

**В Е С Т Н И К**  
**ТРАВМАТОЛОГИИ**  
**И ОРТОПЕДИИ**  
ИМЕНИ Н.Н.ПРИОРОВА



НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ  
ОСНОВАН В 1994 ГОДУ

**1**  
*январь-март*  
**2015**

ЦЕНТРАЛЬНЫЙ  
НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ  
ТРАВМАТОЛОГИИ И ОРТОПЕДИИ  
им. Н.Н. ПРИОРОВА

---



# В Е С Т Н И К

## ТРАВМАТОЛОГИИ И ОРТОПЕДИИ

ИМЕНИ Н.Н.ПРИОРОВА

---

*Ежеквартальный научно-практический журнал*

---

Главный редактор С.П. МИРОНОВ

### РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

А.Г. БАИНДУРАШВИЛИ, А.В. БАЛБЕРКИН, В.П. ВОЛОШИН,  
Н.А. ЕСЬКИН (зам. главного редактора), И.О. ГОЛУБЕВ, Н.В. ЗАГОРОДНИЙ,  
П.А. ИВАНОВ, Г.М. КАВАЛЕРСКИЙ, В.В. КЛЮЧЕВСКИЙ, И.С. КОСОВ,  
Г.П. КОТЕЛЬНИКОВ, В.Н. МЕРКУЛОВ, Л.К. МИХАЙЛОВА, А.К. МОРОЗОВ,  
Г.И. НАЗАРЕНКО, А.А. ОЧКУРЕНКО, С.С. РОДИОНОВА, А.С. САМКОВ,  
А.В. СКОРОГЛЯДОВ, А.И. СЧЕТКОВ, Р.М. ТИХИЛОВ,  
М.Б. ЦЫКУНОВ (отв. секретарь), М.В. ЧЕЛЮКАНОВА, Н.А. ШЕСТЕРНЯ

1  
январь-март  
2015

---

## РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ:

А.В. ГУБИН (Курган), С.А. ДЖУМАБЕКОВ (Бишкек),  
В.И. ЗОРЯ (Москва), Г.А. КЕСЯН (Москва),  
О.В. КОЖЕВНИКОВ (Москва), Н.А. КОРЖ (Харьков),  
А.И. КРУПАТКИН (Москва), А.Ф. ЛАЗАРЕВ (Москва),  
А.Н. МАХСОН (Москва), М.М. ПОПОВА (Москва),  
М.А. САДОВОЙ (Новосибирск)

*Ответственный за выпуск М.В. Лекишвили*

---

«Вестник травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова»  
включен в следующие зарубежные каталоги:  
«*Biological Abstracts*», «*Index to Dental Literature*»,  
«*Excerpta Medica*», «*Index Medicus*»,  
«*Ulrich's International Periodicals Directory*»

---

Адрес редакции журнала:

127299, Москва  
ул. Приорова, 10, ЦИТО  
Тел. 8-495-450-24-24, 8-903-679-74-71  
E-mail: [vto-priorov@mail.ru](mailto:vto-priorov@mail.ru)  
[www.cito-vestnik.ru](http://www.cito-vestnik.ru)  
Зав. редакцией М.В. Челюканова

Редактор М.В. Челюканова

Компьютерная графика И.С. Косов

Операторы компьютерного набора и верстки И.С. Косов

---

Подписано в печать 31.03.15	Формат 60x88 1/8.	Печать офсетная.	Печ. л. 12,00	Усл. печ. л. 11,76
Уч.-изд. л. 13,90	Заказ № Р1402		Тираж 450	

---

ООО «Издательство «Репроцентр М»  
125252, Москва, ул. Куусинена, дом 19А.  
Отпечатано с готовых диапозитивов в ООО РПЦ «Возрождение»  
117105, г. Москва, Варшавское ш., дом 37а

*Все права защищены. Ни одна часть этого издания не может быть занесена  
в память компьютера либо воспроизведена любым способом без предварительного  
письменного разрешения издателя*

ISSN 0869-8678



© ФГБУ «ЦИТО им. Н.Н. Приорова», 2015

CENTRAL INSTITUTE  
OF TRAUMATOLOGY AND ORTHOPAEDICS  
NAMED AFTER N.N. PRIOROV

---



# V E S T N I K

## travmatologii i ortopedii

IM. N.N. PRIOROVA

---

*Quarterly Scientific-Practical Journal*

---

Editor-in-chief S.P. MIRONOV

### EDITORIAL BOARD:

A.G. BAUNDURASHVILI, A.V. BALBERKIN, V.P. VOLOSHIN,  
N.A. ES'KIN (deputy editor), I.O. GOLUBEV, N.V. ZAGORODNIY, P.A. IVANOV,  
G.M. KAVALERSKIY, V.V. KLYUCHEVSKIY, I.S. KOSOV, G.P. KOTEL'NIKOV,  
V.N. MERKULOV, L.K. MIKHAILOVA, A.K. MOROZOV, G.I. NAZARENKO,  
A.A. OCHKURENKO, S.S. RODIONOVA, A.S. SAMKOV, A.V. SKOROGLYADOV,  
A.I. SNETKOV, R.M. TIKHILOV, M.B. TSYKUNOV (resp. secretary),  
M.V. CHELYUKANOVA, N.A. SHESTERNYA

1  
*January-March*  
2015

---

## PUBLICATIONS COUNCIL:

A.V. GUBIN (Kurgan), S.A. DJUMABEKOV (Bishkek),  
V.I. ZORYA (Moscow), G.A. KESYAN (Moscow),  
O.V. KOZHEVNIKOV (Moscow), N.A. KORZH (Khar'kov),  
A.I. KRUPATKIN (Moscow), A.F. LAZAREV (Moscow),  
A.N. MAKHSON (Moscow), M.M. POPOVA (Moscow),  
M.A. SADOVOY (Novosibirsk)

*Responsible for issue M.V. Lekishvili*

---

Vestnik Travmatologii i Ortopedii im. N.N. Priorova  
is indexed in

«Biological Abstracts», «Index to Dental Literature»,  
«Excerpta Medica», «Index Medicus»,  
«Ulrich's International Periodicals Directory»

---

Editorial office:

CITO, 10 Priorov Street,  
127299, Moscow, Russia  
Tel.: +7-495-450-24-24, +7-903-679-74-71  
E-mail: [vto-priorov@mail.ru](mailto:vto-priorov@mail.ru)  
[www.cito-vestnik.ru](http://www.cito-vestnik.ru)

ООО «Издательство "Репротсентр М"»  
Moscow, Russia

*Reliability of advertisement information is the responsibility of advertiser*

ISSN 0869-8678



Copyright© All Rights Reserved, 2015

## **ОТ РЕДАКЦИИ**

На сегодняшний день наряду с вмешательствами по установке металлоконструкций растет количество операций, выполняемых с использованием биологических материалов и их компонентов, способных влиять на физиологические регенеративные процессы поврежденных органов опорно-двигательного аппарата человека. Добиться принципиально значимого сокращения сроков регенерации как костной, так и хрящевой ткани не представляется возможным ввиду детерминированности скорости биологических процессов.

Забор донорских тканей с целью последующего изготовления аллотрансплантатов связан с трудностями как чисто практического характера, так и обусловленными отсутствием должного правового регулирования. Получаемые трансплантаты могут довольно сильно различаться по своим биологическим, физико-химическим и прочностным характеристикам, что в свою очередь ограничивает их использование в определенных клинических ситуациях.

С целью создания условий для качественного органотипического восстановления поврежденных органов уже сегодня предложено и используется большое количество биологических материалов и технологий их приготовления. В костнопластической и суставной хирургии активное развитие получила концепция регенеративного подхода, предусматривающая разработку технологий стимуляции репаративных процессов. Применительно к костной ткани акцент, в частности, делается на замещении биоматериала новой костной тканью. Материалу при этом отводят роль источника необходимых для построения костной ткани факторов, на первых этапах выполняющего опорную функцию.

Перечень используемых и находящихся в стадии разработок остеопластических материалов очень широк: начиная от хитозана и заканчивая кальцийфосфатной керамикой. Причем если раньше материалы обладали только остеокондукцией, то целью настоящих разработок является получение материалов со свойствами остеоиндукции и остеогенности посредством введения различных клеток, факторов роста, генных конструкций.

Особый интерес вызывают технологии, позволяющие создавать трехмерные композиционные материалы, используя методы быстрого прототипирования (или аддитивного производства), наиболее разработанным среди которых является трехмерная (3D) печать. В технологии 3D-печати можно выделить три этапа. На первом этапе создается трехмерная компьютерная модель требуемого фрагмента ткани пациента на рентгеновском компьютерном томографе с высоким разрешением или магнитно-резонансном томографе. Вторым этапом при помощи биопринтеров создается необходимый образец. Заключительный этап, так называемое ускоренное тканевое созревание, реализуется в условиях биореактора.

Будущее технологии биопечати — за крупными медицинскими центрами, которые можно назвать «заводами» по производству органов, в которых полностью обеспечивались бы условия как для изготовления, так и для трансплантации готовых органов. В.А. Миронов — тканевой инженер, автор первой публикации о печати органов, научный руководитель Лаборатории 3D Bioprinting Solutions, профессор Университета Вирджинии, член попечительского совета Сколково, признанный эксперт роботизированной биофабрикации предложил идею создания своеобразного конвейера, который будет состоять из машины по производству стволовых клеток — биоматериала для печати; устройства для производства сфероидов из клеток; самого биопринтера, компьютера с программным обеспечением для создания «блюпринтов» — моделей печатаемых органов; и оборудования для созревания тканей.

## НАЧАЛЬНЫЕ ЭТАПЫ ДИСТРАКЦИОННОГО ОСТЕОГЕНЕЗА

С.П. Миронов, Н.П. Омеляненко, И.Н. Карпов, А.В. Иванов, А.В. Хлыстова

ФГБУ «Центральный научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова»  
Минздрава России, Москва, РФ

---

*В статье проведен анализ данных литературы, посвященных исследованию дистракционного остеогенеза. Согласно современным представлениям о механизмах репаративной регенерации при дистракционном остеосинтезе основными факторами, запускающими репаративную регенерацию, являются искусственно создаваемый тканевой «дефицит» и воздействие напряжения растяжения на сосудистую сеть, сформировавшуюся в латентный период. Последовательное локальное воздействие факторов роста и других пептидных регуляторов обеспечивает достаточный уровень репаративного остеогенеза в течение всего периода дистракции. Объем и качество новообразованной костной ткани зависят от пространственно-временных характеристик дистракции и резервных возможностей конкретного индивидуума.*

**Ключевые слова:** дистракция, кость, остеоиндукция, остеокондукция, остеогенез, репаративная регенерация, факторы роста, остеобласты, хондроциты, неоангиогенез.

### *Initial Steps of Distraction Osteosynthesis*

*S.P. Mironov, N.P. Omel'yanenko, I.N. Karpov, A.V. Ivanov, A.V. Khlystova*

Central Institute of Traumatology and Orthopaedics named after N.N. Priorov,  
Moscow, Russia

*Analysis of literature data dedicated to the study of distraction osteosynthesis is presented. In accordance with the ideas of the mechanisms of reparative regeneration in distraction osteosynthesis, the main factors responsible for the triggering of reparative regeneration are artificially created tissue "deficit" and tension-stress effect on the vascular network that was formed during the latent period. Consecutive local effect of growth factors and other peptide regulators provides sufficient level of reparative osteogenesis within the whole distraction period. The volume and quality of newly formed bone tissue depend upon the spatial and temporal characteristics of distraction as well as on the potentialities of concrete individual.*

**Key words:** distraction, bone, osteoinduction, osteoconduction, osteogenesis, reparative regeneration, growth factors, osteoblasts, chondrocytes, neoangiogenesis.

---

Репаративный остеогенез — сложный, многостадийный процесс, сопровождающийся образованием в зоне регенерации структур различной тканевой принадлежности, обеспечивающий путем этапного ремоделирования органоспецифическое восстановление поврежденной кости. Последовательная генерация тканевых компонентов клетками различных популяций в зоне репарации проходит под воздействием изменяющегося микроокружения и управляется многочисленными факторами роста.

Значительная часть исследований в мире, имеющих цель глубокого изучения механизмов репаративного остеогенеза, проводится на примере дистракционного остеогенеза. Исследованию в этом случае подвергаются препараты регенератов, полученные при дистракционно-компрессионном способе заживления костных повреждений, предложенном Г.А. Илизаровым [1–4].

Исследование репаративной костной регенерации на дистракционном регенерате позволяет

изучить механизм биологического ответа поврежденного сегмента кости на приложенную осевую нагрузку (растяжение). Посредством метода дистракционного остеосинтеза удается распределить в пространстве и во времени структурные элементы вновь образованной костной ткани по степени их зрелости, этапам формирования в пределах одного костного регенерата [5]. Морфологически в центре дистракционного регенерата визуализируется соединительнотканная ростковая зона [6], рентгенологически (по плотности) ее определяют как интерзону [7]. На ее основе формируются вытянутые первичные костные балки, из которых образуется ретикулофиброзная костная ткань, созревающая по направлению к расходящимся отломкам, рентгенологически они определяются как зоны ремоделирования и склероза [7]. Выделяют несколько типов регенераторной оссификации: эндохондральную, трансхондральную и интрамембранозную [8, 9]. В начальной стадии (в латентном периоде до дистракции и в начале ее)

в области остеотомии имеет место эндохондральная оссификация, так же, как и при обычном переломе, в промежуточном — транسخондральная, в более позднем периоде превалирует интрамембранозная [2–4, 8–18]. Термин «транسخондральная оссификация» предложен N. Yasui и соавт. [19] по результатам эксперимента на кроликах с использованием дистракционной модели [20]: в области переходных зон кость — хрящ определялись хондроцитоподобные клетки, синтезирующие коллаген I и II типа одновременно. Синтез коллагена двух типов проходил в области переходных соединительных тканей, классифицированных как хондроидная кость, имеющая аваскулярный (диффузный) тип питания и обнаруживаемая непосредственно у концов костей после остеотомии.

Морфологически в раннем периоде в зоне роста выявляются неориентированные пучки коллагеновых фибрилл, пролиферирующие и дифференцирующиеся остеобласты, синтезирующие остеоид около пучков коллагеновых волокон рыхлой волокнистой ткани [21]. Также определяются сосудистые синусы и сосуды, достигающие в диаметре 150–200 мкм [18]. После приложения растягивающей силы (дистракции) костный регенерат ориентируется вдоль вектора приложенной силы растяжения, утолщаясь и достигая в длину 4 мм. Клетки в зоне дистракции характеризуются высоким уровнем продукции щелочной фосфатазы, пировиноградной и молочной кислот, энзимов окислительно-восстановительных реакций, что свидетельствует о высоком уровне активности [4]. При остановке дистракции участок регенерата в месте остеотомии и на протяжении дистракционного удлинения оссифицируется. Участки новообразованной кости соединяются и remodelируются в близком соответствии с микро- и макроструктурой нормальной кости [10, 12, 13]. Увеличение объема костной ткани и remodelирование ее в большей степени определяются совместной деятельностью остеобластов и остеокластов, а не увеличением активности одной из популяций клеток. Так, во многих исследованиях [22–27] с помощью индикаторных методик (iH-timidine, proliferating cell nuclear antigen – PCNA, bromodeoxyuridine) отмечено значительное увеличение активности обеих клеточных линий во время дистракции. Наибольший рост клеточной активности отмечен в области переходных зон — зоны роста и зоны первичных костных балок. Некоторые авторы [8] называют эту переходную зону фронтом минерализации. При трансмиссионной электронной микроскопии [9, 21, 24–26] препаратов моделей дистракции у различных экспериментальных животных выявляются достоверные признаки клеточной пролиферации и синтетической активности (гипертрофия митохондрий, комплекса Гольджи и эндоплазматической сети). В позднем периоде дистракции и в раннем пери-

оде консолидации преостеобласты, располагающиеся вдоль костных балок, дифференцируются в остеобласты, а затем, по мере минерализации, становятся остеоцитами в лакунах [28].

Источником костеобразующих клеток при дистракционном остеосинтезе являются предшественники остеобластов (т.е. коммитированные клетки периоста и эндоста), стромальные соединительнотканые клетки костного мозга — местные и из кровяного русла [21, 29]. По мнению A. Danis [30], локальными факторами, стимулирующими начало остеогенеза при дистракционной регенерации длинных костей, являются: механическое напряжение, опосредованно увеличивающее популяцию фибробластов из недифференцированных стромальных клеток, и гипоксия, индуцирующая в дальнейшем (при реверсе кислородного баланса в условиях неангиогенеза) остеогенез.

Обозначенные локальные факторы не только имеют решающее значение для начала и продолжения остеогенеза, но и тесно взаимосвязаны между собой. Только при осевой дистракции возможен полноценный остеогенез. Нестабильность отломков кости, высокая или, наоборот, низкая скорость дистракции и другие механические воздействия нарушают ангиогенез, изменяют кислородный баланс и, как следствие, негативно влияют на процесс остеогенеза [29]. В экспериментальных исследованиях D. Carter и соавт. [31] показано, что при умеренном темпе дистракции идет прямая интрамембранозная оссификация; бедная васкуляризация провоцирует хондрогенез; высокий темп дистракции обуславливает развитие фиброзной ткани в регенерате.

Наибольшее значение для дистракционного остеогенеза имеет ангиогенез (в частности, неангиогенез) [32, 33]. По данным комплексного исследования — микроангиографии, изучения коррозионных препаратов сосудистого русла, сцинтиграфии, регионарный кровоток в зоне дистракции более чем в 10 раз превышает таковой на контралатеральной конечности. Однако примерно через 16–18 нед после остеотомии показатели превышения объемного кровотока снижаются до 3 раз [10]. Гистологически этот процесс выражается в виде увеличенного (по сравнению с нормой) количества микрососудов и синусоидных капилляров различного диаметра (до 200 мкм), вырастающих из периостальной и эндостальной зон, ориентированных вдоль костных балок, но не врастающих в фиброзную сеть центральной рентгенопрозрачной зоны [8–10, 13, 14]. В фиброзной ткани выявляется капиллярная сеть, распространяющаяся и на фронт первичной минерализации. В этих зонах выделяют два типа капилляров — синусоидальные и транспортные (ТЕМ) [4]. Сосуды из периостальной и эндостальной зон в конце периода дистракции объединяются капиллярами через переходную зону фиброзной сети, образуя общую сосудистую сеть дистракционного регенерата [28].



С развитием сосудистой сети в области регенерата, начиная с латентного периода и дистракции, изменяется микроокружение остеогенных клеток. Возможно, механизм инициации дифференцировки коммитированных клеток периоста и эндоста и преosteобластов связан именно с развитием сосудистой сети и непосредственным контактом этих клеток с клетками эндотелия (cell to cell модуляция) [21]. В экспериментах с клеточной культурой стромальных костномозговых клеток показано, что после взаимодействия с эндотелием пуповинной вены они начинали активно синтезировать коллаген I типа и щелочную фосфатазу [34]. Некоторые исследователи [35, 36] приводят данные, свидетельствующие о том, что эндотелиоциты и перициты могут дифференцироваться в остеобласты, т.е. сосудистая сеть может напрямую участвовать в остеогенезе, что подтверждает предположение, высказанное ранее А.В. Русаковым [37]. Хотя, скорее всего, этот процесс возможен только на самых ранних стадиях формирования сосудистой сети, насыщенной незрелыми перицитами и преэндотелиальными клетками, находящимися в циркулирующей крови или в месте травмы [38–40].

Наибольшее стимулирующее влияние на дифференцировку и пролиферацию остеобластоподобных клеток (клеток-предшественников) в месте дистракционного остеогенеза оказывают различные факторы роста, увеличение концентрации которых констатируют при механическом воздействии (дистракции) в области остеотомии [24, 25, 41–43]. Наиболее известные и исследованные из них — костные морфогенетические протеины (BMPs), инсулиноподобный фактор роста (IGF), основной фактор роста фибробластов (bFGF), трансформирующий фактор роста-beta (TGF-beta), рост/дифференцирующий фактор 5 (GDF5), сосудистый фактор роста эндотелия (VEGF), обнаруживаемые в тканях на разных стадиях дистракции с помощью иммуногистохимических методов, флюоролюминисцентной гибридизацией *in situ*, методом определения участков информационной матричной РНК (northern blot analysis mRNK).

Путь, форма и цели воздействия факторов роста на дистракционный остеогенез различны. Так, например, BMP4, выявленный в тканях, участвующих в процессе дистракции в формировании костной мозоли [42], участвует в низкоуровневой дифференцировке ранних форм остеогенных клеток. В модели дистракционного остеогенеза на крысах — 21 день дистракции с 7-дневным латентным периодом и 0,25-миллиметровым шагом каждые 12 часов) в области регенерата методами флюоролюминисцентной гибридизации *in situ* и northern blot analysis mRNK [41] обнаруживается экспрессия BMP2, BMP4, BMP6, BMP7, GDF5. Причем BMP2 и BMP4 выявляются только в регенерате в области рентгенопрозрачной зоны, а BMP6 и GDF5 —

исключительно в хондрогенных клетках на разных стадиях дифференцировки в области обоих концов кости во время эндохондральной оссификации. Во время дистракции и, соответственно, при интрамембранозной оссификации уровень BMP6 и GDF5 снижается, а экспрессия BMP2 и BMP4 достигает наибольшей величины. Однако BMP2, BMP4, BMP6 и GDF5 на стадии консолидации не выявляются в области костной мозоли. BMP7 вообще не определяется при дистракции. В работе [43] BMP7, BMP2 и BMP4 обнаружены при дистракции в периостальных зонах, что находится в определенном противоречии с предыдущим исследованием.

Регуляторные пептиды TGF-beta и bFGF обнаруживаются в тканях, окружающих область регенерации, в больших концентрациях при большем напряжении растяжения, в меньшей — в области формирующейся кости [28, 44–48]. IGF выявляется практически везде, являясь как эндокринным, так и аутокринным фактором роста. TGF-beta, IGF, bFGF и интерлейкины 1 и 6 (IL-1, -6), по заключению J. Cillo и соавт. [49], экспрессируются при наличии механического циклического растяжения (дистракции), что является основным моментом, запускающим каскад биорегуляции остеогенеза, в том числе и минерализацию.

В процессе дистракции (так же, как и в латентном периоде) выявляется выраженная экспрессия VEGF. Причем определяется относительное доминирование [28] сплайсинга вариантов  $VEGF_{164}$ ,  $VEGF_{188}$ ,  $VEGF_{205}$  — это может свидетельствовать о превалировании стимуляции неоангиогенеза с каскадным суперрегулированием (экзон 8 и экзон 6). Сплайсинг *vegf* исследован на модели дистракции у крыс, у людей ортопеды этих белков содержат на 1 аминокислоту больше. VEGF является стимулятором дифференцировки и роста эндотелиоцитов, перицитов, т.е. фактором, обеспечивающим стимуляцию неоангиогенеза. Мнение, что VEGF может прямо влиять на дифференцировку остеобластоподобных клеток или их пролиферацию, ошибочно, так как действие его строго специфично, а изменение остеогенеза при его воздействии связаны с изменением газового баланса тканей опосредованно через неоангиогенез. Другой путь стимуляции VEGF остеогенеза — пролиферация и дифференцировка перицитов в остеобластоподобные клетки — представляется более вероятным [35, 36].

Регуляция остеогенеза в условиях дистракции запускается механобиологическим фактором — напряжением растяжения пульсирующего характера. Растягивающая сила, действующая на мягкие ткани, определена экспериментально [3, 4] и подчиняется периоду и величине шага (темпу) дистракции, отличающихся у разных экспериментальных животных и людей. В значительном количестве экспериментальных исследований и клинических наблюдений показано, что ритм дис-

тракции [29] и, соответственно, величина напряжения (растяжения) определяют характер дистракционного остеогенеза [45, 50–52]. Латентный период (до 7 сут) характеризуется обычным течением начала остеогенеза, однако начало дистракции переводит его в функциональное напряжение, превышающее обычное в несколько раз, значительно повышается количество недифференцированных бластных клеток, предшественников гемопоэтического и остеогенного рядов [29]. После остеотомии в латентном периоде клетки в зоне повреждения испытывают дефицит кислорода, который вызывает выделение ими гипоксия индуцируемого фактора транскрипции — HIF [53]. Последний в свою очередь стимулирует высвобождение VEGF, соответствующего сплайсинга, который регулирует неоангиогенез (т.е. стимулирует дифференциацию предшественников перicyтов и эндотелиоцитов и развитие сосудистой сети) [54]. По мере изменения микроокружения (в значительной степени — сдвига газового баланса) клеток остеобластного ряда и их мало-дифференцированных предшественников, фибробластоподобных и хрящевых клеток межотломковое пространство заполняется фиброзной сетью, островками хрящеподобной и остеонидной ткани. Если на этом этапе не происходит приложения растягивающей силы, при стабильной фиксации отломков начнется образование костной мозоли с последующим ее ремоделированием в полноценную кость — процесс контролируется обозначенной выше группой факторов роста и регуляторных пептидов [24, 25, 41]. Однако, если начать дистракцию, наступает вторичное повреждение вновь образованной сети сосудов, но основой для запуска гиперпродукции тканевых компонентов дистракционного регенерата служат в этом случае защитные функции перicyтов. В условиях дистракции и запредельного растяжения новообразованной сосудистой сети соединительнотканного регенерата, образовавшегося в латентный период, перicyты для выживания эндотелиоцитов секретируют белок кровотока Bcl-W, обеспечивающий экспрессию VEGF-A и подавляющий апоптоз эндотелиоцитов (регуляторные белки семейства Bcl-2: Bcl-W, Bcl-XL, Mcl-1; антирегуляторами этих белков являются p53 и TNF-R1) [55]. Таким образом осуществляется соответствующая кислородная поддержка остеогенеза и рост дистракционного регенерата. Со временем из-за истощения возможностей клеточной авторегуляции темпы образования новой сосудистой сети и незрелой костной ткани снижаются.

**Заключение.** Начальные этапы дистракционного остеогенеза характеризуются последовательной активацией всех звеньев репаративной регенерации. Соединительнотканная матрица, участки образовавшейся ретикулофиброзной костной ткани, сосудистая сеть развиваются при действии силы растяжения и под управлением многочисленных

факторов роста, регуляторных пептидов. Для репаративной регенерации при дистракции решающее значение имеет искусственно создаваемый тканевой «дефицит», напряжение растяжения волокнутой матрицы и сосудистой сети, сформировавшихся в латентном периоде.

#### ЛИТЕРАТУРА [REFERENCES]

1. Илизаров Г.А. Основные принципы чрескостного компрессионного и дистракционного остеосинтеза. Ортопедия, травматология и протезирование. 1971; 11: 7–15 [Ilizarov G.A. Basic principles of transosseous compression and distraction osteosynthesis. Ortopediya, travmatologiya i protezirovanie. 1971; 11: 7–15 (in Russian)].
2. Ilizarov G.A. The tension-stress effect on the genesis and growth of tissues. Part I: the influence of stability of fixation and soft-tissue preservation. Clin. Orthop. Relat. Res. 1989; 238: 249–81.
3. Ilizarov G.A. The tension-stress effect on the genesis and growth of tissues. Part II. The influence of the rate and frequency of distraction. Clin. Orthop. Relat. Res. 1989; 239: 263–85.
4. Ilizarov G.A. The transosseous osteosynthesis. Theoretical and clinical aspects of the regeneration and growth of tissue. New York: Springer; 1992.
5. Омеляненко Н.П., Миронов С.П., Денисов-Никольский Ю.И., Матвейчук И.В., Карпов И.Н. Репаративная костная регенерация. В кн. Актуальные проблемы теоретической и клинической ортопедологии. М.: ОАО «Типография «Новости»; 2005: 239–71 [Omel'yanenko N.P., Mironov S.P., Denisov-Nikol'skiy Yu.I., Matveichuk I.V., Karpov I.N. Reparative bone regeneration. In: Current issues of theoretical and clinical osteoarthrology. Moscow: ОАО «Типография «Новости»; 2005: 239–71 (in Russian)].
6. Лаврищева Г.И., Штин В.П. Особенности репаративных процессов при дистракционном остеосинтезе. В кн.: Труды III Всесоюзного съезда травматологов-ортопедов. М.: ЦИТО; 1976: 13–15 [Lavrishcheva G.I., Shtin V.P. Peculiarities of reparative processes in distraction osteosynthesis. In: Proc. 3<sup>rd</sup> All-Russ. Cong. of Trauma and Orthop. Surg. Moscow: CITO; 1976: 13–15 (in Russian)].
7. Kojimoto H., Yasui N., Goto T., Matsuda S., Shimomura Y. Bone lengthening in rabbits by callus distraction. The role of periosteum and endosteum. J. Bone Joint Surg. 1988; 70B: 543–9.
8. Aronson J., Good B., Stewart C.M., Harrison B., Harp J. Preliminary studies of mineralization during distraction osteogenesis. Clin. Orthop. Relat. Res. 1990; 250: 43–9.
9. Choi I.H., Ahn J.H., Chung C.Y., Cho T.J. Vascular proliferation and blood supply during distraction osteogenesis: a scanning electron microscopic observation. J. Orthop. Res. 2000; 18: 698–705.
10. Aronson J. The biology of distraction osteogenesis. In: Maiocchi A.B., Aronson J., eds. Operative principles of Ilizarov. Fracture treatment, nonunion, osteomyelitis, lengthening, deformity correction. Baltimore: Williams and Wilkins; 1991: 42–52.
11. Aronson J. Experimental and clinical experience with distraction osteogenesis. Cleft. Palate Craniofac. J. 1994; 131: 473–81.
12. Aronson J. Temporal and spatial increases in blood flow during distraction osteogenesis. Clin. Orthop. Relat. Res. 1994; 301: 124–31.
13. Aronson J., Harp J.H. Mechanical forces as predictors of healing during tibial lengthening by distraction osteogenesis. Clin. Orthop. Relat. Res. 1994; 301: 73–9.

