

лученных различными способами, на заживление ран: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М.; 1983 [Verchenko V.V. Peculiarities of the influence of collagen preparations derived by different techniques on wound healing. Cand. med. sci. Diss. Moscow; 1983 (in Russian)].

6. Сыгеников И.А., Абоянц Р.К., Дронов А.Ф. и др. Коллагенопластика в медицине. М.: Медицина; 1978 [Sygenikov I.A., Aboyants R.K., Dronov A.F. et al. Collagen plasty in medicine. Moscow: Meditsina; 1978 (in Russian)].

Сведения об авторе: Волков Алексей Вадимович — канд. мед. наук, старший науч. сотр. лаборатории. роста и развития. Для контактов: 117418, Москва, ул. Цюрупы, д. 3, НИИМЧ. Тел.: +7 (926) 478-87-63. E-mail: alex.volkoff@gmail.com.

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

© Коллектив авторов, 2015

ОРДИНАРНЫЕ И АКТИВИРОВАННЫЕ ОСТЕОПЛАСТИЧЕСКИЕ МАТЕРИАЛЫ

Р.В. Деев, А.Ю. Дробышев, И.Я. Бозо

ОАО «Институт стволовых клеток человека»; ГБОУ ВПО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова»; ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации — Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна» ФМБА России, Москва, РФ



Остеопластические материалы являются высоко востребованными в клинической практике медицинскими изделиями, показанными для замещения костных дефектов и восполнения участков атрофии костной ткани. На основе анализа современных групп остеопластических материалов, особенностей их состава, механизмов биологического действия и показаний к применению предложена прикладная классификация, в соответствии с которой медицинские изделия разделяются на ординарные и активированные. Основным дифференциальным критерием является наличие в составе материала стандартизированных по качественным и количественным параметрам биологически активных компонентов: факторов роста, клеток или генных конструкций, кодирующих факторы роста. Выраженные остеоиндуктивные и (или) остеогенные свойства активированных остеопластических материалов позволяют рассчитывать на их эффективность при замещении протяженных (объемных) костных дефектов.

Ключевые слова: остеопластические материалы, биологически активные компоненты, факторы роста, клетки, генные конструкции.

Ordinary and Activated Osteoplastic Materials

R.V. Deev, A.Yu. Drobyshev, I.Ya. Bozo

Human Stem Cells Institute, Moscow; A.I. Evdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry, Moscow; A.I. Burnazyan Federal Medical and Biophysical Center, Moscow, Russia

Osteoplastic materials are highly required medical devices for bone defects substitution and filling the areas of bone tissue atrophy. Based on analysis of modern groups of osteoplastic materials, features of their composition, mechanisms of biological action, and indications for clinical use, the applied classification which divides the medical items into ordinary and activated categories is proposed. The main differential criterion is the presence of certain biologically active components in the material composition: growth factors, cells or gene constructions encoding growth factors that are standardized by qualitative and quantitative parameters. Pronounced osteoinductive and (or) osteogenic properties of activated osteoplastic materials enable counting on their effectiveness in replacement of large bone defects.

Key words: osteoplastic materials, biologically active components, growth factors, cells, gene constructions.

Костнопластические операции — одна из основных составляющих практики как в травматологии и ортопедии, так и в челюстно-лицевой хирургии.

Высокая частота выполнения таких оперативных вмешательств обусловлена распространенностью и многообразием патологических состояний, приво-

дящих к формированию костных дефектов. Специфическую группу показаний к применению остеопластических материалов в травматологии и ортопедии составляют дегенеративно-дистрофические заболевания позвоночника и крупных суставов, а в хирургической стоматологии и челюстно-лицевой хирургии — атрофия альвеолярного отростка верхней челюсти и альвеолярной части нижней челюсти.

Только в США, по данным Национального центра статистики здравоохранения, в 2010 г. количество операций на костях и суставах составило 4 млн 392 тыс. Из них около 1 млн было выполнено на костях черепа, конечностей, ребрах и грудине по поводу травм, посттравматических деформаций, онкологических и воспалительных заболеваний, а еще 1 млн 394 тыс. — эндопротезирований суставов нижних конечностей (с учетом ревизионных вмешательств). Причем не менее чем в 20–25% случаев требовалось применение остеопластических материалов. Количество спондилодезов, в большинстве случаев выполняемых с использованием костнозамещающих материалов, составило 500 тыс. (включая 27 тыс. реопераций), а число артродезов — 21 тыс. [1]. Иными словами, общее количество операций с применением костнозамещающих материалов составило не менее 1,3–1,5 млн. Учитывая, что число эксплантаций аутокостных фрагментов не превысило 207 тыс., потребность в остеопластических материалах становится очевидной.

В хирургической стоматологии и челюстно-лицевой хирургии для установки каждого четвертого дентального имплантата требуется костная пластика [2]. При этом, согласно оценке компании «Штрауман» (Германия), только в таких странах, как Италия, Испания, Швейцария, Германия, Австрия, Нидерланды, Швеция, Португалия, Франция, Великобритания, Канада, США, Южная Корея, Япония, Австралия, Бразилия, Россия, Китай, Индия общее количество устанавливаемых в год (2012) имплантатов составляет не менее 10,7 млн единиц; из них в России — около 220 тыс. (что, вероятно, весьма занижено) [3]. В этой связи потребность в остеопластических материалах только при данной категории медицинских показаний составляет более 2,5 млн упаковок.

Количество одобренных для клинического применения медицинских изделий из биорезорбируемых материалов, показанных для замещения костных дефектов, в России составляет более 100. За рубежом, а также на стадиях экспериментальных и клинических исследований их количество в несколько раз больше. Очевидно, что такое многообразие материалов для костной пластики является результатом не только высокой потребности, но и отсутствия универсального медицинского изделия, эффективного в большинстве клинических ситуаций. Именно остеопластический материал даже в случае правильно составленного плана лечения, оптимального технического выполнения операции

с применением передовых медицинских технологий может предопределить непредсказуемость и в ряде случаев неудовлетворительный результат лечения.

Многообразие внедренных в практику и находящихся на различных стадиях разработки остеопластических материалов нуждается в систематизации, поэтому уже описаны варианты разделения материалов по происхождению, химическому составу, физическим свойствам и прочим основаниям [4]. Предложена также хронологическая классификация, разделяющая все разработанные остеопластические материалы на 5 поколений: ксено-, алло- и аутогенные костные фрагменты, не подвергавшиеся специальной обработке; консервированные аллокостные материалы; аналоги костной ткани синтетического и натурального происхождения, в том числе с факторами роста; тканеинженерные костные графты; ген-активированные остеопластические материалы [5]. Безусловно, все разработанные системы логичны, но имеют лишь теоретическое значение, не связаны с медицинскими показаниями, а потому не являются подспорьем при выборе оптимального варианта медицинского изделия в конкретной клинической ситуации. При этом существует потребность именно в прикладной классификации, которая позволила бы объединить как теоретические аспекты, важные для биоматериаловедов, так и практические основания, необходимые врачам. Формулировке и обоснованию именно такой систематизации посвящена данная работа.

СОВРЕМЕННЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ В РАЗРАБОТКЕ ОСТЕОПЛАСТИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

Первое технологическое направление объединяет абсолютное большинство внедренных в клиническую практику остеопластических материалов, не содержащих биологически активные компоненты, стандартизированные по качественным и количественным показателям. К данной категории, которую можно обозначить термином «ординарные материалы», относятся: аллогенный и ксеногенный костный матрикс различных технологий обработки (деминерализованный, депротенинизированный) [6]; фосфаты кальция (β -трикальция фосфат [7], октакальциевый фосфат [8] и др.); натуральный или синтетический гидроксипатит [9]; синтетические (PLGA и т.д.) [10] и натуральные (коллаген, хитозан) органические полимеры [11]; силикаты [12]; композитные изделия из вышеперечисленных материалов и др.

Известно, что остеопластические материалы могут обладать различными свойствами, обеспечивающими специфическое влияние на репаративный остеогистогенез. К таким свойствам относятся *остеоиндукция*, *остеопротекция*, *остеоиндукция*, *остеогенность* [13]. Абсолютное большинство ординарных остеопластических материалов обладают главным образом остеоиндукцией. Некото-

рые из них (например, деминерализованный костный матрикс, полученный в результате обработки с использованием различных технологий; фосфаты кальция и пр.) характеризуются также умеренным остеоиндуктивным действием, вероятно, за счет оптимальных физико-химических свойств и (или) наличия в составе матрикса неопределенного, не стандартизированного по качественным и количественным параметрам спектра биологически активных веществ [14]. Основным механизмом их действия обусловлен направлением формирующегося костного регенерата, а предел эффективности ограничивается оптимизацией естественного хода репаративного остеогистогенеза, что оптимально для замещения костных дефектов с высоким уровнем активности нативных остеоиндуцирующих факторов, но недостаточно для восполнения протяженных (объемных) костных дефектов.

Установлено, что протяженные (объемные) костные дефекты, которые представляют серьезную клиническую проблему, характеризуются «остеогенной недостаточностью». *Остеогенная недостаточность* — это патологическое состояние, обусловленное низкой активностью остеоиндуцирующих факторов системного или локального уровня (табл. 1) и (или) малым количеством камбиальных клеток в области повреждения кости, при котором естественный ход репаративного остеогистогенеза не способен обеспечить полного ее гисто- и органо-типического восстановления [15].

Причины остеогенной недостаточности можно разделить на местные и общие. К первым относятся размеры дефекта, его геометрия, количество стенок [16]; повреждающий фактор (высоко- и низкоэнергетические травмы), наличие патологического воспалительного процесса и факторов, его поддерживающих; низкая плотность функционирующих сосудов гемомикроциркуляторного русла в стенках костного дефекта и пр. Среди общих причин выделяют возраст [17], соматические заболевания (сахарный диабет [18], остеопороз [19]), вредные привычки (курение) [20], прием лекарственных препаратов, негативно влияющих на остеогенез (цитостатики [21], возможно, бисфосфонаты [22], хотя согласно мета-анализу D. Хуе и соавт. (2014) отрицательного влияния последних на сроки заживления переломов выявлено не было [23]).

Таким образом, все костные дефекты могут быть разделены на две группы по отсутствию/наличию остеогенной недостаточности. Первые отличаются высокой активностью естественного репаративного процесса, поэтому для сокращения сроков лечения и получения костного регенерата большего объема в их случае достаточно оптимизации репаративной регенерации. Дефекты с остеогенной недостаточностью характеризуются низкой интенсивностью остеогистогенеза, в связи с чем требуют не столько оптимизации, сколько индукции и поддержания его на высоком уровне, что может быть достигнуто только привнесением дополни-

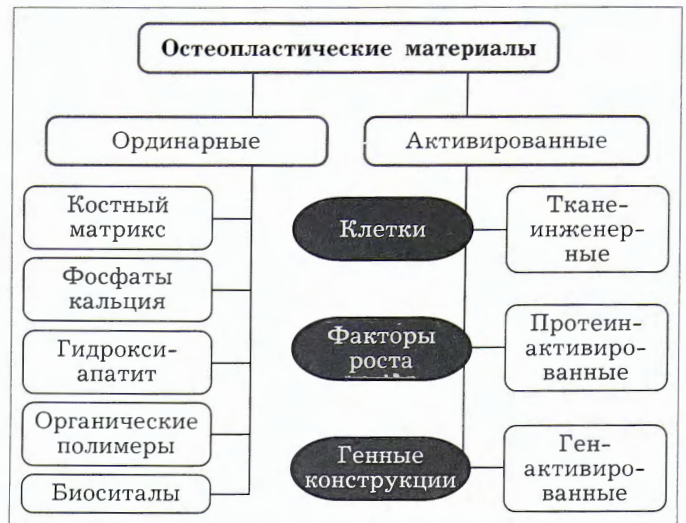


Рис. 1. Обобщенная классификация современных остеопластических материалов.

тельных факторов роста, субстанций, повышающих их синтез, или клеток, способных к их продукции. Иными словами, для восполнения костных дефектов с остеогенной недостаточностью ординарные материалы неэффективны, так как неспособны привнести, смоделировать воздействия факторов регуляции остеогистогенеза. Для этих целей остеопластические материалы совмещают с клетками, факторами роста или генными конструкциями, их кодирующими. Создание сложных материалов, содержащих биологически активные компоненты, и составляет *второе технологическое направление*, объединяющее «активированные материалы». По природе остеоиндуцирующего компонента изделий разработки могут быть разделены на тканеинженерные, постгеномные и генные (рис. 1).

