустава, керамические смеси также применяют в позвоночных замещениях у пациентов с опухолью спинного мозга. Биоактивное стекло и полиуретан применяются при замещениях тела позвонка [33].

#### **Цитокины и морфогены. Костные морфогенетические протеины и фактор роста эндотелия сосудов.**

В настоящее время известно несколько протеиновых молекул, способных существенным образом моделировать процесс костной регенерации. Например, такие факторы, как семейство КМП — костные морфогенетические протеины (англ. BMP, bone morphogenetic protein) и ФРЭС — фактор роста эндотелия сосудов (англ. VEGF, Vascular endothelial growth factor).

В современной научной литературе КМП (костные морфогенетические протеины) представляют собой одно из суперсемейств ТРФ-β и имеют немаловажную роль в регулировании роста, дифференцировки и апоптоза различных типов клеток, включая остеобласты, хондроциты, нервные и эпителиальные клетки [34]. В настоящее время идентифицировано 20 гомо- или гетеродимерных структурно связанных протеинов, схожих друг с другом, наличие которых отмечается у многих животных, а также у человека [35].

Согласно исследованиям по изучению молекулярных и клеточных механизмов костеобразования в процессе остеогенеза на месте перелома имеются различные ростовые факторы (цитокины), которые влияют друг на друга, взаимодействуют с несколькими типами клеток и, возможно, КМП являются среди них наиболее важными и активными остеоиндукторами. КМП синтезируются клетками костной ткани и одновременно их активизируют. Источником КМП являются остеопротениторные и мезенхимные стволовые клетки, а также остеобласты и хондроциты [36]. Участвуя в хондрогенезе и остеогенезе, КМП стимулируют костеобразование в последовательности, подобной эмбриональному морфогенезу.

*VEGF-A* (Vascular endothelial growth factor) – фактор роста эндотелия сосудов, представляет собой группу гомодимеризованных гликопротеидов молекулярной массы 34-42 кДа. Является ведущим фактором ангиогенеза и блокирует апоптоз эндотелиальных клеток кровеносных сосудов, индуцирует протеиназы, ремоделирующие межклеточное вещество, усиливает проницаемость сосудов и вазодила-

тацию, ингибирует антигенпрезентирующие дендритные клетки. VEGF чрезвычайно важен для формирования сосудистой системы в ходе эмбриогенеза и в раннем постнатальном периоде, однако у взрослых его физиологическая активность ограничена регенерацией тканей.

Ранее нами было показано, что введение ФРЭС в состав костезамещающих материалов, может существенным образом модулировать процессы репаративной регенерации костной ткани [37].

Таким образом, можно сделать вывод, что применение КМП и ФРЭС является перспективным и своевременным направлением в развитии тканевой инженерии кости при восстановлении обширных костных дефектов.

#### Мезенхимальные стволовые клетки

МСК – мультипотентные клетки, способные дифференцироваться в остеобласты, хондроциты, адипоциты, теноциты и миоциты [38]. Их источником является либо камбиальный слой надкостницы, либо костный мозг, хотя есть и другие источники, такие как: мышцы, жир и синовиальная оболочка [39, 40]. Самыми богатыми источниками МСК у молодых людей являются костный мозг и надкостница. Несмотря на постоянное уменьшение их количества, с возрастом всё же они могут быть обнаружены и у пожилых людей. Наибольшее число МСК и их биологическая активность находятся в метафизе кости и в области толстой, васкуляризированной надкостницы, что способствует более активной регенерации в данных областях. При изучении МСК в основном использовали аспираты, извлекаемые из костного мозга [41]. Методики изоляции, как правило, основаны на адгезивных свойствах МСК. Центрифугирование в градиенте плотности используется первоначально для разделения ядросодержащих МСК, далее по мере того как клетки культивируют, МСК прилипают к поверхности колбы. Неадгезивные клетки удаляются с питательной средой при её изменении, концентрируя МСК. Клетки многократно пассируют, расширяя их популяцию, пока не выработается чистая культура. Подтверждено, что выделенные клетки обладают остеогенным потенциалом [42]. Клетки приобретают шестигранную остеобластную форму, и существует переходная индукция щелочной фосфатазной деятельности. Клетки экспрессируют белок мРНК костной матрицы и отложение гидроксиапатита – минерализаторов внеклеточной матрицы, подтверждая, что выделенные клетки становятся клетками, образующими кость. Исследования в естественных условиях, которые документируют остеобластный потенциал МСК, включают загрузку выделенных и культивированных клеток в пористые керамические носители и имплантацию их в подкожные ткани живого животного. Васкуляризированные кости формируются в пределах границ керамических имплантатов, а не в бесклеточных имплантатах. Модификация этих методов показала, что МСК можно также заставить дифференцироваться в хондрогенное направление. Кроме того, клетки могут способствовать костной регенерации при операциях имплантации [43]. МСК также может поддерживать жизнеспособность и потенциал мультипотентности после криоконсервации.