14. *Delloye C., Delefortrie G., Coutelier L., Vincent A.* Bone regenerate formation in cortical bone during distraction lengthening. An experimental study. *Clin. Orthop. Relat. Res.* 1990; 250: 34–42.
15. *Ganey T.M., Klotch D.W., Sasse J., Ogden J.A., Garcia T.* Basement membrane of blood vessels during distraction osteogenesis. *Clin. Orthop. Relat. Res.* 1994; 301: 132–8.
16. *Schenk R.K., Gachter A.* Histology of distraction osteogenesis. In: Brighton C.T., Friedlaender G.E., Lane J.M., eds. Bone formation and repair. Illinois: AAOS; 1994: 387–94.
17. *Shearer J.R., Roach H.I., Parsons S.W.* Histology of a lengthened human tibia. *J. Bone Joint Surg.* 1992; 74B: 39–44.
18. *Vauhkonen M., Peltonen J., Karaharju E., Aalto K., Alitalo I.* Collagen synthesis and mineralization in the early phase of distraction bone healing. *Bone Miner.* 1990; 10 (3): 171–81.
19. *Yasui N., Sato M., Ochi T., Kimura T., Kawahata H., Kitamura Y., Nomura S.* Three modes of ossification during distraction osteogenesis in the rat. *J. Bone Joint Surg.* 1997; 79B: 824–30.
20. *Li G., Viridi A.S., Ashhurst D.E., Simpson A.H., Triffitt J.T.* Tissues formed during distraction osteogenesis in the rabbit are determined by the distraction rate: localization of the cells that express the mRNAs and the distribution of types I and II collagens. *Cell. Biol. Int.* 2000; 24: 25–33.
21. *Лавришчева Г.И., Михайлова Л.Н.* Репаративная регенерация кости. В кн.: Структурные основы адаптации и компенсации нарушенных функций: Руководство АМН СССР. М.: Медицина; 1987: 154–85 [Lavrishcheva G.I., Mikhailova L.N. Reparative bone regeneration. In: Structural principles of adaptation and compensation of the disturbed functions: Manual of the USSR AMSc. Moscow: Meditsina; 1987: 154–85 (in Russian)].
22. *Aronson J., Shen X.C., Gao G.G., Miller F., Quattlebaum T., Skinner R.A. et al.* Sustained proliferation accompanies distraction osteogenesis in the rat. *J. Orthop. Res.* 1997; 15: 563–9.
23. *Cho T.J., Kim J.A., Chung C.Y., Yoo W.J., Gerstenfeld L.C., Einhorn T.A., Choi I.H.* Expression and role of interleukin-6 in distraction osteogenesis. *Calcif. Tissue Int.* 2007; 80 (3): 192–200.
24. *Cho T.J., Choi I.H., Chung C.Y., Park S.S., Park Y.K.* Temporal and spatial expression of bone morphogenetic protein-2 and -4 mRNA in distraction osteogenesis and fracture healing. *J. Korean Orthop. Assoc.* 1998; 33: 595–605.
25. *Cho T.J., Choi I.H., Chung C.Y., Yoo W.J., Sung H.Y.* Expression of vasculoendothelial growth factor in distraction osteogenesis of rat tibia. *J. Korean Orthop. Res.* 2001; 4: 114–20.
26. *Choi I.H., Shim J.S., Seong S.C., Lee M.C., Song K.Y., Park S.C., Chung C.Y.* Effect of the distraction rate on the activity of the osteoblast lineage in distraction osteogenesis of rat's tibia. *Bull. Hosp. Jt Surg.* 1997; 56: 34–40.
27. *Li G., Simpson A.H., Kenwright J., Triffitt J.T.* Assessment of cell proliferation in regenerating bone during distraction osteogenesis at different distraction rates. *J. Orthop. Res.* 1997; 15: 765–72.
28. *Choi I.H., Chung C.Y., Cho T.-J., Yoo W.* Angiogenesis and mineralization during distraction osteogenesis. *J. Korean. Med. Sci.* 2002; 17: 435–47.
29. *Омельяненко Н.П., Илизаров Г.А., Стецула В.И.* Репарация костной ткани. В кн.: Шапошников Ю.Г., ред. Травматологии и ортопедия: Руководство для врачей. т. 1. М.: Медицина; 1997: 393–481 [Omel'yanenko N.P., Ilizarov G.A., Stetsula V.I. Bone tissue regeneration. In: Shaposhnikov Yu.G., ed. Traumatology and orthopaedics: Manual for physicians. V. 1. Moscow: Meditsina; 1997: 393–481 (in Russian)].
30. *Danis A.* Mechanism of bone lengthening by the Ilizarov technique. *Bull. Mem. Acad. R. Med. Belg.* 2001; 156 (1–2): 107–12.
31. *Carter D.R., Beaupre G.S., Giori N.J., Helms J.A.* Mechanobiology of skeletal regeneration. *Clin. Orthop. Relat. Res.* 1998; 355: S41–55.
32. *Aronson J., Harrison B.H., Stewart C.L., Harp J.H. Jr.* The histology of distraction osteogenesis using different external fixators. *Clin. Orthop. Relat. Res.* 1989; 241: 106–16.
33. *Aldegheri R., Volino C., Zambito A., Tessari G., Trivella G.* Use of ultrasound to monitor limb lengthening by callotaxis. *J. Pediatr. Orthop.* 1993; 2: 22–7.
34. *Villars F., Guillotin B., Amedee T., Dutoya S., Bordenave L., Bareille R., Amedee J.* Effect of HUVEC on human osteoprogenitor cell differentiation needs heterotypic gap junction communication. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 2002; 282: C775–C785.
35. *Reilly T.M., Selders R., Luchetti W., Brighton C.T.* Similarities in the phenotypic expression of pericytes and bone cells. *Clin. Orthop. Relat. Res.* 1998; 346: 95–103.
36. *Trueta J.* The role of the vessels in osteogenesis. *J. Bone Joint Surg.* 1963; 45B: 402–18.
37. *Русаков А.В.* Патологическая анатомия болезней костной системы. М.: Медгиз; 1959. Rusakov A.V. Pathologic anatomy of bone system diseases. Moscow: Medgiz; 1959 (in Russian).
38. *Asahara T., Murohara T., Sullivan A., Silver M., van der Zee R., Li T., Witzenbichler B., Schatteman G., Isner J.M.* Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis. *Science.* 1997; 275: 964–7.
39. *Isner J.M., Kalka C., Kawamoto A., Asahara T.* Bone marrow as a source of endothelial cells for natural and iatrogenic vascular repair. *Ann. N Y Acad. Sci.* 2001; 953: 75–84.
40. *Jarka D.E., Nicholas R.W., Aronson J.* Effect of methotrexate on distraction osteogenesis. *Clin. Orthop. Relat. Res.* 1998; 354: 209–15.
41. *Sato M., Ochi T., Nakase T., Hirota S., Kitamura Y., Nomura S., Yasui N.* Mechanical tension-stress induces expression of bone morphogenetic protein (BMP)-2 and BMP-4, but not BMP-6, BMP-7, and GDF-5 mRNA, during distraction osteogenesis. *J. Bone Miner. Res.* 2000; 14: 1084–95.
42. *Li G., Berven S., Simpson H., Triffitt J.T.* Expression of BMP-4 mRNA during distraction osteogenesis in rabbits. *Acta Orthop. Scand.* 1998; 69: 420–5.
43. *Rauch F., Lauzier D., Croteau S., Travers R., Glorieux F.H., Hamdy R.* Temporal and spatial expression of bone morphogenetic protein-2, -4, and -7 during distraction osteogenesis in rabbits. *Bone.* 2000; 27: 453–9.
44. *Farhadieh R.D., Dickinson R., Yu Y., Gianoutsos M.P., Walsh W.R.* The role of transforming growth factor-beta, insulin-like growth factor I, and basic fibroblast growth factor in distraction osteogenesis of the mandible. *J. Craniofac. Surg.* 1999; 10: 80–6.
45. *Farhadieh R.D., Gianoutsos M.P., Dickinson R., Walsh W.R.* Effect of distraction rate on biomechanical, mineralization, and histologic properties of an ovine mandible model. *Plast. Reconstr. Surg.* 2000; 105: 889–95.
46. *Liu Z., Luyten F.P., Lammens J., Dequeker J.* Molecular signaling in bone fracture healing and distraction osteogenesis. *Histol. Histopathol.* 1999; 14 (2): 587–95.
47. *Steinbrech D.S., Mehrara B.J., Rowe N.M., Dudziak M.E., Luchs J.S., Saadeh P.B. et al.* Gene expression of TGF-beta, TGF-beta receptor, and extracellular matrix proteins during membranous bone healing in rats. *Plast. Reconstr. Surg.* 2000; 105: 2028–38.

48. *Tavakoli K., Yu Y., Shahidi S., Bonar F., Walsh W.R., Poole M.D.* Expression of growth factors in the mandibular distraction zone: a sheep study. *Br. J. Plast. Surg.* 1999; 52: 434–9.
49. *Cillo J.E. Jr, Gassner R., Koepsel R.R., Buckley M.J.* Growth factor and cytokine gene expression in mechanically strained human osteoblast-like cells: implications for distraction osteogenesis. *Oral. Surg. Oral. Med. Oral. Pathol. Oral. Radiol. Endod.* 2000; 90 (2): 147–54.
50. *Meyer U., Meyer T., Wiesmann H.P., Stratmann U., Kruse-Losler B., Maas H., Joos U.* The effect of magnitude and frequency of interfrag-mentary strain on the tissue response to distraction osteogenesis. *J. Oral. Maxillofac. Surg.* 1999; 57: 1331–9.
51. *Meyer U., Wiesmann H.P., Meyer T., Schulze-Osthoff D., Jasche J., Kruse-Losler B., Joos U.* Microstructural investigations of strain-related collagen mineralization. *Br. J. Oral. Maxillofac. Surg.* 2001; 39: 381–9.
52. *Richards M., Kozloff K.M., Goulet J.A., Goldstein S.A.* Tissues formed during distraction osteogenesis in the rabbit are determined by the distraction rate: localization of the cells that express the mRNAs and the distribution of types I and II collagens. *J. Bone Miner. Res.* 2000; 15: 982–9.
53. *Wang G.L., Jiang B.H., Rue E.A., Semenza G.L.* Hypoxia-inducible factor 1 is a basic-helix-loop-helix-PAS heterodimer regulated by cellular O<sub>2</sub> tension. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1995; 92: 5510–4.
54. *Fan L., Li J., Yu Z., Dang X., Wang K.* The hypoxia-inducible factor pathway, prolyl hydroxylase domain protein inhibitors, and their roles in bone repair and regeneration. *Biomed. Res Int.* 2014; 2014: 239356.
55. *Adams J.M., Cory S.* The Bcl-2 protein family: Arbiters of cell survival. *Science.* 1998; 281 (5381): 1322–6.

**Сведения об авторах:** *Мионов С.П.* — академик РАН и РАМН, директор ЦИТО им. Н.Н. Приорова; *Омельяненко Н.П.* — доктор мед. наук, проф., зав. отделением соединительной ткани с группой клинической генетики; *Карпов И.Н.* — канд. мед. наук, старший науч. сотр. отделения лучевой диагностики; *Иванов А.В.* — канд. мед. наук, вед. науч. сотр. отделения детской ортопедии; *Хлыстова А.В.* — врач травматолог-ортопед детской поликлиники.  
**Для контактов:** Карпов Игорь Николаевич. 127299, Москва, ул. Приорова, д. 10, ЦИТО. Тел.: +7 (916) 611–97–58. E-mail: igorkarpoff@mail.ru.

## ИНФОРМАЦИЯ

### XI КОНГРЕС РОССИЙСКОГО АРТРОСКОПИЧЕСКОГО ОБЩЕСТВА С МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ И ПРОВЕДЕНИЕМ КОНФЕРЕНЦИИ «MOSCOW SHOULDER COURSE» С ОБУЧАЮЩИМИ МАСТЕР-КЛАССАМИ (22-25 апреля 2015 г., Москва)

Организаторы:

Министерство здравоохранения Российской Федерации, ФГБУ «ЦИТО им. Н.Н. Приорова»  
Минздрава России, ГБОУ ДПО «РМАПО» Минздрава России, ФГБУЗ ЦКБ РАН,  
Ассоциация травматологов-ортопедов России, Российское Артроскопическое Общество

#### ТЕМАТИКА КОНГРЕССА:

1. Современные аспекты артроскопической хирургии в спортивной травматологии.
2. Оперативная и диагностическая артроскопия в амбулаторной травматологии и ортопедии.
3. Применение стволовых клеток и современных биокompозитных материалов при биологической реконструкции коленного сустава.
4. Инновационные артроскопические технологии в лечении крупных суставов.
5. Инновационные технологии в диагностике и лечении повреждений и заболеваний плечевого сустава.
6. Артроскопические методики при обследовании и лечении эндопротезированных суставов.
7. Инновационные технологии лечения повреждений и заболеваний сухожильно-мышечного аппарата у спортсменов.
8. Обучение инновационным технологиям с использованием кадавер центров

Секретариат: 127299, Москва, ул. Приорова, д. 10, ЦИТО,  
Организационно-методический отдел.  
Тел.: 8 (495) 450-45-11; 8 (495) 708-80-12; cito-omo@mail.ru

## СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ФИБРОАРХИТЕКТониКИ И ПРОЧНОСТНЫХ СВОЙСТВ ЛИОФИЛИЗИРОВАННЫХ АЛЛОТРАНСПЛАНТАТОВ С РАЗЛИЧНЫМ ТИПОМ ВОЛОКНИСТОГО ОстоВА

О.Р. Шангина, Р.А. Хасанов, Л.А. Булгакова, Л.А. Мусина

ФГБУ «Всероссийский центр глазной и пластической хирургии Минздрава РФ», Уфа, РФ

*Проведена комплексная оценка структуры и прочностных свойств лиофилизированных соединительнотканых аллотрансплантатов, полученных от 73 трупов доноров обоего пола в возрасте от 20 до 50 лет. Определены критерии сохранности их фиброархитектоники в зависимости от типа волокнистого остова соединительной ткани и наличия основного вещества. Установлено, что процесс лиофилизации сопровождается существенным изменением фиброархитектоники и снижением прочностных свойств аллотрансплантатов, изготовленных из плотной оформленной соединительной ткани с ориентированным (пяточное сухожилие) и смешанным (твердая мозговая оболочка, широкая фасция бедра) типом волокнистого остова. Пространственный неориентированный тип волокнистого остова дермы опорных участков стопы обуславливает сохранение архитектоники и пластических свойств после лиофилизации.*

**Ключевые слова:** соединительнотканые аллотрансплантаты, лиофилизация, фиброархитектоника, прочностные свойства.

### *Comparison of Fibroarchitectonics and Strength Properties Preservation Criteria of Lyophilized Allografts with Different Type of Fibrous Framework*

O.R. Shangina, R.A. Khasanov, L.A. Bulgakova, L.A. Musina

Russian Eye and Plastic Surgery Center, Ufa, Russia

*An overall estimation of the structure and strength properties of lyophilized connective tissue allografts from 73 cadavers of both sexes, aged from 20 to 50, was performed. Criteria for preservation of their fibroarchitectonics depending upon the type of the connective tissue fibrous framework and presence of the main substance were determined. It was shown that lyophilization process was accompanied by changes in architectonics and reduction of strength properties in allografts made of dense formed connective tissue with orientated (Achilles tendon) and mixed (dura mater, broad fascia) type of fibrous framework. A spatial non-orientated type of derma fibrous framework in weight bearing foot segments stipulated preservation of architectonics and plastic properties after lyophilization.*

**Key words:** connective tissue allografts, lyophilization, fibroarchitectonics, strength properties.

По мнению ряда авторов, лиофилизация биологических тканей (метод высушивания замороженных тканей в вакууме) обладает определенными преимуществами перед другими видами консервирования, которые прежде всего выражаются в хорошей сохранности ткани в течение долгого времени [1, 2]. Лيوфилизированные трансплантаты могут сохраняться при комнатной температуре в течение 5 лет, существенно не меняя своих свойств, не требуя специальных условий при транспортировке [3–5]. В процессе лиофилизации ткани приобретают устойчивость к факторам внешней среды и сохраняют определенные структурные и биохимические свойства, важные с трансплантационной точки зрения [6]. В то же время, по мнению ряда авторов, лиофилизация может отрицательно влиять на пластические свойства биологических тканей [7, 8]. На сегодняшний день отсутствуют данные комплексного

исследования фиброархитектоники, пластических и регенераторных свойств лиофилизированных соединительнотканых трансплантатов, а также специфики их применения в клинической практике.

Цель исследования: оценить изменения фиброархитектоники и прочностных свойств соединительнотканых аллотрансплантатов после лиофилизации.

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Соединительнотканые аллотрансплантаты были изготовлены из анатомических структур, имеющих разную фиброархитектонику: пяточного сухожилия, широкой фасции бедра, твердой оболочки головного мозга (ТМО), дермы опорных участков стопы. Исследовали нативные ткани (контрольная группа) и ткани, подвергнутые процессу лиофилизации (экспериментальная группа). Ис-

ходные биологические ткани замораживали в криогенной камере до  $-45^{\circ}\text{C}$  и высушивали под вакуумом (остаточное давление 10 мТорр) в лиофильной установке Dry Winner DW-6 («Heto Holten», Дания).

Для изучения свойств трансплантатов были использованы электронно-микроскопический (сканирующая микроскопия) метод, морфометрия толщины пучков и ширины межпучковых пространств в трансплантате, биомеханические методы исследования (испытания прочностных свойств биоматериалов). Рельеф поверхности изучали на сканирующем электронном микроскопе JSM-840 («Jeol», Япония) при увеличениях 500, 1000, 1500, 3000. Прочностные свойства аллотрансплантатов оценивали на универсальной машине для испытания прочностных свойств материалов модели 1185 INSTRON (Англия).

Для обработки количественных показателей использовали программу Statistica 7.0. Результаты, полученные в различных сериях опытов, сравнивали параметрическим методом (*t*-критерий Стьюдента).

#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Установлено, что процесс лиофилизации приводит к изменению как фиброархитектоники соединительнотканых аллотрансплантатов, так и их физико-механических свойств. Так, выраженные нарушения структурной организации пучков коллагеновых волокон после лиофилизации по сравнению с нативными образцами наблюдались в пяточном сухожилии (рис. 1, а). Участки продольно расщепленных пучков коллагеновых волокон чередовались с участками фрагментированных плотных пучков волокон. Межпучковые пространства на участках с расщепленными волокнами увеличивались, на фрагментированных участках — нивелировались. В результате расщепления пучков коллагеновых волокон между ними образовывались различные по размерам пространства (рис. 1, б). Величина межпучковых пространств лиофилизованного пяточного сухожилия увеличилась в 1,9 раза по сравнению с таковой нативного сухожилия: с  $19,17 \pm 3,57$  до  $35,49 \pm 8,01$  мкм ( $p < 0,05$ ).

При исследовании в поляризованном свете структуры нативных образцов пяточного сухожилия наблюдался выраженный эффект двойного лучепреломления, что свидетельствует о высокой оптической активности пучков коллагеновых волокон, характерной для плотной оформленной соединительной ткани.

В образцах широкой фасции бедра после лиофилизации наблюдалось уплотнение пучков коллагеновых волокон — межпучковые пространства практически нивелировались. Степень извитости коллагеновых волокон, присущая нативной ткани, изменялась: местами извитость волокон сглаживалась и практически исчезала, а на некото-

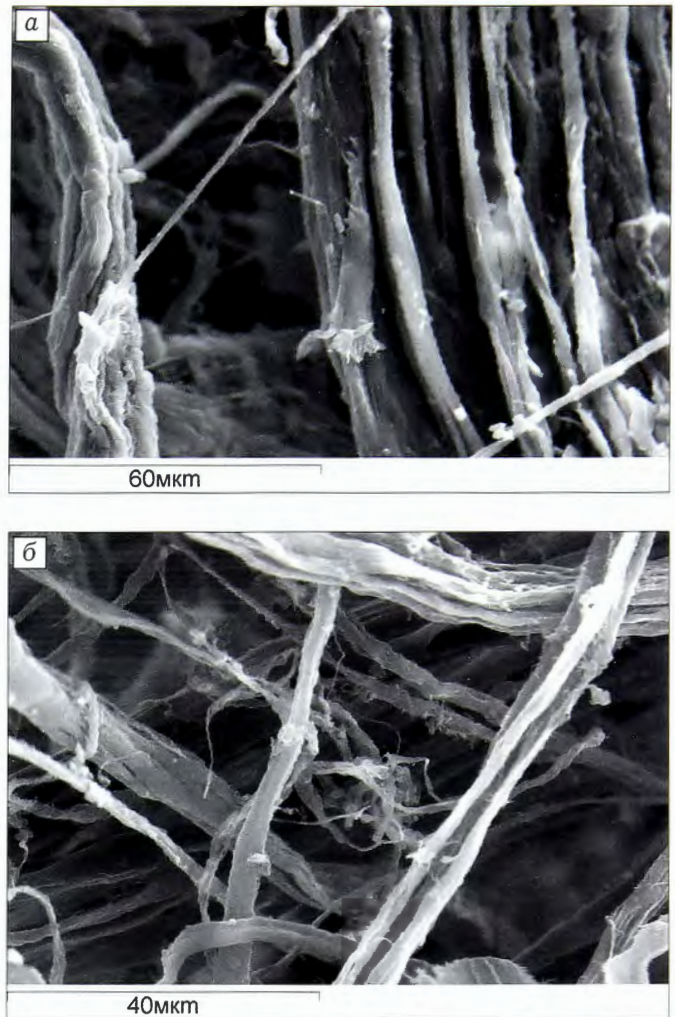


Рис. 1. Пяточное сухожилие.

а — пространственные взаимоотношения основных пучков и солитарных коллагеновых волокон нативного образца, б — изменение ультраструктуры аллотрансплантата после лиофилизации.

Здесь и на рис. 2–4 представлены данные сканирующей электронной микроскопии.

рых участках, напротив, амплитуда изгиба волокон увеличивалась. Пучки коллагеновых волокон плотно приближались друг к другу, образуя довольно толстые тяжи, между которыми локально наблюдались пространства, заполненные тонкими фрагментированными волокнами. Солитарные пучки, соединяющие слои пучков коллагеновых волокон в нативной фасции бедра, после лиофилизации приобретали вид рыхлой неупорядоченной сети, местами произошли их разрыв и дефрагментация (рис. 2).

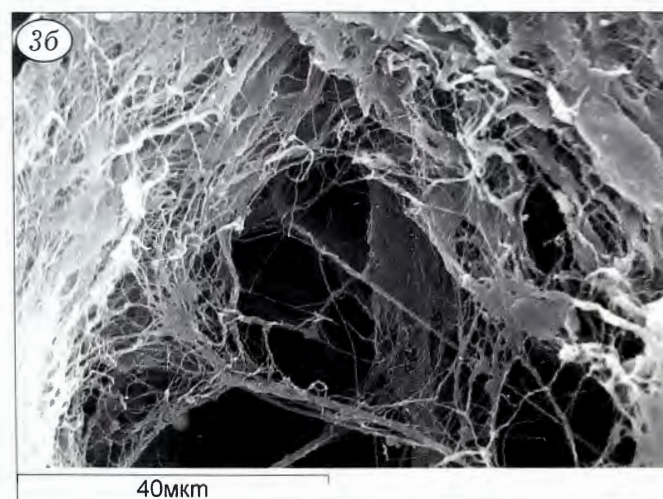
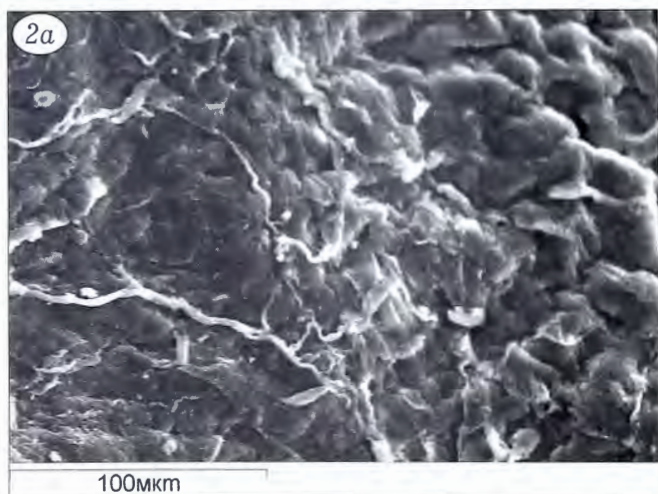
Высокая оптическая активность, присущая коллагеновым волокнам фасции бедра, в лиофилизованных образцах сохранялась. Толщина пучков коллагеновых волокон нативной широкой фасции бедра составила в среднем  $107,03 \pm 19,03$  мкм, лиофилизованных образцов —  $205,67 \pm 56,12$  мкм, т.е. увеличилась в 1,9 раза ( $p < 0,05$ ). Величина межпучковых пространств изменялась примерно так же: в нативном образце данный показатель соста-

вил  $39,32 \pm 6,66$  мкм, в лиофилизированном —  $22,89 \pm 7,05$  мкм (уменьшение в 1,7 раза;  $p < 0,05$ ).

Для твердой оболочки головного мозга характерен сложно-переплетенный, относительно плотный соединительнотканый каркас, состоящий из расположенных параллельно друг другу слоев волнообразных пучков коллагеновых волокон (рис. 3, а). После лиофилизации коллагеновые пучки аллотрансплантата расщеплялись на волокна, которые становились похожие на тонкие волнообразно изогнутые нити, ориентированные в одном направлении. Очертания слоев, характерных для ТМО, не просматривались. В целом фиброархитектоника лиофилизированных аллотрансплантатов ТМО приобретала вид рыхлой мелкоячеистой сети, что свидетельствует о нарушении волокнистого каркаса (рис. 3, б). При поляризационной микроскопии очертания отдельных слоев, характерных для данной ткани, не просматривались, хотя оптическая активность, присущая нативной ТМО, сохранялась. Толщина пучков коллагеновых волокон нативных образцов составляла  $50,31 \pm 0,90$  мкм, лиофилизированных —  $5,27 \pm 1,18$  мкм. Между пучка-

ми формировались ячеистые пространства, стенки которых были образованы расщепленными пучками коллагеновых волокон, поэтому в качестве измеряемых значений межпучковых пространств нами была взята ширина ячеек. Последняя в контрольной группе составила в среднем  $7,16 \pm 1,41$  мкм, в экспериментальной —  $31,98 \pm 6,77$  мкм, т.е. расстояние между пучками и толщина пучков коллагеновых волокон образцов ТМО в процессе лиофилизации претерпевают значительные изменения.

Изменений фиброархитектоники в ходе лиофилизации не наблюдали в аллотрансплантатах, изготовленных из плотной неоформленной соединительной ткани с неориентированным типом волокнистого остова (дерма опорных участков стопы). После обработки ткань продолжала сохранять сложную пространственную организацию в виде единого трехмерного переплетения коллагеновых волокон и пучков. Определялся извилистый ход коллагеновых пучков, связанных между собой редкой сетью связочных волокон, и лишь изредка выявлялись отдельные пучки коллагеновых волокон линейной формы (рис. 4).



**Рис. 2.** Широкая фасция бедра.

а — развитая сеть солитарных пучков нативного образца, б — фрагментация волокнистых пучков после лиофилизации.

**Рис. 3.** Твердая мозговая оболочка.

а — солитарные пучки волокон между слоями в нативном образце, б — рыхлая мелкоячеистая сеть коллагеновых волокон аллотрансплантата после лиофилизации.

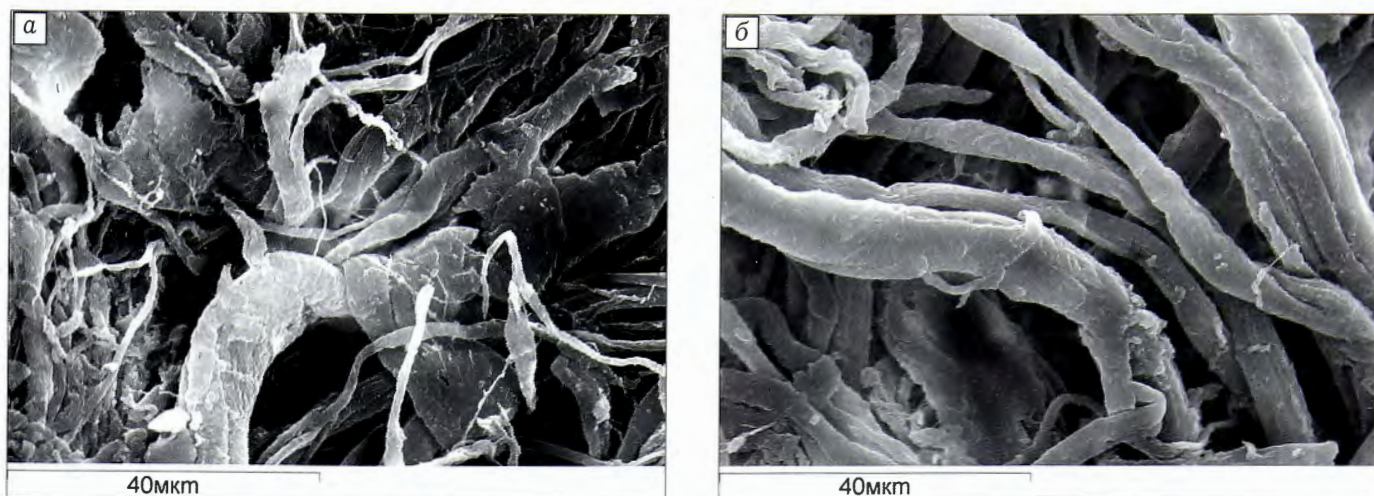


Рис. 4. Дерма подошвы стопы.

а — извилистые разнонаправленные пучки коллагеновых волокон, связанные сетью тонких волокон, в нативном образце; б — после лиофилизации некоторые пучки приобретают более прямой ход, что не приводит к изменению структурных свойств дермы.

Процесс лиофилизации сопровождается различными физическими и химическими изменениями в тканях, которые влияют на их пластические свойства, в связи с чем большой интерес представляет оценка физико-механических свойств лиофилизированных соединительнотканых аллотрансплантатов. Необходимость подобного исследования продиктована и запросами практической медицины. Изучение прочностных и деформативных свойств соединительнотканых аллотрансплантатов позволяет решать задачи реконструктивной хирургии и трансплантологии [9, 10]. Сохранение обозначенных выше свойств является важным фактором, обуславливающим эффект клинического применения.

Изменения прочностных свойств лиофилизированных аллотрансплантатов пяточного сухожилия, широкой фасции бедра, ТМО коррелировали с изменениями их фиброархитектоники: выраженные изменения в структуре перечисленных аллотрансплантатов являлись причиной снижения предела прочности и модуля упругости. Так, среднее значение предела прочности лиофилизированного ал-

лотрансплантата пяточного сухожилия по сравнению с нативной тканью снизилось в 1,2 раза ( $p < 0,05$ ), модуля Юнга — в 1,7 раза ( $p < 0,05$ ; см. таблицу). Полученные результаты согласуются с данными Г.П. Котельникова и соавт. [11], которые также отмечают снижение прочностных показателей сухожилий после процесса лиофилизации.

Для фасции бедра показатель предела прочности лиофилизированных образцов снизился в среднем в 1,4 раза ( $p < 0,05$ ), модуля Юнга — в 1,3 раза ( $p < 0,05$ ; см. таблицу).

Применительно к ТМО снижение указанных показателей составило 1,4 и 1,2 раза соответственно ( $p < 0,05$ ; см. таблицу).

Результаты физико-механических испытаний нативных и лиофилизированных образцов дермы опорных участков стопы демонстрировали сохранение прочностных характеристик лиофилизированных образцов (см. таблицу).

Обобщая вышеизложенное, можно заключить, что в изученных анатомических элементах в ходе лиофилизации происходят различные структурные преобразования, которые, на наш взгляд, за-

Показатели физико-механических свойств нативных и лиофилизированных аллотрансплантатов ( $M \pm m$ )

Аллотрансплантат	Предел прочности, МПа	Относительное удлинение, %	Модуль упругости Юнга, МПа
Пяточное сухожилие:			
нативное	17,40±1,74	16,30±0,57	106,80±6,95
лиофилизированное	14,30±2,42	22,40±5,83	64,70±5,43
Широкая фасция бедра:			
нативная	8,10±10,18	45,50±0,95	17,50±21,82
лиофилизированная	5,90±4,85	43,40±0,79	13,60±11,48
ТМО:			
нативная	12,20±0,85	20,5±0,12	63,1±2,79
лиофилизированная	8,9±3,16	19,1±4,57	50,4±25,15
Дерма подошвы стопы:			
нативная	9,00±1,29	52,6±6,15	17,00±1,59
лиофилизированная	8,80±1,91	50,1±7,70	16,90±2,30



висят от исходной фиброархитектоники тканей и наличия основного вещества. Наиболее выраженные изменения фиброархитектоники и прочностных свойств в процессе лиофилизации происходят в тканях с ориентированным типом волокнистого остова (пяточное сухожилие). В тканях со смешанным типом волокнистого остова (широкая фасция бедра, ТМО) указанные изменения носят менее выраженный характер. Пространственный неориентированный тип волокнистого остова дермы опорных участков стопы обеспечивает сохранение архитектоники и пластических свойств в процессе лиофилизации.