Тканеинженерные остеопластические материалы

Данная группа материалов представлена изделиями, состоящими из двух основных компонентов: биорезорбируемого носителя и живых (ауто- или аллогенных) клеток. Основная идея подхода состоит в восполнении утраченных камбиальных резервов и повышении концентрации остеоиндуцирующих факторов в области имплантации материала. Трансплантированные клетки в реципиентном ложе при условии высокой доли выживаемости способны оказать благоприятный терапевтический эффект за счет двух механизмов действия: непосредственного — дифференцировки в коммитированные клетки поврежденных тканей (показано для аутогенных клеток [24]), а также опосредованного — паракринный эффект — регуляция морфофункциональной активности других клеток за счет продукции биологически активных веществ — факторов локальной регуляции остеогистогенеза (см. табл. 1). Важно, что, по мнению многих авторов, именно паракринная активность клеток тканеинженерного остеопластического ма-

Табл. 1. Основные факторы локальной регуляции репаративного остеогистогенеза

Название	Влияние на остеогенез	Влияние на ангиогенез
BMP-2, 4	Активация пролиферации, дифференцировки, синтеза компонентов костного межклеточного матрикса и факторов роста (VEGF, bFGF и др.) [117]. Биологическое действие нивелируется влиянием BMP-3 [118]	Воздействие на ЭПК. Стимуляция миграции, пролиферации и формирования капиллярподобных структур, увеличение экспрессии рецепторов VEGF и ANG-1 без влияния на дифференцировку и выживаемость клеток [119]
BMP-3	Подавление дифференцировки; снижение активности остеогистогенеза [118]	—
BMP-6	Снижение пролиферативной активности ММСК, активация дифференцировки [120] (в большей степени, чем другие BMP [121])	Активация пролиферации ЭПК, организации капиллярподобных структур [122]
BMP-7	Активация пролиферации, дифференцировки и синтеза компонентов костного межклеточного матрикса [123]	Усиление пролиферации эндотелиальных клеток, повышение уровня продукции рецепторов VEGF, индукция образования капиллярподобных структур [124]
BMP-9	Повышение продукции компонентов костного межклеточного матрикса без негативной регуляции со стороны BMP-3 [125]	Активация пролиферации эндотелиальных клеток, в том числе через увеличение продукции рецепторов ангиогенных факторов (VEGF и ANG-1) [126]
VEGF	Увеличение пролиферативной активности, индукция хемотаксиса по градиенту концентрации и дифференцировки [127]	Стимуляция пролиферации, дифференцировки, миграции, формирования капиллярподобных структур, ингибирование апоптоза эндотелиальных клеток [128]
Фактор стромальных клеток-1 (SDF-1)	Индукция хоуминга камбиальных клеток по градиенту концентрации, подавление дифференцировки [129]	Активация миграции, пролиферации, адгезии и дифференцировки ЭПК [130]
Ангиопоэтин-1, 2	—	Активация дифференцировки, формирования межклеточных контактов эндотелиальными клетками в составе стенки сосудов (стабилизация сосудов) [131]
Эритропоэтин	Стимуляция дифференцировки ММСК в остеобластическом направлении, моноцитов – в остеокласты, без усиления их активности [132]; увеличение пролиферации хондроцитов [133]	Стимуляция пролиферации эндотелиоцитов [134] и продукции NO [135]
Основной фактор роста фибробластов	Усиление пролиферации и подавление дифференцировки [136]	Усиление пролиферации и подавление дифференцировки ЭПК [137]
Гепатоцитарный фактор роста	Активация дифференцировки и синтеза компонентов костного межклеточного матрикса [138]	Активация пролиферации и миграции [139], подавление апоптоза, уменьшение проницаемости эндотелия [140]
Инсулиноподобный фактор роста-1	Повышение механочувствительности специализированных клеток, индукция дифференцировки и синтеза компонентов костного межклеточного матрикса в ответ на физическую нагрузку [141]	Активация миграции, пролиферации и дифференцировки эндотелиальных клеток, индукция образования капиллярподобных структур [142]
PDGF-AA	Незначительное увеличение пролиферации и дифференцировки, активация хемотаксиса (в меньшей степени, чем под действием PDGF-BB) [143], повышение уровня продукции IGF-1 [144]	—
PDGF-BB	Активация пролиферации и миграции клеток [145]	Индукция миграции перицитов, их адгезии и встраивания в стенки формирующихся сосудов, активация миграции ЭПК [145]
TGF-β1	Увеличение пролиферативной активности, снижение дифференцировки и синтеза компонентов костного межклеточного матрикса [146]	Активация миграции, пролиферации и образования капиллярподобных структур [147]
Ангиогенин	—	Высвобождение эндотелиальных клеток из стенок сосудов, их активация, стимуляция миграции и пролиферации [148]

териала является основным их механизмом действия [25]. Среди наиболее значимых для обеспечения репаративного остеогистогенеза факторов, продуцируемых трансплантированными клетками,

следует выделить костные морфогенетические белки (BMP), сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF) и фактор стромальных клеток (SDF-1). Интересно, что за сутки 10 млн мезенхимальных

мультипотентных стволовых клеток (ММСК) костного мозга в условиях *in vitro* продуцируют около 750 пг/мл VEGF, 1030 пг/мл TGFβ1 [26], 220 пг/мл SDF-1 [27]; 10 млн остеогенных клеток надкостницы секретируют в день до 40 нг/мл BMP-2 и 200 пг/мл VEGF [28].

Костные морфогенетические белки (BMP) — это представители семейства трансформирующих факторов роста, открытых во второй половине XX века, биологическое действие которых не ограничивается пределами костной ткани. Такое название было дано им в связи с тем, что впервые эти белки были обнаружены в деминерализованных и лиофилизированных костных матриксах, имплантированных в мышцы кроликов и показавших остеоиндуктивные свойства [29]. Из всех представителей семейства BMP наиболее выраженным влиянием на клетки остеобластического дифферона обладают BMP-2, 4, 6, 7 и 9, меньшим — BMP-3, 5, 8, 10–15 [30].

Связывание BMP со специфическими мембранными тирозинкиназными рецепторами (1-го и 2-го типа) приводит к фосфорилированию внутриклеточных белков Smad-1, 5, 8, каждый из которых после активации образует «транспортный» комплекс со Smad-4, транслоцирующим их в ядро клетки. В ядре рецепторные белки Smad увеличивают экспрессию генов, кодирующих основные транскрипционные факторы, ответственные за приобретение клеткой «osteобластического фенотипа» (рис. 2) [30, 31]. К таким транскрипционным факторам относятся Runx2 (runt-related transcription factor 2), или кор-связывающий фактор [31, 32], Msx2 [33] и Dlx 5 и 6 [34]. Взаимодействуя друг с другом и другими транскрипционными факторами, такими как Osx (osterix) [35, 36], они влияют на таргетные гены. В результате увеличивают пролиферативную активность клеток-предшественниц (главным образом, Msx2 [33]), дифференцировку в остеобластическом направлении, а также продукцию компонентов костного межклеточного матрикса (остеокальцин, костный сиалопротеин, щелочная фосфатаза, коллагены III и I типа) [35, 37]. Интересно, что ингибирующий эффект на Smad-опосредованное действие BMP оказывают другие две формы Smad: 6 и 7 [38]. Внутриклеточный сигнальный путь Smad не является единственным для BMP [39], а семейством трансформирующих факторов роста (BMP и TGF-β) не исчерпывается список активаторов Smad и указанных выше транскрипционных факторов.

Важно, что мутации в генах, кодирующих BMP-2 или ключевые внутриклеточные белки (Runx2, Msx2, Dlx5, 6; Osx и др.), обеспечивающие трансдукцию его сигналов, сопровождающиеся выпадением их функции (loss-of-function), приводят к развитию тяжелых расстройств, в гомозиготном состоянии не совместимых с жизнью. Так, результатом генетически обусловленной недостаточности BMP-2 являются повышенная хрупкость костей,

нарушения энхондрального остеогенеза и минерализации костного матрикса [40]. При этом только функция BMP-2 не может быть компенсирована работой других белков: селективное «выключение» других факторов семейства BMP (4, 7) не оказывает существенного влияния на гистофизиологию костей скелета, хотя сопровождается патологической симптоматикой со стороны других органов и систем (мочевыделительная, сердечно-сосудистая и др.) [41, 42]. «Выпадение» α-субъединицы кор-связывающего фактора в связи с мутацией при условии сохранения идентичной ей β-субъединицы (Runx2^{+/-}) приводит к формированию клейдокранияльной дисплазии (дизостоза) [43], а генотип Runx2^{-/-} несовместим с жизнью [44]. Мутации в гене Msx2 являются генетической основой аутосомно-доминантных краниосиностозов [45].

Сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF) — семейство биологически активных белков, впервые выделенных J. Folkman и соавт. в 1971 г. [46], которые считаются одними из основных ауто- и паракринных факторов регуляции васкуло-, ангио- (VEGF-A, B; PlGF) и лимфогенеза (VEGF-C, D); вырабатываются клетками всех тканей организма, включая эпителиальные.

В постнатальном периоде развития человека наибольшее влияние на формирование кровеносных сосудов оказывает VEGF-A (изоформы 121, 145, 148, 165, 183, 189, 206) [47]. Обнаружены три типа рецепторов VEGF: 1-й и 2-й тип вовлечены в ангиогенез, 3-й — в образование лимфатических сосудов. При этом рецептор 1-го типа обладает большей афинностью к VEGF, однако его тирозинкиназная активность гораздо ниже, чем у рецептора 2-го типа, что расценивается как один из регуляторных механизмов, предотвращающих избыточную активность VEGF. Соответственно именно через рецептор 2-го типа в норме реализуются

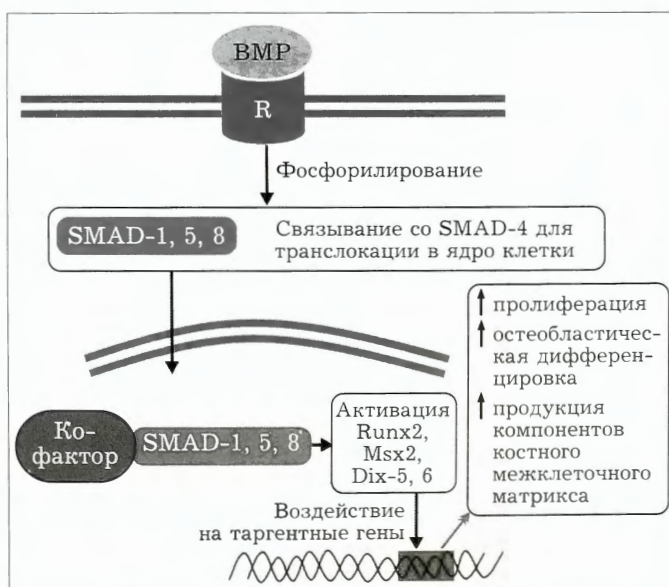


Рис. 2. Схема внутриклеточного SMAD-опосредованного пути трансдукции сигналов BMP.

эффекты VEGF [48, 49]. После взаимодействия VEGF со специфическим рецептором 2-го типа происходит аутофосфорилирование его внутриклеточных тирозиновых сайтов (Y951, 1054, 1059, 1175, 1214) киназных и карбокситерминального доменов [50], которые активируют ряд внутриклеточных белков, таких как фосфолипазы C γ , C β 3, адаптерные белки SRK, NCK, SHB, SCK и др., являющиеся первыми звеньями сложных каскадов трансдукции сигналов, изменяющих морфофункциональное состояние клеток-мишеней (главным образом, эндотелиальных). В частности, фосфолипаза C γ гидролизует мембранный фосфолипид PIP $_2$ с образованием диацилглицерола и инозитол-1,4,5-трифосфата, увеличивающего внутриклеточное содержание кальция, которые вместе активируют протеинкиназу C, которая в свою очередь запускает последовательную активацию сигнального пути RAS-ERK, приводящего к индукции митоза. В результате повышается пролиферативная активность эндотелиальных клеток [49]. Фосфолипаза C β 3 участвует в полимеризации актина и формировании стресс-фибрилл, обеспечивающих миграцию и двигательную активность клеток в целом [51]. Через активацию сигнального пути «фосфоинозитид-3-киназа – протеинкиназа B» (PI3K/АКТ) VEGF блокирует апоптоз, ингибируя каспазы 3, 7 и 9, тем самым повышая выживаемость клеток. Кроме того, ось PI3K/АКТ с помощью ионов кальция модулирует работу эндотелиальной NO-синтазы, что сопровождается увеличением продукции NO и повышением проницаемости сосудов, что являющимся необходимым звеном в ангиогенезе (рис. 3) [52, 53]. Таким образом, VEGF через специфический рецептор 2-го типа индуцирует активацию, миграцию, пролиферацию и дифференцировку эндотелиоцитов и их клеток-предшественниц, повышение выживаемости клеток, что в сочетании с модуляцией межклеточных взаимодействий и повышением проницаемости сосудов служит необходимыми условиями формирования капиллярноподобных структур с последующим ремоделированием в «зрелые» сосуды [49–54]. В связи

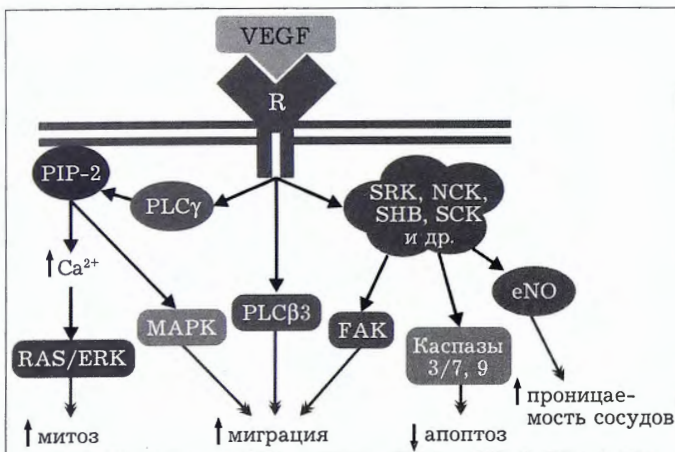


Рис. 3. Схема внутриклеточного каскадного пути трансдукции сигналов VEGF.

с тем что в случае как первичного, так и вторичного остеогистогенеза именно сосуды, прорастающие в рыхлую волокнистую соединительную или хрящевую ткань, создают необходимые условия для дифференцировки резидентных клеток в остеобластическом направлении, а также для миграции камбиальных резервов (периваскулярно и с кровотоком), VEGF-A может рассматриваться как не прямой остеоиндуцирующий фактор.

Помимо опосредованного через ангиогенез влияния VEGF оказывает и прямое стимулирующее действие на клетки остеобластического дифферона, которые не только продуцируют VEGF [55], но и экспрессируют его рецепторы 1-го и 2-го типов как в эмбриогенезе [56], так и в постнатальном периоде развития [57]. Показано, что под воздействием VEGF пролиферация камбиальных клеток костной ткани значительно (до 70%) увеличивается, а также активируется миграция остеогенных клеток по градиенту концентрации VEGF [58].