Таким образом, МСК могут быть эффективно изолированы, культивированы, сохранены и имплантированы.

#### In vivo и клинические исследования костно-инженерных конструкций

Тканевую инженерию костной ткани в челюстно-лицевой хирургии можно подразделить на три основных направления: реконструктивная хирургия нижней челюсти, хирургическое лечение врождённых костных аномалий челюстно-лицевой области и регенерация костной ткани при дентальной имплантации. S. Satos и соавт. провели сбор всей научной литературы по клиническому применению тканевой инженерии в челюстно-лицевой хирургии за период с 1999 по 2010 г., по данным направлениям авторами найдено 48 международных статей, 19 из которых посвящены реконструкции

нижней челюсти, 6 – хирургическому лечению врождённых костных аномалий и 23 – костной регенерации при дентальной имплантации [44].

#### Заключение

Восстановление дефектов костной ткани является важной задачей в практике врача-стоматолога-хирурга, челюстно-лицевого хирурга, а успех проведения данного оперативного вмешательства зависит от большого ряда факторов и требует фундаментальных знаний о различных видах биоматериалов, технологии их изготовления, а также преимуществах и недостатках их использования. Применение скаффолдов – это перспективный метод тканевой инженерии. При регенерации костных дефектов наиболее перспективным является применение сложных скаффолдов на основе синтетических материалов с включёнными в их состав минеральными компонентами и ростковыми факторами.

**Финансирование:** Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ. Проект № 15-29-04862.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Невская В.В., Малый А.Ю., Морозов К.А., Тимофеева-Кольцова Т.П. Обоснование алгоритма ведения пациентов, пользующихся съёмными протезами при частичном отсутствии зубов. *Стоматология*. 2011; 90 (2): 53–6.
2. Кицул И.С., Пивень Д.В. Порядки оказания медицинской помощи в контексте соблюдения новых требований к качеству и безопасности медицинской деятельности. *Заместитель главного врача*. 2013; 5 (84): 58–65.
3. Иванов С.Ю., Параскевич В.Л. Разработка системы дентальных имплантатов для реабилитации больных с полным отсутствием зубов. *Хирург*. 2009; 3: 16–30.
4. Мураев А.А., Иванов С.Ю., Кобозев М.И., Баландина М.А., Семенова Ю.А., Рябова В.М. Использование костно-пластического материала, содержащего фактор роста эндотелия сосудов, для сохранения объёма альвеолярного гребня после удаления зубов. *Журнал научных статей здоровья и образование в XXI веке*. 2016; 18(1): 116–22.
12. Мураев А.А., Иванов С.Ю., Кибардин А.В., Дымников А.Б., Ларин С.С. Возможности создания биокерамических костезамещающих материалов методом 3d-прототипирования. *Материалы III Международной научно-практической конференции «Новые технологии создания и применения биокерамики в восстановительной медицине»*. Томск; 2013: 120–4.
13. Мураев А.А., Ивашкевич С.Г., Рябова В.М., Короткова Н.Л., Семенова Ю.А., Мецуку И.Н. и др. Новый подход к объемной реконструкции сложных дефектов альвеолярной кости. *Современные технологии в медицине*. 2017; 9(2): 38–45.
14. Мураев А.А., Иванов С.Ю., Ивашкевич С.Г., Телешев А.Т., Кибардин А.В., Кобец К.К. и др. Органотипичные костные имплантаты — перспектива развития современных остеопластических материалов. *Стоматология*. 2017; 3: 36–9.
23. Бонарцев А.П., Бонарцева Г.А., Шайтан К.В., Кирпичников М.П. Поли-3-оксибутират и биополимерные системы на его основе. *Биомедицинская химия*. 2011; 57 (4): 374–91.
37. Мураев А.А., Иванов С.Ю., Артифескова А.А., Рябова В.М., Володина Е.В., Полякова И.Н. Изучение биологических свойств нового остеопластического материала на основе недеминерализованного коллагена, содержащего фактор роста эндотелия сосудов при замещении костных дефектов. *Современные технологии в медицине*. 2012; 1: 21–6.
40. Волков А.В., Бухарова Т.Б., Антонов Е.Н., Вихрова Е.Б., Попова А.В., Попов В.К., Гольдштейн Д.В. Тканеинженерная конструкция на основе мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток жировой ткани, полилактидных носителей и тромбоцитарного геля. *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия*. 2013; 8(4): 61–8.