Наличие и количество молекул воды в составе основного вещества соединительной ткани, в которое погружены пучки коллагеновых волокон, по нашему мнению, также выступают в качестве факторов, влияющих на сохранность фиброархитектоники аллотрансплантатов в процессе лиофилизации. Известно, что компоненты основного вещества — гликозаминогликаны и гликопротеины обеспечивают стабильность связи и пространственную структуру коллагеновых волокон и определяют механические свойства соединительной ткани, такие как прочность, упругость [12]. Различные типы соединительной ткани содержат различное количество основного вещества. Так, Н.П. Омеляненко и соавт. [13] указывают, что в сухожилиях между пучками коллагеновых волокон содержится наименьшее количество основного вещества. В ТМО и фасции бедра при относительно небольшой толщине, достаточно плотном расположении пучков коллагеновых волокон и многослойности доля основного вещества также невысока [14, 15]. В дерме опорных участков стопы коллагеновые волокна и образованные ими переплетающиеся пучки погружены в основное вещество, количество которого в два раза выше, чем в оболочках и фасциях [16]. Окружая волокнистые структуры, основное вещество стабилизирует их пространственное положение и объединяет в единый комплекс, выполняя роль межфибриллярного «цементирующего» вещества [12, 13].

Результатом высушивания тканей в процессе лиофилизации является дегидратация аморфного матрикса, окружающего коллагеновые волокна, т.е. потеря его «цементирующих» свойств. При разрушении основного вещества коллагеновые волокна распадаются на отдельные фибриллы, происходит дезорганизация пучков коллагеновых волокон, что приводит к нарушению пространственной организации ткани и снижению прочностных характеристик. Выраженность структурных преобразований ткани определяется степенью начальной гидратированности основного вещества.

Полученные в ходе настоящего исследования данные позволили определить показания к применению лиофилизированных соединительнотканых аллотрансплантатов в клинической практике. Преобразование структуры и падение прочностных

характеристик лиофилизированных соединительнотканых аллотрансплантатов пяточного сухожилия, широкой фасции бедра и ТМО являются существенным ограничением в использовании их в укрепляющих операциях, где основную роль играют физико-механические свойства тканей. Указанные аллотрансплантаты можно рекомендовать для заполнения объемных дефектов тканей, в качестве укрывных мембран, бионесителей для культур клеток [17–19].

Таким образом, изменения структурных и прочностных свойств соединительнотканых аллотрансплантатов, развивающиеся в процессе лиофилизации, зависят от специфичности фиброархитектоники тканей, т.е. типа волокнистого остова, и наличия основного вещества. Лиофилизация в большей степени затрагивает фиброархитектонику аллотрансплантатов, изготовленных из плотной оформленной соединительной ткани с ориентированным (пяточное сухожилие) и смешанным (широкая фасция бедра, ТМО) типом волокнистого остова, тогда как у аллотрансплантатов, изготовленных из плотной неформленной соединительной ткани с неориентированным типом волокнистого остова (дерма опорных участков стопы), подобных изменений не наблюдается. Прочностные характеристики изученных лиофилизированных аллотрансплантатов тесно коррелируют с их фиброархитектоникой: выраженные структурные изменения сопровождаются снижением предела прочности и модуля упругости (пяточное сухожилие, ТМО, широкая фасция бедра), а сохранение структуры (дерма опорных участков стопы) обеспечивает сохранение прочностных характеристик данного аллотрансплантата.

#### ЛИТЕРАТУРА [ REFERENCES ]

1. Миллюдин Е.С., Золотарев А.В., Степанов А.К. Роль тканевого банка в работе офтальмологической больницы. Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Новые технологии в лечении заболеваний роговицы». М.; 2004: 479–85 [Milyudin E.S., Zolotaryov A.V., Stepanov A.K. Role of tissue bank in ophthalmology hospital. In: New technologies in cornea pathology treatment: Proc. All-Russ. Scientific-Practical. Conf. with Int. Participation. Moscow, 2004; 479–85 (in Russian)].
2. Мнержичка П., Малец Р., Героут В. Низкотемпературное консервирование тканевых трансплантатов для клинического применения. Кробиология. 1988; 3: 15–7 [Mnerzhichka P., Malets R., Gerout V. Low temperature conservation of tissue grafts for clinical use. Kriobiologiya. 1988; 3: 15–7 (in Russian)].
3. Коваленко П.П. Основы трансплантологии. Ростов-на-Дону: Издательство Ростовского университета; 1975 [Kovalenko P.P. Principles of transplantology. Rostov-na-Donu: Izdatel'stvo Rostovskogo Universiteta; 1975 (in Russian)].
4. Савельев В.И. Актуальные проблемы трансплантации тканей. СПб: МОПСР АВ; 2001 [Savel'ev V.I. Urgent problems of Tissue grafting. St.Petersburg: MORSAR AV; 2001 (in Russian)].
5. Galia C.R., Macedo C.A., Rosito R. Femoral and acetabular revision using impacted nondemineralized

- freeze-dried bone allografts. *J. Orthop. Sci.* 2009; 14 (3): 259–65.
6. Савельев В.И. О выборе экспериментальной модели для сравнительной оценки различных методов стерилизации и консервации биологических тканей. В кн.: Материалы II Всероссийского симпозиума «Клинические и фундаментальные аспекты клеточных и тканевых биотехнологий». Самара; 2004: 55 [Savel'ev V.I. On the choice of experimental model for comparative evaluation of various methods for biologic tissues sterilization and conservation. In: Clinical and fundamental aspects of cellular and tissue biotechnologies: Proc. II All-Russian Symp. Samara, 2004: 55 (in Russian)].
  7. Крыстинов Г. Консервирование и трансплантация тканей и органов. т. 2. София: Медицина и физкультура; 1975 [Krystinov G. Conservation and transplantation of tissues and organs. V. 2. Sofia: Meditsina i fizkul'tura; 1975 (in Russian)].
  8. Подопригора Р.Н. Методы консервации донорского материала. Вестник ОГУ. 2004; 38: 100 [Podoprighora R.N. Methods of donor material conservation. Vestnik OGU. 2004; 38: 100 (in Russian)].
  9. Лекишвили М.В. Технологии изготовления костного пластического материала для применения в восстановительной хирургии. Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. М.; 2005 [Lekishvili M.V. Technologies of bone plasty material manufacture for application in restorative surgery. Dr. med. sci. Diss. Moscow; 2005 (in Russian)].
  10. Сельский Н.Е. Применение биоматериалов «Аллоплант» в челюстно-лицевой хирургии. Уфа: Здоровоохранение Башкортостана; 2000 [Sel'skiy N.E. Use of "Alloplant" biomaterial in maxillofacial surgery. Ufa: Zdravookhranenie Bashkortostana; 2000 (in Russian)].
  11. Котельников Г.П., Третьяков В.Б., Волова Л.Т., Уваровский Б.Б. Артроскопическая реконструкция передней крестообразной связки коленного сустава аллогенным трансплантатом. В кн.: Тезисы симпозиума «Биоимплантология на пороге XXI века». М.; 2001: 79–80 [Kotel'nikov G.P., Tret'yakov V.B., Volova L.T., Uvarovskaya B.B. Arthroscopic reconstruction of anterior cruciate ligament with allograft. In: Bioimplantology on the threshold of 21st century: Proc. Symp. Moscow, 2001; 79–80 (in Russian)].
  12. Серов В.В., Шехтер А.Б. Соединительная ткань. М.: Медицина; 1981 [Serov V.V., Shekhter A.B. Connective tissue. Moscow: Meditsina; 1981 (in Russian)].
  13. Омеляненко Н.П., Слуцкий Л.И. Соединительная ткань (гистофизиология и биохимия). т.1. М.: Известия; 2010 [Omel'yanenko N.P., Slutskiy L.I. Connective tissue (histophysiology and biochemistry). V.1. Moscow: Izvestiya; 2010 (in Russian)].
  14. Валишина А.Д. Морфологические особенности различных участков твердой мозговой оболочки и ее использование как аллотрансплантата для пластики век: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Ярославль; 1979 [Valishina A.D. Morphologic peculiarities of various dura mater parts and its application as allograft in eyelid plasty. Cand. med. sci. Diss. Yaroslavl'; 1979 (in Russian)].
  15. Нигматуллин Р.Т. Морфологические аспекты пересадки соединительнотканых трансплантатов: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. Новосибирск; 1996 [Nigmatullin R.T. Morphologic aspects of connective-tissue grafts transplantation. Dr. med. sci. Diss. Novosibirsk; 1996 (in Russian)].
  16. Мулдашев Э.Р., Захваткина К.С., Баимова Л.А. Особенности углеводного обмена при аллотрансплантации некоторых соединительнотканых структур. В кн.: Тезисы научно-практической конференции «Актуальные вопросы микрохирургии и клинического применения лазеров в офтальмологии». Уфа; 1981: 73–5 [Muldashiev E.R., Zakhvatkina K.S., Baimova L.A. Urgent problems of microsurgery and clinical application of lasers in ophthalmology. Peculiarities of carbohydrate metabolism in allografting of certain connective-tissue structures. In: New technologies in cornea pathology treatment: Proc. Scientific-Practical Conf. Ufa, 1981; 73–5 (in Russian)].
  17. Вырмакин С.И. Опыт применения аллогенной твердой мозговой оболочки при хирургических вмешательствах на тканях пародонта. В кн.: Материалы Всероссийской конференции «Иновационные технологии в трансплантации органов, тканей и клеток». Самара: ООО «Офорт»; 2008: 19–20 [Vyrmaskin S.I. Experience in use of dura mater for surgical interventions on periodontal tissues. In: Innovation technologies in transplantation of organs, tissues and cells. Proc. All-Russ. Conf. Samara: ООО "Ofort"; 2008: 19–20 (in Russian)].
  18. Мулдашев Э.Р., Корнилаева Г.Г., Галимова В.У. Осложненная глаукома. СПб: Нева; 2005 [Muldashiev E.R., Kornilaeva G.G., Galimova V.U. Complicated glaucoma. St. Petersburg: Neva; 2005 (in Russian)].
  19. Нуралиев М.Х. Использование фасциальных аллотрансплантатов при ринопластике: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М.; 2008 [Nuraliev M. Kh. Use of fascial allografts in rhinoplasty. Cand. med. sci. Diss. Moscow; 2008 (in Russian)].

**Сведения об авторах:** Шангина О.Р. — доктор биол. наук, вед. науч. сотр., зав. лабораторией консервации ткани; Хасанов Р.А. — вед. науч. сотр. лаборатории консервации ткани; Булгакова Л.А. — науч. сотр. лаборатории консервации ткани; Мусина Л.А. — доктор биол. наук, вед. науч. сотр., зав. лабораторией электронной микроскопии отдела морфологии.

**Для контактов:** Шангина Ольга Ратмировна. 450075, Уфа, ул. Р. Зорге, д. 67/1. Тел.: (3472) 32–88–89. E-mail: alloOlga@mail.ru.

## ВНИМАНИЕ !

Подписаться на «Вестник травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова» можно в любом почтовом отделении

Наши индексы в Каталоге «ГАЗЕТЫ И ЖУРНАЛЫ» АО «Роспечать»:

для индивидуальных подписчиков **73064**

для предприятий и организаций **72153**

В розничную продажу «Вестник травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова» не поступает



© Коллектив авторов, 2015

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ПРОЦЕССОВ РЕПАРАТИВНОЙ РЕГЕНЕРАЦИИ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ В НЕБЛАГОПРИЯТНЫХ УСЛОВИЯХ

М.В. Власов, С.Н. Бугров, А.Б. Богосьян, И.В. Мусихина

ФГБУ «Приволжский федеральный медицинский исследовательский центр» Минздрава России, Нижний Новгород, Россия

*Цель настоящей работы — разработать экспериментальную модель поперечной тенотомии с пересечением фасциальных оболочек, брыжеечных сосудов и изучить процессы репаративной регенерации соединительной ткани в созданных условиях. Эксперимент выполнен на 25 кроликах породы Шиншилла обоего пола в возрасте 1 мес массой  $1376 \pm 124,8$  г. Изучение процессов репаративной регенерации пяточного сухожилия в неблагоприятных условиях осуществляли на 15, 21, 30, 60 и 90-е сутки после операции. Результаты гистоморфологического исследования показали, что в течение 30 сут после тенотомии происходит замещение зоны дефекта рыхлой волокнистой богатой клетками постепенно созревающей соединительной тканью. К исходу 60 сут значительная часть дефекта выполняется плотной волокнистой соединительной тканью, приобретающей рубцовый характер. На 90-е сутки после тенотомии наблюдается обратное развитие зоны дефекта, происходит очаговое замещение плотной волокнистой ткани рыхлой неоформленной соединительной тканью с гистиоцитами, лимфоидными клетками и включениями очагов жировой клетчатки. Гистологическое строение препарата на этом сроке указывает на относительно низкую его механическую прочность. Полученные с помощью экспериментальной модели данные позволили доказать, что выполнение тенотомии с травматизацией околосухожильных тканей отрицательно сказывается на динамике и характере репаративных процессов в зоне сухожильного дефекта.*

**Ключевые слова:** экспериментальная модель, регенерация пяточного сухожилия, морфология, кролики.

### *Experimental Modelling of the Processes for Connective Tissue Reparative Regeneration under Unfavorable Conditions*

M.V. Vlasov, S.N. Bugrov, A.B. Bogos'yan, I.V. Musukhina

Nizhny Novgorod Research Institute of Traumatology and Orthopedics, Nizhniy Novgorod, Russia

*The purpose of the work was to elaborate experimental model for transverse tenotomy with intersection of facial membranes and mesenteric vessels as well as to study the process of connective tissue reparative regeneration under created conditions. Experiment was performed on 25 chinchilla rabbits of both sexes, aged 1 month with weight  $1376 \pm 124.8$  g. Processes of Achilles tendon reparative regeneration was studied on days 15, 21, 30, 60 and 90 after operation. Histomorphologic study showed that within 30 days after tenotomy the substitution of defect zone with friable, reach in cells and gradually maturing fibrous tissue took place. By the end of day 60 a considerable part of the defect was substituted by dense fibrous connective tissue assumed a scar pattern. On day 90 after tenotomy a reverse development of the defect zone with focal substitution of dense fibrous tissue by friable unformed connective tissue containing histiocytes, lymphoid cells and inclusions of fatty tissue foci was observed. At that term histologic structure of the specimen showed its relatively low mechanical strength. The achieved data enabled to demonstrate that performance of tenotomy with traumatization of peritendinous tissues adversely affected the dynamics and pattern of reparative processes in the tendinosus defect zone.*

**Key words:** experimental model, Achilles tendon regeneration, morphology, rabbits.

Вопрос о регенерации сухожильной ткани до сих пор нельзя считать решенным. Исследования многих авторов затрагивают аспекты репаративной регенерации сухожилий [1–4]. В то же время сама способность сухожильной ткани к репаративной регенерации остается предметом дискуссий. Так,

одни исследователи считают, что для сухожильной ткани не характерна истинная регенерация и полностью исключается возможность трансформации соединительнотканного регенерата в пучковые структуры сухожилия [5, 6]. Другие авторы указывают на возможность образования сухожильных

пучков из клеток поврежденного сухожилия, что свидетельствует об истинном характере регенерации сухожильной ткани [7, 8].

В последние годы в детской ортопедии широкое распространение получили методы малоинвазивных хирургических вмешательств. Наибольший интерес представляет методика коррекции деформаций стоп при врожденной косолапости этапными гипсовыми повязками по Понсети, заключительным этапом которой является подкожная поперечная ахиллотомия, выполняемая через точечный прокол кожи, без анатомического выделения пересекаемых структур [9–11]. Проведение подобных операций требует от хирурга высокой точности исполнения, поскольку вмешательство сопряжено с высоким риском повреждения околосухожильных тканей. Работ, посвященных изучению регенерации сухожильной ткани в условиях повреждения синовиальных оболочек и брыжеечных сосудов мы не встретили. Представленные в литературе экспериментальные модели повреждения ахиллова сухожилия заключаются в выполнении разреза кожи на протяжении (до 5–7 см) с широкой визуализацией ахиллова сухожилия для его последующего пересечения [12]. Экспериментальные исследования, повторяющие клиническую ситуацию выполнения поперечной ахиллотомии из точечного кожного разреза, отсутствуют.

Цель настоящей работы — разработать экспериментальную модель поперечной тенотомии с пересечением фасциальных оболочек, брыжеечных сосудов и изучить процессы репаративной регенерации соединительной ткани в созданных условиях.

#### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Эксперимент поставлен на 25 кроликах породы Шиншилла обоего пола в возрасте 1 мес массой тела  $1376 \pm 124,8$  г. Условия содержания и кормления экспериментальных животных соответствовали «Санитарным правилам по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник», утвержденным Приказом МЗ СССР № 1179 от 10.10.1983. Исследования выполняли в соответствии с Методическими рекомендациями «Деонтология медико-биологического эксперимента» (1987), а также с соблюдением правил гуманного обращения с животными (Report of the AVMA Panel on Euthanasia JAVMA, 2001).

В условиях эксперимента была смоделирована ситуация повреждения фасциальных оболочек и

брыжеечных сосудов ахиллова сухожилия при выполнении подкожной тенотомии. Подобным образом моделировали ситуацию, возникающую в ходе малоинвазивных операций по коррекции деформации стоп у детей.

В хирургической стадии наркоза выполняли продольный разрез кожи и подлежащих тканей длиной до 0,3 см по задней поверхности голени в проекции пяточного сухожилия. Визуализировали сухожилие, не выделяя его из синовиальных оболочек. Лапу животного выводили в положение тыльной флексии, осуществляя максимальное натяжение пяточного сухожилия. Глазным скальпелем производили поперечное пересечение сухожилия на 1 см выше места его прикрепления к бугру пяточной кости изнутри кнаружи и снизу вверх с повреждением его синовиальных оболочек и брыжеечных сосудов (рис. 1).

Затем лапе животного придавали положение тыльной флексии, формируя при этом диастаз между концами сухожилия размером 1 см, и накладывали один шов на кожу.

Иммобилизацию оперированной конечности осуществляли гипсовой повязкой от верхней трети бедра со стопой в положении тыльной флексии лапы и сгибания в коленном суставе на срок 2 нед (рис. 2).

Кроликов содержали в клетках в условиях вивария при сниженных функциональных нагрузках на нижние конечности.

Животных выводили из опыта на 15, 21, 30, 60 и 90-е сутки после операции (по 5 особей). Гистологическому исследованию подвергали зону регенерата, образующуюся между концами пересеченного сухожилия. Материал исследовали после предварительной фиксации в растворе нейтрального формалина. Декальцинацию проводили с использованием среды Biodec-R («Bio-Optica»). Стандартную гистологическую проводку выполняли на аппарате Excelsior ES («Thermo Scientific»). Затем изготавливали парафиновые блоки с использованием заливочной станции HistoStar («Thermo Scientific»). Серийные срезы толщиной 4–6 мкм



Рис. 1. Оперативное вмешательство на ахилловом сухожилии.

Рис. 2. Иммобилизация оперированной конечности кролика гипсовой лангетной повязкой.

получали на микротоме Microm HM 325 («Thermo Scientific»). Срезы окрашивали гематоксилином и эозином, по Ван-Гизону и заключали в монтирующую среду. Микроскопирование и фотодокументирование проводили с использованием морфометрического комплекса Leica DMR.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

У животных, выведенных из эксперимента через 15 сут после тенотомии, в зоне дефекта констатировали формирование плотной волокнистой соединительной ткани с очаговыми включениями жировой клетчатки с наличием диффузно-очаговых скоплений из лимфоидных клеток, фибробластов и гистиоцитов. На этом фоне определя-

лись многочисленные сосуды, часть из которых полнокровна.

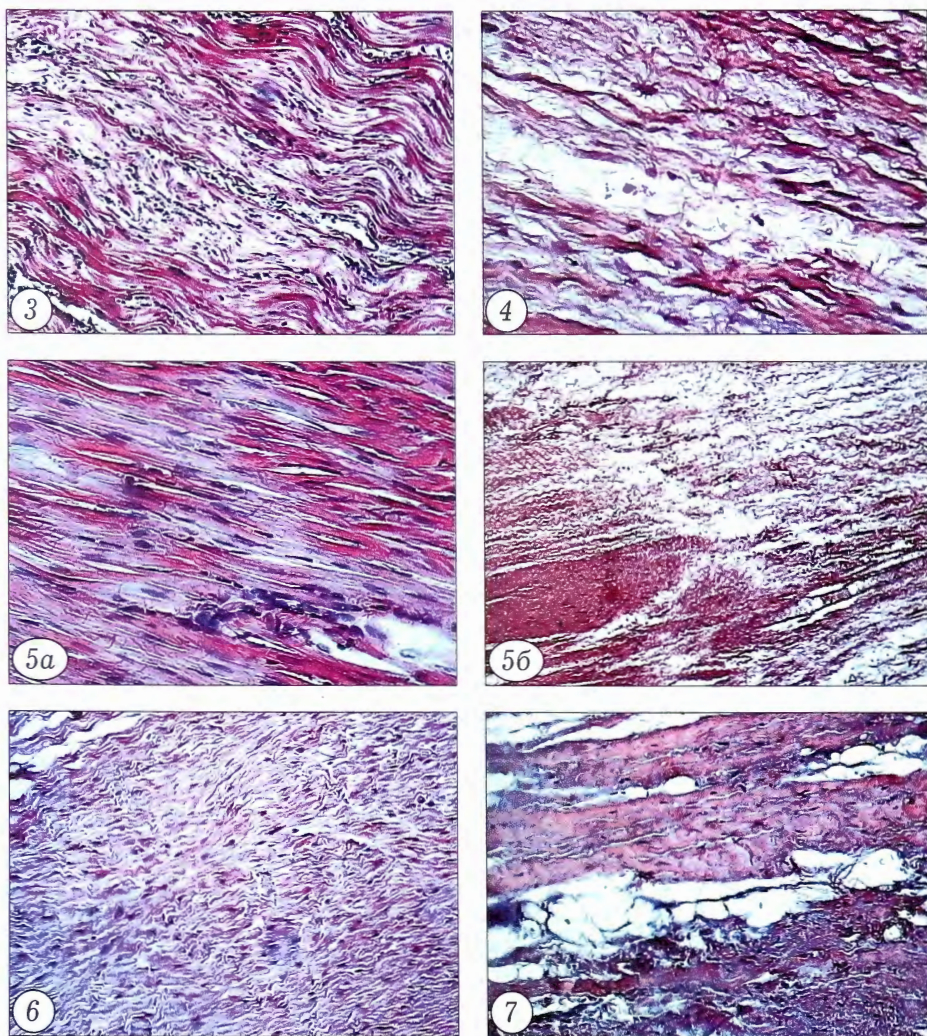
Собственно сухожильная ткань, примыкающая к зоне дефекта, характеризовалась наличием выраженных дистрофических изменений с набуханием волокон, слабо воспринимающих красители, в частности фуксин при окраске по Ван-Гизону. Дистрофически измененные сухожильные волокна перемежались с инфильтратами из молодых фибробластов и лимфоидных клеток (рис. 3).

К исходу 21 сут в микропрепаратах в периферической зоне дефекта сохранялись немногочисленные взаимно параллельно ориентированные сухожильные волокна с постепенным замещением их рыхлой соединительной тканью и жировой клетчаткой (рис. 4). Среди рыхлой волокнистой соединительной ткани определялось большое количество сосудов капиллярного типа, гистиоцитов, макрофагов, эозинофилов, плазматических и лимфоидных клеток. Перестройка участков сухожильной ткани, примыкающих к зоне дефекта, сопровождалась активными пролиферативными процессами в зоне самого дефекта.

Спустя 30 сут от начала наблюдения дистрофические изменения захватывали и удаленные от зоны дефекта участки сухожильной ткани. Волокна в этих местах приобретали волнистый характер. При этом сами волокна сухожилия становились хромофобными и выглядели набухшими, в то же время интенсивно окрашенные волокна становились более плотными и уменьшались в диаметре (рис. 5, а).

Зона дефекта заполнялась коллагеновыми волокнами с большим количеством разновозрастных фибробластов с сохранявшимися участками рыхлой неоформленной соединительной ткани (рис. 5, б), что является признаком начальных проявлений образования молодой рубцовой ткани. Таким образом, доля плотной волокнистой соединительной ткани постепенно увеличивалась, а рыхлой волокнистой соединительной ткани — снижалась.

В микропрепаратах, полученных от животных, выведенных из эксперимента через



**Рис. 3.** 15-е сутки эксперимента. Деструктивные изменения сухожильных волокон. Окраска по Ван-Гизону.  $\times 200$ .

**Рис. 4.** 21-е сутки эксперимента. Перестройка сухожильных волокон.  $\times 100$ .  
Здесь и на рис. 5–7 окраска гематоксилином и эозином.

**Рис. 5.** 30-е сутки эксперимента.  $\times 100$ .

а — дистрофические изменения удаленных от зоны дефекта сухожильных волокон, б — образование коллагеновых волокон в зоне дефекта.

**Рис. 6.** 60-е сутки эксперимента. Образование в зоне дефекта фиброзной ткани рубцового характера.  $\times 200$ .

**Рис. 7.** 90-е сутки эксперимента. Атрофия коллагеновых волокон в зоне дефекта.  $\times 200$ .

60 сут после операции, сохранялись признаки умеренно выраженных дистрофических изменений сухожильной ткани вокруг зоны дефекта, волокна которой выглядели разобщенными, частично фрагментированными, окруженными островками рыхлой волокнистой соединительной и жировой ткани. В зоне самого дефекта формировалась плотная волокнистая соединительная ткань с разнонаправленными коллагеновыми волокнами с неравномерно расположенными клетками фибробласто-фиброцитарного ряда (рис. 6). В массиве плотной волокнистой соединительной ткани сохранялись мелкие очаги рыхлой волокнистой ткани с повышенным количеством сосудов капиллярного типа.

Характер морфологической картины позволяет говорить о формировании к концу 60 сут в зоне дефекта плотной волокнистой соединительной ткани, имеющей строение рубцовой ткани.

Через 90 сут плотная волокнистая соединительная ткань в зоне дефекта постепенно начинала замещаться рыхлой волокнистой соединительной тканью с большим количеством клеточных элементов, преимущественно фибробластов, с участками ткани жирового характера. Коллагеновые волокна выглядели набухшими либо находились в состоянии выраженной атрофии (рис. 7).

Таким образом, если к 60 сут в зоне дефекта мы наблюдали уже практически сформированную рубцовую ткань, то к 90 сут наблюдения происходила ее дезинтеграция с образованием рыхлой волокнистой соединительной ткани с дистрофически и атрофически измененными коллагеновыми волокнами, повышенным количеством клеток, преимущественно фибробластов, появлением участков жировой ткани и гистиоцитарных клеточных элементов. Так называемая инволюция плотной волокнистой соединительной ткани во многом сходна с гистологической картиной соединительной ткани зоны дефекта, которую мы наблюдали на 15-е сутки эксперимента. Поскольку в микропрепаратах, полученных на 15-е и 90-е сутки, наблюдалась схожая морфологическая картина, мы предполагаем, что сформировавшаяся к 60 сут рубцовая ткань через 1 мес снова приобретает характер той ткани, которая образовалась через 15 сут после пересечения пяточного сухожилия. Скорее всего, это связано с теми функциональными нарушениями в икроножной мышце кролика, которые возникли после оперативного вмешательства на ахилловом сухожилии. Потеря сократительной способности икроножной мышцы приводит к тому, что сухожильная ткань не выполняет присущую ей функцию. В результате этого в зоне дефекта пяточного сухожилия наряду с участками плотной волокнистой соединительной ткани появляются значительные по протяженности участки рыхлой неоформленной соединительной ткани. Гистологическое строение такого неполноценного регенерата на этом сроке позволяет предполагать относительно низкую его механическую прочность.

**Заключение.** Разработана экспериментальная модель поперечной тенотомии с одновременным пересечением фасциальных оболочек и брыжеечных сосудов в эксперименте у растущих животных. Созданная модель позволила изучить и выявить особенности процессов репаративной регенерации пяточного сухожилия в созданных неблагоприятных условиях.

Установлено, что после поперечной тенотомии пяточного сухожилия с повреждением его синовиальных оболочек и брыжеечных сосудов в течение 30 сут происходит замещение зоны дефекта рыхлой волокнистой богатой клетками постепенно созревающей соединительной тканью. К исходу 60 сут значительная часть дефекта выполняется плотной волокнистой соединительной тканью, приобретающей рубцовый характер. На 90-е сутки после тенотомии наблюдается обратное развитие зоны дефекта, происходит очаговое замещение плотной волокнистой ткани рыхлой неоформленной соединительной тканью с гистиоцитарными, лимфоидными клетками и включениями очагов жировой клетчатки. Указанные изменения сопряжены со снижением механической прочности сухожилия. Полученные данные позволяют предполагать отрицательное влияние тенотомии с травматизацией околосухожильных тканей, имеющих место в клинике при корригирующих операциях на стопе, на динамику и характер репаративных процессов в зоне сухожильного дефекта.

#### ЛИТЕРАТУРА [ REFERENCES ]

1. Демичев Н.П., Путилин А.А. Криоконсервирование и аллотрансплантация сухожильной ткани. Ортопедия, травматология и протезирование. 1990; 4: 22-7 [Demichev N.P., Putilin A.A. Cryopreservation and allografting of tendinous tissue. Ortopediya, travmatologiya i protezirovaniye. 1990; 4: 22-7 (in Russian)].
2. Лавришчева Г.И., Оноприенко Г.А. Морфологические и клинические аспекты репаративной регенерации опорных органов и тканей. М.: Медицина; 1996 [Lavrishcheva G.I., Onoprienko G.A. Morphologic and clinical aspects of weight-bearing organs and tissues regeneration. Moscow: Meditsina; 1996 (in Russian)].
3. Conway A.M., Dorner R.W., Zuckner J. Regeneration of resected calcaneal tendon of the rabbit. Anat. Rec. 1967; 158 (1): 43-9.
4. Enwemeka C.S., Spielholz N.I., Nelson A.J. The effect of early functional activities on experimentally tenotomized in rats. Am. J. Phys. Med. Rehabil. 1988; 67 (6): 264-9.
5. Chow S.P., Hooper G., Chon C.W. The healing of freeze-dried rabbit flexor tendon in synovial fluid environment. The Hand. 1983; 15 (2): 136-42.
6. Peacock E.E. Jr. Biological principles in the healing of long tendons. Surg. Clin. N. Am. 1965; 45 (2): 461-76.
7. Lundborg G., Rank F. Experimental studies on cellular mechanisms involved in healing of animal and human flexor tendon in synovial environment. The Hand. 1980; 12 (1): 3-11.
8. Matthews C., Richards H. Factors in the adherence of flexor tendon after repair. An experimental study in the rabbit. J. Bone Joint Surg. Br. 1976; 58 (2): 230-6.

9. Herzenberg J.E., Radler C., Born N. Ponseti versus traditional methods of casting for idiopathic clubfoot. J. Pediatr. Orthop. 2002; 22 (4): 517–21.
10. Morrissy R.T., Weinstein S.L. Atlas of pediatric orthopaedic surgery. 4th ed. Lippincott Williams & Wilkins; 2006.
11. Ponseti I.V. Treatment of congenital clubfoot. J Bone Joint Surg. Am. 1992; 74 (3): 448–54.
12. Демичев Н.П., Филимонов Э.П. Повреждение и регенерация ахиллова сухожилия. Астрахань; 2003 [Demichev N.P., Filimonov E.P. Achilles tendon injuries and regeneration. Astrakhan'; 2003 (in Russian)].

**Сведения об авторах:** Власов М.В. — канд. мед. наук, старший науч. сотр., рук. детского ортопедического отделения; Бугров С.Н. — канд. мед. наук, ведущий науч. сотр., рук. группы патологической анатомии; Богосьян А.Б. — доктор мед. наук, вед. науч. сотр. детского ортопедического отделения; Мусихина И.В. — канд. мед. наук, старший науч. сотр. того же отделения.

**Для контактов:** Бугров Сергей Николаевич. 603155, Н. Новгород, Верхне-Волжская набережная, д. 18. Тел.: 8 (831) 436 –87–13. E-mail: ser17619822009@yandex.ru.