В последние годы помимо канонического, рецепторного, механизма действия VEGF на малодифференцированные клетки остеобластического дифферона, рассматривается принципиально иной механизм, который обозначают как «интракринный». Подтверждением этому стали результаты исследований, продемонстрировавших, что прогениторные клетки, коммитированные в остеобластическом направлении (экспрессирующие *Osx*), синтезируют VEGF не только «на экспорт», но и для обеспечения собственной дифференцировки в остеобластическом направлении [59]. Так, Y. Liu и соавт. [60] исследовали культуры ММСК костного мозга, полученные от здоровых мышей (контроль) и от животных с «lost-of-function» мутацией гена, кодирующего VEGF. Оказалось, что клетки экспериментальной группы в значительно меньшей степени, чем контрольной подвергались дифференцировке в остеобластическом направлении, при этом их адипогенный потенциал повышался. Добавление рекомбинантного VEGF в среду культивирования «мутантных» клеток не приводило к нормализации дифференцировочного потенциала, так же как и добавление антител, блокирующих рецепторы VEGF, в контроле не сопровождалось негативными эффектами. Однако после трансфекции клеток экспериментальной группы ретровирусным вектором с геном *vegf*, приведшей к повышению внутриклеточной концентрации белка VEGF, наблюдалось увеличение остеогенных с одновременным снижением адипогенных потенций.

Таким образом, VEGF обладает широким спектром действия на клетки эндотелиального и мезенхимальных клеточных дифферонов, вовлеченные в репаративный остеогистогенез, оказывая как опосредованное через ангиогенез стимулирующее влияние, так и непосредственное индуцирующее действие на клетки остеобластической линии через рецепторные и интракринные механизмы.

Фактор стромальных клеток SDF (CXCL12) — белок, относящийся к группе хемокинов, представленный двумя формами, образующимися в результате альтернативного сплайсинга: SDF-1 α (89 аминокислот) и SDF-1 β (93 аминокислоты) [61]. Показана его продукция клетками костного мозга, фибробластического и остеобластического дифференон, периваскулоцитами.

Основным рецептором SDF является CXCR4. При образовании комплекса с лигандом происходит активация внутриклеточного G-белка, состоящего из трех субъединиц (α , β , γ), с его разделением на гетеродимер G β/γ и мономер G α (4 изоформы), каждый из которых инициирует как различные, так и общие внутриклеточные пути трансдукции сигналов. Так, G β/γ активирует фосфолипазу C γ , которая, как было описано выше, увеличивает выход ионов кальция из внутриклеточных депо и через ряд последовательных звеньев активирует MAPK (mitogen-activated protein kinase), которые в свою очередь запускают хемотаксис (рис. 4) [62]. Кроме того, побуждение клетки к миграции обеспечивается также через активацию PI3K, а к пролиферации — через p38 [63]. Транскрипционный фактор NF-карра B, уровень которого увеличивается под действием SDF-1, имеет широкий спектр действия за счет повышения экспрессии любого из более чем 200 таргетных генов, кодирующих белки, вовлеченные в регуляцию пролиферации, дифференцировки и миграции клеток [64]. Важно отметить, что, согласно современным данным, NF-карра B в целом ингибирует остеогенез через подавление дифференцировки камбиальных клеток остеобластической линии. В этой связи SDF-1, продуцируемый остеобластами зоны повреждения [65], способен оказывать двоякое влияние: с одной стороны, индуцировать хоуминг малодифференцированных клеток, в том числе ММСК, к целевой зоне [66], а с другой — ингибировать их дифференцировку в остеобластическом направлении. Однако есть основания полагать, что в организме определенные эффекты, нежелательные в конкретный промежуток времени, могут быть нивелированы другими факторами. В частности, показано, что активированные белки Smad (1, 5) способны ингибировать продукцию остеобластами SDF-1 [67]. В фазы воспаления, когда активность белков BMP снижена, остеобласты активно секретируют SDF-1, чтобы привлечь по градиенту концентрации хемокина в область костного дефекта дополнительные камбиальные резервы, а также эндотелиальные клетки-предшественницы. С переходом же восстановительного процесса в стадию регенерации, с ростом уровней BMP-2 и 7 и под их действием остеобласты прекращают продукцию SDF-1, способного ингибировать дифференцировку мигрировавших клеток-предшественниц в остеобласты. На поздних этапах стадии регенерации и в

ходе remodelирования новообразованного костного регенерата, когда губчатое вещество должно быть заселено клетками красного костного мозга, уровень BMP снижается, а SDF-1 увеличивается вновь, что обеспечивает хоуминг гемопоэтических стволовых клеток (ГСК). Этот же механизм позволяет клеткам остеобластического дифференон удерживать ГСК в пределах сформированных для них ниш в костном мозге, в состав которых входят не только остеобласты, но и ММСК [68].

Клетки, используемые для создания тканеинженерных костных графтов, могут подвергаться технологиям культивирования или использоваться непосредственно после выделения из тканевого источника. К основным применяющимся для создания тканеинженерных материалов видам культивированных клеток относятся ММСК [69, 70], остеогенные клетки и остеобласты [71], а также их комбинации. Некоторые исследователи для данных целей применяют эндотелиоциты как самостоятельный [72] или дополнительный клеточный компонент [73] и даже стволовые клетки с индуцированной плюрипотентностью [74]. К числу некультивированных клеточных популяций относятся клетки костного мозга («смесь» ММСК, фибробластов, эндотелиальных прогениторных клеток (ЭПК), гемопоэтических стволовых и дефинитивных клеток гемопоэтической линии и др.) [75] и стромально-васкулярная фракция жировой ткани (ММСК, эндотелиоциты и ЭПК, лейомиоциты, фибробласты, преадипоциты и иммунокомпетентные клетки) [76].

В многочисленных доклинических исследованиях была показана безопасность и эффективность различных вариантов разработанных тканеинженерных остеопластических материалов [70], что послужило основанием для перехода к клиническим исследованиям. Более того, уже зарегистрированы и разрешены для клинического применения за рубежом ряд остеопластических материалов, содержащих живые клетки:

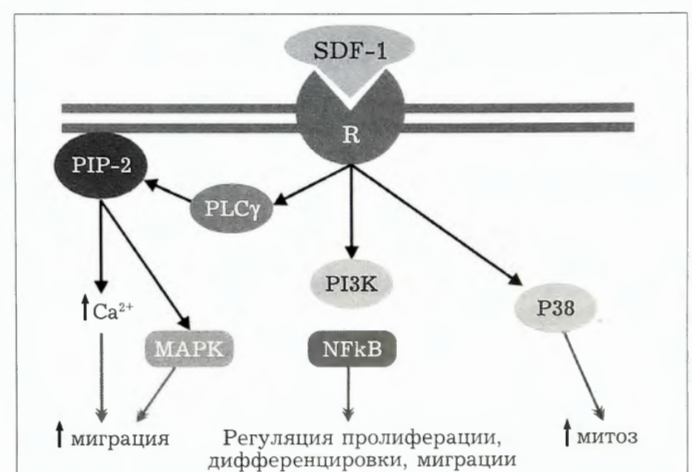


Рис. 4. Схема внутриклеточного каскадного пути трансдукции сигналов SDF-1.

- аллогенные: Osteocel plus («NuVasive», США; 2005), Trinity Evolution («Orthofix», США; 2009), AlloStem («AlloSource»; 2011), Cellentra VCBM («BioMet», США; 2012), OvationOS («Osiris Therapeutics», США; 2013);

- аутогенные («клеточный сервис», услуга в виде выделения первичной клеточной популяции, культивирование, совмещение с носителем и предоставление в клинику для использования): BioSeed-Oral Bone («BioTissue Technologies», Германия; 2001), Osteotransplant DENT (co.don, Германия; 2006).

Такое количество зарегистрированных тканеинженерных изделий свидетельствует уже не только о безопасности, но и об эффективности подхода при определенных дефектах. Большинство из зарегистрированных изделий (Trinity Evolution, AlloStem, Osteocel Plus, Cellentra VCBM) показаны для частных вариантов спондилодеза и артродеза, другие (BioSeed-Oral Bone, Osteotransplant DENT) — для восполнения дефектов челюстей. Одним из первых и наиболее успешных тканеинженерных остеопластических материалов до настоящего времени остается Osteocel Plus. Изделие представляет собой аллогенную губчатую костную ткань с живыми клетками ($5,25 \cdot 10^5 \pm 4,6 \cdot 10^3$ в 5 мл [77]), сохранившимися в ее составе благодаря специальной щадящей технологии обработки трупного материала. Osteocel Plus показан для применения в хирургии позвоночника, в том числе для спондилодеза на уровне шейного отдела. Для каждого из пяти видов оперативного вмешательства на позвоночнике, при которых показано изделие, было выполнено отдельное клиническое исследование с суммарным вовлечением 384 пациентов. Ни в одном случае не было отмечено нежелательных явлений. Полное сращение у большинства пациентов (более 90%) достигалось через 5–6 мес после операции [78]. Также опубликованы результаты успешных пилотных клинических исследований по применению Osteocel Plus при других показаниях, таких как аугментация альвеолярного гребня и артродез суставов нижних конечностей [79]. Механизм действия Osteocel Plus и других аллогенных тканеинженерных изделий разработчики связывают с остеоиндуктивным действием матрикса, а также паракринной активностью клеток, продуцирующих BMP, VEGF, SDF-1 и другие факторы роста [77]. Определенная концентрация биологически активных веществ содержится также в матрикс-носителе.

Ни один из тканеинженерных остеопластических материалов пока не зарегистрирован на территории РФ как медицинское изделие, разрешенное для клинического применения, хотя успешные результаты в данной области были получены еще в 80-х годах XX века [80, 81]. Причины этого во многом в отсутствии утвержденного правового регулирования вопроса регистрации клеточных препаратов и тканеинженерных медицинских изделий.

Тем не менее пилотные клинические исследования за рамками регистрационных действий продолжают выполняться [82–86]. В частности, хорошие результаты были получены при использовании тканеинженерных костных графтов, состоящих из аутогенных ММСК жировой ткани и двух вариантов матриксов (гидроксиапатит и композитный материал гидроксиапатита и коллагена) в лечении пациентов с атрофией альвеолярного отростка верхней челюсти и альвеолярной части нижней челюсти на базе МГМСУ им. А.И. Евдокимова [83]. В ГНЦ ФМБЦ им А.И. Бурназяна инициировано клиническое исследование безопасности и эффективности тканеинженерного остеопластического материала из трикальция фосфата и аутогенных ММСК слизистой оболочки полости рта при выполнении синус-лифтинга (NCT02209311) [84].

Однако необходимо отметить ряд отрицательных аспектов тканеинженерных костных графтов:

- недостаточная эффективность в случае протяженных костных дефектов из-за гибели большинства клеток, входящих в состав тканеинженерного материала непосредственно после трансплантации (клетки требуют активного кровоснабжения, которое критически минимизировано в зоне повреждения) [85];

- высокая себестоимость и сложность технологического процесса (клеточного сервиса) создания тканеинженерного остеопластического материала, который должен осуществляться в соответствии со стандартами GMP и GTP;

- невозможность организации полноценного серийного производства наиболее эффективных — персонализированных (содержащих аутогенные клетки) — тканеинженерных изделий;

- особые условия хранения, не всегда являющиеся доступными для лечебно-профилактических учреждений (например, температура ниже -80°C);

- сложности правового регулирования и регистрации медицинских изделий, содержащих живые клетки.

Таким образом, тканеинженерный подход в создании активированных остеопластических материалов позволяет разработать безопасные и эффективные по определенным показаниям медицинские изделия. Однако остаются проблемы, ограничивающие внедрение результатов тканеинженерных разработок в рутинную клиническую практику, что создает дополнительные предпосылки к развитию альтернативных подходов.

Остеопластические материалы с факторами роста

К данной группе медицинских изделий относятся остеопластические материалы, состоящие из носителя и факторов роста (одного или нескольких), обеспечивающих остеоиндуктивное действие; она является наиболее успешной в аспекте «клинической трансляции». Уже зарегистрированы и разрешены для клинического применения такие

изделия как Emdogain («Straumann», Германия) — материал с эмалевыми матричными протеинами (1997); OP-1 («Stryker Biotech», США) — с рекомбинантным BMP-7 (2001); Infuse («Medtronic», США) (2002, 2004, 2007) — с рекомбинантным BMP-2; GEM21S, Augment bone graft («BioMimetic Therapeutics Inc.», США) — с рекомбинантным PDGF-BB (2005, 2009), i-Factor Putty («Cerapedics», США) — с белком P-15 (лиганд для интегринов $\beta 2 \nu 1$, экспрессируемых клетками остеобластического дифферона) (2008) и др.

Типичным представителем данной группы изделий является остеопластический материал Infuse, который был одобрен FDA для межтелового спондилодеза (2002), для костной пластики при переломах большеберцовой кости (в сочетании с интрамедуллярной фиксацией; 2004), а также для синус-лифтинга и аугментации альвеолярного гребня при дефектах, связанных с экстракцией зубов (2007) [87]. Изделие выпускается в виде набора, состоящего из коллагенового матрикса и рекомбинантного BMP-2, которые подлежат объединению непосредственно перед применением. В хирургии позвоночника ввиду отсутствия у материала оптимальных биомеханических свойств он должен быть имплантирован в комплексе со специальными металлоконструкциями — кейджами. В первом клиническом исследовании приняли участие 279 пациентов, которым был показан передний поясничный межтеловый спондилодез, 143 из них операция была выполнена с применением Infuse, остальным — с использованием костного аутоотрансплантата из гребня подвздошной кости. На сроках наблюдения до 2 лет были показаны безопасность, а также высокая эффективность лечения — частота сращений 94,5 и 88,7% в клинической и контрольной группах соответственно ($p > 0,05$). При этом только у пациентов (5,9%) второй группы выявлены нежелательные явления, связанные с забором аутоотрансплантата [88]. В дальнейшем был выполнен ряд постмаркетинговых клинических исследований, опубликованы результаты с систематизированным анализом, подтверждающие эффективность изделия, эквивалентную таковой у костных аутоотрансплантатов [89, 90].