#### REFERENCE

1. Nevskaya V.V., Malyy A.Yu., Morozov K.A., Timofeeva-Kol'tsova T.P. Justification of the algorithm for the management of patients using dentures in the partial absence of teeth. *Stomatologiya*. 2011; 90 (2): 53–6. (in Russian)

2. Kitsul I.S., Piven' D.V. Procedures for medical care in the context of compliance with new requirements for quality and safety of medical activities. *Zamestitel' glavnogo vracha*. 2013; 5 (84): 58–65. (in Russian)
3. Ivanov S.Yu., Paraskevich V.L. Development of a system of dental implants for the rehabilitation of patients with complete absence of teeth. *Khirurg*. 2009; 3: 16–30. (in Russian)
4. Muraev A.A., Ivanov S.Yu., Kobozev M.I., Balandina M.A., Semenova Yu.A., Ryabova V.M. The use of bone plastic material containing vascular endothelial growth factor to preserve the volume of the alveolar crest after tooth extraction. *Zhurnal nauchnykh statey zdorov'e i obrazovanie v XXI veke*. 2016; 18(1): 116–22. (in Russian)
5. Dubruel P., Vlierberghe S.V. *Biomaterials for Bone regeneration. Novel Techniques and application*. Woodhead publishing series in biomaterials: Cambridge, UK; 2014.
6. Carter D.R., Beaupre G.S., Giori N.J. et al. Mechanobiology of skeletal regeneration. *Clin Orthop*. 1998; 355: 41–55.
7. Attawia M., Kadiyala S., Fitzgerald K. et al. *Cell-based approaches for bone graft substitutes*. Laurencin CT (ed) *bone Graft substitutes ASTM*. International West Conshohocken: 2003; 126–41.
8. Bryant S.J., Anseth K.S. Controlling the spatial distribution of ECM components in degradable PEG hydrogels for tissue engineering cartilage. *J. Biomed Mater Res A*. 2003; 64: 70–9.
9. Hollister S.J. Porous scaffold design for tissue engineering. *Nat. Mater*. 2005; 4: 518–24.
10. Zhong T., Deng C., Gao Y., Chen M., Zuo B. Studies of in situ forming hydrogels by blending PLA-PEG-PLA copolymer with silk fibroin solution. *J. Biomed. Mater. Res. A*. 2012; 100: 1983–9.
11. Wang C.C., Yang K.C., Lin K.H., Liu H.C., Lin F.H. A highly organized three-dimensional alginate scaffold for cartilage tissue engineering prepared by microfluidic technology. *Biomaterials*. 2011; 32: 7118–26.
12. Muraev A.A., Ivanov S.Yu., Kibardin A.V., Dymnikov A.B., Larin S.S. The possibility of creating bioceramic bone-replacement materials by 3d prototyping. *Materials of the III International scientific-practical conference. «New technologies of bioceramics creation and application in regenerative medicine»*. [Materialy III Mezhdunarodnoj nauchno-prakticheskoy konferencii «Novye tekhnologii sozdaniya i primeneniya biokeramiki v vosstanovitel'noy medicine»]. Tomsk; 2013: 120–4. (in Russian)
13. Muraev A.A., Ivashkevich S.G., Ryabova V.M., Korotkova N.L., Semenova Yu.A., Metsuku I.N. et al. A new approach to the volume reconstruction of complex defects of the alveolar bone. *Sovremennye tekhnologii v meditsine*. 2017; 9(2): 38–45. (in Russian)