## ИНФОРМАЦИЯ

### III СЪЕЗД ТРАВМАТОЛОГОВ-ОРТОПЕДОВ ДАЛЬНЕВОСТОЧНОГО ФЕДЕРАЛЬНОГО ОКРУГА «ИННОВАЦИОННЫЕ МЕТОДЫ ЛЕЧЕНИЯ В ТРАВМАТОЛОГИИ И ОРТОПЕДИИ ДАЛЬНЕГО ВОСТОКА»

под эгидой XII Международного форума «Инновационные методы лечения  
в традиционной российской и китайской медицине»

(23-25 сентября 2015 г., Благовещенск)

Организаторы:

Министерство здравоохранения Российской Федерации,  
ФГБУ «ЦИТО им. Н.Н. Приорова» Минздрава России  
ГБОУ ВПО «Амурская государственная медицинская академия» Минздрава России  
ГАУЗ Амурская областная клиническая больница  
Ассоциация травматологов-ортопедов России  
Ассоциация травматологов-ортопедов  
Амурской области

ТЕМАТИКА СЪЕЗДА:

1. Инновационные аспекты развития травматологии и ортопедии в ДФО.
2. Проблемы подготовки кадров и кадровой политики.
3. Актуальные вопросы лечения боевых повреждений.
4. Травматология и ортопедия детского возраста на современном этапе.
5. Гнойно-септические осложнения в травматологии и ортопедии.
6. Тромбоэмболические осложнения в травматологии и ортопедии.
7. Современные технологии диагностики и лечения заболеваний и повреждений опорно-двигательной системы на фоне остеопороза.

Секретариат: 675000, г. Благовещенск, ул. Горького 95,  
кафедра травматологии, ортопедии с курсом стоматологии Амурской ГМА.  
Тел.: 8 (4162) 42-92-03, факс: 8 (4162) 31-90-07.  
E-mail: bivdok@mail.ru.

© Коллектив авторов, 2015

## ВОССТАНОВЛЕНИЕ НЕПОЛНОСЛОЙНЫХ ПОВРЕЖДЕНИЙ ГИАЛИНОВОГО ХРЯЩА СУСТАВОВ КРОЛИКОВ ТРАНСПЛАНТАЦИЕЙ МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА

*Р.К. Чайлахян, А.Б. Шехтер, В.И. Тельпухов, С.В. Иванников, Ю.В. Герасимов, Н.Н. Воробьева, И.Л. Москвина, В.Н. Баграташвили*

ФГБУ «Научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. почетного акад. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России; ГБОУ ВПО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России; ФГБУН «Институт проблем лазерных и информационных технологий РАН», Москва, РФ

---

*Изучена возможность восстановления целостности гиалинового хряща с помощью мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток (ММСК) на модели неполнослойного дефекта гиалинового хряща сустава кролика без повреждения субхондральной пластинки. Размер дефекта составлял 0,5 см в диаметре и 1,5 мм в глубину. Аутологичный костный мозг кроликов получали из резецированного крыла подвздошной кости, готовили одноклеточную суспензию и высевали в культуральные флаконы. Выросшие ММСК снимали с пластика, центрифугировали и осадок переносили в дефект хряща. Сверху клетки прикрывали желатиновой губкой, викриловой губкой или сеткой. Гистологическое исследование выполняли через 4 мес. Установлено, что наиболее выраженная регенерация гиалиновой хрящевой ткани, замещающей большую часть дефекта хрящевой пластинки, имела место в случаях использования ММСК и викриловой сетки. Среди преимуществ использования викриловой сетки отмечено то, что она не выступает над хрящевой пластинкой, не сдавливает клетки и при этом медленно рассасывается.*

**Ключевые слова:** мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки, пролиферация, тканеинженерные конструкции, суставной хрящ.

### *Repair of Partial Thickness Articular Hyaline Cartilage Injuries with Multipotent Mesenchymal Stromal Bone Marrow Cells Transplantation in Rabbits*

*R.K. Chailakhyan, A.B. Shekhter, V.I. Tel'pukhov, S.V. Ivannikov, Yu.V. Gerasimov, N.N. Vorobieva, I.L. Moskvina, V.N. Bagratashvili*

Gamalei Scientific Research Center of Epidemiology and Microbiology; I.M. Sechenov First Moscow State Medical University; Institute on Laser and Information Technologies, Moscow, Russia

*Possibility of hyaline cartilage integrity restoration using multipotent mesenchymal stromal cells (MMSC) was studied on the rabbit model of partial thickness articular hyaline cartilage defect without subchondral plate damage. Size of defect made up 0.5 cm in diameter and 1.5 mm deep. Autologous bone marrow was harvested from the resected upper flaring portion of the ilium, single cell suspension was prepared and cultured in matrasses. Grown MMSC were centrifuged and the sediment was transferred into the cartilage defect. The cells were covered with either vicryl or gelatin sponge, or vicryl mesh. Histologic examination was performed in 4 months. It was shown that the most active regeneration of hyaline cartilage tissue, that substituted the largest part of a defect, was noted when MMSC were covered with vicryl mesh. One of the advantages of vicryl mesh use was that it neither protruded above the cartilaginous plate nor compressed the cells, and slowly resolved.*

**Key words:** multipotent mesenchymal stromal cells, proliferation, tissue engineering constructions, articular cartilage.

---

Бурное развитие биомедицины и, в частности, клеточных исследований способствовало появлению совершенно новых подходов и технологий, обещающих уже в ближайшем будущем решение многих медицинских проблем. Клеточные исследования и клеточные технологии являются сегодня стратегически важным направлением био-

медицины, способным обеспечить прорыв в борьбе с социально значимыми заболеваниями. Возможность гистотипического восстановления поврежденных тканей и органов приобрела реальные очертания после разработки нами в НИИЭМ им Н.Ф. Гамалеи метода избирательного клонирования, который позволил выявить уникальную



категорию стромальных клеток-предшественников кроветворных и лимфоидных органов [1]. Концентрация этих клеток в органах гемо- и лимфопоэза чрезвычайно мала. Проведенные экспериментальные исследования показали, что среди выявленных нами клоногенных стромальных клеток-предшественников имеются клетки, которые по своим пролиферативным и дифференцировочным потенциам являются претендентами на роль стволовых клеток стромальной ткани костного мозга [2, 3]. По решению международного общества клеточных технологов с 2006 г. эти клетки предложено называть мультипотентными мезенхимальными стромальными клетками (ММСК). Они соответствуют требованиям, предъявляемым к стволовым клеткам: обладают высоким пролиферативным потенциалом, самоподдерживаются в процессе пролиферации и дифференцируются в нескольких направлениях (кость, хрящ, соединительная и жировая ткани и т.д.).

Одной из наиболее актуальных является проблема лечения повреждений хряща и их последствий, т.е. восстановления целостности гиалинового хряща крупных суставов. Эта проблема сегодня приобретает все большую значимость как в медицинском, так и социальном аспекте. Посредством компрессионно-дистракционного метода клиницисты в определенной степени научились влиять на скорость и качество репаративных процессов костной ткани, что привело к существенному улучшению результатов лечения. В то же время прогресс в лечении суставной патологии, который был достигнут в значительной мере благодаря созданию и усовершенствованию искусственных суставов, по сути не приблизил к решению вопроса о регенерационных возможностях компонентов синовиальной среды сустава и наиболее важного из них — суставного хряща. Согласно данным статистики, при травмах коленного сустава в 50–60% случаев в ходе артроскопии выявляются повреждения мышечков и надколенника, не проникающие в подлежащую кость. Приблизительно с такой же частотой повреждения хряща диагностируют при травмах других крупных суставов. Указанные изменения объединены под общим названием «хондропатии».

Невозможность восстановления суставного хряща при его неполнослойном повреждении авторы связывают с неспособностью хондроцитов вступать в митоз, продуцированием ими ингибиторов для пролиферации менее дифференцированных клеток, снижением интенсивности процессов обмена и особенностями питания. Использование многочисленных методов лечения — от медикаментозных, механических, физических до пересадки в область поврежденного хряща биологических трансплантатов — не позволяло достигать желаемого результата [4]. В отдельную группу можно выделить методы лечения, предусматривающие пересадку хондроцитов, выращен-

ных *in vitro* [5–7]. Пересадка аутологичных хондроцитов, полученных из так называемой «некритической, или неконтактной, зоны» здорового сустава и размноженных *in vitro*, предполагает нанесение дополнительной травмы. К тому же неясно, способны ли хондроциты, находящиеся в терминальной стадии дифференцировки, полученные из небольшого фрагмента хряща (20–30 мг), пройти необходимое число митозов и образовывать клеточную массу в объеме, достаточном для трансплантации и последующего замещения дефекта [8]. В экспериментальных исследованиях и клинических испытаниях показано, что трансплантация выращенных аутологичных хондроцитов под надкостницу или иные мембраны, пришитые к границам дефекта хряща, оказалась менее эффективной, чем обычная мозаичная хондропластика [9]. В последнее десятилетие использование с этой целью ММСК стало привлекать большее внимание исследователей и врачей. Одни авторы, работая с ММСК и не веря в их дифференцировочные потенции, перед обратной трансплантацией проводят их направленную дифференцировку в хондроциты [10], другие — помещают ММСК в различные гели или скаффолды [11, 12]. Недостатком перечисленных методов можно считать то, что дефекты, как правило, заполняются фиброзным хрящом.

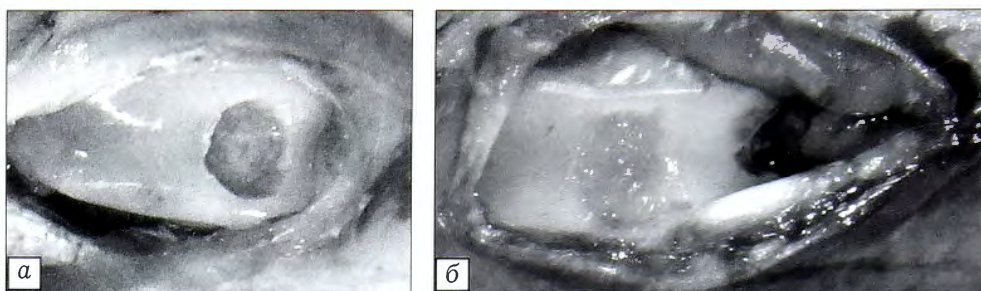
Целью настоящего исследования являлось изучение возможности восстановления целостности гиалинового хряща коленного сустава кролика в неполнослойных дефектах с помощью ММСК и биodeградируемых скаффолдов (носителей), характеризующихся различным временем биорезорбции (от 56 до 90 дней).

#### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Эксперименты выполнены на 15 кроликах породы Шиншилла массой 2–2,5 кг, полученных из питомника лабораторных животных РАМН «Крюково». Все операции проводили под наркозом с использованием разрешенных в ветеринарии препаратов (золетил и рометар) и с соблюдением всех правил асептики и антисептики. Животных содержали в соответствии с действующим приказом министра здравоохранения СССР № 755 от 12 августа 1977 «О мерах по дальнейшему совершенствованию организационных форм работы с использованием экспериментальных животных». Выведение животных из эксперимента осуществляли путем передозировки наркоза.

Для моделирования дефекта гиалинового хряща использовали коленный сустав. Глубину дефекта ограничили поверхностным слоем суставного хряща — только до субхондральной пластинки. Надколенник смещали и фиксировали в медиальном положении. В межмышечковой ямке, под надколенником, фрезой снимали поверхностный слой гиалинового хряща строго определенного размера — 0,5 см в диаметре и 1,5 мм глубиной, не допус-

**Рис. 1.** Макроскопическая картина хрящевых дефектов. а — неполнослойный дефект хряща в межмышцелковой ямке коленного сустава; б — сгусток клеток на дне костного дефекта.



кая появления «кровяной росы» на дне дефекта (рис. 1, а).

Было сформировано 3 группы: 1-я — контроль без хондропластики (3 кролика); 2-я — контроль с хондропластикой резорбируемыми материалами (желатиновая губка, викриловая губка или сетка — 3 кролика), 3-я — хондропластика ММСК и резорбируемыми материалами (9 кроликов).

*Получение аутологичного костного мозга кроликов.* Под местной анестезией 0,5% раствором новокаина производили разрез кожи и мышц над крылом тазовой кости, резецировали ее фрагмент и переносили в сухую чашку Петри. Осуществляли гемостаз, рану послойно зашивали. Вырезанный фрагмент кости освобождали от мягких тканей, расщепляли скальпелем и обе половины переносили в чашку Петри с питательной средой. Костный мозг выскабливали в питательную среду, которую затем переносили во флакон. Для приготовления клеточной взвеси фрагменты костного мозга пропускали через шприц с последовательно уменьшающимся диаметром игл. Готовую суспензию фильтровали через четырехслойный капроновый фильтр, подсчитывали число клеток и эксплантировали во флаконы с полной питательной средой.

*Эксплантация, культивирование и пассирование клеток.* Эксплантацию костномозговых клеток кролика проводили в пластиковые флаконы («Nunc») с площадью дна  $80 \text{ см}^2$  по  $5 \cdot 10^6$  в каждый. Культуральная среда состояла из 80% среды  $\alpha$ -MEM («Sigma») и 20% эмбриональной телячьей сыворотки («Nuclo») и антибиотиков. Клетки культивировали в инкубаторе при  $37^\circ\text{C}$  с 5%  $\text{CO}_2$  в течение 12–14 дней. Для получения штаммов костномозговых стромальных клеток культуры промывали чистой средой и в течение 3–5 мин обрабатывали 0,25% раствором трипсина. Затем трипсин сливали и флаконы на 10–15 мин помещали в термостат при  $37^\circ\text{C}$ . По истечении этого времени во флаконы добавляли свежую культуральную среду, встряхивали их, а не открепившиеся клетки снимали пипетированием. Производили подсчет клеток в камере Горяева и необходимое количество клеток переносили в новые флаконы с полной культуральной средой. Полученную взвесь ММСК кролика I–III пассажа разливали в конические пробирки по  $1\text{--}1,5 \cdot 10^6$  клеток в каждую и центрифугировали в течение 10 мин со скоростью 1000 об/мин при  $4^\circ\text{C}$ .

Трансплантацию ММСК осуществляли двумя способами: 1) осадок ресуспендировали в 2–3 мл свежей среды и заполняли желатиновую либо викриловую губку или сетку, которые укладывали в сформированный неполнослойный дефект гиалинового хряща сустава; 2) осадок в виде сгустка клеток переносили и укладывали на дно дефекта, а сверху прикрывали одним из испытуемых материалов (рис. 1, б).

В экспериментах с хондропластикой резорбируемыми материалами трансплантат вырезали чуть больше 0,5 см в диаметре, с таким расчетом, чтобы он плотно входил в дефект хряща. Сверху его укрывали надколенником. Дополнительной фиксации не требовалось.

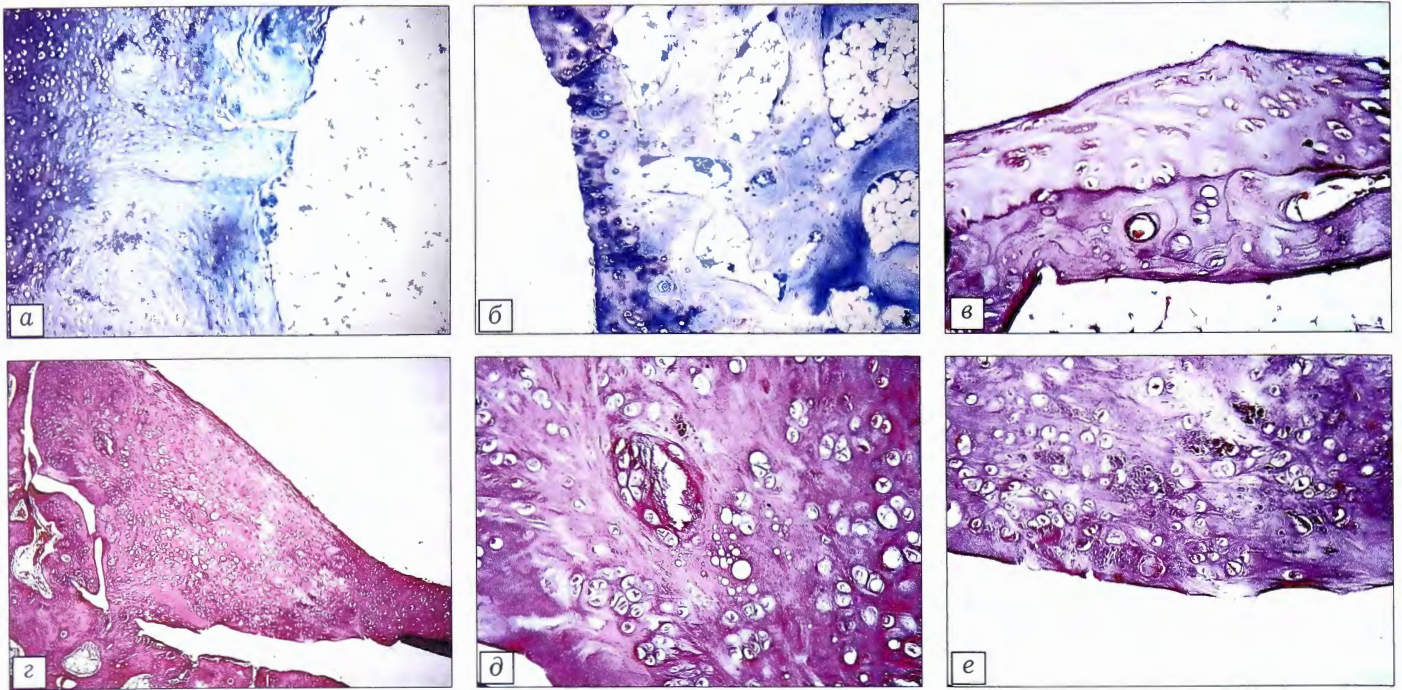
Всех животных выводили из эксперимента спустя 4 мес после операции. Участок хрящевой пластинки с подлежащей субхондральной костью в области дефекта фиксировали 10% формалином, подвергали декальцинации и заливали в парафин. Срезы толщиной 4–5 мкм окрашивали гематоксилином и эозином, пикрофуксином по Ван-Гизону, толуидиновым синим (на кислые гликозаминогликаны), просматривали в микроскопе ВХ-450 и фотографировали с помощью видекамеры Sony.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Дефекты хряща у животных 1-й группы (контроль) макроскопически были полностью заполнены тканью белесоватого цвета с неровными краями, слегка выступающими над хрящевой поверхностью сустава.

При гистологическом исследовании в области дефекта хряща пластинки без хондропластики выявляли истонченный слой хрящевой пластинки без формирования блестящей пластинки на поверхности. В хрящевой ткани встречались дистрофически и некробиотически измененные хондроциты, отмечалось уменьшение содержания кислых гликозаминогликанов (рис. 2, а). При этом в центре дефекта отсутствовали признаки регенерации (даже многоклеточные изогенные группы). На периферии дефекта, т.е. на границе с нативной хрящевой тканью, наблюдали регенерацию фиброзного хряща, содержащего многочисленные хондроциты и имеющего волокнистую структуру матрикса.

После хондропластики суставного дефекта резорбируемым материалом из викриловой или желатиновой губки и викриловой сетки (2-я группа)



**Рис. 2.** Дефект хряща через 4 мес.

*a* — контрольная группа (без хондропластики).  $\times 200$ ; *б* — имплантат — викариловая губка ( $\times 400$ ), на дне дефекта хрящевой пластинки дистрофические и некротические изменения; *в* — имплантат — викариловая сетка ( $\times 400$ ): на краях дефекта сформирован переходный фиброгиалиновый хрящ; *г* — имплантат — ММСК и викариловая сетка ( $\times 100$ ): большая часть дефекта заполнена тканью новообразованного гиалинового хряща; *д* — деталь рис. 2, *г* ( $\times 400$ ): гиалиновый хрящ с гомогенным матриксом, хондроцитами и хондробластами. В центре — остаток викарилового волокна, окраска гематоксилином и эозином, *е* — деталь рис. 2, *г* ( $\times 400$ ): глыбки распавшего викарила в хрящевой ткани. *a, б* — окраска толуидиновым синим, *в-е* — гематоксилином и эозином.

через 4 мес независимо от материала хондропластики макроскопически область дефекта заполнялась тканью со сравнительно гладкой поверхностью.

Гистологически при использовании в качестве имплантата викариловой губки в оставшейся на дне дефекта хрящевой пластинке наблюдались выраженные дистрофические и некротические изменения при отсутствии признаков формирования фиброзного хряща на периферии (рис. 2, б). Структура дефекта, заполненного желатиновой губкой, напоминала таковую в контроле. В центральной части дефекта визуализировались дистрофические и некротические изменения, а на периферии формировался фиброзный хрящ. В случае применения для хондропластики викариловой сетки наблюдали образование незначительного количества фиброгиалинового хряща со стороны материнского ложа.

Таким образом, ни один из изучаемых материалов достоверно не усиливал регенеративные процессы по сравнению с контролем. Исключением стал один случай использования в качестве имплантата викариловой сетки, в котором на краях дефекта формировался переходный фиброгиалиновый хрящ (рис. 2, в).

В 3-й группе для хондропластики применяли ММСК в комбинации с резорбируемыми викариловой или желатиновой губкой и викариловой сеткой.

Во всех случаях через 4 мес дефекты были заполнены вновь образованной тканью.

По данным гистологического исследования при использовании для укрытия клеток викариловой или желатиновой губки в центре неполнослойных дефектов суставного хряща отмечались дистрофически измененные хондроциты. Местами отмечали увеличение числа хондроцитов и многоклеточных изогенных групп (клонов), что является признаком начальных этапов регенерации гиалинового хряща.

Изучение области дефекта со сгустком ММСК, прикрытым имплантатом из викариловой сетки, показало, что дефект заполнен незрелым гиалиновым хрящом, содержащим многочисленные гиалиновые хондроциты, окруженные лакунами (рис. 2, г). Характерный для гиалинового хряща гомогенный матрикс давал метакромазию при окраске толуидиновым синим, что указывает на наличие кислых гликозаминогликанов. Кроме того, во внутренних слоях регенерата имелись незрелые клетки типа хондробластов с небольшим ядром и с очень узкой или отсутствующей лакуной вокруг клеток (рис. 2, д). При этом поверхностный слой скорее принадлежал к фиброзному хрящу, так как матрикс в нем был фибриллярный. Внутри регенерата сохранялись единичные небольшие фрагменты разрушающихся викариловых волокон (рис. 2, е).

**Заключение.** Полученные результаты подтвердили адекватность используемой модели неполнослойного дефекта суставного хряща. Его размер, глубина, место моделирования (межмышечковая ямка) и срок наблюдения (4 мес) позволяют достоверно оценивать степень восстановления гиалинового хряща при использовании самых различных условий и факторов в качестве стимуляторов процессов регенерации. Во всех случаях применения для хондропластики ММСК, которые укладывали на дно дефекта и прикрывали испытуемым материалом, регистрировали явления, свидетельствующие о стимуляции процессов репаративной регенерации. Наилучшие результаты получены при использовании в качестве имплантата викриловой сетки: гиалиновым хрящом была замещена большая часть дефекта. Викриловая и желатиновая губки практически в 2 раза толще викриловой сетки, и поэтому значительно выступают над плоскостью суставной пластинки. Надколенник после возвращения на место сильно сдавливает имплантат, вследствие чего формируются неблагоприятные для клеток условия, и они гибнут. Викриловая сетка не выступает над хрящевой пластинкой, не сдавливает клетки и при этом медленно рассасывается: даже через 4 мес внутри хрящевого регенерата остаются ее фрагменты. За счет этого создаются более благоприятные условия для жизнедеятельности клеток. Возможно, имеются и другие объяснения полученным результатам, но это будет являться предметом наших дальнейших исследований.

*Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (грант 14-25-00055) в части изучения возможности формирования хрящевой ткани с использованием ММСК и Российского фонда фундаментальных исследований (грант 13-04-12032) в части исследования возможности восстановления гиалинового хряща суставов.*

#### ЛИТЕРАТУРА [REFERENCES]

1. Чайлахян Р.К., Лалыкина К.С. Спонтанная и индуцированная дифференцировка костной ткани в популяции фибробластоподобных клеток, полученных из длительных монослойных культур костного мозга и селезенки. Доклады АН СССР. 1969; 187 (2): 473-9

[Chailakhyan R.K., Lalykina K.S. Spontaneous and induced differentiation of bone tissue in population of fibroblast-like cells derived from prolonged monolayer cultures of bone marrow and spleen. Reports of USSR Academy of Science. 1969; 187 (2): 473-9 (in Russian)].

2. Friedenstain A.Y., Chailakhyan R.K., Lalykina K.S. The development of fibroblast colonies in monolayer cultures of guinea-pig bone marrow and spleen cells. Cell Tissue Kinetics. 1970; 3: 393-403.
3. Friedenstain A.Y., Chailakhyan R.K., Gerasimov Yu.V. Bone marrow osteogenic stem cells: in vitro cultivation and transplantation in diffusion chambers. Cell Tissue Kinetics. 1987; 20: 263-72.
4. Smith G.D., Knutsen G., Richardson J.B. A clinical review of cartilage repair techniques J. Bone Joint Surg. Br. 2005; 87 (4): 445-9.
5. Brittberg M., Lindahl A., Nilsson A., Ohlsson C., Isaksson O., Peterson L. Treatment of deep cartilage defects in the knee autologous chondrocyte transplantation N. Engl. J. Med. 1994; 331 (14): 889-95.
6. Peterson L., Brittberg M., Kiviranta I., Akerlund E.L., Lindahl A. Autologous chondrocyte transplantation. Biomechanics and long-term durability. Am. J. Sports Med. 2002; 30 (1): 2-12.
7. Steinwachs M.R., Kreuz P.C. Clinical results of autologous chondrocyte transplantation (ACT) using a collagen membrane. In: Henrich C., Nitz U., Eulert J., eds. Cartilage surgery and future perspectives. Springer Berlin Heidelberg New York; 2003: 37-48.
8. Wood J.J., Malek M.A., Frassica F.J., Polder J.A., Mohan A.K., Bloom E.T. et al. Autologous cultured chondrocytes: adverse events reported to the United States Food and Drug Administration. Cote. J Bone Joint Surg. Am. 2006, 88 (3): 503-7.
9. Knutsen G., Engebretsen L., Ludvigsen T.C., Drogset J.O., Gruntvedt T., Solheim E. et al. Autologous chondrocyte implantation compared with microfracture in the knee. A randomized trial. J. Bone Joint Surg. Am. 2004; 86-A (3): 455-64.
10. Chen F.H., Rousche K.T., Tuan R.S. Technology Insight: adult stem cells in cartilage regeneration and tissue engineering. Nat. Clin. Pract. Rheumatol. 2006; 2 (7): 373-2.
11. Uematsu K., Hattori K., Ishimoto Y., Yamauchi J., Habata T., Takakura Y. et al. Cartilage regeneration using mesenchymal stem cells and a three-dimensional polylactic-glycolic acid (PLGA) scaffold. Biomaterials. 2005; 26(20): 4273-9.
12. Wakitani S., Imoto K., Yamamoto T., Saito M., Murata N., Yoneda M. Human autologous culture expanded bone marrow mesenchymal cell transplantation for repair of cartilage defects in osteoarthritic knees. Osteoarthritis Cartilage. 2002; 10 (3): 199-206.

**Сведения об авторах:** Чайлахян Р.К. — доктор биол. наук, старший науч. сотр., рук. лаборатории НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи; Шехтер А.Б. — доктор мед. наук, проф., зав. лабораторией экспериментальной морфологии Первого МГМУ им. И.М. Сеченова; Тельпухов В.И. — доктор мед. наук, проф. кафедры оперативной хирургии и топографической анатомии Первого МГМУ им. И.М. Сеченова; Иванников С.В. — доктор мед. наук, проф. кафедры травматологии и ортопедии Первого МГМУ им. И.М. Сеченова; Герасимов Ю.В. — канд. биол. наук, старший науч. сотр. НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи; Воробьева Н.Н. — науч. сотр. Института проблем лазерных и информационных технологий РАН; Москвина И.Л. — науч. сотр. НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи; Баграшвили В.Н. — доктор физ.-мат. наук, проф., зав. отделом лазерной атомно-молекулярной технологии Института проблем лазерных и информационных технологий РАН.

**Для контактов:** Чайлахян Рубен Карпович. 123098, Москва, ул. Гамалеи, д. 18. Тел.: +7 (499) 193-61-02. E-mail: rubenchail@yandex.ru.

## ОЦЕНКА КОМПОЗИЦИОННЫХ МАТЕРИАЛОВ СОСТАВА АЛЬГИНАТ — ФОСФАТЫ КАЛЬЦИЯ, ПРЕДНАЗНАЧЕННЫХ ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В ТЕХНОЛОГИЯХ ПРОТОТИПИРОВАНИЯ ПРИ ЗАМЕЩЕНИИ КОСТНЫХ ДЕФЕКТОВ IN VITRO

Н.С. Сергеева, В.С. Комлев, И.К. Свиридова, В.А. Кирсанова, С.А. Ахмедова,  
Е.А. Кувшинова, А.Ю. Федотов, А.Ю. Тетерина, С.М. Баринов

ФГБУ «Федеральный медицинский исследовательский центр им. П.А. Герцена» Минздрава России, ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, ФГБУН «Институт металлургии и материаловедения им. А.А. Байкова» РАН, Москва, РФ

На модели двух адгезионных клеточных линий — иммortalизованных фибробластов человека (ФЧ, штамм 1608 hTERT) и остеосаркомы человека (MG-63) *in vitro* в динамике культивирования (до 21 сут) с помощью МТТ-теста изучены цитосовместимость и матриксные (для клеток) свойства образцов гранулированных пористых композиционных биоматериалов состава альгинат натрия — фосфаты кальция и их составляющих, синтезированных и охарактеризованных в ИМЕТ РАН: 1 % альгината натрия; композита альгинат натрия/желатин (80/20); кальцийфосфатной керамики (КГА, ТКФ и ОКФ) и композиционных материалов составов альгинат/КГА, альгинат/ТКФ, альгинат/ОКФ, альгинат/желатин/ТКФ и альгинат/ТКФ/КГА/ОКФ. ОКФ оказался цитотоксичным, а композиты, в состав которых он входил, обладали слабыми матриксными свойствами. Для дальнейших исследований по разработке технологий прототипирования отобраны 3 образца композиционных материалов составов альгинат/КГА, альгинат/ТКФ, альгинат/желатин/ТКФ, характеризующиеся цитосовместимостью и наличием выраженных или умеренных матриксных для клеток свойств поверхности.

Ключевые слова: материалы для остеопластики, композиционные материалы состава альгинат — фосфаты кальция, исследования *in vitro*, цитосовместимость, матриксные свойства.

### *In Vitro Evaluation of the Composite Alginate – Calcium Phosphate Materials for Prototyping Technologies in Bone Defects Substitution*

N.S. Sergeeva, V.S. Komlev, I.K. Sviridova, V.A. Kirsanova, S.A. Akhmedova,  
E.A. Kuvshinova, A.Yu. Fedotov, A.Yu. Teterina, S.M. Barinov

P.A. Gertsen Moscow Research Oncology Institute; Pirogov Russian National Research Medical University; A. A. Baikov Institute of Metallurgy and Materials Science, Moscow, Russia.

Porous granular composite biomaterials based on sodium alginate and calcium phosphate component: 1% sodium alginate; sodium alginate with gelatin (80/20); calcium phosphate ceramics (CHA, TCP and OCP) and composite materials alginate/CHA, alginate/TCP, alginate/OCP, alginate/gelatin (80/20)/TCP and alginate/TCP/CHA/OCP were investigated for cytotoxicity and matrix (for cells) properties in dynamics of cultivation (up to 21 days). Two adhesive cell lines — immortalized human fibroblasts (HF, strain 1608 hTERT) and human osteosarcoma (MG-63) were used for *in vitro* MTT assay. OCP material showed its cytotoxicity while all its composites possessed weak matrix properties. For further research on the development of prototyping technologies 3 samples of composite materials were selected: alginate/CHA, alginate/TCP and alginate/gelatin (80/20)/TCP that are characterized by cytocompatibility and the presence of either expressed or moderate matrix properties of the surface for cells.