Однако опубликованы критические статьи, акцентирующие внимание на осложнениях и нежелательных явлениях при использовании Infuse, а также на факте их сокрытия компанией-разработчиком [91–93]. Особый резонанс вызвал специальный выпуск журнала «Spine» (IF = 3,220 в 2012 году), полностью посвященный данной проблеме, с занимающим центральное место обзором главного редактора E.J. Carragee и соавт. (2011). Авторы провели детальный анализ 13 официальных клинических исследований Infuse, в том числе отчетов, поданных в FDA, с общим количеством пациентов 780 и выявили, что частота осложнений и нежелательных явлений (остеолиз с горизонтальным или вертикальным смещением имплантата, недостаточ-

ное сращение, ретроградный выброс, гетеротопическая оссификация, остеолиз, радикулит, инфекции) составила около 10% при использовании строго по показаниям и до 50% — при спондилодезе на уровне грудного или шейного отделов позвоночника [93]. Обобщая многочисленные результаты клинических исследований по всем трем группам показаний Infuse можно констатировать, что использование изделия в соответствии с инструкцией («on-label») является безопасным и в большинстве случаев эффективным, хоть и наблюдаются осложнения, а также неудовлетворительные результаты, требующие реопераций. Применение же изделия не по показаниям («off-label») — для других вариантов костной пластики — сопровождается существенным повышением риска осложнений и нежелательных явлений [93]. При этом общее количество операций только с применением остеопластических материалов, содержащих BMP (главным образом, Infuse), за 2010 г. составило 107 тыс. при общем количестве вмешательств на позвоночнике с имплантацией межтеловых кейджей в 206 тыс. [1], что свидетельствует как об успехе медицинского изделия и группы материалов в целом, так и о высокой частоте «off-label» применения Infuse.

Ряд изделий с факторами роста находятся на стадиях экспериментальных и клинических исследований на территории РФ. В частности, опубликованы результаты применения остеопластических материалов с рекомбинантными BMP-2 [94] и VEGF [95].

Передовые исследования в части разработки остеопластических материалов с факторами роста направлены на два основных аспекта: комбинация нескольких факторов, в том числе ангиогенных и остеогенных, в одном изделии, например, иммобилизация VEGF и BMP-2 на одном носителе [96], а также обеспечение пролонгированного контролируемого высвобождения терапевтических белков из структуры матрикса, в частности, за счет управления динамикой биодеградации гидрогелевых матриксных [97, 98] или инкапсулирования молекул факторов роста в микросферы из органических полимеров [99]. Некоторые авторы за счет специальных технологий (например, сайт-направленный мутагенез) изменяют структуру факторов роста, объединяют несколько в один, создавая «мутантные» молекулы, обладающие большей эффективностью в активации репаративного остеогенеза. Например, в работе [100] модифицировали фактор роста и дифференцировки-5 (growth-and-differentiation factor-5, GDF-5), добавив в его последовательность сайты BMP-2, ответственные за связывание со специфическими рецепторами. Полученная молекула GDF-5 приобрела свойства, характерные для BMP-2.

Остеопластические материалы с факторами роста также имеют ряд недостатков и проблем, ограничивающих их эффективность. Во-первых, моле-

кулы белка в условиях операционной раны (экссудация, высокая активность протеолитических ферментов) подвергаются быстрой биодegradации, являются короткоживущими и короткодистантными, что не позволяет остеопластическому материалу в полной мере реализовать остеоиндуцирующее действие. Во-вторых, количество терапевтического белка в материале ограничено, а его действие даже при условии контролируемого и пролонгированного высвобождения — кратковременное и «грубое». Иными словами, та меньшая часть молекул белка, которая отделилась от носителя, сохранила свою биологическую активность и «добралась» до клеток-мишеней, вступит во взаимодействие со специфическими рецепторами на их поверхности и вызовет биологический эффект. При этом быстро произойдет инактивация рецепторов вместе с лигандом как компенсаторно-адаптационный механизм, предохраняющий клетки от избыточной стимуляции, биологическое действие фактора роста прекратится, а его количество иссякнет.

Теоретически таких недостатков лишены тканеинженерные и ген-активированные материалы. В первом случае выжившие клетки способны длительно продуцировать спектр биологически активных веществ, тонко реагируя на сигналы микроокружения, во втором — терапевтический белок продуцируется пролонгированно за счет экспрессии генных конструкций, попавших в клетки-мишени, что обеспечивает длительность эффекта.

Ген-активированные остеопластические материалы

Основным действующим компонентом изделий данной группы являются генные конструкции (кодирующие нуклеиновые кислоты), поэтому разработки ген-активированных остеопластических материалов напрямую связаны с достижениями генной терапии в целом, в рамках которой генные конструкции разрабатываются как действующие вещества лекарственных препаратов.

В рамках генной терапии с 1989 г. зарегистрировано уже более 1900 клинических исследований [101], что подчеркивает активность проводимых разработок. Более того, уже внедрены в клиническую практику несколько геннотерапевтических препаратов: Gendicine, Oncorine («SiBiono GeneTech», Китай), Неоваскулген (ИСКЧ, Россия), Glybera («uniQuro», Нидерланды). Неоваскулген является российской разработкой и разрешен для клинического применения на территории РФ и Украины [102]. Опыт его разработки и комплексные экспериментальные исследования [103] сформировали научно-технический задел для запуска первого в мире клинического исследования ген-активированного остеопластического материала (NCT02293031) [104].

Ген-активированный остеопластический материал представляет собой комплекс «носитель — нуклеиновая кислота», компоненты которого объе-

динены различными методами: за счет технологий «химического связывания» [103], использования вспомогательных веществ (например, гелевых биополимеров) [105], непосредственного включения нуклеиновых кислот в состав носителей на этапе синтеза матрикса и т.д. Общая эффективность изделия определяется суммой механизмов действия как генных конструкций (остеоиндукция), так и носителя (остеокондукция).

В механизме остеоиндуктивного действия ген-активированного материала можно выделить два последовательных этапа: неспецифический и специфический. Первый связан с высвобождением нуклеиновых кислот из структуры носителя после имплантации в зону дефекта, поступлением в клетки реципиентного ложа и экспрессией в них. Фактически он является одинаковым для любых генных конструкций, а вариабельность в части поступления в клетку обусловлена лишь системами доставки трансгена. Второй состоит в специфическом действии регуляторной молекулы белковой природы, кодируемой трансгеном и продуцируемой трансфицированными клетками, которые работают как своего рода «биореакторы» терапевтического белка, синтезируя его в течение определенного периода времени. В отличие от изделий, содержащих факторы роста, основной компонент ген-активированных остеопластических материалов действует «мягко». Иными словами, попадание трансгена в ядро клетки-мишени не принуждает ее к облигатной экспрессии терапевтического белка. Клетка сохраняет свое нормальное функциональное состояние и реакцию на стимулы микроокружения, в связи с чем при отсутствии потребности в терапевтическом белке в конкретный промежуток времени она за счет внутриклеточных посттранскрипционных механизмов регуляции полужизни мРНК способна снизить уровень мРНК трансгена и тем самым предотвратить продукцию белка [106]. Такой механизм действия генных конструкций значительно повышает эффективность ген-активированного материала по сравнению с изделиями, содержащими факторы роста [107].

Любые генные конструкции состоят из терапевтического гена (в виде кДНК или РНК) и системы его внутриклеточной доставки (вектор). Векторы разделяются на две основные группы — вирусные и невирусные. В первом случае трансген заключается в частицу ретро-, ленти-, аденовируса или адено-ассоциированного вируса и др., а во втором — в плазмиду — кольцевую молекулу нуклеиновой кислоты, содержащую ряд вспомогательных последовательностей, обеспечивающих экспрессию трансгена. Вирусная и невирусная системы доставки отличаются по эффективности трансфекции. В первом случае в клетки-мишени поступает до 40% и более генных конструкций, во втором данный показатель не превышает 1–2% ввиду размеров и отрицательного заряда «голой» плазмидной ДНК. Предложены подходы (физические, химичес-

кие), обеспечивающие повышение эффективности трансфекции плазмидной ДНК до 8–10% [108].

Важно также отметить, что ряд вирусных векторов (ретро-, лентивирусные и др.) встраиваются в геном. Иными словами, экспрессия трансгена, который они переносят, длительная, в то время как остальные, в том числе плазмидная ДНК, в геном не интегрируются, поэтому экспрессируются временно, в течение 10–14 сут. Учитывая, что продукция терапевтического белка, кодируемого генной конструкцией, в случае костной пластики не должна превышать сроки полной репаративной регенерации, ретро- и лентивирусные векторы практически не используются для создания ген-активированных остеопластических материалов; чаще применяются в генно-клеточном подходе, когда культура клеток трансфицируется *ex vivo* и после этого совмещается с матриксом-носителем [109].

Таким образом, все ген-активированные материалы могут быть разделены по технологическому варианту совмещения матрикса и генных конструкций, а также по составу биологически активного компонента: природе вектора и трансгена, количеству трансгенов или различных генных конструкций в составе одного изделия. Однако, очевидно, что главным дифференциальным признаком, обуславливающим различия в биологическом действии ген-активированных материалов, является именно трансген. Наиболее часто применяющимися при создании ген-активированных остеопластических материалов трансгенами являются последовательности нуклеотидов, кодирующие основные остеоиндуцирующие и специфичные для остеобластов транскрипционные факторы (табл. 2).

Наиболее распространенными трансгенами, выбранными для индукции восстановительного процесса, являются нуклеотидные последовательности, кодирующие BMP, особенно BMP-2 (см. табл. 2), и VEGF. Первые работы были связаны с прямым генным трансфером — методике, при которой генные конструкции вводятся в окружающие костный дефект мягкие ткани в виде раствора, т.е. без иммобилизации на матрикс-носителе [110, 111]. Важно, что даже в таком случае были получены положительные результаты, что свидетельствует о первостепенном значении именно генных конструкций в составе ген-активированных материалов. В частности, в исследовании A. Baltzer и соавт. (2000) уже через 12 нед. после введения аденовирусов ($2 \cdot 10^{10}$ частиц) с ДНК, кодирующей ген *bmp-2*, в мышцы вокруг дефектов (1,3 см) бедренных костей кроликов наблюдалась полная консолидация. При этом в контроле, в котором в качестве трансгена использовали ген, кодирующий флуоресцентный маркерный белок (люцифераза) без остеоиндуктивной активности, во всех случаях центральная часть дефекта сохранялась и была выполнена волокнистой соединительной тканью. К настоящему времени прямой генный трансфер *in vitro* или

in vivo в отношении «костных показаний» используется преимущественно для селективной оценки биологического эффекта генных конструкций, выбранных для создания ген-активированных остеопластических материалов. Так, G. Feichtinger и соавт. [112] разработали ко-экспрессионную плазмидную ДНК с генами, кодирующими BMP-2 и BMP-7, подкожная инъекция которой в виде раствора (20 мкг) в 46% случаев приводила к индукции гетеротопического остеогистогенеза.

Несмотря на положительные результаты использования прямого генного трансфера, без механического заполнения костного дефекта остеокондуктивным материалом, особенно в случае протяженных (объемных) дефектов, эффективная костная пластика невозможна. В этой связи логичным продолжением прямого генного трансфера стали ген-активированные остеопластические материалы. Пик разработок таких изделий, содержащих генные конструкции с *bmp*, пришелся на 2004–2007-е годы, что, возможно, связано с предшествовавшими событиями — регистрацией FDA, внедрением и широким использованием в клинической практике медицинских изделий, содержащих факторы роста BMP-7 (OP-1, «Stryker Biotech», США) и BMP-2 (Infuse, «Medtronic», США), в 2001 и 2002 г. соответственно.

В дальнейшем в связи с детализацией данных о роли ангиогенеза в процессе регенерации костной ткани, а также внутриклеточных путей трансдукции сигналов, регулирующих пролиферацию, дифференцировку и морфофункциональную активность клеток остеобластического дифферона, все чаще в качестве трансгенов стали использовать последовательности, кодирующие VEGF, а также специфические транскрипционные факторы (см. табл. 2).

Так, M. Keeney и соавт. [113] разработали ген-активированный остеопластический материал на основе комбинированного коллагеново-кальций-фосфатного матрикса и плазмидной ДНК, кодирующей VEGF-A165 (0,35 мкг/мм³ носителя). Это изделие было имплантировано мышам подкожно, а также в дефекты межмышечковой ямки бедренной кости (диаметр 1 мм, длина 7 мм). Несмотря на то что в гетеротопических условиях не было выявлено ни признаков остеогистогенеза, ни статистически значимых различий в количестве сосудов, в ортотопических наблюдался статистически значимо больший объем костного регенерата в экспериментальной группе по сравнению с контролем — введение носителя с ДНК, кодирующей маркерный ген, через 30 сут после операции [113]. Однако выбранную авторами экспериментальную модель оценки эффективности остеопластического материала ввиду минимального размера дефекта нельзя считать оптимальной.