14. Muraev A.A., Ivanov S.Yu., Ivashkevich S.G., Teleshev A.T., Kibardin A.V., Kobets K.K. et al. Organotypic bone implants—the prospect of the development of modern osteoplastic materials. *Stomatologiya*. 2017; 3: 36–9. (in Russian)
15. Ricard-Blum S. *The collagen family*. Cold Spring Harb. Perspect Biol. 2011; 3(1): a004978.
16. Kim B.-S., Baez C.E., Atala A. Biomaterials for tissue engineering. *World J. Urol*. 2000; 18(4): 2–9.
17. Ponticelli M.S., Schinagl R.M., Kadiyala S., Barry P. Gelatin-based resorbable sponge as a carrier matrix for human mesenchymal stem cells in cartilage regeneration therapy. *J. Biomed. Mater. Res*. 2000; 52 (2): 246–55.
18. Peters A., Baruch Ya., Weisbuch F., Shoshany G., Neufeld G., Cohen S. Enhancing the vascularization of three-dimensional porous alginate scaffolds by incarnating controlled release basic fibroblast growth factor microspheres. *J. Biomed. Mater. Res*. 2003; 65A (4): 489–98.
19. Marreco P.R., da Luz Moreira P., Genari S.C., Moraes A.M. Effects of different sterilization methods on the morphology, mechanical properties and cytotoxicity of chitosan membranes used as a wound dressing. *J. Biomed Mater Res*. 2004; 71B (2): 268–77.
20. Heywood H.K., Semb P.K., Lee D.A., Bader D.L. Cellular utilization determines viability and matrix distribution profiles in chondrocyte-seeded alginate constructs. *Tissue Engineering*. 2004; 10 (9/10): 1467–79.
21. Fialkov J.A., Holy C.E., Shoichet M.S., Davies J.E. In vivo bone engineering in a rabbit femur. *J. Craniofac. Surg*. 2003; 14(3): 324–32.
22. Bonartsev A.P., Iordanskii A.L., Bonartseva G.A. and Zaikov G.E. Biodegradation and Medical Application of Microbial Poly (3-Hydroxybutyrate). *J. Balkan tribolog. associat*. 2008; 14 (3): 359–95.
23. Bonartsev A.P., Bonartseva G.A., Shaytan K.V., Kirpichnikov M.P. Poli-3-oksubutirat i biopolimernye sistemy na ego osnove. *Biomeditsinskaya khimiya*. 2011; 57 (4): 374–91. (in Russian)
24. Wang Y.W., Yang F., Wu Q., Cheng Y.C., Yu P.H., Chen J. et al. Effect of composition of poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate) on growth of fibroblast and osteoblast. *Biomaterials*. 2005; 26: 755–61.
25. Wang Y., Gao R., Wang P.P., Jian J., Jiang X.L., Yan C. et al. The differential effects of aligned electrospun PHBHHx fibers on adipogenic and osteogenic potential of MSCs through the regulation of PPARgamma signaling. *Biomaterials*. 2012; 33: 485–93.
26. Ye C., Hu P., Ma M.X., Xiang Y., Liu R.G., Shang X.W. PHB/PHBHHx scaffolds and human adipose-derived stem cells for cartilage tissue engineering. *Biomaterials*. 2009; 30: 4401–6.
27. Webb W.R., Dale T.P., Lomas A.J., Zeng G., Wimpenny I., El Haj A.J. et al. The application of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate) scaffolds for tendon repair in the rat model. *Biomaterials*. 2013; 34: 6683–94.
28. Kose G.T., Ber S., Korkusuz F., Hasirci V. Poly(3-hydroxybutyric acid-co-3-hydroxyvaleric acid) based tissue engineering matrices. *J. Mater. Sci. Mater. Med*. 2003; 14: 121–6.