Key words: osteoplastic materials, alginate – calcium phosphates composite materials, *in vitro* studies, cytocompatibility, matrix properties.

Восстановление костной ткани в области дефектов является актуальной медицинской и социальной проблемой, что обусловлено, с одной стороны, распространенностью патологических состояний костной ткани, возникающих, в частности, в результате травм, опухолевого поражения, дегенеративных возрастных изменений, пороков разви-

тия, а с другой — старением населения в целом [1]. Трудовая и социальная реабилитация этих категорий больных возможна лишь при достижении структурной и функциональной целостности костной ткани, что требует использования при хирургических вмешательствах адекватных остеопластических материалов.

Спектр разрабатываемых остеопластических материалов с каждым днем расширяется: натуральные материалы (скелет кораллов, коллаген, желатин, хитозан) [2–4] и синтетические полимеры (полиэферы, полилактиды, полигликолиды и их сополимеры) [5], кальцийфосфатная керамика [6] и биостекла [7, 8]. Сравнительно новым подходом является создание композиционных материалов, в частности на основе фосфатов кальция и биополимеров.

Исторически первым для заполнения дефектов костной ткани был предложен синтетический гидроксипатит ( $\text{ГА}$ ;  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ), мало растворимый в физиологических условиях и, вследствие этого, наименее используемый сегодня в клинике. Среди других фосфатов кальция наибольшее внимание привлекает керамика на основе трикальциевого фосфата (ТКФ), карбонатсодержащего ГА (КГА) и октакальциевого фосфата (ОКФ). Такой выбор обусловлен следующими причинами. Трикальцийфосфатная керамика обладает относительно высокой растворимостью в жидкостях организма и способствует процессу биоминерализации формирующейся костной ткани. Физиологически важным являются также анион- и катионные замещения (в частности, карбонат группами) в структуре фосфатов кальция с формированием КГА, поскольку минеральная основа костной ткани содержит 4–8 масс. %  $\text{CO}_3^{2-}$ . Карбонатные группы создают решеточные искажения в структуре апатита, что обеспечивает, в частности, большую скорость биодеградации [9]. И, наконец, установлено, что образование стабильной фазы — биологического апатита — происходит через стадию образования промежуточной неустойчивой фазы — ОКФ [10], который вследствие этого может рассматриваться как перспективный остеопластический материал.

С другой стороны, высокий потенциал применения в медицине имеют биополимеры. В частности, материалы на основе альгината — полисахарида, который обладает широким спектром полезных для человека свойств и может выполнять функцию эластичного каркаса [11].

В создании трехмерных композиционных конструкций на основе полимеров и фосфатов кальция особые надежды возлагают на методы быстрого прототипирования (или аддитивного производства) [12]. Трехмерная модель требуемого фрагмента ткани пациента может быть получена, например, на рентгеновском компьютерном томографе с высоким разрешением и затем оперативно изготовлена ее точная копия-конструкция из остеопластических материалов заданного состава, пригодная для имплантации. В процессе изготовления остеопластического изделия его можно дополнить определенными деталями, а также запрограммировать создание требуемой внутренней архитектоники. Среди наиболее разработанных на сегодняшний день методов быстрого прототипиро-

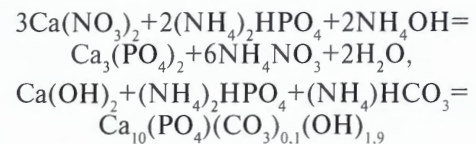
вания и технологий аддитивного производства, позволяющих использовать в качестве исходных материалов различные фосфаты кальция и полимеры, следует в первую очередь выделить трехмерную (3D) печать [12].

Целью настоящей работы было изучить *in vitro* цитосовместимость и матриксные для клеток свойства фосфатов кальция, альгината и композитов на их основе, предназначенных для использования в технологии 3D-печати.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В качестве исходных компонентов для создания композиционных материалов методами быстрого прототипирования были взяты альгинат натрия и фосфаты кальция: ТКФ, КГА и ОКФ. Биологический желатин использовали для стабилизации композиционного геля.

Синтез порошка ТКФ и КГА осуществляли из водных растворов солей и методом механохимической активации согласно реакциям:



Керамический гранулят из синтезированных веществ получали по технологии несмешивающихся жидкостей [13] с последующей термической обработкой.

Для изготовления керамики на основе ОКФ использовали гранулы ТКФ. На первом этапе гранулы ТКФ переводили в дикальцийфосфат дигидрат (ДКФД) в растворах солей ортофосфорной кислоты (40°C, pH 4,1–5,5, 7 сут). Затем проводили гидролиз ДКФД с образованием ОКФ в растворе ацетата натрия (37°C, pH ≥ 6,5, 7 сут) [14].

Далее керамические гранулы фосфатов кальция вводили в раствор полисахарида при непрерывном перемешивании. Раствор подогревали до 40°C на водяной бане, а затем присыпали в него керамические гранулы. Растворы с гранулами фосфатов кальция перемешивали для получения равномерных взвесей и фиксировали 1% раствором хлорида кальция. Затем в течение 12 ч проводили сублимационную сушку образцов при вакууме в рабочей камере ( $6 \cdot 10^{-5}$  атм., температура конденсирующей поверхности -50°C).

Морфологию поверхности и микроструктуру образцов исследовали методом сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) с помощью микроскопа Tescan VEGA II (Чехия).

Для исследований *in vitro* была синтезирована партия, насчитывающая 10 гранулированных образцов: образец 1 % альгината натрия; композит альгината натрия с желатином (80/20); 3 образца кальцийфосфатной керамики (КГА, ТКФ и ОКФ) и 5 образцов композиционных материалов (альгинат натрия — кальцийфосфатная керамика; табл. 1).

**Табл. 1.** Физико-химическая характеристика материалов, синтезированных для оценки цитосовместимости *in vitro*

Материал	Тип	pH
Альгинат 1%	Полимер	6,2–6,3
Альгинат/желатин (80/20)	Полимер	6,6
ОКФ	Керамика	7,2
КГА	Керамика	7,4
ТКФ	Керамика	7,3
Альгинат/ОКФ 7,5 масс.%	Композиционный материал	7,1
Альгинат/КГА 7,5 масс.%	Композиционный материал	7,1
Альгинат/ТКФ 7,5 масс.%	Композиционный материал	7,2
Альгинат/желатин/ТКФ 7,5 масс.%	Композиционный материал	7,3
Альгинат/ТКФ/КГА/ОКФ (3/3/1,5 масс.%)	Композиционный материал	7,2–7,3

Примечание. pH полной ростовой среды с гранулами материала (1:10 по объему). Размеры гранул всех исследованных материалов составляли 500–750 мкм.

В соответствии с разработанным ранее алгоритмом исследования новых биоматериалов, предназначенных для реконструкции костных дефектов, на первом этапе провели оценку их цитосовместимости *in vitro* (с целью исключения токсичных образцов материалов), а также изучение матричных (для клеток) свойств при длительном (до 3 нед) совместном культивировании и отбор наиболее перспективных образцов.

Эксперименты *in vitro* выполнены на модели двух адгезионных клеточных линий: иммортализованных фибробластов человека (ФЧ), штамм 1608 hTERT, любезно предоставленный проф. Е.Е. Егоровым (Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва) и остеосаркомы человека линии MG-63 (Институт цитологии РАН, Российская коллекция клеточных культур, Санкт-Петербург).

Перед началом экспериментов стерильные ( $\gamma$ -облучение 15 кГр) образцы раскладывали в 96-луночные планшеты для культивирования («Costar», США): на каждый срок инкубации — 1 планшет (каждая проба — в триплетах) и заливали полной ростовой средой (ПРС): среда ДМЕМ (Пан-Эко, Москва), 10% эмбриональная телячья сыворотка (РАА, Австрия), глютамин (0,65 мг/мл), гентамицин (50 мкг/мл). После установления нейтральных значений pH (1–3 сут экспозиции образцов в ПРС со сменой среды) в платы с исследуемыми образцами (опыт) и без них (контроль — культуральный пластик полистирен) вносили клеточную суспензию (культуру ФЧ в плотности 20 тыс. клеток на лунку или MG-63 — 15 тыс. клеток на лунку) в объеме 200 мкл ПРС и инкубировали в течение 1–21 сут с регулярной заменой ПРС. Все операции осуществляли в стерильных условиях в атмосфере влажного воздуха, содержащего 5% CO<sub>2</sub>, при 37°C.

Жизнеспособность клеточных линий ФЧ и MG-63 в динамике оценивали с помощью МТТ-теста, который основан на способности дегидрогеназ живых клеток восстанавливать 3-(4,5-диметилтиазолил-2)-2,5-дифенилтетразолий бромистый (МТТ, «Sigma», США) в формазан. Количество образовавшегося формазана характеризует пролиферативную активность (жизнеспособность/количество) различных клеток человека и животных [15].

На каждом сроке эксперимента рассчитывали величину пула жизнеспособных клеток (ПЖК) по отношению к контролю. Материал считали нетоксичным в отношении клеточной линии при значениях ПЖК через 24 ч культивирования  $\geq 60\%$ . Материал считали цитосовместимым при отсутствии цитотоксичности и наличии матричных свойств поверхности (способности опытного образца материала длительно, не менее трех недель, поддерживать клеточную экспансию по крайней мере на уровне контрольных значений). На этапах экспериментов осуществляли визуальный контроль за процессами экспансии клетками поверхности биоматериалов и фотоархивирование.

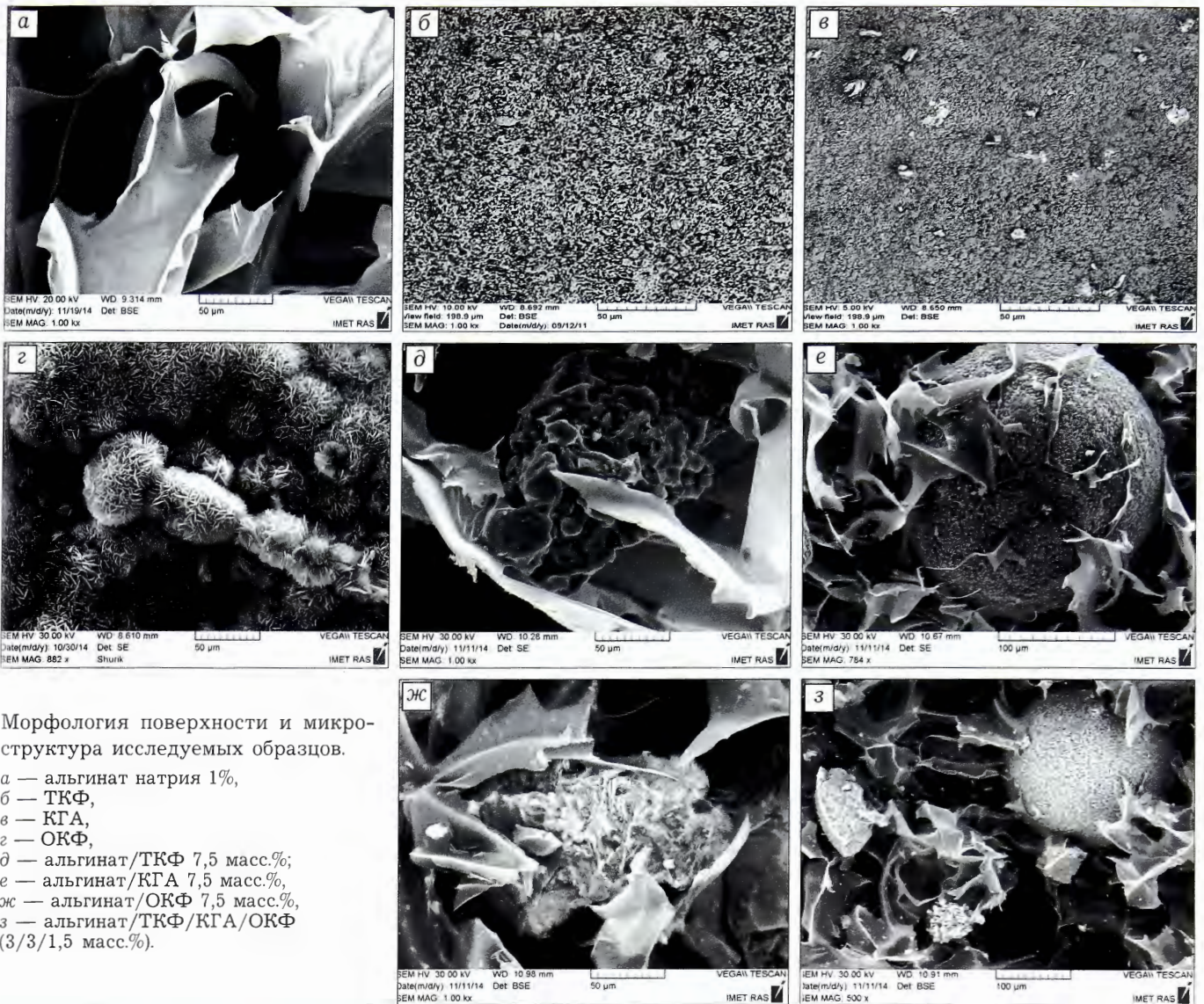
Обработку полученных результатов проводили стандартными методами вариационной статистики с использованием пакета программ Microsoft Excel 2000. Достоверность различий оценивали с использованием параметрического *t*-критерия Стьюдента; статистически значимыми считали различия при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Рентгенофазовый анализ показал, что изготовленные образцы соответствуют заданным составам. Морфология поверхности и микроструктура исследуемых образцов представлены на рисунке.

На модели линии ФЧ показано, что в контроле (при культивировании фибробластов на полистирене) происходит нарастание величины оптической плотности раствора формазана до 14 сут наблюдения с формированием плотного монослоя и далее — снижение величины данного показателя в последнюю неделю культивирования, что связано с торможением роста культуры вследствие дефицита поверхности для клеточной экспансии (табл. 2).

При изучении роста культуры ФЧ на гранулированных образцах альгината натрия 1% и композитном образце альгината с желатином установлено, что, несмотря на то, что величина оптической плотности раствора формазана в этих опытных группах практически на всех сроках наблюдения была достоверно ниже, чем в контроле, популяция фибробластов на них, начиная с 3-х суток культивирования, неуклонно возрастала и достигала значений, близких к контрольным на 21-е сутки (см. табл. 2). Таким образом, образцы альгината 1% и его композита с желатином нетоксичны в отношении культуры ФЧ и обладают удовлетворительными для клеток матричными свойствами



Морфология поверхности и микро-структура исследуемых образцов.

- а — альгинат натрия 1%,
- б — ТКФ,
- в — КГА,
- г — ОКФ,
- д — альгинат/ТКФ 7,5 масс.%;
- е — альгинат/КГА 7,5 масс.%;
- ж — альгинат/ОКФ 7,5 масс.%,
- з — альгинат/ТКФ/КГА/ОКФ (3/3/1,5 масс.%).

поверхности (способностью поддерживать длительную пролиферацию клеток), т.е. являются цитосовместимыми.

Оценка цитосовместимости пяти образцов композиционных материалов в системе альгинат — фосфаты кальция в сопоставлении с их составляющими показала, что наименее удачными из этих материалов оказались композиты с ОКФ, вероятно, в силу собственной цитотоксичности последнего: величина ПЖК для ОКФ составляла 39,3% через 1 сут, 14,6 % — через 2 нед и 27,8% — через 3 нед культивирования. Несмотря на то что композит альгината с ОКФ не проявлял токсичности в отношении культуры фибробластов на первых сроках наблюдения, он продемонстрировал неудовлетворительные матричные свойства: популяция ФЧ на данном образце крайне медленно нарастала до 10 сут культивирования с последующим выходом на плато (см. табл. 2). Близкие результаты были получены и для образца альгинат/ТКФ/ КГА/ ОКФ (см. табл. 2).

При анализе поведения ФЧ на образцах ТКФ, композиционных материалах состава альгинат/

ТКФ и альгинат/желатин/ТКФ выявлено отсутствие токсичности и наличие выраженных матричных свойств поверхности. Так, начиная с 3-х суток культивирования и до конца эксперимента, величина оптической плотности раствора формазана в образцах ТКФ статистически значимо превышала контрольные значения (см. табл. 2). Указанные выше композиционные материалы также были нетоксичны, при этом на композите альгинат/желатин/ТКФ ФЧ пролиферировали достоверно активнее, чем на образце состава альгинат/ТКФ (см. табл. 2).

Положительные результаты были получены и для КГА и его композита с альгинатом. Как видно из табл. 2, КГА нетоксичен для клеток, а нарастающая оптическая плотность раствора формазана в динамике эксперимента свидетельствует о наличии умеренных матричных (для культуры ФЧ) свойств его поверхности. В то же время фибробласты более эффективно колонизировали поверхность композита альгинат/КГА по сравнению с его составляющими. Так, после посева ФЧ на данный композит значения опти-



**Табл. 2.** Величины оптической плотности раствора формазана (МТТ-тест) и пула жизнеспособных ФЧ (ПЖК) в динамике культивирования

Образец	Срок эксперимента, сутки						
	1-е	3-и	7-е	10-е	14-е	17-е	21-е
Полистирен (контроль)	0,211±0,008	0,334±0,022	0,630±0,008	0,759±0,030	1,098±0,014	1,006±0,015	0,906±0,000
Альгинат 1%	<u>0,140±0,003*</u> 66,4	<u>0,199±0,006*</u> 59,6	<u>0,448±0,006*</u> 71,1	<u>0,583±0,030*</u> 76,8	<u>0,715±0,007*</u> 65,1	<u>0,897±0,043*</u> 89,2	<u>0,910±0,034</u> 100,4
Альгинат/желатин (80/20)	<u>0,143±0,005*</u> 67,7	<u>0,179±0,001*</u> 53,6	<u>0,449±0,008*</u> 71,3	<u>0,523±0,031*</u> 68,9	<u>0,854±0,022*</u> 77,8	<u>0,672±0,015*</u> 66,8	<u>0,822±0,036</u> 90,7
ОКФ	<u>0,083±0,003*</u> 39,3	<u>0,033±0,002*</u> 9,9	<u>0,053±0,009*</u> 8,4	<u>0,048±0,006*</u> 6,3	<u>0,160±0,003*</u> 14,6	<u>0,122±0,036*</u> 12,1	<u>0,252±0,013*</u> 27,8
КГА	<u>0,133±0,000*</u> 63,0	<u>0,287±0,016</u> 85,9	<u>0,518±0,014*</u> 80,2	<u>0,638±0,031</u> 84,1	<u>0,798±0,049*</u> 72,7	<u>0,801±0,014*</u> 79,6	—
ТКФ	<u>0,173±0,006*</u> 82,0	<u>0,415±0,005*</u> 124,3	<u>0,898±0,018*</u> 142,5	<u>0,990±0,007*</u> 130,4	<u>1,245±0,029*</u> 113,4	<u>1,192±0,026*</u> 118,5	<u>1,402±0,007*</u> 154,7
Альгинат/ОКФ	<u>0,144±0,001*</u> 68,2	<u>0,231±0,007*</u> 69,2	<u>0,422±0,015*</u> 67,0	<u>0,503±0,011*</u> 66,3	<u>0,478±0,032*</u> 43,5	<u>0,437±0,005*</u> 43,4	<u>0,520±0,014*</u> 57,4
Альгинат/КГА	<u>0,185±0,008</u> 87,7	<u>0,363±0,009</u> 108,7	<u>0,792±0,015*</u> 125,7	<u>1,117±0,014*</u> 147,2	<u>1,227±0,031*</u> 111,7	<u>1,286±0,166</u> 127,8	<u>1,292±0,049*</u> 142,6
Альгинат/ТКФ	<u>0,161±0,002*</u> 76,3	<u>0,254±0,003*</u> 76,0	<u>0,534±0,017*</u> 84,8	<u>0,670±0,017</u> 88,3	<u>0,835±0,008*</u> 76,0	<u>0,814±0,023*</u> 80,9	<u>0,804±0,003*</u> 88,7
Альгинат/желатин/ТКФ	<u>0,175±0,004*</u> 82,9	<u>0,289±0,009</u> 86,5	<u>0,654±0,011</u> 103,8	<u>0,665±0,004</u> 87,6	<u>0,866±0,018*</u> 78,9	<u>0,734±0,034*</u> 73,0	<u>0,962±0,033</u> 106,2
Альгинат/ТКФ/КГА/ОКФ	<u>0,151±0,002*</u> 71,5	<u>0,220±0,003*</u> 65,9	<u>0,488±0,003*</u> 77,5	<u>0,598±0,050</u> 78,8	<u>0,613±0,008*</u> 55,8	<u>0,627±0,026*</u> 62,3	<u>0,576±0,016*</u> 63,6

Примечание. Здесь и в табл. 4: в числителе — оптическая плотность (в усл. ед.), в знаменателе — ПЖК (в % относительно контроля). \* — статистически значимая разница с контролем ( $p < 0,05$ ).

ческой плотности раствора формазана стабильно нарастали в течение всего периода наблюдения, а величина ПЖК, начиная с третьих суток культивирования, превышала контрольные значения (см. табл. 2).

Далее для трех образцов композиционных материалов и их составляющих были рассчитаны величины прироста пула ФЧ в динамике культивирования. Показано, что к исходу 2-й недели

**Табл. 3.** Величины прироста популяции клеток ФЧ (в % относительно первых суток) на этапах культивирования

Образец	Этап культивирования, сутки			
	3-и	7-е	10-е	14-е
Полистирен (контроль)	58,3	198,5	259,7	420,4
Альгинат 1%	42,1	165,1	245,0	323,1
Альгинат/желатин (80/20)	25,2	214,0	265,7	497,2
КГА	115,8	289,5	379,7	500
ТКФ	139,9	419,1	472,3	620,0
Альгинат/КГА	96,2	328,1	503,6	563,2
Альгинат/ТКФ	57,8	231,6	316,1	418,6
Альгинат/желатин/ТКФ	65,1	273,7	280,0	394,9

культивирования минимальным данный показатель был для альгината натрия, составив 323,1%, максимальным — для ТКФ: прирост популяции фибробластов в указанные сроки составил 620% (табл. 3).

Второй тест-моделью для исследования цитосовместимости композиционных материалов состава полисахарид — фосфаты кальция явилась линия остеосаркомы человека MG-63. Следует отметить, что в контроле (полистирен) эта клеточная популяция более активно, чем ФЧ нарастала в течение 3 нед, о чем свидетельствовали показатели оптической плотности раствора формазана на этапах эксперимента (табл. 4).

Анализ результатов культивирования MG-63 на образце альгината натрия 1% позволил расценить его как цитосовместимый, несмотря на то, что через сутки к его поверхности прикрепилось лишь 59% клеток. Однако далее оптическая плотность раствора формазана активно нарастала, что являлось подтверждением существенного увеличения численности пула клеток. Этот показатель, а также ПЖК на разных сроках культивирования свидетельствовали о наличии умеренных матричных свойств поверхности данного образца материала в отношении линии MG-63 (см. табл. 4).

**Табл. 4.** Величины оптической плотности раствора формазана (МТТ-тест) и пула жизнеспособных клеток (ПЖК) линии остеосаркомы человека MG-63 в динамике культивирования

Образец	Срок эксперимента, сутки						
	1-е	3-и	7-е	10-е	14-е	17-е	21-е
Полистирен (контроль)	0,395±0,015	0,510±0,010	0,995±0,026	1,345±0,021	1,629±0,010	1,843±0,049	2,675±0,037
Альгинат 1%	0,233±0,000* 59,0	0,364±0,016* 71,4	0,889±0,057 89,3	1,007±0,010* 74,9	1,015±0,022* 62,3	1,159±0,000* 62,9	1,606±0,000* 60,0
Альгинат/желатин (80/20)	0,196±0,005* 49,6	0,349±0,002* 68,4	1,098±0,047 110,4	1,105±0,047* 82,2	1,264±0,031* 77,6	1,198±0,063* 65,0	1,694±0,000* 63,3
ОКФ	0,267±0,009* 67,6	0,226±0,014* 44,3	0,273±0,039* 27,4	0,160±0,025* 11,9	0,126±0,017* 7,7	0,378±0,000* 20,5	—
КГА	0,317±0,012* 80,3	0,514±0,008 100,8	1,294±0,062* 130,0	1,691±0,013* 125,7	1,811±0,023* 111,2	2,241±0,046* 121,6	3,084±0,130* 115,3
ТКФ	0,395±0,008 100,0	0,761±0,009* 149,2	1,773±0,068* 178,2	1,965±0,033* 146,1	2,260±0,095* 138,7	2,653±0,168* 144,0	2,868±0,167 107,2
Альгинат/ОКФ	0,232±0,004* 58,7	0,326±0,007* 63,9	0,600±0,043* 60,3	0,798±0,026* 59,3	1,037±0,016* 78,0	1,093±0,007* 59,3	1,626±0,068* 60,8
Альгинат/КГА	0,304±0,008* 77,0	0,581±0,016* 113,9	1,562±0,059* 157,0	1,805±0,056* 134,2	1,818±0,049* 111,6	1,858±0,060 100,8	2,725±0,110 101,9
Альгинат/ТКФ	0,232±0,011* 58,7	0,356±0,012* 69,8	0,765±0,045* 76,9	0,944±0,016* 70,2	1,248±0,019* 76,6	1,349±0,079* 73,2	1,918±0,120* 71,7
Альгинат/желатин/ТКФ	0,262±0,003* 66,3	0,426±0,003* 83,5	0,861±0,018* 86,5	1,021±0,030* 75,9	1,339±0,057* 82,2	1,630±0,077 88,4	2,320±0,037* 86,7
Альгинат/ТКФ/КГА/ОКФ	0,218±0,004* 55,2	0,365±0,006* 71,6	0,747±0,033* 75,1	0,863±0,054* 64,2	0,835±0,034* 51,3	1,161±0,083* 63,0	1,454±0,142* 54,4

При исследовании поведения культуры MG-63 на гранулах ОКФ обнаружено, что при сравнительно высоких показателях оптической плотности раствора формазана (0,267 усл. ед. против 0,395 усл. ед. в контроле) и удовлетворительной величине ПЖК через 24 ч культивирования далее этот материал проявил токсичность, так как с увеличением срока инкубации, несмотря на периодическую смену ПРС, ПЖК неуклонно снижался. В композите с альгинатом натрия токсичность для линии MG-63 ОКФ не проявлял, демонстрируя умеренные матриксные свойства, равно как и образец альгинат/ТКФ/КГА/ОКФ, матриксные свойства которого также, вероятно, определялись составляющей на основе полисахарида (см. табл. 4).

Выраженные матриксные свойства поверхности в отношении культуры MG-63 продемонстрировали КГА и композит состава альгинат/КГА. Так, на гранулах КГА через 24 ч культивирования оказалось 80,4% пула высевных клеток, а далее популяция MG-63 прогрессивно нарастала, о чем свидетельствовало увеличение оптической плотности раствора формазана и ПЖК на этапах наблюдения. На композите состава альгинат/КГА активная экспансия поверхности происходила с 3-х суток и до завершения культивирования (см. табл. 4). Полученные для линии MG-63 данные подтверждают цитосовместимость и удовлетвори-

тельные матриксные свойства как композита в целом, так и его составляющих.

Популяция MG-63 активно прикреплялась к гранулам ТКФ и пролиферировала: через сутки после посева на поверхности данного матрикса был выявлен практически весь пул клеток, а к 17-м суткам популяция клеток значительно превышала контрольные значения (см. табл. 4).

Композиционный материал состава альгинат/ТКФ, несмотря на невысокие значения ПЖК в 1-е сутки эксперимента, далее проявил себя как цитосовместимый с удовлетворительными матриксными свойствами, которые обеспечивались, вероятно, в значительной мере наличием ТКФ в его составе. Так, оптическая плотность раствора формазана для этого образца увеличивалась на протяжении всего периода культивирования, а величина ПЖК на всех этапах оставалась стабильно высокой (см. табл. 4).

При культивировании клеток MG-63 на гранулах образца состава альгинат/желатин после посева к поверхности прикрепилось лишь 49,6% клеточного пула, однако потом они начали активно пролиферировать, в результате чего величина оптической плотности раствора формазана и ПЖК на 7-е сутки эксперимента даже несколько превысила контрольные значения. Далее скорость пролиферации несколько снизилась. На образце со-

става альгинат/желатин/ТКФ популяция МG-63 прогрессивно нарастала в течение всего периода наблюдения со сравнительно высокими значениями ПЖК (см. табл. 4). Полученные результаты позволили сделать заключение о цитосовместимости и наличии удовлетворительных свойств поверхности композиционного материала состава альгинат/желатин/ТКФ и альгинат/ТКФ.

Динамика прироста пула клеток МG-63 оказалась сходной с таковой для ФЧ: пул клеток МG-63, прикрепившихся к поверхности разных материалов, был разным (см. табл. 4), однако далее шла активная пролиферация клеток, причем скорость прироста популяции во всех опытных группах превосходила контроль (табл. 5).

Таким образом, на основании анализа полученных данных по оценке токсичности, наличия матриксных (для клеток) свойств поверхности и расчета величины прироста популяции двух клеточных линий для дальнейшей работы отобраны альгинат 1%, композит альгинат/желатин (80/20), КГА, ТКФ и композиты альгинат/КГА, альгинат/ТКФ и альгинат/желатин/ТКФ как нетоксичные, с удовлетворительными матриксными свойствами поверхности.

*Работа выполнена при финансовой поддержке  
Министерства образования и науки РФ  
(Соглашение № 14.604.21.0132).*

ЛИТЕРАТУРА [REFERENCES]

- Rodriguez Garcia M., Naves Diaz M., Cannata Andia J.B. Bone metabolism, vascular calcifications and mortality: Associations beyond mere coincidence. *J. Nephrol.* 2005; 18 (4): 458–63.
- Fu K., Xu Q., Czernuszka J., Triffitt J.T., Xia Z. Characterization of a biodegradable coralline hydroxyapatite/calcium carbonate composite and its clinical implementation. *Biomed. Mater.* 2013; 8 (6): 065007.
- Venkatesan J., Kim Se-K. Marine Biomaterials. In: Kim Se.-K. ed. Springer Handbook of Marine Biotechnology. Heidelberg–Berlin: Springer; 2015: 3–19.
- Gelinsky M. Mineralised collagen as biomaterial and matrix for bone tissue engineering. In: Meyer U., Meyer Th., Handschel J., Wiesmann H.-P., eds. Fundamentals of tissue engineering and regenerative medicine. Heidelberg–Berlin: Springer; 2009: 485–93.
- Serino G., Rao W., Iezzi G., Piattelli A. Polylactide and polyglycolide sponge used in human extraction sockets: bone formation following 3 months after its application. *Clin. Oral. Implants Res.* 2008; 19 (1): 26–31.
- Samavedi S., Whittington A.R., Goldstein A.S. Calcium phosphate ceramics in bone tissue engineering: A review of properties and their influence on cell behavior. *Acta Biomater.* 2013; 9 (9): 8037–45.