В России также были разработаны несколько вариантов ген-активированных остеопластических материалов с использованием в качестве трансге-

Табл. 2. Состав генных конструкций, разработанных для индукции репаративного остеогенеза (как компоненты ген-активированных остеопластических материалов или генно-клеточных изделий)

Трансген	Вектор	Ссылка	Трансген	Вектор	Ссылка
Гены, кодирующие факторы роста/гормоны			Гены, кодирующие факторы роста/гормоны		
angiopoietin-1		[149]	PDGF-A	Аденовирус	[175]
	Плазмидная ДНК	[111]	PDGF-B	Плазмидная ДНК	[176]
	Аденовирус	[110]		Аденовирус	[177]
BMP-2	Лентивирус	[150]	Parathyroid hormone (amino acids 1-34)	Плазмидная ДНК	[178]
	Липосомальный вектор	[151]	TGF- β 1	non-viral vector (K)16GRGDSPC	[179]
BMP-4	Плазмидная ДНК	[152]	VEGF-A	Плазмидная ДНК	[113]
	Ретровирус	[109]		Аденовирус	[180]
	Плазмидная ДНК	[153]	BMP-2+BMP-7	Аденовирус	[181]
	Аденовирус	[154]	BMP-2+BMP-6	Аденовирус	[182]
BMP-6	Аденоассоциированный вирус	[155]	BMP-2+ИИИ	Аденовирус	[183]
	Лентивирус	[153]	BMP-2+VEGF	Аденовирус	[184]
	Плазмидная ДНК	[156]	BMP-2+VEGF+IGF-1+TGF- β 1		[185]
	Аденовирус	[157]	BMP-2+PDGF-b	Аденовирус	[186]
BMP-7 (OP-1)	Аденоассоциированный вирус	[158]	RANKL+VEGF	Аденоассоциированный вирус	[187]
	Ретровирус	[159]	BMP-2/BMP-7	Плазмидная ДНК	[112]
BMP-9	Плазмидная ДНК	[160]	BMP-2/BMP-4	Липосомальный вектор	[188]
	Аденовирус	[161]	BMP-6/BMP-9	Аденовирус	[189]
BMP-12	Плазмидная ДНК	[162]	BMP-6/VEGF	Аденовирус	[190]
Cyclooxygenase-2 (Cox-2)	Ретровирус	[163]	BMP-7/IGF-1	Аденовирус	[191]
EPO	Аденовирус	[164]	BMP-7/OPG	Плазмидная ДНК	[192]
Epidermal growth factor EGF	Плазмидная ДНК	[165]	Гены, кодирующие транскрипционные факторы		
bFGF	Плазмидная ДНК	[166]	Cbfa1	Лентивирус	[193]
HGF	Аденовирус	[167]		Аденовирус	[194]
HIF-1 α	Лентивирус	[168]	c-myb	Плазмидная ДНК	[195]
IGF-1	Плазмидная ДНК	[169]		Аденовирус	[196]
Integrin- α 5	Лентивирус	[170]	Runx2	Ретровирус	[197]
LIM mineralization protein-1 (LMP-1)	Ретровирус	[171]	SOX9	Аденоассоциированный вирус	[198]
LMP-3	Аденовирус	[172]	caALK6+Runx2	Плазмидная ДНК	[199]
Nell-1	Аденовирус	[173]			
Osterix	Ретровирус	[174]			

на *vegfa*, но отличающихся природой носителей (ксеногенный костный матрикс, композитный материал из коллагена и гидроксиапатита и др.) и спецификой последовательности генной конструкции. При этом эффективность изделий была показана на более сложной модели — при замещении билатеральных краниальных дефектов теменных костей кроликов диаметром 10 мм [104, 114].

Таким образом, анализируя результаты исследований, касающихся разработки ген-активированных остеопластических материалов (а также генно-клеточного подхода и прямого генного трансфера), можно заключить, что большинство из них продемонстрировали безопасность и высокую эффективность в использованных экспериментальных моделях, независимо от вида вектора и матрикса-носителя. Однако остается ряд трудностей, характерных для данной группы активированных

материалов и требующих преодоления: производство, проблема стерилизации, стандартизированного контроля сохранения специфической активности генных конструкций после завершения производственного цикла, необходимость повышения уровня трансфекции невирусных генных конструкций и обеспечения их пролонгированного и контролируемого высвобождения из структуры носителя после имплантации.

Заключение. Детализация особенностей регуляции репаративного остеогенеза, его динамики и результата в зависимости от наличия или отсутствия остеогенной недостаточности, а также понимание механизмов действия различных групп остеопластических материалов, разработанных в рамках двух основных технологических трендов, позволяет пересмотреть современную систему костнозамещающих изделий и предложить приклад-

ную классификацию: с разделением всех материалов на *ординарные* и *активированные*.

К категории ординарных следует отнести изделия без стандартизированных по качественным и количественным показателям биологически активных компонентов. Остеокондукция и в ряде случаев умеренная остеоиндукция позволяют таким материалам оптимизировать репаративную регенерацию для ускорения и увеличения объема новообразованной костной ткани. Они показаны для восполнения костных дефектов (и устранения атрофии челюстей) без остеогенной недостаточности. Основной проблемой данной категории остеопластических материалов является низкий остеоиндуктивный потенциал, поэтому хирурги, зачастую непосредственно перед имплантацией изделия, выполняют его импровизированную, эмпирическую «активацию», смешивая материал с кровью пациента, аутокостной крошкой (чаще в соотношении 1:1), плазмой, обогащенной тромбоцитами, плазмой, обогащенной факторами роста [115] и т.д.

Активированные материалы за счет биологически активных компонентов обладают остеоиндукцией и (или) остеогенностью, поэтому призваны не столько поддержать естественный ход репаративного остеогистогенеза, сколько индуцировать и обеспечить его высокую активность до полного гистотипического восстановления. Теоретически это делает их применимыми в замещении не только малых, но и протяженных (объемных) костных дефектов, характеризующихся остеогенной недостаточностью. Прототипом, своего рода эталоном активированных материалов является аутогенная костная ткань — «золотой стандарт» костнозамещающих материалов [116], а первопричиной их разработки — необходимость создать эффективную альтернативу аутогенной костной ткани, что могло бы позволить ограничить или полностью отказаться от ее применения.

Сложность состава и механизма действия активированных остеопластических материалов предопределяет необходимость проведения более тщательных стандартизированных доклинических исследований с отдельной оценкой активных компонентов (факторов роста, клеток или генных конструкций) в аспекте безопасности и биологического действия.

Таким образом, практическое значение разделения всех остеопластических материалов на ординарные и активированные в комплексе с пониманием остеогенной недостаточности и умением ее оценить (в том числе с помощью одноименного индекса) состоит в объективизации выбора наиболее эффективного изделия для восполнения костных дефектов в конкретной клинической ситуации.

ЛИТЕРАТУРА [REFERENCES]

1. http://www.cdc.gov/nchs/data/nhds/10Detaileddiagnosesprocedures/2010det10_alllistedprocedures.pdf
2. *Chiapasco M., Casentini P., Zaniboni M.* Bone augmentation procedures in implant dentistry. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants.* 2009; 24 (Suppl): 237–59.
3. Annual report 2013. Turning a new page. *Straumann.* http://www.straumann.com/content/dam/internet/straumann_com/Resources/investor-relations/annual-report/2013/STMN-2013-Annual-Report.pdf
4. *Bhatt R.A., Rozental T.D.* Bone graft substitutes. *Hand Clin.* 2012; 28 (4): 457–68.
5. *Деев Р.В., Бозо И.Я.* Эволюция костнопластических материалов. В кн.: Сборник тезисов V Всероссийского симпозиума с международным участием. Уфа; 2012: 130–2 [*Deev R.V., Bozo I.Ya.* Evolution of bone plastic materials. In: Proc. 5th All-Rus. Symp. with Int. Participation. Ufa; 2012: 130-2 (in Russian)].
6. *Лекишвили М.В., Родионова С.С., Ильина В.К., Косымов И.А., Юрасова Ю.Б., Семенова Л.А., Васильев М.Г.* Основные свойства деминерализованных костных аллоимплантатов, изготавливаемых в тканевом банке ЦИТО. *Вестник травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова* 2007; 3: 80–6 [*Lekishvili M.V., Rodionova S.S., Il'ina V.K., Kosymov I.A., Yurasova Yu. B., Semyonova L.A., Vasil'ev M.G.* Main characteristics of demineralized bone allografts produced at CITO tissue bank. *Vestnik travmatologii i ortopedii im. N.N. Priorova.* 2007; 3: 80-6 (in Russian)].
7. *Wang Z., Guo Z., Bai H. et al.* Clinical evaluation of v-TCP in the treatment of lacunar bone defects: a prospective, randomized controlled study. *Mater. Sci. Eng. C Mater. Biol. Appl.* 2013; 33 (4): 1894–9.
8. *Komlev V.S., Barinov S.M., Bozo I.I. et al.* Bioceramics composed of octacalcium phosphate demonstrate enhanced biological behaviour. *ACS Appl. Mater. Interfaces.* 2014; 6 (19): 16610–20.
9. *Zakaria S.M., Sharif Zein S.H., Othman M.R. et al.* Nanophase hydroxyapatite as a biomaterial in advanced hard tissue engineering: a review. *Tissue Eng. Part B Rev.* 2013; 19 (5): 431–41.
10. *Félix Lanao R.P., Jonker A.M., Wolke J.G. et al.* Physicochemical properties and applications of poly(lactic-co-glycolic acid) for use in bone regeneration. *Tissue Eng. Part B Rev.* 2013; 19 (4): 380–90.
11. *Li X., Wang X., Miao Y., Yang G. et al.* Guided bone regeneration at a dehiscence-type defect using chitosan/collagen membranes in dogs. *Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi.* 2014; 49 (4): 204–9.
12. *Wang S., Wang X., Draenert F.G. et al.* Bioactive and biodegradable silica biomaterial for bone regeneration. *Bone.* 2014; 67: 292–304.
13. *Гололобов В.Г., Дулаев А.К., Деев Р.В. и др.* Морфофункциональная организация, реактивность и регенерация костной ткани. СПб: ВМедА; 2006 [*Golobov V.G., Dulaev A.K., Deev R.V., et al.* Bone tissue morphofunctional organization, reactivity and regeneration. St. Petersburg: VMedA; 2006 (in Russian)].
14. *Barradas A.M., Yuan H., van Blitterswijk C.A. et al.* Osteoinductive biomaterials: current knowledge of properties, experimental models and biological mechanisms. *Eur. Cell Mater.* 2011; 21: 407–29.
15. *Гололобов В.Г., Дедух Н.В., Деев Р.В.* Скелетные ткани и органы. В кн.: Руководство по гистологии. 2-е изд. т. 1. СПб: СпецЛит; 2011: 238–322 [*Golobov V.G., Dedukh N.V., Deev R.V.* Skeletal tissues and organs. In: Manual of histology. 2nd ed., V. 1. St. Petersburg: SpetsLit; 2011: 238-322 (in Russian)].
16. *Goldman H., Cohen D.* The infrabony pocket: classification and treatment. *J. Periodontology.* 1958, 29: 272.
17. *Beckmann R., Tohidnezhad M., Lichte P. et al.* New from old: relevant factors for fracture healing in aging bone. *Orthopade.* 2014; 43 (4): 298–305.

18. Brown M.L., Yukata K., Farnsworth C. et al. Delayed fracture healing and increased callus adiposity in a C57BL/6J murine model of obesity-associated type 2 diabetes mellitus. *PLoS One*. 2014; 9 (6): e99656.
19. Larsson S., Fazzalari N.L. Anti-osteoporosis therapy and fracture healing. *Arch. Orthop. Trauma Surg*. 2014; 134 (2): 291–7.
20. Sloan A., Hussain I., Maqsood M. et al. The effects of smoking on fracture healing. *Surgeon*. 2010; 8 (2): 111–6.
21. Stine K.C., Wahl E.C., Liu L., Skinner R.A. et al. Cisplatin inhibits bone healing during distraction osteogenesis. *J. Orthop. Res*. 2014; 32 (3): 464–70.
22. Savaridas T., Wallace R.J., Salter D.M. et al. Do bisphosphonates inhibit direct fracture healing? A laboratory investigation using an animal model. *J. Bone Joint Surg*. 2013; 95-B (9): 1263–8.
23. Xue D., Li F., Chen G. et al. Do bisphosphonates affect bone healing? A meta-analysis of randomized controlled trials. *J. Orthop. Surg. Res*. 2014; 9: 45.
24. Kan I., Melamed E., Offen D. Integral therapeutic potential of bone marrow mesenchymal stem cells. *Curr. Drug Targets*. 2005; 6 (1): 31–41.
25. Knight M.N., Hankenson K.D. Mesenchymal stem cells in bone regeneration. *Adv. Wound Care (New Rochelle)*. 2013; 2 (6): 306–16.
26. Amable P.R., Teixeira M.V., Carias R.B. et al. Protein synthesis and secretion in human mesenchymal cells derived from bone marrow, adipose tissue and Wharton's jelly. *Stem Cell Res. Ther*. 2014; 5 (2): 53.
27. Zhang M., Mal N., Kiedrowski M. et al. SDF-1 expression by mesenchymal stem cells results in trophic support of cardiac myocytes after myocardial infarction. *FASEB J*. 2007; 21 (12): 3197–207.
28. Samee M., Kasugai S., Kondo H. et al. Bone morphogenetic protein-2 (BMP-2) and vascular endothelial growth factor (VEGF) transfection to human periosteal cells enhances osteoblast differentiation and bone formation. *J. Pharmacol. Sci*. 2008; 108 (1): 18–31.
29. Urist M.R. Bone: formation by autoinduction. *Science*. 1965; 12: 150 (698): 893–9.
30. Kang Q., Sun M.H., Cheng H. et al. Characterization of the distinct orthotopic bone-forming activity of 14 BMPs using recombinant adenovirus-mediated gene delivery. *Gene Ther*. 2004; 11 (17): 1312–20.
31. Heldin C.H., Miyazono K., ten Dijke P. TGF-beta signalling from cell membrane to nucleus through SMAD proteins. *Nature*. 1997; 390 (6659): 465–71.
32. Hanai J., Chen L.F., Kanno T. et al. Interaction and functional cooperation of PEBP2/CBF with Smads. Synergistic induction of the immunoglobulin germline Calpha promoter. *J. Biol. Chem*. 1999; 274 (44): 31577–82.
33. Yoshida A., Yamamoto H., Fujita T. et al. Runx2 and Runx3 are essential for chondrocyte maturation, and Runx2 regulates limb growth through induction of Indian hedgehog. *Gen. Devel*. 2004; 18 (8): 952–63.
34. Cheng S.L., Shao J.S., Charlton-Kachigian N. et al. MSX2 promotes osteogenesis and suppresses adipogenic differentiation of multipotent mesenchymal progenitors. *J. Biol. Chem*. 2003; 278 (46): 45969–77.
35. Merlo G.R., Zerega B., Paleari L. et al. Multiple functions of Dlx genes. *Int. J. Dev. Biol*. 2000; 44 (6): 619–26.
36. Matsubara T., Kida K., Yamaguchi A. et al. BMP2 regulates Osterix through Msx2 and Runx2 during osteoblast differentiation. *J. Biol. Chem*. 2008; 283 (43): 29119–25.
37. Liu T.M., Lee E.H. Transcriptional regulatory cascades in Runx2-dependent bone development. *Tissue. Eng. Part B. Rev*. 2013; 19 (3): 254–63.
38. Phillips J.E., Gersbach C.A., Wojtowicz A.M. et al. Glucocorticoid-induced osteogenesis is negatively regulated by Runx2/Cbfa1 serine phosphorylation. *J. Cell Sci*. 2006; 119 (Pt 3): 581–91.
39. Yano M., Inoue Y., Tobimatsu T. Smad7 inhibits differentiation and mineralization of mouse osteoblastic cells. *Endocr J*. 2012; 59 (8): 653–62.
40. Chen G., Deng C., Li Y.P. TGF- β and BMP signaling in osteoblast differentiation and bone formation. *Int. J. Biol. Sci*. 2012; 8 (2): 272–88.
41. Shu B., Zhang M., Xie R. et al. BMP2, but not BMP4, is crucial for chondrocyte proliferation and maturation during endochondral bone development. *J. Cell. Sci*. 2011; 124: 3428–40.
42. Bandyopadhyay A., Tsuji K., Cox K., Harfe B.D. et al. Genetic analysis of the roles of BMP2, BMP4, and BMP7 in limb patterning and skeletogenesis. *PLoS Genet*. 2006; 2: e216.
43. Tsuji K., Cox K., Bandyopadhyay A., Harfe B.D., et al. BMP4 is dispensable for skeletogenesis and fracture-healing in the limb. *J Bone Joint Surg. Am*. 2008; 90 (Suppl): 14–8.
44. Cohen M.M. Jr. Biology of RUNX2 and Cleidocranial Dysplasia. *J. Craniofac. Surg*. 2013; 24(1): 130–3.
45. Otto F., Thornell A.P., Crompton T. Cbfa1, a candidate gene for cleidocranial dysplasia syndrome, is essential for osteoblast differentiation and bone development. *Cell*. 1997; 89 (5): 765–71.
46. Ciurea A.V., Toader C. Genetics of craniosynostosis: review of the literature. *J. Med. Life*. 2009; 2 (1): 5–17.
47. Folkman J., Merler E., Abernathy C. et al. Isolation of a tumor factor responsible for angiogenesis. *J. Exp. Med*. 1971; 133 (2): 275–88.
48. Goel H.L., Mercurio A.M. VEGF targets the tumour cell. *Nat. Rev. Cancer*. 2013; 13 (12): 871–82.
49. Koch S., Claesson-Welsh L. Signal transduction by vascular endothelial growth factor receptors. *Cold Spring Harb. Perspect. Med*. 2012; 2(7): a006502.
50. Matsumoto T., Bohman S., Dixelius J. et al. VEGF receptor-2 Y951 signaling and a role for the adapter molecule TSA1 in tumor angiogenesis. *EMBO J*. 2005; 24(13): 2342–53.
51. Bhattacharya R., Kwon J., Li X. et al. Distinct role of PLCbeta3 in VEGF-mediated directional migration and vascular sprouting. *J. Cell Sci*. 2009; 122 (Pt 7): 1025–34.
52. Coultas L., Chawengsaksophak K., Rossant J. Endothelial cells and VEGF in vascular development. *Nature* 2005; 438 (7070): 937–45.
53. Olsson A.K., Dimberg A., Kreuger J. et al. VEGF receptor signalling - in control of vascular function. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol*. 2006; 7(5): 359–71.
54. Арутюнян И.В., Кананыхина Е.Ю., Макаров А.В. Роль рецепторов VEGF-A165 в ангиогенезе. Клеточная трансплантология и тканевая инженерия 2013; VIII (1): 12–8 [Arutyunyan I.V., Kananykhina E.Yu., Makarov A.V. Role of VEGF-A165 receptors in angiogenesis. Kletochnaya transplantologiya i tkanevaya inzheneriya. 2013; VIII (1): 12–8 (in Russian)].
55. Neve A., Cantatore F.P., Corrado A. et al. In vitro and in vivo angiogenic activity of osteoarthritic and osteoporotic osteoblasts is modulated by VEGF and vitamin D3 treatment. *Regul. Pept*. 2013; 184: 81–4.
56. Marini M., Sarchielli E., Toce M. et al. Expression and localization of VEGF receptors in human fetal skeletal tissues. *Histol. Histopathol*. 2012; 27 (12): 1579–87.
57. Tombran-Tink J., Barnstable C.J. Osteoblasts and osteoclasts express PEDF, VEGF-A isoforms, and VEGF receptors: possible mediators of angiogenesis and matrix remodeling in the bone. *Biochem. Biophys. Res. Commun*. 2004; 316 (2): 573–9.