29. Bremer F., Gellrich N.C., Stiesch M. In vitro studies of the mechanical load capability of resorbable monofilament suture materials. *Schweiz Monatssch Zahnmed*. 2009; 119(9): 876–80.
30. Ming X., Nichols M., Rothenburger S. In vivo antibacterial efficacy of MONOCRYL plus antibacterial suture (Poliglecaprone 25 with triclosan). *Surg. Infect. (Larchmt)*. 2007; 8(2): 209–14.
31. Meinig R.P. Clinical use of resorbable polymeric membranes in the treatment of bone defects. *Orthop. Clin. North. Am*. 2010; 41(1): 39–47.
32. Rezwan K., Chen Q.Z., Blaker J.J., Boccaccini A.R. Biodegradable and bioactive porous polymer/inorganic composite scaffolds for bone tissue engineering. *Biomaterials*. 2006; 27(18): 3413–31.
33. Jeffers J.R., Walter W.I. Ceramic-on-ceramic bearings in hip arthroplasty: state of the art and the future. *J. Bone Joint Surg. Br*. 2012; 94(6): 735–45.
34. Reddi A.H. Morphogenetic messages are in the extracellular matrix: biotechnology from bench to bedside. *Biochem. Soc. Trans*. 2000; 28: 345–9.
35. Wozney J.M. *Biology and clinical applications of rhBMP-2*. In: Lynch SE, Genco RJ, Marx RE (eds). *Tissue engineering: Applications in maxillofacial surgery and periodontics*. Chicago IL Quintessence Publishing, 1999: 103–24.
36. Wozney J.M., Rosen V. Bone morphogenetic protein and bone morphogenetic protein gene family in bone formation and repair. *Clin. Orthop*. 1998; 346: 26–37.
37. Muraev A.A., Ivanov S.Yu., Artifeksova A.A., Ryabova V.M., Volodina E.V., Polyakova I.N. Study of biological properties of new osteoplastic material based on non-demineralized collagen containing vascular endothelial growth factor in bone defects replacement. *Sovremennye tekhnologii v meditsine*. 2012; 1: 21–6. (in Russian)
38. Pittenger M.F., Mackay A.M., Beck S.C. et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science*. 1994; 284: 143–7.
39. Kadiyala S., Young R.G., Thiede M.A. et al. Culture expanded canine mesenchymal stem cells possess osteochondrogenic potential in vivo and in vitro. *Cell Transplant*. 1997; 6: 125–34.
40. Volkov A.V., Bukharova T.B., Antonov E.N., Vikhrova E.B., Popova A.V., Popov V.K., Goldstein D.V. Tissue-engineered construction made of adipose derived multipotent mesenchymal stromal cells, polylactide scaffolds and platelet gel. *Kletchnaya transplantologiya i tkanyaya inzheneriya*. 2013; 8 (4): 61–8.
41. Bruder S.P., Fink D.J., Caplan A.I. Mesenchymal stem cells in bone development, bone repair, and skeletal regeneration therapy. *J. Cell Biochem*. 1994; 56: 283–94.
42. Cooper L.F., Harris C.T., Bruder S.P. et al. Incipient analysis of mesenchymal stem-cell-derived osteogenesis. *J. Dent Res*. 2001; 80: 314–20.
43. Barry F.P., Murphy J.M. Mesenchymal stem cells: clinical applications and biological characterization. *Int J. Biochem Cell Bio*. 2004; 36: 568–84.
44. Catros S., Guillemot F., Amédée J., Fricain J.-C. Ingénierie tissulaire osseuse en chirurgie buccale et maxillo-faciale: applications cliniques. *Med. Buccale Chir. Buccale*. 2010; 16: 227–37.

Поступила 09.02.18

Принята в печать 16.02.18