**Табл. 5.** Величины прироста популяции клеток остеосаркомы человека МG-63 (в % относительно первых суток) на этапах культивирования

Образец	Этап культивирования, сутки			
	3-и	7-е	10-е	14-е
Полистирен (контроль)	29,1	151,9	240,5	312,4
Альгинат 1%	56,2	281,5	322,2	325,6
Альгинат/желатин (80/20)	78,1	460,2	463,8	544,9
КГА	62,1	308,2	433,4	471,3
ТКФ	92,7	348,9	397,5	472,2
Альгинат/ОКФ	40,5	158,6	244,0	347,0
Альгинат/КГА	91,1	413,8	493,7	498,0
Альгинат/ТКФ	53,4	229,1	306,9	437,9
Альгинат/желатин/ТКФ	62,6	228,6	289,7	411,1

- Hench L.L. Bioceramics: From concept to clinic. *J. Am. Ceram.* 1991; 74: 1487–1510.
- Саркисов П.Д., Михайленко Н.Ю., Хавала В.М. Биологическая активность материалов на основе стекла и систаллов. *Стекло и керамика.* 1993; 9: 10 [Sarkisov P.D., Mikhailenko N.Yu., Khalava V.M. Biological activity of materials based on glass and sitalls. *Steklo i keramika.* 1993; 9: 10 (in Russian)].
- Sariibrahimoglu K., Leeuwenburgh S.C., Wolke J.G., Yubao L., Jansen J.A. Effect of calcium carbonate on hardening, physicochemical properties, and in vitro degradation of injectable calcium phosphate cements. *J. Biomed. Mater. Res. A.* 2012; 3: 712–9.
- Suzuki O. Octacalcium phosphate (OCP)-based bone substitute materials. *Japanese Dental Science Review.* 2013; 49: 58–71.
- Sun J., Tan H.. Alginate-based biomaterials for regenerative medicine applications. *Materials.* 2013; 6: 1285–1309.
- Kundu J., Pati F., Shim J.-H., Cho D.-W. Rapid prototyping technology for bone regeneration. Principles and Applications. Sawston, Cambridge: Woodhead Publ.; 2014: 254–84.
- Komlev V.S., Barinov S.M., Koplík E.V. A method to fabricate porous spherical hydroxyapatite granules intended for time-controlled drug release. *Biomaterials.* 2002; 23: 3449–54.
- Komlev V.S., Barinov S.M., Bozo I.I., Deev R.V., Eremin I.I., Fedotov A.Y. et al. Bioceramics composed of octacalcium phosphate demonstrate enhanced biological behaviour. *ACS Appl. Mater. Interfaces.* 2014; 6 (19): 16610–20.
- Mossman T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J. Immunol. Methods.* 1983; 65: 55–63.

**Сведения об авторах:** Сергеева Н.С. — доктор биол. наук, проф., рук. отделения прогноза эффективности консервативного лечения ФМИЦ им. П.А. Герцена, проф. каф. биологии педиатрического факультета РНИМУ им. Н.И. Пирогова; Комлев В.С. — доктор техн. наук, вед. науч. сотр. лаборатории керамических и композиционных материалов ИМЕТ РАН; Свиридова И.К. — канд. биол. наук, старший науч. сотр. отделения прогноза эффективности консервативного лечения ФМИЦ им. П.А. Герцена; Кирсанова В.А., Ахмедова С.А. — кандидаты биол. наук, науч. сотр. отделения прогноза эффективности консервативного лечения ФМИЦ им. П.А. Герцена; Кувшинова Е.А. — мл. науч. сотр. отделения прогноза эффективности консервативного лечения ФМИЦ им. П.А. Герцена; Федотов А.Ю. — канд. техн. наук, старший науч. сотр. лаборатории керамических и композиционных материалов ИМЕТ РАН, Тетерина А.Ю. — аспирант лаборатории керамических и композиционных материалов ИМЕТ РАН; Баринов С.М. — доктор техн. наук, проф., член-корр. РАН, зам. директора по науке ИМЕТ РАН.

**Для контактов:** Сергеева Наталья Сергеевна. 125284, Москва, 2-й Боткинский пр., 3, ФМИЦ им. П.А. Герцена, отделение прогноза эффективности консервативного лечения. Тел. +7 (495) 945-74-15. E-mail: prognoz.06@mail.ru.

© Коллектив авторов, 2015

## ЭФФЕКТИВНОСТЬ ГЕН-АКТИВИРОВАННОГО ОСТЕОПЛАСТИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА НА ОСНОВЕ ОКТАКАЛЬЦИЕВОГО ФОСФАТА И ПЛАЗМИДНОЙ ДНК С ГЕНОМ VEGF В ВОСПОЛНЕНИИ «КРИТИЧЕСКИХ» КОСТНЫХ ДЕФЕКТОВ

И.Я. Бозо, Р.В. Деев, А.Ю. Дробышев, В.С. Комлев, С.И. Рожков, И.И. Еремин, И.Г. Далгатов, Г.А. Воложин, В.И. Грачев, А.Ю. Федотов, А.А. Исаев

Институт стволовых клеток человека, Москва; ГБОУ ВПО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова», Москва; ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации — Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна» ФМБА России, Москва; ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», Казань; ФГБУН «Институт металлургии и материаловедения им. А.А. Байкова» РАН, Москва; ГБОУ ВПО «Первый московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова», Москва; рентгенодиагностические лаборатории «3Dlab», Москва, РФ

*Ген-активированные остеопластические материалы являются принципиально новым классом медицинских изделий для костной пластики. В исследовании проведена оценка биологического действия материала на основе октакальциевого фосфата и плазмидной ДНК с геном сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF), имплантированного в дефекты теменных костей кроликов диаметром 10 мм. Выявлено формирование костного регенерата вокруг гранул материала даже в центральной части дефекта, а также наличие костного мозга в межтрабекулярном пространстве на сроке 60 сут. В контроле — имплантация носителя без генных конструкций — регенерация осуществлялась главным образом со стороны краев костного дефекта. Использование ген-активированного остеопластического материала приводило к выраженной остеоиндукции, обеспечившей ускорение и повышение интенсивности новообразования костной ткани.*

**Ключевые слова:** ген-активированный остеопластический материал, октакальциевый фосфат, плазмидная ДНК с геном *vegf*, дефекты теменных костей.

### *Efficacy of Gen-Activated Osteoplastic Material Based on Octacalcium Phosphate and Plasmid DNA containing vegf Gene for Critical-sized Bone Defects Substitution*

*I.Ya. Bozo, R.V. Deev, A.Yu. Drobyshev, V.S. Komlev, S.I. Rozhkov, I.I. Eryomin, I.G. Dalgatov, G.A. Volozhin, V.I. Grachyov, A.Yu. Fedotov, A.A. Isaev*

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; Kazan (Volga region) Federal University, Kazan; A. A. Baikov Institute of Metallurgy and Materials Science, Moscow; I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow; X-ray Diagnostics Laboratories «3D Lab», Moscow, Russia.

*Gene-activated osteoplastic materials are a principally new class of medical devices for bone plasty. The purpose of the study was to evaluate the biological action of the material based on octacalcium phosphate and plasmid DNA containing vascular endothelial growth factor (VEGF) gene. Study material was implanted into 10 mm diameter rabbit parietal bone defects. Formation of bone regenerates around material granules even in the center of the defect and the presence of bone marrow in intertrabecular space on day 60 after implantation was detected. In control group of animals — implantation of carrier without gene constructions — regeneration took place mainly on the bone defect margins. Use of gene-activated osteoplastic material resulted in pronounced osteoinduction that provided both acceleration of the regeneration and increase of new bone tissue formation intensity.*

**Key words:** gene-activated osteoplastic materials, octacalcium phosphate, plasmid DNA containing *vegf* gene, parietal bone defects.

Остеопластические материалы являются высоко востребованными медицинскими изделиями, они показаны для замещения костных дефектов и восполнения участков атрофии костной ткани [1–3]. Только в США, по данным Национального центра статистики здравоохранения, в 2010 г. общее ко-

личество операций с применением остеопластических материалов у пациентов травматолого-ортопедического профиля составило не менее 1,3–1,5 млн [4].

Абсолютное большинство разрешенных для клинического применения остеопластических ма-

териалов имеют ограниченную эффективность, так как оказывают только osteoconductive действие, не содержат биологически активные компоненты, стандартизированные по качественным и количественным показателям и способные обеспечить osteoinduction и (или) osteogenesis [5].

В этой связи разработки более эффективных osteoplastic материалов высоко актуальны и ведутся в рамках трех биотехнологических направлений: постгеномного, клеточного и генного, которые разделены таким образом по природе биологически активного компонента, входящего в их состав — факторы роста, клетки или генные конструкции соответственно.

Первые два подхода имеют ряд недостатков. В частности, факторы роста в условиях операционной раны быстро разрушаются, являются короткоживущими, что не позволяет «протеин-активированному» osteoplastic материалу в полной мере реализовать свое действие. Тканеинженерные костные графты недостаточно эффективны в случае протяженных костных дефектов из-за гибели большинства клеток, входящих в состав; также имеются сложности правового регулирования и регистрации медицинских изделий, содержащих живые клетки. Тем не менее оба указанных направления уже имеют прецеденты успешного внедрения в клиническую практику. При этом более перспективные ген-активированные osteoplastic материалы, лишенные недостатков первых двух групп, до недавнего времени как в России, так и за рубежом находились на стадии доклинических испытаний. Отчасти такое отставание коррелирует с меньшим количеством исследований, проведенных в рамках генной терапии, по сравнению с двумя другими биотехнологическими подходами.

Внедрение на территории Российской Федерации и Украины геннотерапевтического лекарственного препарата «Неоваскулген» (Институт стволовых клеток человека, Россия), обладающего ангиогенной активностью, стало научно-техническим заделом в разработке ген-активированных osteoplastic материалов. Учитывая критическую значимость ангиогенеза в репаративной регенерации костной ткани [6], представлялось целесообразным использовать плазмидную ДНК с геном, кодирующим сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF), для создания ген-активированного osteoplastic материала.

Целью данного исследования являлась оценка биологического действия ген-активированного osteoplastic материала, состоящего из octacalcium phosphate (ОКФ) и плазмидной ДНК с геном *vegf*, в ортотопических условиях — в модели костного дефекта «критических» размеров.

#### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

**Октакальциевый фосфат.** Керамические гранулы ОКФ получали обработкой солями ортофос-

форной кислоты карбоната кальция согласно [7]. На первом этапе гранулы карбоната кальция переводили в дикальцийфосфат дигидрат (ДКФД) в растворах солей ортофосфорной кислоты (40°C, pH 4,1–5,5; 7 сут). Затем проводили гидролиз ДКФД с образованием ОКФ в растворе ацетата натрия (37°C, значение pH ? 6,5; 7 сут).

**Ген-активированный osteoplastic материал.** Совмещение гранул ОКФ и плазмидной ДНК с геном *vegf* выполняли по ранее разработанному лабораторному протоколу [8]. Лекарственный препарат «Неоваскулген» разводили в воде для инъекций согласно инструкции производителя. Отмытые в растворах фосфатного буфера различных концентраций гранулы ОКФ инкубировали с раствором плазмидной ДНК в течение 10 ч при постоянном встряхивании и температуре 37°C. Затем раствор с неабсорбированными генными конструкциями эвакуировали, ген-активированный материал подвергали сушке при температуре 37°C в течение 10 ч.

**Дизайн исследования.** Исследование выполнено на 15 кроликах породы Шиншилла массой 2–2,5 кг обоего пола с соблюдением международных правил гуманного обращения с лабораторными животными. У каждого животного формировали по два одинаковых симметричных полнослойных дефекта обеих теменных костей диаметром по 10 мм, которые являются «критическими» для кроликов, так как естественный восстановительный процесс без каких-либо оптимизирующих влияний не завершается полной консолидацией. В дефекты правых теменных костей имплантировали ген-активированный osteoplastic материал (экспериментальная группа), состоящий из ОКФ и плазмидной ДНК с геном *vegf*, в дефекты левых теменных костей — носитель без плазмидной ДНК (контрольная группа).

**Протокол операции.** После премедикации (атропин 0,04 мг/кг, цефазолин 25 мг/кг внутримышечно) и седации (золетил 100 в концентрации 10 мг/кг), асептической обработки операционного поля под инфильтрационным обезболиванием (ультракаин 1,7 мл) производили линейный разрез мягких тканей до надкостницы в проекции сагиттального шва от бугра затылочной кости кпереди длиной 2–2,5 см. Кожу и мышцы отводили латерально с обнажением надкостницы. Затем рассекали надкостницу, надкостничные лоскуты отводили латерально с обнажением поверхности теменных костей. У каждого животного с помощью трепана (наружный диаметр 10 мм) формировали дефекты теменных костей без повреждения твердой мозговой оболочки (рис. 1). Костные дефекты заполняли исследуемыми материалами. Операционную рану ушивали послойно узловыми швами Vicryl 4/0 (надкостница, мышцы), 5/0 (кожа). Сведение краев рассеченной надкостницы узловыми швами обеспечивало надежную фиксацию имплантированных материалов в пределах костных дефектов.

Животных выводили из эксперимента путем передозировки зоветила через 30, 60 и 90 сут. Удаляли крышу черепа с зонами ранее выполненных дефектов, фиксировали в 4% растворе нейтрального формалина и подвергали дальнейшим исследованиям.

Конусно-лучевую компьютерную томографию эксплантированных материалов выполняли не позднее 7 сут после фиксации в 4% растворе нейтрального формалина на компьютерном томографе J. Morita 3D Accuitomo 170 («J. Morita Corporation», Япония). Каждый образец сканировали отдельно, не извлекая его из банки с фиксирующим раствором, при одинаковых режимах и параметрах экспозиции: размер воксела 0,08 мм, 80кВ, 2 мА.

Анализ томограмм проводили стандартными инструментами в программном обеспечении Planmeca Romexis viewer («Planmeca Oy», Финляндия). Плотность регенерата измеряли в аксиальной плоскости в относительных единицах, приближенных к единицам Хаунсфилда (HU) на трех уровнях: наружная, внутренняя кортикальные пластинки, а также в срединной плоскости (уровень губчатого вещества). Для измерений использовали инструмент ROI (region of interest) округлой формы, подбирая диаметр круга в 10 мм и точно позиционируя его в границах ранее выполненных костных дефектов. Из трех полученных значений плотности регенерата в области костного дефекта (на трех уровнях в аксиальной проекции) рассчитывали показатели для статистического анализа.

**Гистологическое исследование.** После декальцинации в растворе Биодек-Р («Bio-optica», Италия) крышу черепов разделяли на две половины по сагитальному шву. Затем выполняли разрез во фронтальной плоскости через середину ранее выполненного костного дефекта. Для последующего гистологического анализа использовали дистальную (затылочную) половину теменной кости с регенератом. Избыток костной ткани со стороны затылочной кости отсекали. Микропрепараты изготавливали по стандартной методике. Выполняли окраску срезов гематоксилином и эозином, а также трихромными красителями (по Маллори или Масону — Голднеру). Все изготовленные препараты подвергали сканированию (Mirax scanner, Carl Zeiss), цифровые изображения анализировали при различных увеличениях. Для количественной оценки костного регенерата в зоне имплантации материалов выполняли гистоморфометрический анализ по стандартному протоколу. На первом этапе в программе анализа цифровых изображений Panoramic Viewer («3DHISTECH Ltd», США) определяли границы костных дефектов, выполняли разметку гистотопограммы на 4 равные части по

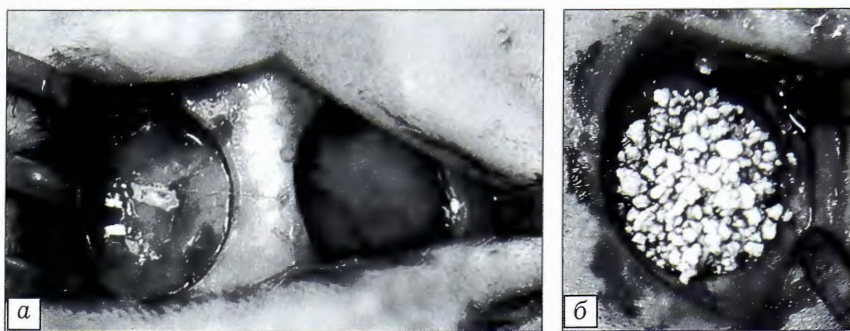


Рис. 1. Дефекты теменных костей кролика диаметром 10 мм.

а — до имплантации остеопластических материалов, б — после имплантации ген-активированного остеопластического материала.

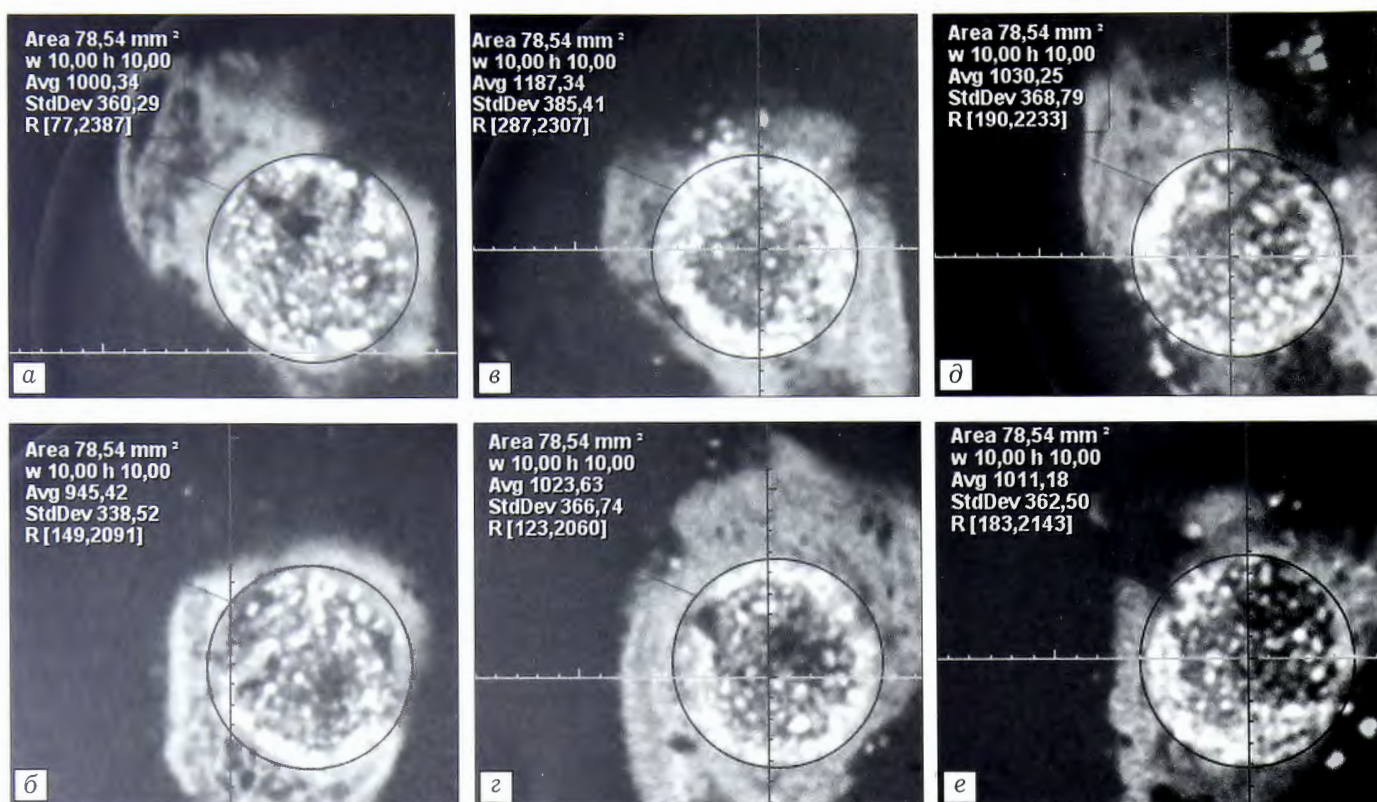
2,5 мм: 2 периферических и 2 центральных. Две внутренние обозначались как одна центральная зона, две крайние — как одна периферическая. В каждой из четырех частей гистотопограммы определяли долю костного регенерата с использованием программы ImageJ (National Institutes of Health, США).

**Статистический анализ.** На первом этапе для статистического анализа полученных данных (плотность регенерата в области костного дефекта, доля костного регенерата в зонах дефекта, диаметр гранул остеопластических материалов) были использованы описательные методы: определение среднего значения, медианы, среднего квадратического отклонения, стандартной ошибки среднего значения, нижнего и верхнего квартилей. Затем определено соответствие распределения выявленных количественных параметров в каждой группе (серии) закону нормального распределения с помощью критерия Шапиро — Уилка. В случае непараметрического распределения количественных признаков для одновременного сравнения более двух независимых групп использовали непараметрический критерий Краскелла — Уоллиса, а для выявления различий между двумя независимыми группами по-отдельности — *U*-критерий Манна — Уитни с поправкой Бонферрони. Для сравнения количественных параметров на разных сроках в пределах одной группы применяли критерий Вилкоксона. Во всех случаях уровень статистической значимости различий был принят за  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ

В ходе исследования ни одно из лабораторных животных не погибло до срока выведения. В процессе ежедневного динамического наблюдения не было выявлено ни одного случая значимого изменения поведенческих реакций и аппетита. Послеоперационные раны у всех животных зажили первичным натяжением. Ни в одном случае не было зафиксировано каких-либо побочных явлений общего или местного характера.

По данным конусно-лучевой компьютерной томографии через 30 сут в контрольной группе границы дефектов теменных костей прослеживались более четко, чем в случае применения ген-акти-



**Рис. 2.** Данные конусно-лучевой компьютерной томографии (аксиальная проекция) зон дефектов теменных костей кроликов, заполненных исследуемыми материалами, через 30 (а, б), 60 (в, г) и 90 (з, д) сут после имплантации. а, в, д — контрольная группа; б, г, е — экспериментальная группа. Кругом обозначена область интереса (ROI).

вированного остеопластического материала. В обеих группах костные дефекты были заполнены рентгенконтрастными гранулами материалов повышенной по сравнению с окружающей костной тканью плотности по НУ. Большинство гранул материалов определялись как дискретные участки повышенной рентгенконтрастности. Между гранулами имплантированного материала выявлялись участки пониженной плотности. Средняя плотность по площади костного дефекта (при диаметре 10 мм — 78,54 мм<sup>2</sup>) в контрольной группе составила от 944,3±361,4 до 1061±412,2 НУ, а в экспериментальной — от 916,2±418,6 до 1177,5±329,3 НУ (рис. 2, а, б).

Через 60 сут границы костных дефектов в обеих группах прослеживались менее четко: практически не определялась зона пониженной рентгенконтрастности между расположенными на периферии гранулами материалов и краями костного дефекта, наблюдалось внедрение гранул материала в окружающую дефект костную ткань. Характерной особенностью также являлось увеличение плотности периферической зоны регенерата, что было обусловлено, вероятно, как смещением гранул ОКФ к периферии, так и образованием костной ткани со стороны теменных костей. При этом в центральной части определялись участки с резко пониженной плотностью: менее 100 НУ. Как и в случае с ОКФ, плотность периферической зоны регенерата (2–4 мм от края ранее выполненного

дефекта) увеличивалась (рис. 2, в, г). Средняя плотность тканей в зоне костного дефекта в контрольной и экспериментальной группах варьировала от 1153,8±362,2 до 1272,4±327,6 НУ и от 994,8±361,4 до 1098,3±418,6 НУ соответственно.

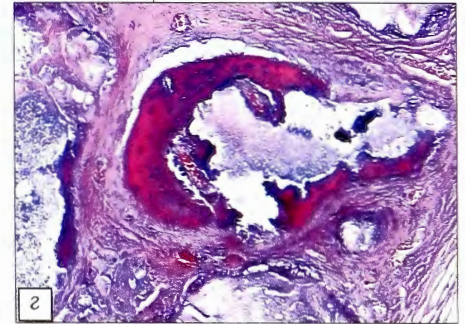
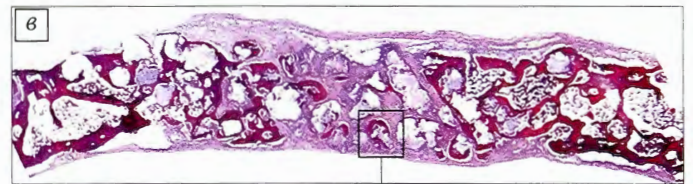
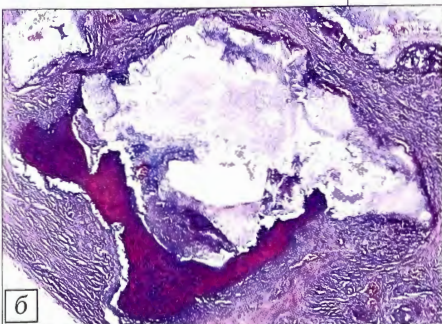
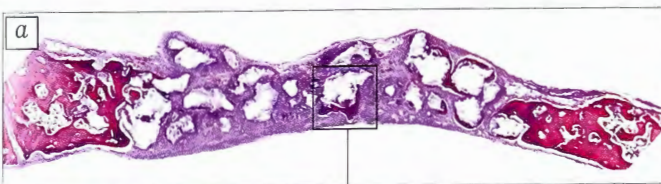
Через 90 сут в обеих группах края теменных костей плавно переходили в гранулы материалов, формируя нечеткую, трудно различимую, неровную границу. Кроме того, как в контрольной, так и в экспериментальной группе наблюдалось увеличение минимальной плотности регенерата в центральной части костного дефекта до 200–220 НУ, что, по-видимому, обусловлено новообразованием костной ткани и ее минерализацией. Гранулы в периферической зоне характеризовались меньшей дискретностью: большинство гранул сливались в относительно гомогенные участки с повышенной плотностью, что могло быть обусловлено объединением их костным регенератом (рис. 2, д, е). Средняя плотность тканей в зоне ранее выполненного костного дефекта в контрольной группе составила от 986,5±384 до 1106,5±391,6 НУ, а в экспериментальной — от 1010,3±374,7 до 1275,3±368,3 НУ.

В целом в экспериментальной группе средняя плотность тканей в зоне костного дефекта на всех сроках наблюдения несколько превышала значение показателя в контроле, хотя различия не были статистически значимыми (рис. 3).

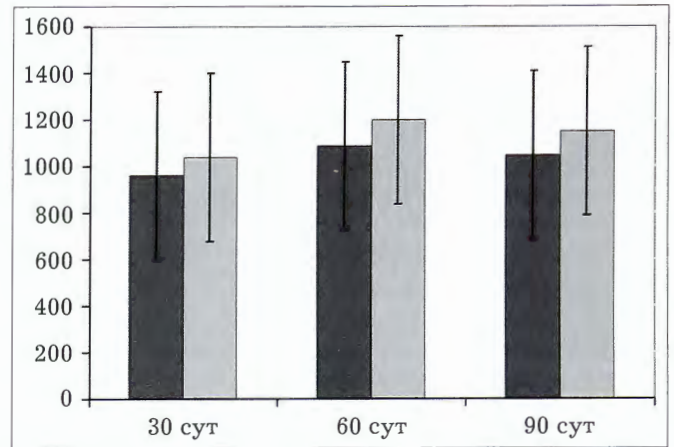
По данным гистологического исследования через 30 сут в обеих группах большая часть костного

дефекта была выполнена реактивно измененной рыхлой волокнистой соединительной тканью (РВСТ), окружающей гранулы материалов. Образование костной ткани наблюдалось главным образом со стороны опилов теменных костей: средняя протяженность костного регенерата с периферии составила 1–1,5 мм. В контроле вокруг некоторых гранул ОКФ, расположенных на расстоянии 3 мм от границ дефекта, определялись участки репаративного остеогистогенеза в виде «ободков» новообразованной ретикулофиброзной костной ткани толщиной от 10 до 105 мкм. Однако большая часть гранул, в том числе в центральной части дефекта, была окружена только РВСТ без признаков остеогистогенеза, с единичными гигантскими многоядерными клетками инородных тел и остеокластами. В экспериментальной группе большинство гранул, локализованных в центральной части дефекта (в 2,5–2,8 мм от края растущего с периферии регенерата), было окружено новообразованной костной тканью.

Через 60 сут после имплантации ОКФ центральная часть дефекта диаметром 6,5–7 мм была заполнена преимущественно РВСТ, протяженность костного регенерата из опилов теменных костей составила более 3 мм (рис. 4, а). В ряде случаев даже в центральной части дефекта определялись единичные гранулы ОКФ, окруженные новообразованной костной тканью (рис. 4, б). В образцах с ген-активированным остеопластическим материалом новообразованная костная ткань определялась на всем протяжении костного дефекта (рис. 4, в). Около 3 мм центральной части все еще были выполнены преимущественно РВСТ, хотя вокруг гранул, локализующихся даже в этой зоне, наблюдался костный регенерат (рис. 4, г). Только в экспериментальной группе на данном сроке был выявлен красный костный мозг между трабекулами регенерата, исходящего из опилов теменных костей. В ряде полей зрения «ниши» костного мозга были ограничены гранулами ген-активированного материала, непосредственно контактирующими с клетками стромы (см. рис. 4, в).



**Рис. 4.** Гистотопограммы дефектов теменных костей кроликов контрольной (а, б) и экспериментальной (в, г) групп через 60 сут после имплантации. Окраска гематоксилином и эозином. Ув.: а, в ×40; б, г ×250.



**Рис. 3.** Изменение средней плотности тканей (в HU) в пределах дефектов теменных костей на разных сроках наблюдения после имплантации исследуемых материалов. Здесь и на рис. 5: ■ — контрольная группа; ■ — экспериментальная группа.

Через 90 сут в контроле костный регенерат простирался от одного опилов теменной кости до другого. В периферических зонах новообразованная костная ткань была более объемной, ремоделированной в пластинчатую; в центральной части дефекта — прослеживалась только вокруг гранул имплантированного материала. Участки дефекта, свободные от гранул, были выполнены РВСТ. В экспериментальной группе наблюдалась практически полная консолидация костного дефекта. В каждом случае определялся лишь небольшой участок протяженностью менее 1 мм, выполненный РВСТ. Большая же часть дефекта была замещена новообразованной костной тканью, частично ремоделированной в пластинчатую. Трабекулы костного регенерата с инкрустированными в них гранулами материала формировали единую, связанную структуру. Костный мозг определялся в периферических зонах новообразованной костной ткани.

Вышеуказанные результаты были подтверждены количественно гистоморфометрическим анализом. Если доля костного регенерата в периферической зоне в обеих группах была сопоставима, то



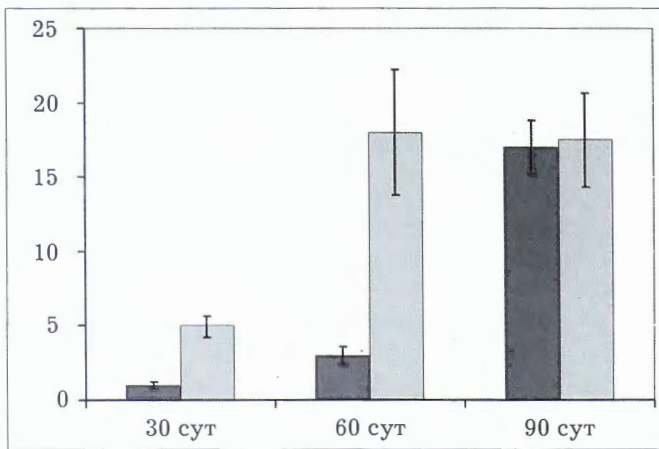


Рис. 5. Доля (в %) костного регенерата в центральной части костных дефектов на разных сроках после имплантации исследуемых материалов.

в центральной зоне различия, особенно на ранних сроках наблюдения, были статистически значимы. На сроке в 60 сут в случае использования ген-активированного материала показатель превышал таковой в группе с ОКФ в 5,3 раза. При этом к сроку в 90 сут доля костного регенерата в центре дефекта в обеих группах практически выравнивалась (рис. 5).

#### ОБСУЖДЕНИЕ

Основу биологического действия ген-активированных остеопластических материалов обеспечивают генные конструкции, входящие в их состав [9–11]. За более чем 10 лет разработок в данной области количество исследуемых генных конструкций с учетом вариаций векторов (вирусные и невирусные) и трансгенов превысило 60. Выбор же плазмидной ДНК с геном *vegf* — действующего вещества лекарственного препарата «Неоваскулен», был продиктован, с одной стороны, доказанной безопасностью и ангиогенной активностью, а с другой — подтвержденным индуцирующим влиянием ангиогенеза на образование костной ткани. Ряд авторов ранее уже использовали аналогичные генные конструкции, но с другими носителями (коллаген и β-трикальция фосфат) для создания ген-активированных материалов, которые показали в иных ортотопических модельных системах положительное на репаративный остеогистогенез влияние [12, 13].