58. Yang Y.Q., Tan Y.Y., Wong R. et al. The role of vascular endothelial growth factor in ossification. *Int. J. Oral Sci.* 2012; 4 (2): 64–8.
59. Berendsen A.D., Olsen B.R. How vascular endothelial growth factor-A (VEGF) regulates differentiation of mesenchymal stem cells. *J. Histochem. Cytochem.* 2014; 62(2): 103–8.
60. Liu Y., Berendsen A.D., Jia S. et al. Intracellular VEGF regulates the balance between osteoblast and adipocyte differentiation. *J. Clin. Invest.* 2012; 122 (9): 3101–13.
61. Tashiro K., Tada H., Heilker R. et al. Signal sequence trap: a cloning strategy for secreted proteins and type I membrane proteins. *Science* 1993; 261(5121): 600–3.
62. Mellado M., Rodriguez-Frade J.M., Maces S. et al. Chemokine signaling and functional responses: the role of receptor dimerization and TK pathway activation. *Annu. Rev. Immunol.* 2001; 19: 397–421.
63. Ward S.G. T lymphocytes on the move: chemokines, PI 3-kinase and beyond. *Trends Immunol.* 2006; 27 (2): 80–7.
64. Niederberger E., Geisslinger G. Proteomics and NF-κB: an update. *Expert Rev. Proteomics.* 2013; 10 (2): 189–204.
65. Jung Y., Wang J., Schneider A. et al. Regulation of SDF-1 (CXCL12) production by osteoblasts; a possible mechanism for stem cell homing. *Bone.* 2006; 38 (4): 497–508.
66. Marquez-Curtis L.A., Janowska-Wieczorek A. Enhancing the migration ability of mesenchymal stromal cells by targeting the SDF-1/CXCR4 axis. *Biomed. Res. Int.* 2013; 2013: 561098.
67. Khurana S., Melacarne A., Yadak R. et al. SMAD signaling regulates CXCL12 expression in the bone marrow niche, affecting homing and mobilization of hematopoietic progenitors. *Stem Cells* 2014; 32 (11): 2018–22.
68. Christopher M.J., Liu F., Hilton M.J. et al. Suppression of CXCL12 production by bone marrow osteoblasts is a common and critical pathway for cytokine-induced mobilization. *Blood.* 2009; 114 (7): 1331–9.
69. Zorin V.L., Komlev V.S., Zorina A.I. et al. Octacalcium phosphate ceramics combined with gingiva-derived stromal cells for engineered functional bone grafts. *Biomed. Mater.* 2014; 9 (5): 055005.
70. Деев Р.В., Исаев А.А., Кочииш А.Ю., Тихилов Р.М. Пути развития клеточных технологий в костной хирургии. *Травматология и ортопедия России* 2008; 1 (47): 65–75 [Deev R.V., Isaev A.A., Kochish A.Yu., Tikhilov R.M. Ways to develop cellular technologies in bone surgery. *Travmatologiya i ortopediya Rossii.* 2008; 1 (47): 65-75 (in Russian)].
71. Kim B.S., Kim J.S., Lee J. Improvements of osteoblast adhesion, proliferation, and differentiation in vitro via fibrin network formation in collagen sponge scaffold. *J. Biomed. Mater. Res. A.* 2013; 101 (9): 2661–6.
72. Lü Y.M., Cheng L.M., Pei G.X. et al. Experimental study of repairing femoral bone defects with nHA/RHLC/PLA scaffold composite with endothelial cells and osteoblasts in canines. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi.* 2013; 93 (17): 1335–40.
73. Shim J.B., Ankeny R.F., Kim H. et al. A study of a three-dimensional PLGA sponge containing natural polymers co-cultured with endothelial and mesenchymal stem cells as a tissue engineering scaffold. *Biomed. Mater.* 2014; 9 (4): 045015.
74. Ilich D.J., Demir N., Stojković M. et al. Concise review: induced pluripotent stem cells and lineage reprogramming: prospects for boneregeneration. *Stem Cells.* 2011; 29 (4): 555–63.
75. Pelegrine A.A., Aloise A.C., Zimmermann A. et al. Repair of critical-size bone defects using bone marrow stromal cells: a histomorphometric study in rabbit calvaria. Part I: use of fresh bone marrow or bone marrow mononuclear fraction. *Clin. Oral. Implants Res.* 2014; 25 (5): 567–72.
76. Kim B.S., Kim J.S., Lee J. Improvements of osteoblast adhesion, proliferation, and differentiation in vitro via fibrin network formation in collagen sponge scaffold. *J. Biomed. Mater. Res. A.* 2013; 101 (9): 2661–6.
77. Neman J., Duenas V., Kowolik C.M. et al. Lineage mapping and characterization of the native progenitor population in cellular allograft. *Spine J.* 2013; 13 (2): 162–74.
78. Kerr E.J., Jawahar A., Wooten T. et al. The use of osteoconductive stem-cells allograft in lumbar interbody fusion procedures: an alternative to recombinant human bone morphogenetic protein. *J. Surg. Orthop. Adv.* 2011; 20(3): 193–7.
79. Hollawell S.M. Allograft cellular bone matrix as an alternative to autograft in hindfoot and ankle fusion procedures. *J. Foot Ankle Surg.* 2012; 51 (2): 222–5.
80. Осепян И.А., Чайлахян Р.К., Гарибян Е.С. Лечение несращений, ложных суставов, дефектов длинных трубчатых костей трансплантацией аутологичных костномозговых фибробластов, выращенных in vitro и помещенных на спонгиозный костный матрикс. *Ортопедия, травматология и протезирование.* 1982; 9: 59 [Osepyan I.A., Chailakhyan R.K., Garibyan E.S. Treatment of nonunion, pseudarthrosis, long tubular bones defects using grafting of autologous bone marrow fibroblasts cultivated in vitro and placed on spongy bone matrix. *Ortopediya, travmatologiya i protezirovaniye.* 1982; 9: 59 (in Russian)].
81. Осепян И.А., Чайлахян Р.К., Гарибян Е.С. Аутоотрансплантация костномозговых фибробластов в травматологии и ортопедии. *Вестник хирургии им. И.И. Грекова* 1988; 5: 56 [Osepyan I.A., Chailakhyan R.K., Garibyan E.S. Autologous transplantation of bone marrow fibroblasts in traumatology and orthopaedics. *Vestnik khirurgii im. I.I. Grekova.* 1988; 5: 56 (in Russian)].
82. Щепкина Е.А., Кругляков П.В., Соломин Л.Н., Зарицкий А.Ю., Назаров В.А., Вийде С.В., и др. Трансплантация аутогенных мультипотентных мезенхимных стромальных клеток на деминерализованном костном матриксе при лечении ложных суставов длинных трубчатых костей. *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия.* 2007; II (3): 67–74 [Shepkina E.A., Kruglyakov P.V., Solomin L.N., Zaritskiy A.Yu., Nazarov V.A., Viyde S.V., et al. Transplantation of autologous mesenchymal stem cells on demineralized bone matrix in treatment of pseudoarthrosis of long bones. *Kletochnaya transplantologiya i tkanevaya inzheneriya.* 2007; II (3): 67-74 (in Russian)].
83. Дробышев А.Ю., Рубина К.А., Сысоева В.Ю. и др. Клиническое исследование применения тканеинженерной конструкции на основе аутологичных стромальных клеток из жировой ткани у пациентов с дефицитом костной ткани в области альвеолярного отростка верхней челюсти и альвеолярной части нижней челюсти. *Вестник экспериментальной и клинической хирургии.* 2011; IV (4): 764–72 [Drobyshev A.Yu., Rubina K.A., Sysoeva V.Yu., et al. Clinical study of the use of tissue engineered constructions based on human adipose tissue-derived stromal cells in patients with bone tissue deficit in the region of alveolar process of the maxilla and alveolar part of the mandible. *Vestnik eksperimental'noy i klinicheskoy khirurgii.* 2011; IV (4): 764-72 (in Russian)].
84. <http://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02209311?term=FMBA+Burnasyan&rank=5>.
85. Алексеева И.С., Волков А.В., Кулаков А.А., Гольдштейн Д.В. Клинико-экспериментальное обоснование использования комбинированного клеточного трансплантата на основе мультипотентных мезенхимных стромальных клеток жировой ткани у пациентов с

- выраженным дефицитом костной ткани челюстей. Клеточная трансплантология и тканевая инженерия 2012; VII (1): 97–105 [Alekseeva I.S., Volkov A.V., Kulakov A.A., Gol'dshtein D.V. Clinical and experimental study on the use of combined cell transplant on the basis of multipotent mesenchymal stromal cells of adipose tissue in patients with severe deficiency of jaws bone tissue. Kletochnaya transplantologiya i tkanevaya inzheneriya. 2012; VII (1): 97–105 (in Russian)].
86. Миронов С.П., Омеляненко Н.П., Кожевников О.В., Ильина В.К., Иванов А.В., Карпов И.Н. Влияние культивированных аутогенных соединительнотканых (стромальных) клеток костного мозга (СККМ) на замедленно формирующиеся дистракционные регенераты у детей. Клеточная трансплантология и тканевая инженерия 2011; 6 (2): 104–112 [Mironov S.P., Omel'yanenko N.P., Kozhevnikov O.V., Il'ina V.K., Ivanov A.V., Karpov I.N. Influence of autologous connective tissue (stromal) bone marrow cells (sbmc) upon delayed-forming distraction regenerates in children. Kletochnaya transplantologiya i tkanevaya inzheneriya. 2011; VI (2): 104–112 (in Russian)].
 87. McKay W.F., Peckham S.M., Badura J.M. A comprehensive clinical review of recombinant human bone morphogenetic protein-2 (INFUSE Bone Graft). Int. Orthop. 2007; 31 (6): 729–34.
 88. Burkus J.K., Gornet M.F., Dickman C. et al. Anterior lumbar interbody fusion using rhBMP-2 with tapered interbody cages. J. Spinal. Disord. Tech. 2002; 15 (5): 337–49.
 89. Dimar J.R., Glassman S.D., Burkus J.K. et al. Clinical and radiographic analysis of an optimized rhBMP-2 formulation as an autograft replacement in posterolateral lumbar spine arthrodesis. J. Bone Joint Surg. Am. 2009; 91: 1377–86.
 90. Glassman S.D., Carreon L.Y., Djurasovic M. et al. RhBMP-2 versus iliac crest bone graft for lumbar spine fusion: a randomized, controlled trial in patients over sixty years of age. Spine (Phila Pa 1976). 2008; 33 (26): 2843–9.
 91. Carragee E.J., Hurwitz E.L., Weiner B.K. A critical review of recombinant human bone morphogenetic protein-2 trials in spinal surgery: emerging safety concerns and lessons learned. Spine J. 2011; 11 (6): 471–91.
 92. Woo E.J. Adverse events reported after the use of recombinant human bone morphogenetic protein 2. J. Oral Maxillofac. Surg. 2012; 70 (4): 765–7.
 93. Epstein N.E. Complications due to the use of BMP/INFUSE in spine surgery: The evidence continues to mount. Surg. Neurol. Int. 2013; 4 (Suppl 5): S343–52.
 94. Чеканов А.В., Фадеева И.С., Акатов В.С., Соловьева М.Е., Вежнина Н.В., Лекишвили М.В. Количественный эффект повышения остеоиндуктивности материала за счет включения в него рекомбинантного морфогенетического белка кости rhBMP-2. Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. 2012; VII (2): 75–81 [Chekanov A.V., Fadeeva I.S., Akatov V.S., Solov'yova M.E., Vezhnina N.V., Lekishvili M.V. Quantitative effect of improving osteoinductive property of a material due to application of recombinant morphogenetic bone protein rhBMP-2. Kletochnaya transplantologiya i tkanevaya inzheneriya. 2012; VII (2): 75–81 (in Russian)].
 95. Мураев А.А., Иванов С.Ю., Артифексова 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 [Muraev A.A., Ivanov S.Yu., Artifeksova A.A., Ryabova V.M., Volodina E.V., Polyakova I.N. Biological properties study of a new osteoplastic nondemineralized collagen-based material containing vascular endothelial growth factor in bone defect replacement. Sovremennyye tekhnologii v meditsine. 2012; 1: 21–6 (in Russian)].
 96. Zhang W., Zhu C., Wu Y. et al. VEGF and BMP-2 promote bone regeneration by facilitating bone marrow stem cell homing and differentiation. Eur. Cell Mater. 2014; 27: 1–11.
 97. Holloway J.L., Ma H., Rai R. et al. Modulating hydrogel crosslink density and degradation to control bone morphogenetic protein delivery and in vivo bone formation. J. Control. Release. 2014; 191: 63–70.
 98. Lauzon M.A., Bergeron E., Marcos B. et al. Bone repair: new developments in growth factor delivery systems and their mathematical modeling. J. Control. Release. 2012; 162 (3): 502–20.
 99. Chang P.C., Dobvan A.S., Lim L.P. et al. Dual delivery of PDGF and simvastatin to accelerate periodontal regeneration in vivo. Biomaterials. 2013; 34 (38): 9990–7.
 100. Kleinschmidt K., Ploeger F., Nickel J. et al. Enhanced reconstruction of long bone architecture by a growth factor mutant combining positive features of GDF-5 and BMP-2. Biomaterials. 2013; 34 (24): 5926–36.
 101. Gene therapy clinical trials worldwide. <http://www.abedia.com/wiley/years.php>.
 102. Деев Р.В., Бозо И.Я., Мжаванадзе Н.Д., Нерсисян Е.Г., Чухрала О.В., Швальб П.Г. и др. Эффективность применения гена VEGF165 в комплексном лечении пациентов с хронической ишемией нижних конечностей 2А–3 стадии. Ангиология и сосудистая хирургия. 2014; 20 (2): 38–48 [Deev R.V., Bozo I.Ya., Mzhavanadze N.D., Nersesyan E.G., Chukhralya O.V., Shvalb P.G. et al. Efficacy of using vegf156 gene in comprehensive treatment of patients with stage2a–3 lower limb chronic ischaemia. Angiology and Vascular Surgery. 2014; 20 (2): 38–48 (in Russian)].
 103. Деев Р.В., Дробышев А.Ю., Бозо И.Я., Галецкий Д.В., Королев В.О., Еремин И.И. и др. Создание и оценка биологического действия ген-активированного остеопластического материала, несущего ген VEGF человека. Клеточная трансплантология и тканевая инженерия 2013; VIII (3): 78–85 [Deev R.V., Drobyshev A.Y., Bozo I.Y., Galetsky D.V., Korolev O.V., Eremin I.I. et al. Construction and biological effect evaluation of gene-activated osteoplastic material with human VEGF gene. Kletochnaya transplantologiya i tkanevaya inzheneriya. 2013; VIII (3): 78–85 (in Russian)].
 104. Gene-activated matrix for bone tissue repair in maxillofacial surgery. <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02293031?term=gene-activated&rank=1>.
 105. Wegman F., Bijenhof A., Schuijff L. et al. Osteogenic differentiation as a result of BMP-2 plasmid DNA based gene therapy in vitro and in vivo. Eur. Cell Mater. 2011; 21: 230–42.
 106. Baboo S., Cook P.R. «Dark matter» worlds of unstable RNA and protein. Nucleus. 2014; 5 (4): 281–6.
 107. Evans C.H. Gene delivery to bone. Adv. Drug Deliv. Rev. 2012; 64 (12): 1331–40.
 108. Григорян А.С., Шевченко К.Г. Возможные молекулярные механизмы функционирования плазмидных конструкций, содержащих ген VEGF. Клеточная трансплантология и тканевая инженерия 2011; VI (3): 24–8 [Grigoryan A.S., Shevchenko K.G. Some possible molecular mechanisms of VEGF encoding plasmids functioning. Kletochnaya transplantologiya i tkanevaya inzheneriya. 2011; VI (3): 24–8 (in Russian)].
 109. Rose T., Peng H., Usas A. et al. Ex-vivo gene therapy with BMP-4 for critically sized defects and enhancement of fracture healing in an osteoporotic animal model. Unfallchirurg. 2005; 108 (1): 25–34.

110. Baltzer A.W., Lattermann C., Whalen J.D. et al. Genetic enhancement of fracture repair: healing of an experimental segmental defect by adenoviral transfer of the BMP-2 gene. *Gene Ther.* 2000; 7 (9): 734-9.
111. Betz V.M., Betz O.B., Glatt V. et al. Healing of segmental bone defects by direct percutaneous gene delivery: effect of vector dose. *Hum. Gene Ther.* 2007; 18 (10): 907-15.
112. Feichtinger G.A., Hofmann A.T., Slezak P. et al. Sonoporation increases therapeutic efficacy of inducible and constitutive BMP2/7 in vivo gene delivery. *Hum. Gene Ther. Methods.* 2014; 25 (1): 57-71.
113. Keeney M., van den Beucken J.J., van der Kraan P.M. et al. 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 VEGF (165). *Biomaterials.* 2010; 31 (10): 2893-902.
114. Deev R., Drobyshev A., Bozo I. et al. Angiogenic non-viral gene transfer: from ischemia treatment to bone defects repair. *J. Tissue Eng. Regen. Med.* 2014; 8 (Suppl. 1): 64-5.
115. Anitua E., Alkhraisat M.H., Orive G. Perspectives and challenges in regenerative medicine using plasma rich in growth factors. *J. Control. Release.* 2012; 157 (1): 29-38.
116. Shaw R.J., Brown J.S. Osteomyocutaneous deep circumflex iliac artery perforator flap in the reconstruction of midface defect with facial skin loss: a case report. *Microsurgery* 2009; 29 (4): 299-302.
117. Chen G., Deng C., Li Y.P. TGF- β and BMP signaling in osteoblast differentiation and bone formation. *Int. J. Biol. Sci.* 2012; 8 (2): 272-88.
118. McMahon M.S. Bone morphogenetic protein 3 signaling in the regulation of osteogenesis. *Orthopedics.* 2012; 35 (11): 920.
119. Bai Y., Leng Y., Yin G. et al. Effects of combinations of BMP-2 with FGF-2 and/or VEGF on HUVECs angiogenesis in vitro and CAM angiogenesis in vivo. *Cell Tissue Res.* 2014; 356 (1): 109-21.
120. Zhu F., Friedman M.S., Luo W. et al. The transcription factor osterix (SP7) regulates BMP6-induced human osteoblast differentiation. *J. Cell. Physiol.* 2012; 227 (6): 2677-85.
121. Friedman M.S., Long M.W., Hankenson K.D. Osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells is regulated by bone morphogenetic protein-6. *J. Cell Biochem.* 2006; 98 (3): 538-54.
122. Glienke J., Schmitt A.O., Pilarsky C. et al. Differential gene expression by endothelial cells in distinct angiogenic states. *Eur. J. Biochem.* 2000; 267 (9): 2820-30.
123. Kang Q., Sun M.H., Cheng H. et al. Characterization of the distinct orthotopic bone-forming activity of 14 BMPs using recombinant adenovirus-mediated gene delivery. *Gene Ther.* 2004; 11 (17): 1312-20.
124. Akiyama I., Yoshino O., Osuga Y. et al. Bone morphogenetic protein 7 increased vascular endothelial growth factor (VEGF)-a expression in human granulosa cells and VEGF receptor expression in endothelial cells. *Reprod. Sci.* 2014; 21 (4): 477-82.
125. Lamplot J.D., Qin J., Nan G. et al. BMP9 signaling in stem cell differentiation and osteogenesis. *Am. J. Stem Cells.* 2013; 2 (1): 1-21.
126. Suzuki Y., Ohga N., Morishita Y. et al. BMP-9 induces proliferation of multiple types of endothelial cells in vitro and in vivo. *J. Cell Sci.* 2010; 123 (Pt 10): 1684-92.
127. Mayr-Wohlfart U., Waltenberger J., Hausser H. et al. Vascular endothelial growth factor stimulates chemotactic migration of primary human osteoblasts. *Bone* 2002; 30 (3): 472-7.
128. Koch S., Claesson-Welsh L. Signal transduction by vascular endothelial growth factor receptors. *Cold. Spring Harb. Perspect. Med.* 2012; 2 (7): a006502.
129. Marquez-Curtis L.A., Janowska-Wieczorek A. Enhancing the migration ability of mesenchymal stromal cells by targeting the SDF-1/CXCR4 axis. *Biomed. Res Int.* 2013; 2013: 561098.
130. Li B., Bai W., Sun P. et al. The effect of CXCL12 on endothelial progenitor cells: potential target for angiogenesis in intracerebral hemorrhage. *J. Interferon Cytokine Res.* 2015; 35 (1): 23-31.
131. Fagiani E., Christofori G. Angiopoietins in angiogenesis. *Cancer Lett.* 2013; 328 (1): 18-26.
132. Shiozawa Y., Jung Y., Ziegler A.M. et al. Erythropoietin couples hematopoiesis with bone formation. *PLoS One* 2010; 5 (5): e10853.
133. Wan L., Zhang F., He Q. et al. EPO promotes bone repair through enhanced cartilaginous callus formation and angiogenesis. *PLoS One* 2014; 9 (7): e102010.
134. Buemi M., Donato V., Bolognani D. Erythropoietin: pleiotropic actions. *Recenti. Prog. Med.* 2010; 101 (6): 253-67.
135. Cokic B.B., Cokic V.P., Suresh S. et al. Nitric oxide and hypoxia stimulate erythropoietin receptor via MAPK kinase in endothelial cells. *Microvasc. Res.* 2014; 92: 34-40.
136. Park J.B. Effects of the combination of fibroblast growth factor-2 and bone morphogenetic protein-2 on the proliferation and differentiation of osteoprecursor cells. *Adv. Clin. Exp. Med.* 2014; 23 (3): 463-7.
137. Sai Y., Nishimura T., Muta M. et al. Basic fibroblast growth factor is essential to maintain endothelial progenitor cell phenotype in TR-BME2 cells. *Biol. Pharm. Bull.* 2014; 37 (4): 688-93.
138. Aenlle K.K., Curtis K.M., Roos B.A. et al. Hepatocyte growth factor and p38 promote osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells. *Mol. Endocrinol.* 2014; 28 (5): 722-30.
139. Burgazli K.M., Bui K.L., Mericiler M. et al. The effects of different types of statins on proliferation and migration of HGF-induced Human Umbilical Vein Endothelial Cells (HUVECs). *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* 2013; 17 (21): 2874-83.
140. Nakamura T., Mizuno S. The discovery of hepatocyte growth factor (HGF) and its significance for cell biology, life sciences and clinical medicine. *Proc. Jpn. Acad. Ser. B Phys. Biol. Sci.* 2010; 86 (6): 588-610.
141. Sheng M.H., Lau K.H., Baylink D.J. Role of Osteocyte-derived Insulin-Like Growth Factor I in Developmental Growth, Modeling, Remodeling, and Regeneration of the Bone. *J. Bone Metab.* 2014; 21 (1): 41-54.
142. Subramanian I.V., Fernandes B.C., Robinson T. et al. AAV-2-mediated expression of IGF-1 in skeletal myoblasts stimulates angiogenesis and cell survival. *J. Cardiovasc. Transl. Res.* 2009; 2 (1): 81-92.
143. Colciago A., Celotti F., Casati L. et al. In Vitro Effects of PDGF Isoforms (AA, BB, AB and CC) on Migration and Proliferation of SaOS-2 Osteoblasts and on Migration of Human Osteoblasts. *Int. J. Biomed Sci.* 2009; 5 (4): 380-9.
144. Levi B., James A.W., Wan D.C. et al. Regulation of human adipose-derived stromal cell osteogenic differentiation by insulin-like growth factor-1 and platelet-derived growth factor-alpha. *Plast. Reconstr. Surg.* 2010; 126 (1): 41-52.
145. Wong V.W., Crawford J.D. Vasculogenic cytokines in wound healing. *Biomed. Res. Int.* 2013; 2013: 190486.
146. Palioto D.B., Rodrigues T.L., Marchesan J.T. et al. Effects of enamel matrix derivative and transforming growth factor- β 1 on human osteoblastic cells. *Head Face Med.* 2011; 7: 13.