В качестве носителя для генных конструкций нами был выбран новый кальцийфосфатный материал — ОКФ, так как в ряде исследований уже была показана способность данного материала оптимизировать репаративную регенерацию костной ткани [7, 14], а также зарегистрирован протокол клинического исследования ОКФ в рамках стоматологических показаний (НСТ02155764) [15]. Данные, полученные нами в контрольной группе, подтвердили наличие у ОКФ выраженных остеокондуктивных свойств, обеспечивших формирование костного регенерата на всем протяжении дефекта

через 90 сут после имплантации материала. Без использования каких-либо материалов до 80% площади дефекта теменной кости кролика с исходным диаметром 10 мм остается заполненным только РВСТ [8, 15]. Гранулы ОКФ были тесно связаны с формирующейся костной тканью без образования вокруг них соединительнотканной капсулы, а регенерат распространялся от периферии к центру в виде «мостиков», соединяющих соседние гранулы материала. Кроме того, наличие участков новообразованной костной ткани вокруг единичных гранул ОКФ в центральной части дефектов может свидетельствовать о некотором остеиндуктивном действии материала.

Однако выраженность остеиндуктивных свойств ОКФ недостаточна для существенного ускорения и повышения активности репаративного остеогистогенеза. В этой связи уже предпринимались попытки наделить его такими свойствами за счет совмещения с мультипотентными мезенхимальными стромальными клетками, т.е. в составе альтернативного варианта активированного материала — тканеинженерного. Несмотря на успешные результаты исследования *in vitro* и *in vivo*, в гетеротопических условиях костный регенерат не формировался [16].

В настоящем исследовании ген-активированный материал из ОКФ и плазмидной ДНК с геном *vegf* продемонстрировал две важные особенности, выгодно отличающие его от ОКФ без биологически активных компонентов. Первая заключается в выраженной остеиндукции, подтверждением которой является тот факт, что уже на ранних сроках наблюдения гранулы материала в центральной части дефекта, не связанные с периферическим регенератом, были окружены новообразованной костной тканью. Если в случае ОКФ такие участки были единичны, то значимо большее количество гранул ген-активированного материала являлись источниками образования костной ткани. Важно, что аналогичная остеиндукция была показана в той же модельной системе и для других вариантов ген-активированных материалов, состоящих из плазмидной ДНК с геном *vegf* и носителей из коллагена-гидроксиапатита и ксеногенного костного матрикса [8]. Вторая особенность биологического действия заключается в заселении пространств между трабекулами костного регенерата и гранулами ген-активированного остеопластического материала уже через 60 сут после его имплантации.

В результате наиболее существенная разница в динамике репаративного процесса между экспериментальной и контрольной группой была обнаружена на сроке 60 сут. Доля костного регенерата после имплантации ген-активированного остеопластического материала была существенно выше прежде всего за счет образования костной ткани в центральной части дефекта. Фактически гистологическая картина в экспериментальной группе через 60 сут после операции была сопоставима с та-

ковой в контроле на сроке 90 сут. Иными словами, остеоиндуктивное действие ген-активированного материала позволило существенно ускорить репаративный остеогистогенез.

Хотя признаки биодеградации материалов выявлялись уже с 30 сут, в обеих экспериментальных группах гранулы сохранялись на всем протяжении костного дефекта вплоть до крайнего срока наблюдения. При этом, оценивая кинетику репаративного остеогистогенеза, можно сделать вывод, что скорость биорезорбции материалов была существенно ниже скорости формирования костного регенерата. В связи с асинхронностью указанных процессов гранулы ОКФ были «инкрустированы» в новообразованную костную ткань, вероятно, препятствуя дальнейшей консолидации дефектов. Выявленные данные требуют дальнейшей детализации с использованием более длительных сроков наблюдения и методов, позволяющих точнее оценить процесс биодеградации материалов.

Учитывая исходно высокую плотность ОКФ, превышающую 1800 НУ, и длительность биодеградации материала в выбранной модельной системе, с помощью компьютерной томографии не удалось объективно оценить динамику репаративного процесса. Однако данный метод исследования позволил осуществлять контроль количества имплантированного материала, равенства размеров дефектов, а также, в определенной степени, оценивать кинетику биодеградации материала и качественных изменений структуры регенерата.

**Заключение.** Разработанный ген-активированный материал обеспечивает ускорение и повышение интенсивности репаративного остеогистогенеза даже в случае восполнения костных дефектов критических размеров. Однако, несмотря на выявленное влияние ген-активированного материала на образование костной ткани, требуют дальнейшего изучения фундаментальные вопросы, касающиеся его механизма действия, кинетики высвобождения генных конструкций из структуры носителя, эффективности трансфекции и длительности экспрессии терапевтического белка. Отчасти ответы на поставленные вопросы уже были получены в ходе исследования других вариантов ген-активированных материалов, что в сочетании с подтвержденной безопасностью позволило перейти к стадии клинических исследований.

#### Благодарности

Авторы выражают благодарность С.Л. Киселеву, К.В. Никитину, Я.В. Толь за участие в исследовании. Работа выполнена при финансовой поддержке Фонда содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере.

#### ЛИТЕРАТУРА [ REFERENCES ]

1. Дробышев А.Ю., Рубина К.А., Сысоева В.Ю. и др. Клиническое исследование применения тканеинженерной конструкции на основе аутологических стромальных клеток из жировой ткани у пациентов с де-

фицитом 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)].

2. Кулаков Л.А., Робустова Т.Г., Неробеев Л.И., ред. Хирургическая стоматология и челюстно-лицевая хирургия: Национальное руководство. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2010 [Kulakov L.A., Robustova T.G., Nerobeev L.I., ed. Surgical dentistry and maxillofacial surgery: National manual. Moscow: GEOTAR-Media; 2010 (in Russian)].
3. 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)].
4. [http://www.cdc.gov/nchs/data/nhds/10Detaileddiagnosesprocedures/2010det10\\_alllistedprocedures.pdf](http://www.cdc.gov/nchs/data/nhds/10Detaileddiagnosesprocedures/2010det10_alllistedprocedures.pdf)
5. Омеляненко Н.П., Миронов С.П., Денисов-Никольский Ю.И., Матвейчук И.В., Дорохин А.И., Карпов И.Н. Современные возможности оптимизации репаративной регенерации костной ткани. Вестник травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова. 2002; 4: 85–8 [Omel'yanenko N.P., Mironov S.P., Denisov-Nikol'skiy Yu.I., Matveichuk I.V., Dorokhin A.I., Karpov I.N. Modern possibilities for optimization of bone tissue reparative regeneration. Vestnik travmatologii i ortopedii im. N.N. Priorova. 2002; 4: 85–8 (in Russian)].
6. Santos M.I., Reis R.L. Vascularization in bone tissue engineering: physiology, current strategies, major hurdles and future challenges. Macromol. Biosci. 2010; 10 (1): 12–27.
7. Komlev V.S., Barinov S.M., Bozo I.I., Deev R.V., Eremin I.I., Fedotov A.Y. et al. Bioceramics composed of octacalcium phosphate demonstrate enhanced biological behaviour. ACS Appl. Mater. Interfaces 2014; 6 (19): 16610–620.
8. 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.Yu., Bozo I.Ya., Galetskiy D.V., Korolyov V.O., Eryomin I.I., et al. Construction and biological effect evaluation of gene-activated osteoplastic material with human VEGF gene. Genes & cells. 2013; VIII (3): 78–85 (in Russian)].
9. Evans C.H. Gene delivery to bone. Adv. Drug Deliv. Rev. 2012; 64 (12): 1331–40.
10. Feichtinger G.A., Hofmann A.T., Slezak P., Schuetzenberger S., Kaipel M., Schwartz E. 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.
11. Betz V.M., Betz O.B., Glatt V., Gerstenfeld L.C., Einhorn T.A., Bouxsein M.L. et al. Healing of segmental bone defects by direct percutaneous gene delivery: effect of vector dose. Hum. Gene Ther. 2007; 18 (10): 907–15.

12. Keeney M., van den Beucken J.J., van der Kraan P.M., Jansen J.A., Pandit A. 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): 2893–2902.
13. Zhao D.M., Yang J.F., Wu S.Q., Qiu L.P., Liu J.L., Wang H.B. et al. Effect of vascular endothelial growth factor 165 gene transfection on repair of bone defect: experiment with rabbits. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*. 2007; 87 (25): 1778–82.
14. Гурин А.Н., Федотов А.Ю., Деев Р.В., Комлев В.С. Направленная регенерация костной ткани с использованием барьерной мембраны на основе альгината натрия и октакальциевого фосфата. *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия*. 2013; VIII (4): 70–7 [Gurin A.N., Fedotov A.Yu., Deev R.V., Komlev V.S. Sodium alginate bioresorbable membrane and octacalcium phosphate biomaterial for guided bone regeneration. *Genes & cells*. 2013; VIII (4): 70–7 (in Russian)].
15. Ridge Preservation With New Class of Osteoplastic Materials (RP). <http://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02155764?term=octacalcium&rank=1>
16. Zorin V.L., Komlev V.S., Zorina A.I., Khromova N.V., Solovieva E.V., Fedotov A.Y. et al. Octacalcium phosphate ceramics combined with gingiva-derived stromal cells for engineered functional bone grafts. *Biomed. Mater*. 2014; 9 (5): 055005.
17. Gene-activated Matrix for Bone Tissue Repair in Maxillofacial Surgery. <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02293031?term=NCT02293031&rank=1>

**Сведения об авторах:** Деев Р.В. — канд. мед. наук, директор по науке ИСКЧ; Дробышев А.Ю. — доктор мед. наук, проф., зав. кафедрой челюстно-лицевой хирургии МГМСУ; Бозо И.Я. — челюстно-лицевой хирург, аспирант кафедры челюстно-лицевой хирургии МГМСУ; Комлев В.С. — доктор техн. наук, вед. науч. сотр. лаборатории керамических композиционных материалов; Рожков С.И. — аспирант кафедры факультетской хирургической стоматологии и имплантологии МГМСУ; Еремин И.И. — канд. мед. наук, рук. Центра биомедицинских технологий ФМБЦ им. А.И. Бурназяна; Далгатов И.Д. — студент Первого МГМУ им. И.М. Сеченова; Воложин Г.А. — канд. мед. наук, ассистент каф. факультетской хирургической стоматологии и имплантологии МГМСУ; Грачев В.И. — врач-рентгенолог, главный врач рентгенодиагностической лаборатории «3Dlab»; Федотов А.Ю. — канд. техн. наук, старший науч. сотр. лаборатории керамических композиционных материалов ИМЕТ РАН; Исаев А.А. — генеральный директор ИСКЧ.

**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.

### ВНИМАНИЮ АВТОРОВ!

При направлении статей в редакцию просим обращать особое внимание на правильность представления материала.

Библиографические списки составляются с учетом «Единых требований к рукописям, представляемым в биомедицинские журналы» Международного комитета редакторов медицинских журналов (Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals). Правильное описание используемых источников в списках литературы является залогом того, что цитируемая публикация будет учтена при оценке научной деятельности ее авторов и организаций, где они работают.

В оригинальных статьях допускается цитировать не более 30 источников, в обзорах литературы — не более 60, в лекциях и других материалах — до 15. Библиография должна содержать помимо основополагающих работ, публикации за последние 5 лет. В списке литературы все работы перечисляются в порядке цитирования. Библиографические ссылки в тексте статьи даются в квадратных скобках. Ссылки на неопубликованные работы не допускаются.

Библиографическое описание книги (после ее названия): город (где издана); после двоеточия название издательства; после точки с запятой год издания. Если ссылка дается на главу книги: авторы; название главы; после точки ставится «В кн.» или «In:» и фамилия(и) автора(ов) или редактора(ов), затем название книги и выходные данные.

Библиографическое описание статьи из журнала: автор(ы); название статьи; название журнала; год; после точки с запятой номер журнала (для иностранных журналов том, в скобках номер журнала), после двоеточия цифры первой и последней страниц. При авторском коллективе до 6 человек включительно упоминаются все, при больших авторских коллективах — 6 первых авторов «и др.», в иностранных «et al.»; если в качестве авторов книг выступают редакторы, после фамилии следует ставить «ред.», в иностранных «ed.»

© Коллектив авторов, 2015

## РЕКОНСТРУКЦИЯ ТАЗОБЕДРЕННОГО СУСТАВА ДЕМИНЕРАЛИЗОВАННЫМИ АЛЛОИМПЛАНТАТАМИ ПРИ РЕВИЗИОННОМ ЭНДОПРОТЕЗИРОВАНИИ

А.С. Чеканов, В.П. Волошин, М.В. Лекишвили, А.А. Очкуренко, Д.В. Мартыненко

ФГБУ «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского»,  
ФГБУ «Центральный научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова»,  
Минздрава России, Москва, РФ

---

*Представлены отдаленные результаты операций ревизионного эндопротезирования, в ходе которых проводилась реконструкция тазобедренного сустава деминерализованными аллоимплантатами на основе плоских костей свода черепа. С 2005 г. прооперировано 9 больных (14 замещений) в возрасте от 46 до 67 лет. Контроль за перестройкой имплантированного материала осуществляли рентгенологически через 12 мес и до 8 лет ежегодно. Ни одного случая нагноения имплантированного материала зафиксировано не было. В ходе рентгенологического контроля констатировали относительно раннюю перестройку аллоимплантатов через 1,5–2 года. Перестройка характеризовалась повышением рентгеновской плотности в области пластики. Положительные результаты были получены у 8 пациентов (13 замещений), что составило 93 %.*

Ключевые слова: ревизионное эндопротезирование, тазобедренный сустав, кости свода черепа, костные деминерализованные аллоимплантаты.

### *Hip Reconstruction with Demineralized Allografts in Revision Arthroplasty*

A.S. Chekanov, V.P. Voloshin, M.V. Lekishvili, A.A. Ochukurenko, D.V. Martynenko

M.F. Vladimirskiy Moscow Regional Clinical and Research Institute; Central Institute of Traumatology and Orthopaedics named after N.N. Priorov, Moscow, Russia

*Long term results of revision arthroplasty with hip joint reconstruction using demineralized allograft based on cranial vault flat bones are presented. Since 2005 nine patients (14 substitutions) aged from 46 to 67 years were operated on. Control of implanted material remodeling was performed in 12 months after surgery and then annually up to 8 years. No one case of implanted material suppuration was observed. Roentgenologic control showed relatively early remodeling of allografts in 1.5-2 years after intervention. Remodeling process was characterized by the increase of roentgenologic density in plasty site. Positive results were achieved 8 patients (13 substitutions) that made up 93%.*

Key words: revision arthroplasty, hip joint, cranial vault bones, demineralized bone allografts.

---

Ревизионное эндопротезирование тазобедренного сустава — операция, характеризующаяся большим разнообразием технических приемов, используемых при ее выполнении. Это обусловлено широким спектром патологических изменений вокруг эндопротеза и конструкционными особенностями самого имплантата. Одной из наиболее значимых проблем ревизионного эндопротезирования являются перипротезные костные дефекты вертлужной впадины и бедренной кости, наличие которых уменьшает площадь фиксации компонентов эндопротеза. А ослабленная в зоне дефекта костная ткань служит место возникновения перипротезных переломов. Разрушение костных тканей требует использования материалов, способных восполнить дефекты и создать условия для физиологичного функционирования ревизионного эндопротеза. Проблема поиска адекватного пластического материала очень актуальная. В идеале имплантируемый материал

должен полностью заместиться собственными костными тканями, быть доступным и безопасным, обладать osteoconductive и osteoinductive свойствами.

В 2004 г. был запатентован способ получения деминерализованных аллоимплантатов, изготовленных из костей свода черепа, которые с успехом используются в офтальмологии при пластике посттравматических дефектов стенок орбиты у детей и взрослых [1, 2]. Практически одновременно был предложен новый способ пластики вертлужной впадины тазобедренного сустава [3, 4]. Первый опыт проведения подобных операций с целью замещения больших костных дефектов при ревизионном эндопротезировании тазобедренного сустава оказался весьма удачным [5–7].

Целью настоящего исследования стали оценка и анализ отдаленных результатов ревизионного эндопротезирования, в ходе которого проводилась реконструкция тазобедренного сустава деминера-

лизованными аллоимплантатами на основе плоских костей свода черепа.

#### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В период с 2005 по 2013 г. под наблюдением находились 9 пациентов (5 женщин и 4 мужчины) в возрасте от 46 до 67 лет (средний возраст  $56,1 \pm 6,4$  года), у которых в ходе операций ревизионного эндопротезирования тазобедренного сустава были использованы деминерализованные аллоимплантаты, изготовленные из костей свода черепа (рис. 1): у 4 больных при замене вертлужного компонента, у 2 — бедренного, у 4 — и того, и другого, т. е. в целом проведено 14 замещений.

В соответствии с классификацией AAOS (1989) центральный сегментарный и периферический полостной дефекты вертлужной впадины диагностированы по 1 случаю, комбинированные — в 6. Во всех случаях использовали укрепляющую ацетабулярную конструкцию, костная пластика выполнялась до ее установки.

При ревизии бедренного компонента были замещены следующие типы дефектов: наружного кортикала (3); калькара (1); до середины удаляемой ножки по передней поверхности (1); до середины удаляемой ножки по передней поверхности с продольным раскалыванием (1).

Все установленные бедренные компоненты были бесцементные (3 стандартные, 5 ревизионные).

В 4 случаях костная пластика выполнялась после установки ревизионного компонента, в 2 случаях — до и после. В 4 случаях потребовалась дополнительная фиксация серкляжом.

Донорские костные ткани тщательно очищали от элементов крови и миелоидного компонента, деминерализовывали в слабых растворах соляной кислоты, замораживали и затем лиофилизировали. После помещения аллоимплантатов в пластиковую упаковку производили стерилизацию радиационным способом, потоком быстрых электронов, дозой поглощения 20–25 кГр [8].

Все костные пластики, как и ревизионные эндопротезирования, выполняли в условиях отсутствия микрофлоры, что неоднократно подтверждали результатами предоперационных пункций, интраоперационной микроскопии замороженного среза перипротезных тканей.

Контроль за перестройкой аллоимплантатов осуществляли рентгенологически через 12 мес пос-

ле хирургического лечения, далее ежегодно. Сроки наблюдения составили от 3 до 8 лет.

#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Прежде чем приступить к обсуждению полученных результатов, необходимо отметить неравнозначность строения и формирования лобного, затылочного и теменных отделов свода черепа. Затылочная кость образует заднюю и нижнюю стенки черепной коробки и, будучи смешанной костью, окостеневаает как покровная кость на почве соединительной ткани (верхний отдел затылочной чешуи) и хряща (остальные части кости). У человека она является результатом слияния нескольких костей, состоит из отдельно закладывающихся четырех частей, срастающихся в единую кость в возрасте 3–6 лет. Теменная кость (парная) образует среднюю часть свода черепа. Она представляет типичную покровную кость, поэтому имеет сравнительно простое строение и вид четырехугольной пластинки, выпуклой снаружи и вогнутой изнутри. Лобная кость участвует в образовании свода черепа и относится к его покровным костям, развиваясь на почве соединительной ткани [9]. Таким образом, кости, формирующие свод черепа, различаются по происхождению, развитию, а значит, и строению.

В 2008–2009 гг. мы исследовали механические свойства костей свода черепа в процессе их химической и физической обработки, начиная от донорской костной ткани до готового к клиническому применению аллоимплантата. Практическая ценность исследования состояла в том, что оно было первым в области подобного изучения костей свода черепа. Полученные результаты свидетельствовали о возможности планирования и соответственно получения аллоимплантатов из костей свода черепа с разными механическими характеристиками. Прочность имплантатов зависела в первую очередь от времени деминерализации. Одновременно характеристика пластического материала может зависеть от той области свода черепа, которую используют в качестве донорской кости при условии частичной деминерализации. Варьируя местом забора донорской ткани и временем деминерализации, возможно получить пластический материал с теми или иными механическими характеристиками, которые необходимы и оптимальны в конкретной ситуации. В то же время после деминерализации кости в течение 48 ч и более, проведения лиофилизации и радиационной стерилизации дозой поглощения 20–25 кГр можно быть уверенным в идентичности прочностных свойств любого отдела свода черепа, вне зависимости от его локализации. Последний вариант переработки донорской ткани на сегодняшний день является основным в «тканевом банке» ЦИТО. К сожалению, полностью стандартизировать готовый пластический материал представляется трудноразрешимой за-



Рис. 1. Деминерализованные лиофилизированные аллоимплантаты из костей свода черепа.

дачей. Можно рассчитать степень деминерализации и, соответственно, сделать аллоимплантаты с определенными прочностными свойствами и площадью. Однако донорские материалы обладают индивидуальными особенностями и часто существенно различаются толщиной, что, с одной стороны, мешает использовать их в виде уже готовых аллоимплантатов во всех клинических ситуациях, с другой — обеспечивает возможность выбора аллоимплантата с оптимальными формами [10].

В настоящем исследовании нам удалось полностью заместить костный дефект, сформировав из относительно эластичного материала «лоскут» необходимого размера. Одним из основных условий включения в исследование было функционирование тотального ревизионного эндопротеза с близкими к физиологическим показателями и индексом Харриса больше 80. Это позволяло проследить динамику перестройки и приживления аллотрансплантата в сходных условиях адекватно функционирующего эндопротеза тазобедренного сустава. Таким образом, все больные после ревизионного эндопротезирования находились в удовлетворительном состоянии, нагноений имплантированного материала не было зафиксировано ни в одном случае.

В процессе рентгенологического контроля отмечалась относительно ранняя перестройка аллоимплантатов — через 1,5–2 года (рис. 2, 3). Перестройка характеризовалась повышением рентгеновской плотности в области пластики. О полном замещении (рентгенологическом) собственными костными тканями говорили преимущественно в сроки от 3 до 5 лет после операции (рис. 3, в). Положительные результаты были получены у 8 пациентов (13 замещений), что составило 93%.

Таким образом, использование деминерализованных костных аллоимплантатов на основе донорских костей свода черепа в зоне при ревизионном эндопротезировании тазобедренного сустава позволяет заместить большие костные дефекты при сравнительно ранней перестройке аллоимплантатов и добиться положительного клинического результата в большинстве случаев.

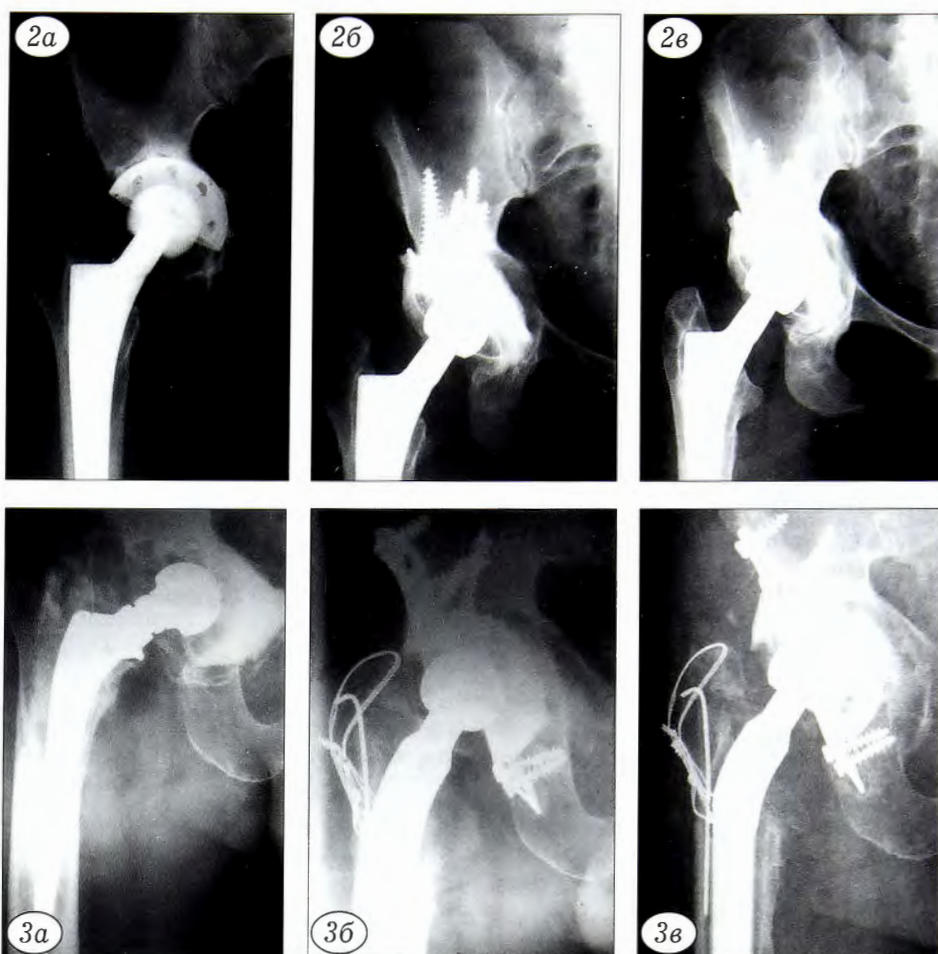


Рис. 2. Рентгенограммы больной 46 лет.

а — до операции, б — после реэндопротезирования и костной пластики, в — через 2 года после операции.

Рис. 3. Рентгенограммы больного 55 лет.

а — до операции, б — через 12 мес после реэндопротезирования и костной пластики, в — через 8 лет после операции.

#### ЛИТЕРАТУРА [ REFERENCES ]

1. Лекишвили М.В., Васильев М.Г., Баракина О.Ю., Горбунова Е.Д., Панкратов А.С. Способ получения костного аллотрансплантата для замещения дефектов костей черепа: Патент РФ № 2279281; 2004 [Lekishvili M.V., Vasil'ev M.G., Barakina O.Yu., Gorbunova E.D., Pankratova A.S. Method for obtaining bone allograft for substitution of skull bones defects. Patent RF, N 2279281; 2004 (in Russian)].
2. Лекишвили М.В., Рябов А.Ю., Юрасова Ю.Б. Опыт применения деминерализованных аллоимплантатов из костей свода черепа для устранения эно-гипофтальма у детей при переломе стенок орбиты. Вестник ОГУ. 2011; 14 (133): 227–30 [Lekishvili M.V., Ryabov A.Yu., Yurasova Yu.B. Experience in use of demineralized allo-grafts from skull bones for elimination of eno-, hypo-phthalmosin children with orbital wall fracture. Vestnik OGU. 2011; 14 (133): 227–30 (in Russian)].
3. Волошин В.П., Мартыненко Д.В., Лекишвили М.В. Способ лечения вертлужной впадины: Патент РФ № 2289339; 2004 [Voloshin V.P., Martynenko D.V., Lekishvili M.V. Method for acetabulum treatment. Patent RF, N 2289339; 2004 (in Russian)].
4. Волошин В.П., Лекишвили М.В., Оноприенко Г.А., Мартыненко Д.В. Пластика дефектов вертлужной впадины аллокостными имплантатами при повторном эндопротезировании тазобедренного сустава. В кн.: Сборник научных статей «Эндопротезирование

- России». Казань — СПб, 2008; Вып. IV: 196–200 [Voloshin V.P., Lekishvili M.V., Onoprienko G.A., Lekishvili M.V., Vasil'ev M.G. In: Collected scientific articles «Arthroplasty in Russia». Kazan' – St. Petersburg, 2008, 4: 196–200 (in Russian)].
5. Волошин В.П., Мартыненко Д.В., Лекишвили М.В. Костная аллопластика дефектов вертлужной впадины при ревизионном эндопротезировании тазобедренного сустава. В кн.: Материалы IV Всероссийского симпозиума с международным участием: «Актуальные вопросы тканевой и клеточной трансплантологии». СПб.; 2010: 221–2 [Voloshin V.P., Martynenko D.V., Lekishvili M.V. Bone plasty of the acetabulum in revision total hip arthroplasty. In: Actual issues of tissue and cell transplantation: Proc. 4<sup>th</sup> All-Rus. Symp. with Int. Participation. St. Petersburg; 2010: 221–2 (in Russian)].
  6. Волошин В.П., Еремин А.В., Оноприенко Г.А., Лекишвили М.В., Васильев М.Г. Двухэтапное тотальное замещение тазобедренных суставов в условиях глубокой перипротезной инфекции. Вестник травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова. 2012; 4: 3–9 [Voloshin V.P., Eryomin A.V., Onoprienko G.A., Lekishvili M.V., Vasil'ev M.G. Two-step total hip arthroplasty in deep periprosthetic infection. Vestnik travmatologii i ortopedii im. N.N. Priorova. 2012; 4: 3–9 (in Russian)].
  7. Voloshin V., Martynenko D., Zubikov V. et al. Acetabulum defects bone alloplasty at inspection hip replacement. Mat. 19<sup>th</sup> International Congress of the European Association of Tissue Banks. Berlin; 2010: 107.
  8. Лекишвили М.В. Технологии изготовления костного пластического материала для применения в восстановительной хирургии (экспериментальное исследование): Дис. ... д-ра мед. наук. М.; 2005 [Lekishvili M.V. Technology of bone plastic material production for application in restorative surgery (experimental study). Dr. med. sci. Diss. Moscow; 2005 (in Russian)].
  9. Привес М.Г., Лысенков Н.К., Бушкович В.И. Анатомия человека. М.: Медицина; 1985: 90–8 [Prives M.G., Lysenkov N.K., Bushkov V.I. Human anatomy. Moscow: Meditsina; 1985 90–8 (in Russian)].
  10. Лекишвили М.В., Васильев М.Г., Баракина О.Ю., Гаврюшенко Н.С., Юрасова О.Б., Панкратов А.С. Механические свойства аллогенной костной ткани свода черепа после деминерализации, лиофилизации и радиационной стерилизации. Технологии живых систем. 2009; 6 (3): 38–43 [Lekishvili M.V., Vasil'ev M.G., Barakina O.Yu., Gavryushenko N.S., Yurasova O.B., Pankratov A.S. Mechanical properties of allogenic bone tissue of the calvarium after demineralization, lyophilization and radiation sterilization. Tekhnologii zhivykh system. 2009; 6 (3): 38–43 (in Russian)].

**Сведения об авторах:** Чеканов А.С. — младший науч. сотр. отделения травматологии и ортопедии МОНКИ им. М.Ф. Владимирского; Волошин В.П. — доктор мед. наук, профессор, рук. отделения травматологии и ортопедии МОНКИ им. М.Ф. Владимирского; Лекишвили М.В. — доктор мед. наук, зав. лабораторией «Тканевой банк» ЦИТО им. Н.Н. Приорова; Очкуренко А.А. — доктор мед. наук, профессор, рук. организационно-методического отдела ЦИТО им. Н.Н. Приорова; Мартыненко Д.В. — доцент каф. травматологии и ортопедии МОНКИ им. М.Ф. Владимирского. **Для контактов:** Чеканов Андрей Сергеевич. 129110, Москва, ул. Щепкина 61/2, корп. 11. Тел.: +7 (916) 725–76–56. E-mail: and-chekanov@yandex.ru.

© А.В. Волков, 2015

## К ВОПРОСУ О БЕЗОПАСНОСТИ ОСТЕОПЛАСТИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

А.В. Волков

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт морфологии человека», Москва, РФ

*В работе представлены материалы экспериментальных и клинических исследований, в которых использовались остеопластические материалы различных групп. Выявлено, что имплантация остеопластических материалов обуславливает развитие хронического продуктивного воспаления по типу реакции на инородное тело. В свою очередь процесс образования кости в регенерате, содержащем остеопластический материал, сопряжен с резорбцией вновь образованной костной ткани, лежащей на его поверхности. Проведен анализ причин низкой биологической совместимости материалов и предложена схема планирования исследований безопасности и эффективности остеопластических материалов.*

**Ключевые слова:** регенерация костной ткани, остеопластические материалы.

### *On the Safety of Osteoplastic Materials*

A.V. Volkov

Research Institute of Human Morphology, Moscow, Russia

*Experimental and clinical studies of osteoplastic materials of various groups were performed. It was shown that implantation of osteoplastic materials stipulated the development of chronic productive inflammation by the type of foreign body response while the process of bone formation in the regenerate containing osteoplastic material entailed resorption of newly formed bone tissue on its surface. Analysis of the reasons of low biocompatibility of the materials was performed and scheme for osteoplastic material safety and efficacy study planning was proposed.*

**Key words:** tissue regeneration, osteoplastic materials.

В последние десятилетия активное развитие получила регенеративная медицина костной тка-

ни. Одним из ее направлений следует считать использование остеопластических материалов, при-

званных обеспечить оптимальные условия течения регенеративного процесса в костной ране. На сегодняшний день как в нашей стране, так и за рубежом сложился рынок коммерческих материалов, эффективность которых обусловлена их остеокондуктивными свойствами. Подобные материалы можно разделить на синтетические и натуральные, а также, с учетом их химического состава, — на минеральные, органические, композитные.