147. Peshavariya H.M., Chan E.C., Liu G.S. et al. Transforming growth factor- β 1 requires NADPH oxidase 4 for angiogenesis in vitro and in vivo. *J. Cell Mol. Med.* 2014; 18 (6): 1172–83.
148. Gao X., Xu Z. Mechanisms of action of angiogenin. *Acta Biochim. Biophys. Sin. (Shanghai)*. 2008; 40 (7): 619–24.
149. Cao L., Liu X., Liu S. et al. Experimental repair of segmental bone defects in rabbits by angiopoietin-1 gene transfected MSCs seeded on porous β -TCP scaffolds. *J. Biomed. Mater. Res. B Appl Biomater.* 2012; 100 (5): 1229–36.
150. Virk M.S., Conduah A., Park S.H. et al. Influence of short-term adenoviral vector and prolonged lentiviral vector mediated bone morphogenetic protein-2 expression on the quality of bone repair in a rat femoral defect model. *Bone*. 2008; 42 (5): 921–31.
151. Lutz R., Park J., Felszeghy E. et al. Bone regeneration after topical BMP-2-gene delivery in circumferential peri-implant bone defects. *Clin. Oral Implants Res.* 2008; 19 (6): 590–9.
152. Li B.C., Zhang J.J., Xu C. et al. Treatment of rabbit femoral defect by firearm with BMP-4 gene combined with TGF- β 1. *J. Trauma*. 2009; 66 (2): 450–6.
153. Sheyn D., Kallai I., Tawackoli W. et al. Gene-modified adult stem cells regenerate vertebral bone defect in a rat model. *Mol. Pharm.* 2011; 8 (5): 1592–601.
154. Kang Q., Sun M.H., Cheng H. et al. Characterization of the distinct orthotopic bone-forming activity of 14 BMPs using recombinant adenovirus-mediated gene delivery. *Gene Ther.* 2004; 11 (17): 1312–20.
155. Li J.Z., Li H., Hankins G.R. et al. Different osteogenic potentials of recombinant human BMP-6 adeno-associated virus and adenovirus in two rat strains. *Tissue Eng.* 2006; 12 (2): 209–19.
156. Bright C., Park Y.S., Sieber A.N. et al. In vivo evaluation of plasmid DNA encoding OP-1 protein for spine fusion. *Spine (Phila Pa 1976)*. 2006; 31 (19): 2163–72.
157. Zhang Y., Wu C., Luo T. et al. Synthesis and inflammatory response of a novel silk fibroin scaffold containing BMP7 adenovirus for bone regeneration. *Bone*. 2012; 51 (4): 704–13.
158. Song K., Rao N., Chen M. et al. Construction of adeno-associated virus system for human bone morphogenetic protein 7 gene. *J. Huazhong Univ. Sci. Technolog. Med. Sci.* 2008; 28 (1): 17–21.
159. Breitbart A.S., Grande D.A., Mason J. et al. Gene-enhanced tissue engineering: applications for bone healing using cultured periosteal cells transduced retrovirally with the BMP-7 gene. *Ann. Plast. Surg.* 1999; 42 (5): 488–95.
160. Kimelman-Bleich N., Pelled G., Zilberman Y. et al. Targeted gene-and-host progenitor cell therapy for nonunion bone fracture repair. *Mol. Ther.* 2011; 19 (1): 53–9.
161. Abdelaal M.M., Tholpady S.S., Kessler J.D. et al. BMP-9-transduced prefabricated muscular flaps for the treatment of bony defects. *J. Craniofac. Surg.* 2004; 15 (5): 736–41.
162. Kuroda S., Goto N., Suzuki M. et al. Regeneration of bone- and tendon/ligament-like tissues induced by gene transfer of bone morphogenetic protein-12 in a rat bone defect. *J. Tissue Eng.* 2010; 2010: 891049.
163. Rundle C.H., Strong D.D., Chen S.T. et al. Retroviral-based gene therapy with cyclooxygenase-2 promotes the union of bony callus tissues and accelerates fracture healing in the rat. *J. Gene Med.* 2008; 10 (3): 229–41.
164. Li C., Ding J., Jiang L. et al. Potential of Mesenchymal Stem Cells by Adenovirus-Mediated Erythropoietin Gene Therapy Approaches for Bone Defect. *Cell Biochem. Biophys.* 2014; 70 (2): 1199–204.
165. Wallmichrath J.C., Stark G.B., Kneser U. et al. Epidermal growth factor (EGF) transfection of human bone marrow stromal cells in bone tissue engineering. *J. Cell Mol. Med.* 2009; 13 (8B): 2593–601.
166. Qu D., Li J., Li Y. et al. Angiogenesis and osteogenesis enhanced by bFGF ex vivo gene therapy for bone tissue engineering in reconstruction of calvarial defects. *J. Biomed. Mater. Res. A*. 2011; 96 (3): 543–51.
167. Wen Q., Zhou C., Luo W., et al. Pro-osteogenic effects of fibrin glue in treatment of avascular necrosis of the femoral head in vivo by hepatocyte growth factor-transgenic mesenchymal stem cells. *J. Transl. Med.* 2014; 12: 114.
168. Zou D., Zhang Z., He J., et al. Blood vessel formation in the tissue-engineered bone with the constitutively active form of HIF-1 α mediated BMSCs. *Biomaterials*. 2012; 33 (7): 2097–108.
169. Shen F.H., Visger J.M., Balian G. et al. Systemically administered mesenchymal stromal cells transduced with insulin-like growth factor-I localize to a fracture site and potentiate healing. *J. Orthop. Trauma*. 2002; 16 (9): 651–9.
170. Srouji S., Ben-David D., Fromiguet O. et al. Lentiviral-mediated integrin α 5 expression in human adult mesenchymal stromal cells promotes bone repair in mouse cranial and long-bone defects. *Hum. Gene Ther.* 2012; 23 (2): 167–72.
171. Stroehbach C.A., Rundle C.H., Wergedal J.E. et al. LMP-1 retroviral gene therapy influences osteoblast differentiation and fracture repair: a preliminary study. *Calcif. Tissue Int.* 2008; 83 (3): 202–11.
172. Lattanzi W., Parrilla C., Fetoni A. Ex vivo-transduced autologous skin fibroblasts expressing human Lim mineralization protein-3 efficiently form new bone in animal models. *Gene Ther.* 2008; 15 (19): 1330–43.
173. Lu S.S., Zhang X., Soo C. et al. The osteoinductive properties of Nell-1 in a rat spinal fusion model. *Spine J.* 2007; 7 (1): 50–60.
174. Lai Q.G., Sun S.L., Zhou X.H. et al. Adipose-derived stem cells transfected with pEGFP-OSX enhance bone formation during distraction osteogenesis. *J. Zhejiang Univ. Sci. B*. 2014; 15 (5): 482–90.
175. Jin Q., Anusaksathien O., Webb S.A. et al. Engineering of tooth-supporting structures by delivery of PDGF gene therapy vectors. *Mol. Ther.* 2004; 9 (4): 519–26.
176. Elangovan S., D'Mello S.R., Hong L. et al. The enhancement of bone regeneration by gene activated matrix encoding for platelet derived growth factor. *Biomaterials* 2014; 35 (2): 737–47.
177. Chang P.C., Cirelli J.A., Jin Q. et al. Adenovirus encoding human platelet-derived growth factor-B delivered to alveolar bone defects exhibits safety and biodistribution profiles favorable for clinical use. *Hum. Gene Ther.* 2009; 20 (5): 486–96.
178. Backstrom K.C., Bertone A.L., Wisner E.R. et al. Response of induced bone defects in horses to collagen matrix containing the human parathyroid hormone gene. *Am J. Vet. Res.* 2004; 65 (9): 1223–32.
179. Pan H., Zheng Q., Yang S. et al. A novel peptide-modified and gene-activated biomimetic bone matrix accelerating bone regeneration. *J. Biomed. Mater. Res. A*. 2014; 102 (8): 2864–74.
180. Duan C., Liu J., Yuan Z. et al. Adenovirus-mediated transfer of VEGF into marrow stromal cells combined with PLGA/TCP scaffold increases vascularization and promotes bone repair in vivo. *Arch. Med. Sci.* 2014; 10 (1): 174–81.
181. Koh J.T., Zhao Z., Wang Z. et al. Combinatorial gene therapy with BMP2/7 enhances cranial bone regeneration. *J. Dent. Res.* 2008; 87 (9): 845–9.

182. *Menendez M.I., Clark D.J., Carlton M. et al.* Direct delayed human adenoviral BMP-2 or BMP-6 gene therapy for bone and cartilage regeneration in a pony osteochondral model. *Osteoarthritis Cartilage*. 2011; 19(8): 1066-75.
183. *Reichert J.C., Schmalzl J., Prager P. et al.* Synergistic effect of Indian hedgehog and bone morphogenetic protein-2 gene transfer to increase the osteogenic potential of human mesenchymal stem cells. *Stem Cell Res. Ther.* 2013; 4 (5): 105.
184. *Deng Y., Zhou H., Yan C. et al.* In vitro osteogenic induction of bone marrow stromal cells with encapsulated gene-modified bone marrow stromal cells and in vivo implantation for orbital bone repair. *Tissue Eng. Part A*. 2014; 20 (13-14): 2019-29.
185. *Liu J., Xu L., Li Y. et al.* Temporally controlled multiple-gene delivery in scaffolds: a promising strategy to enhance bone regeneration. *Med. Hypotheses*. 2011; 76 (2): 173-5.
186. *Zhang Y., Cheng N., Miron R. et al.* Delivery of PDGF-B and BMP-7 by mesoporous bioglass/silk fibrin scaffolds for the repair of osteoporotic defects. *Biomaterials* 2012; 33 (28): 6698-708.
187. *Ito H., Koefoed M., Tiyapatanaputi P. et al.* Remodeling of cortical bone allografts mediated by adherent rAAV-RANKL and VEGF gene therapy. *Nat. Med.* 2005; 11 (3): 291-7.
188. *Wehrhan F., Amann K., Molenberg A. et al.* Critical size defect regeneration using PEG-mediated BMP-2 gene delivery and the use of cell occlusive barrier membranes - the osteopromotive principle revisited. *Clin. Oral Implants Res.* 2013; 24 (8): 910-20.
189. *Die X., Luo Q., Chen C. et al.* Construction of a recombinant adenovirus co-expressing bone morphogenic proteins 9 and 6 and its effect on osteogenesis in C3H10 cells. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao*. 2013; 33 (9): 1273-9.
190. *Seamon J., Wang X., Cui F. et al.* Adenoviral Delivery of the VEGF and BMP-6 Genes to Rat Mesenchymal Stem Cells Potentiates Osteogenesis. *Bone Marrow Res.* 2013; 2013: 737580.
191. *Yang L., Zhang Y., Dong R. et al.* Effects of adenoviral-mediated coexpression of bone morphogenetic protein-7 and insulin-like growth factor-1 on human periodontal ligament cells. *J Periodontal. Res.* 2010; 45 (4): 532-40.
192. *Liu J.Z., Hu Y.Y., Ji Z.L.* Co-expression of human bone morphogenetic protein-2 and osteoprotegerin in myoblast C2C12. *Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi*. 2003; 17 (1): 1-4.
193. *Kim M.J., Park J.S., Kim S. et al.* Encapsulation of bone morphogenetic protein-2 with Cbfa1-overexpressing osteogenic cells derived from human embryonic stem cells in hydrogel accelerates bone tissue regeneration. *Stem Cells Dev.* 2011; 20 (8): 1349-58.
194. *Li J., Zhao Q., Wang E. et al.* Transplantation of Cbfa1-overexpressing adipose stem cells together with vascularized periosteal flaps repair segmental bone defects. *J. Surg. Res.* 2012; 176 (1): e13-20.
195. *Bhattarai G., Lee Y.H., Lee M.H. et al.* Gene delivery of c-myc increases bone formation surrounding oral implants. *J Dent. Res.* 2013; 92 (9): 840-5.
196. *Han D., Li J.* Repair of bone defect by using vascular bundle implantation combined with Runx II gene-transfected adipose-derived stem cells and a biodegradable matrix. *Cell Tissue Res.* 2013; 352(3): 561-71.
197. *Takahashi T.* Overexpression of Runx2 and MKP-1 stimulates transdifferentiation of 3T3-L1 preadipocytes into bone-forming osteoblasts in vitro. *Calcif. Tissue Int.* 2011; 88 (4): 336-47.
198. *Cucchiari M., Orth P., Madry H.* Direct rAAV SOX9 administration for durable articular cartilage repair with delayed terminal differentiation and hypertrophy in vivo. *J. Mol. Med. (Berl)*. 2013; 91 (5): 625-36.
199. *Itaka K., Ohba S., Miyata K. et al.* Bone regeneration by regulated in vivo gene transfer using biocompatible polyplex nanomicelles. *Mol. Ther.* 2007; 15 (9): 1655-62.

Сведения об авторах: Деев Р.В. — канд. мед. наук, директор по науке ИСКЧ; Дробышев А.Ю. — доктор мед. наук, профессор, зав. каф. челюстно-лицевой хирургии МГМСУ, засл. врач РФ; Бозо И.Я. — челюстно-лицевой хирург, аспирант кафедры челюстно-лицевой хирургии МГМСУ.

Для контактов: Бозо Илья Ядигерович. 199333, Москва, ул. Губкина, д. 3, стр. 2. Тел.: +7 (965) 437-89-46. E-mail: bozo.ilya@gmail.com.



Если Вы хотите разместить Вашу рекламу
в «Вестнике травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова»,
обращайтесь в редакцию журнала

127299, Москва, ул. Приорова, 10, ЦИТО.
Тел.: 8(495)450-24-24, 8(968)897-37-91