Синтетические остеопластические материалы в основном содержат соли кальция фосфорной или угольной кислот, поскольку они, как считают производители, способны к быстрой резорбции *in vivo*. К ним же относят и полимеры короткоцепочных органических кислот, например молочной. Натуральные материалы прежде всего характеризуются природным происхождением, — это, например кораллы, гидроксипатит кости, полученный отжигом, деминерализованные и частично деминерализованные костные материалы человека и костей крупного рогатого скота и др. [1–3].

Путь остеопластического материала от разработки до клинического применения в нашей стране намного короче, чем у фармакологических средств, поскольку указанные материалы отнесены к изделиям медицинского назначения, а их безопасность и эффективность исследуется по упрощенной схеме. Доклинические и клинические исследования остеопластических материалов выполняются в основном в рамках научно-квалификационных трудов, причем заинтересованность сторон в положительном результате становится очевидной. Патоморфологическая экспертиза образцов ткани, содержащих материал, выполняется подчас не совсем качественно, расставляются неверные акценты, не проводится количественная оценка. Так, в ряде научных публикаций описания гистологических препаратов довольно скудны и не всегда характеризуют те явления, которые отображены в иллюстративном материале, в коллективе авторов отсутствует патоморфолог [4]. Таким образом, проблему формирования доказательной базы эффективности и безопасности остеопластических материалов следует считать достаточно актуальной.

В настоящей работе проведен анализ гистоморфологических результатов экспериментальных и клинических исследований эффективности и безопасности остеопластических материалов за период с 2005 по 2015 г., выполненных в различных научно-исследовательских учреждениях нашей страны (ФГБУ «ЦНИИС и ЧЛХ», ФГБУ ВПО «МГМСУ им. А.И. Евдокимова», ФГБУ «НИИ морфологии человека РАМН», частных стоматологических учреждений и др.).

#### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Гистологическое исследование образцов ткани проводили непосредственно после биопсии. Материал помещали в 10% раствор формалина на фосфатном буфере на 72 ч, после чего в течение 24 ч

образцы ткани промывали в проточной воде. После стандартной гистологической проводки образцы тканей заливали в парафин («Гистомикс», Бювитрум), используя гистологические заливочные кольца (Бювитрум). Серийные срезы толщиной 7 мкм получали на микротоме Microm. Для изучения срезов тканей применяли: обзорные окраски — гематоксилином и эозином по Бокку, Майеру; для выявления специфических процессов образования костной ткани и ее резорбции препараты окрашивали по Массону и по Массону — Голднеру («BioOptica», Italy). После окраски препараты заключали в монтирующую среду и высушивали в течение 2 нед при комнатной температуре. Фотодокументирование проводилось на микроскопе Leica DM 2500 с фотокамерой Leica DTC 295. В качестве метода рандомизации использовали следующую схему: если не было необходимости в прицельном изучении объекта, то с помощью генератора случайных чисел Random определяли 5–7 номеров стекол (например, 12, 18, 22, 25, 38 из 50 стекол в серии), изучению и документированию подвергался каждый 3-й срез, если качество было неудовлетворительным, то исследовался последующий и так далее.

*Экспериментальные модели.* Исследуемый остеопластический материал помещали под кожу (совокупно по всем экспериментальным исследованиям  $n=60$ ) и в область сформированного дефекта теменных костей крыс линии Вистар (совокупно по всем исследованиям  $n=30$ ), новозеландских кроликов (совокупно по всем исследованиям  $n=60$ ), на срок, требуемый задачей исследования. В среднем сроки для имплантации под кожу составляли 3, 7, 14, 30 и 120 дней, для имплантации в дефект теменных костей — 14, 30, 120 дней. В данной работе представлены результаты, полученные на 30-е сутки экспериментов.

*Клинические исследования.* Образцы костной ткани (трепанобиоптаты) были получены от пациентов, которым выполнялись операции по увеличению объема костной ткани верхней и нижней челюстей (открытый синус-лифтинг  $n=30$ , имплантация в лунку удаленного зуба  $n=60$ ) перед установкой дентальных имплантатов. Забор образцов костной ткани осуществляли через 120 дней после имплантации. Разрешения этических комитетов для проведения исследований получались в учреждениях согласно действующему порядку.

#### РЕЗУЛЬТАТЫ

##### *Экспериментальные исследования*

При сравнительном гистоморфологическом анализе результатов имплантации различных коллагеновых материалов под кожу крысам были выявлены типичные изменения через 30 сут после операции вне зависимости от производителя и насыщения материала различными агентами (костный морфогенетический белок, фактор роста сосудов, гликозаминогликаны и пр.). Обращало на себя вни-



Клинические исследования

мание, что основой реакции макроорганизма на подкожное введение было развитие гранулематозного воспаления: инфильтрация лимфо- и плазмочитами (рис. 1, д, е), с инфильтрацией области введения макрофагами, образованием гигантских клеток инородных тел иногда огромного размера (рис. 1, з, е) и, как следствие, образование фиброзной капсулы вокруг материала (рис. 1, а, б).

В свою очередь подобный материал, введенный в костный дефект, при рентгеновских исследованиях виден как рентгеноконтрастный участок, по плотности напоминающий костную ткань. На обзорном гистологическом препарате (рис. 2, а) теменных костей крыс область костного дефекта выглядит как будто заполненной костным матриксом, однако при детальном рассмотрении можно выявить все то же гранулематозное воспаление вокруг материалов, инфильтрацию лимфо- и плазмочитами, гигантскими клетками инородных тел на поверхности гранул материала, образование фиброзной капсулы (рис. 2, б).

Изучение трепанобиоптатов, полученных от пациентов, которым проводилась направленная регенерация костной ткани с использованием остеопластических материалов, выявило ряд особенностей образования регенератов. Так, при имплантации в лунку удаленного зуба материалов, содержащих лишь минеральный компонент ксеногенной кости, фронт костной регенерации распространяется как свободно, так и по поверхности остеопластического материала, пространство между гранулами заполнено и рыхлой волокнистой соединительной, и фиброзной тканью, причем некоторые гранулы вовсе не имеют контакта с костью (рис. 3, в). На поверхности гранул материала большое количество остеоида (рис. 3, г). Иная картина наблюдается при введении коллагенсодержащего препарата. На рис. 3, а наглядно видно, что среди гранул остеопластического материала преобладают волокна фиброзной ткани, инфильтрированной лимфоцитами. Доля вновь об-

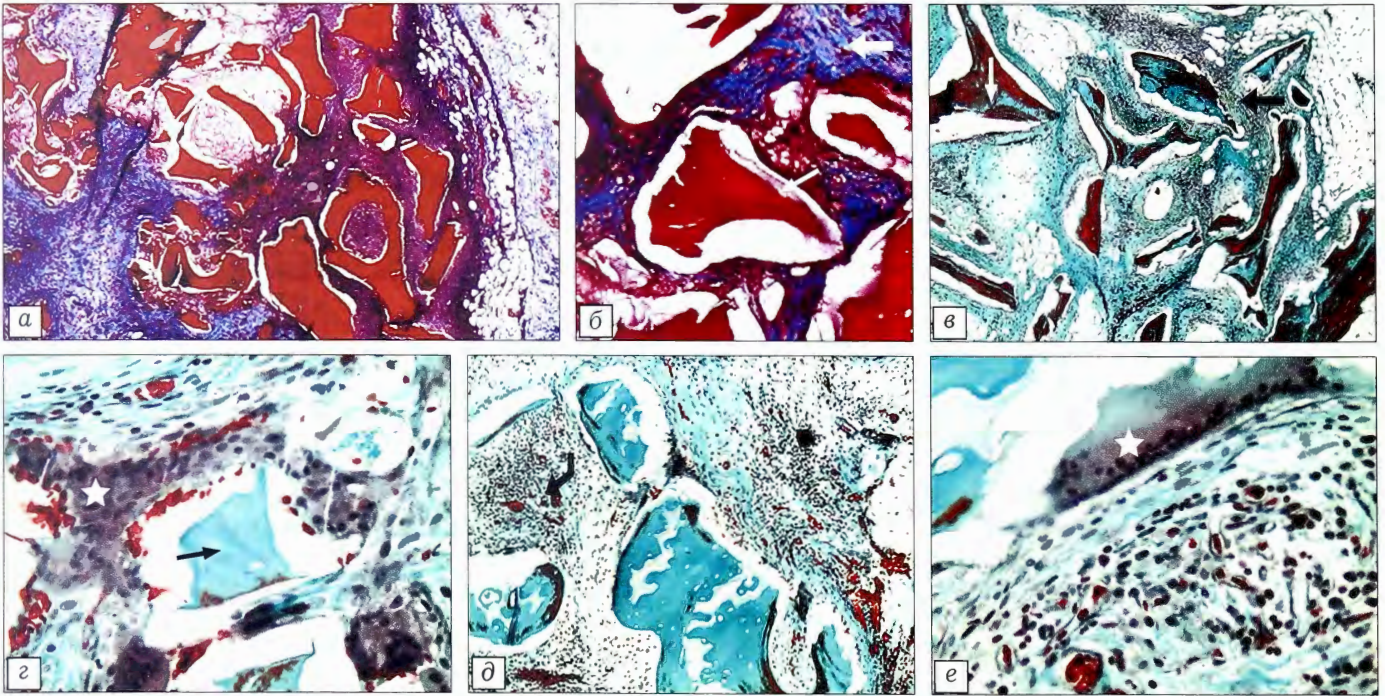


Рис. 1. Результаты имплантации остеопластических материалов под кожу крысам на 30-е сутки. Окраска по Массону (а, б) и по Массону — Голднеру (в-е).

Здесь и на рис. 2, 3: тонкая стрелка — остеопластический материал, толстая стрелка — фиброзная ткань, звездочка — гигантские многоядерные клетки инородных тел, угловая стрелка — воспалительный инфильтрат.

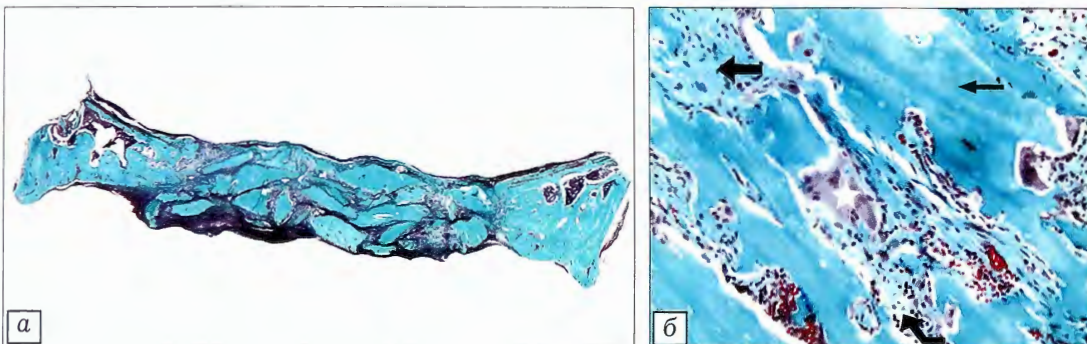


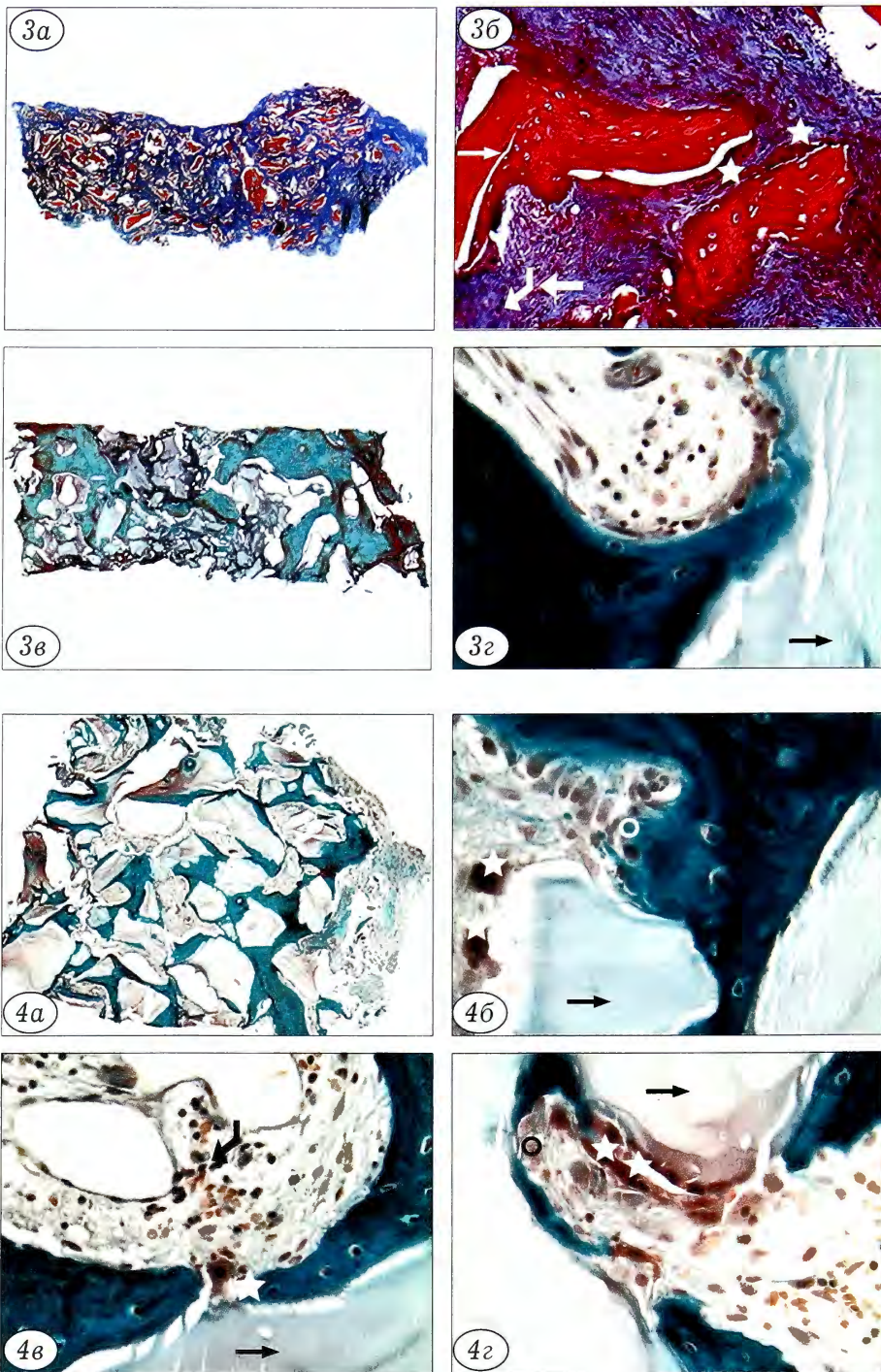
Рис. 2. Гистологический препарат зоны дефекта теменных костей крыс на 30-е сутки после имплантации коллагенсодержащего остеопластического материала. Окраска по Массону — Голднеру.

а — x 32, б — x 400.

разованной кости невелика, но эти немногочисленные участки костного вещества все же имеют контакт с материалом. На поверхности материала обнаруживается множество клеток инородных тел (рис. 3, б).

В свою очередь костный регенерат, образовавшийся к 120-м суткам после имплантации остеопластических материалов в область дна верхнечелюстной пазухи, мало отличается от регенератов в лунке удаленного зуба (рис. 4, а). Однако особенностью на данный срок наблюдения явилось обнаружение феномена попутной резорбции вновь образованной костной ткани и имплантированного материала гигантскими клетками инородных тел (если материал коллагенсодержащий) и клетками остеокластического ряда (если материал минералсодержащий) (рис. 4, б-г). Процессы резорбции как материала, так и кости сопровождаются бурным процессом остеогенеза (рис. 4, б).

Аналогичная картина наблюдается и при трансплантации тканеинженерных конструкций, содержащих аутогенные стромальные клетки жировой ткани, подвергнутые остеогенной дифференцировке, и частично деминерализованный ксеногенный костный материал. Процессы резорбции, как материала, так и кости, сопровождаются бурным процессом остеогенеза (рис. 5).



**Рис. 3.** Гистологическая картина регенератов, содержащих коллагенсодержащие (а, б) и деминерализованные (в, г) остеопластические материалы, помещенные в лунку удаленного зуба. Окраска по Массону (а, б) и по Массону — Голднеру (в, г).

**Рис. 4.** Гистологические препараты костных регенератов, полученных из области дна верхнечелюстной пазухи через 120 дней после имплантации материала на основе натурального гидроксиапатита. Окраска по Массону — Голднеру.

а — х 32, б, г — х 400, в — 200.

Тонкая стрелка — остеопластический материал, толстая — фиброзная ткань, звездочка — остеокласты, угловая стрелка — воспалительный инфильтрат, кружок — образующаяся костная ткань.

**Рис. 5.** Гистологический препарат костной ткани через 120 дней после имплантации тканеинженерной конструкции в область дна верхнечелюстной пазухи, содержащей остеопластический материал и аутологичные остеогенные клетки. Окраска по Массону — Голднеру. х 100.

Тонкой стрелкой указан участок одновременной резорбции кости и остеопластического материала, толстой — остеопластический материал.

**ОБСУЖДЕНИЕ**

В настоящее время следует признать, что полностью отказаться от использования остеопластических материалов в костной реконструктивной хирургии практически невозможно. Зачастую «проблемы донорских зон» пугают хирурга больше, нежели вероятные осложнения от использования остеопластических материалов, сведения о безопасности и эффективности которых собраны не так скрупулёзно. Так, в одной из публикаций [4] описание гистологической картины представлено следующим образом: «Гистологическая картина участка деминерализованного коллагена через 1 мес после имплантации под конъюнктиву глаза кролика. Вокруг имплантата видна умеренная инфильтрация клетками. Явления воспаления и деструкция имплантата отсутствуют» (рис. 6, а, иллюстрация взята из статьи). Однако при пользовании адекватных окрасок, изучении препаратов на большем увеличении была бы выявлена иная картина (рис. 6, б). Даже на представленной микрофотограмме отчетливо видна воспалительная инфильтрация и контуры гигантских клеток инородных тел в нижнем левом углу картинки.

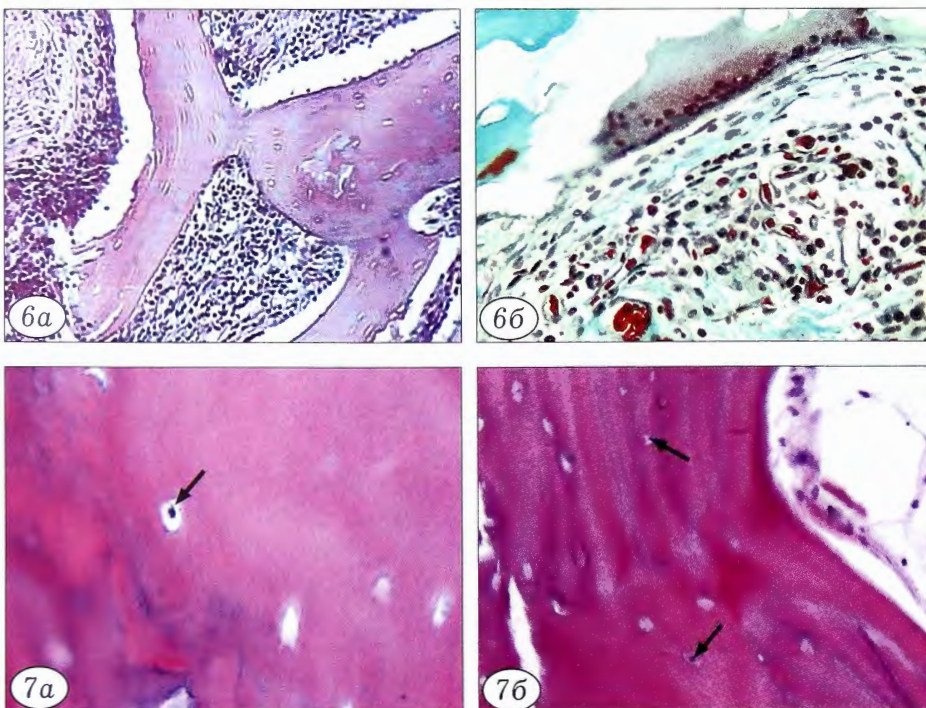
Хорошо известно, что коллаген имеет невыраженные межвидовые антигенные свойства [5, 6], однако не всегда понятно, по какой причине на доклиническом этапе материалы вызывают хроническое гранулематозное воспаление. В наших наблюдениях мы обнаруживали в частицах остео-

пластического материала лакуны, содержащие остатки хроматина бывших там когда-то остеоцитов (рис. 7). Скептически настроенные исследователи могут заявить, что лакуны заселились клетками реципиента, однако это невозможно вследствие отсутствия подобного механизма образования костной ткани.

Таким образом, если вернуться к вопросу об эффективности и безопасности остеопластических материалов натурального происхождения, то следует отметить, что доклинические экспериментальные исследования должны включать в себя последовательную цепочку этапов, включающих в себя исследования *in vitro* (МТТ-тест), экспериментальные экстраоссальные (имплантация в мышцу и подкожную клетчатку), интраоссальные (в моделях костных дефектов), а уже после получения убедительных данных следует приступать сначала к ограниченному клиническим исследованиям и только потом – к расширенным. На наш взгляд, обязательно следует проводить гистоморфологическое исследование с морфометрией основных параметров костного регенерата для того, чтобы иметь объективные данные, основываясь на которых материал можно было бы рекомендовать к широкому использованию.

**ЛИТЕРАТУРА [ REFERENCES ]**

1. Островский А.С. Остеогенные материалы в современной пародонтологии и имплантологии. Dent-Inform. 2001; 8: 22–30 [Ostrovskiy A.S. Osteogenic materials in modern periodontology and implant dentistry. Dent-Inform; 8: 22-30 (in Russian)].
2. Orly J.M., Gregory J. Manantean Hydroxyapatite implant for augmenting deficient alveolar ridges. J. Biomed. Mater. Res. 1999; 12: 1433–40.
3. Иванов С.Ю., Мухаметшин Р.Ф., Мураев А.А., Бонарцев А.П., Рябова В.М. Синтетические материалы, используемые в стоматологии для замещения дефектов костной ткани. Современные проблемы науки и образования. 2013; 1 [Ivanov S.Yu., Mukhametshin R.F., Muraev A.A., Bonartsev A.P., Ryabova V.M. Synthetic materials used in dentistry to fill bone defects. Sovremennyye problemy nauki i obrazovaniya. 2013; 1: 60 (in Russian)].
4. Иванов А.Ю., Ларионов Е.В., Панин А.М., Кравец В.М., Анисимов С.И., Володина Д.Н. Разработка материалов для остеопластики на основе коллагена костной ткани. Клиническая стоматология. 2005; 4: 1–3 [Ivanov A.Yu., Lariovov E.V., Panin A.M., Kravets V.M., Anisimov S.I., Volodina D.N. Elaboration of osteoplastic materials based on bone tissue collagen. Klinicheskaya stomatologiya. 2005; 4: 1-3 (in Russian)].
5. Берченко В.В. Особенности влияния коллагеновых препаратов, по-



**Рис. 6.** Остеопластический материал в окружении воспалительного инфильтрата.

Объяснения в тексте.

а — окраска гематоксилином и эозином, б — по Массону — Голднеру. х 400.

**Рис. 7.** Остатки генетического материала (указаны стрелками) в различных ксеногенных остеопластических материалах.

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 груди 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 ( $\beta$ -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 остеокондукцией. 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-

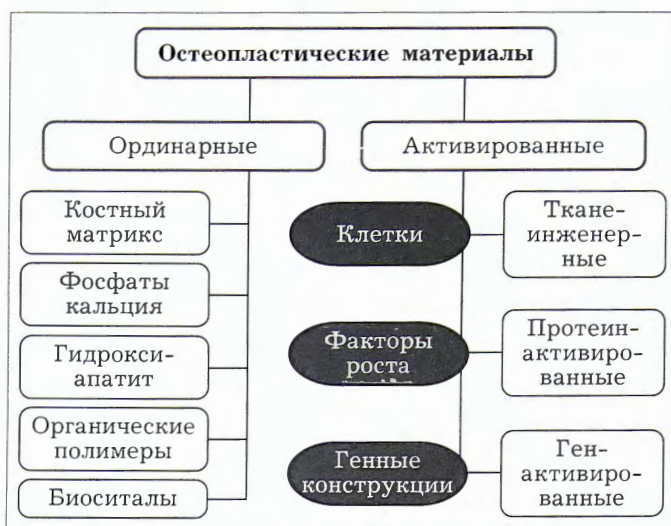


Рис. 1. Обобщенная классификация современных остеопластических материалов.

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 TGF $\beta$ 1 [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].

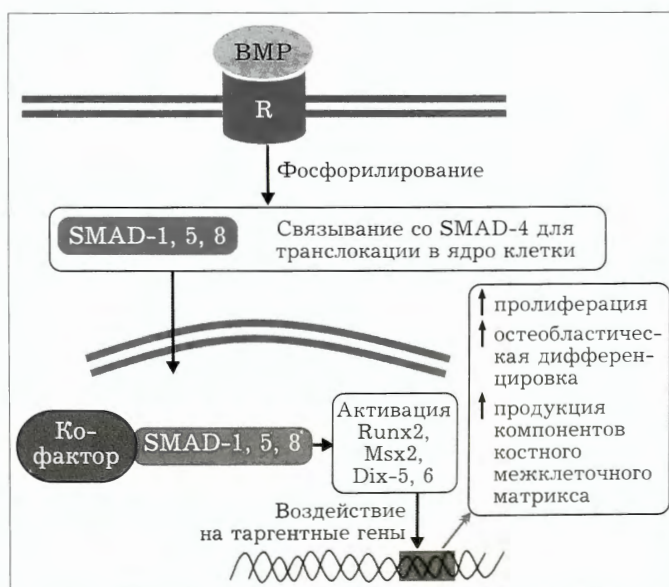
Связывание BMP со специфическими мембранными тирозинкиназными рецепторами (1-го и 2-го типа) приводит к фосфорилированию внутриклеточных белков Smad-1, 5, 8, каждый из которых после активации образует «транспортный» комплекс со Smad-4, транслоцирующим их в ядро клетки. В ядре рецепторные белки Smad увеличивают экспрессию генов, кодирующих основные транскрипционные факторы, ответственные за приобретение клеткой «osteoblastического 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- $\beta$ ) 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»  $\alpha$ -субъединицы кор-связывающего фактора в связи с мутацией при условии сохранения идентичной ей  $\beta$ -субъединицы (Runx2<sup>+/-</sup>) приводит к формированию клейдокранияльной дисплазии (дизостоза) [43], а генотип Runx2<sup>-/-</sup> 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 $\gamma$ , C $\beta$ 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 $\gamma$  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 $\beta$ 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/AKT) VEGF блокирует апоптоз, ингибируя каспазы 3, 7 и 9, тем самым повышая выживаемость клеток. Кроме того, ось PI3K/AKT 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

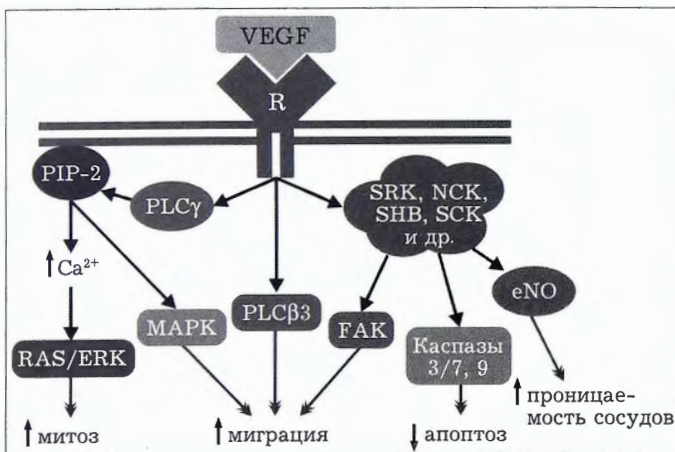


Рис. 3. Схема внутриклеточного каскадного пути трансдукции сигналов VEGF.

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.

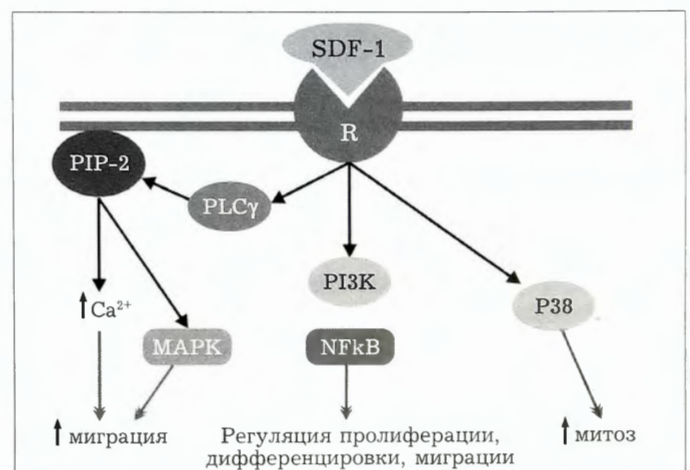
**Фактор стромальных клеток SDF (CXCL12)** — белок, относящийся к группе хемокинов, представленный двумя формами, образующимися в результате альтернативного сплайсинга: SDF-1 $\alpha$  (89 аминокислот) и SDF-1 $\beta$  (93 аминокислоты) [61]. Показана его продукция клетками костного мозга, фибробластического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

Основным рецептором SDF является CXCR4. При образовании комплекса с лигандом происходит активация внутриклеточного G-белка, состоящего из трех субъединиц ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ), с его разделением на гетеродимер G $\beta/\gamma$  и мономер G $\alpha$  (4 изоформы), каждый из которых инициирует как различные, так и общие внутриклеточные пути трансдукции сигналов. Так, G $\beta/\gamma$  активирует фосфолипазу C $\gamma$ , 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 В, 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 В в целом ингибирует остеогенез через подавление дифференцировки камбиальных клеток остеобластической линии. В этой связи SDF-1, продуцируемый остеобластами зоны повреждения [65], способен оказывать двойное 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 отдельно 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  $-80^{\circ}\text{C}$ );

- 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/мм<sup>3</sup> 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- $\beta$ 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- $\beta$ 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 $\alpha$	Лентивирус	[168]	c-myb	Плазмидная ДНК	[195]
IGF-1	Плазмидная ДНК	[169]		Аденовирус	[196]
Integrin- $\alpha$ 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](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](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- $\beta$  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., Кочии 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. Illich 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., Dovban 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., Чухраля 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- $\beta$  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- $\beta$ 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- $\beta$ 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  $\beta$ -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- $\beta$ 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 $\alpha$  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  $\alpha$ 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. Strohbach 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

© А.М. Миromanов, 2015

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ДАБИГАТРАНА ЭТЕКСИЛАТА В ПРОФИЛАКТИКЕ ВЕНОЗНЫХ ТРОМБОЭМБОЛИЧЕСКИХ ОСЛОЖНЕНИЙ ПРИ ПЕРЕЛОМАХ ДЛИННЫХ КОСТЕЙ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ

А.М. Миromanов

ГБОУ ВПО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России, Чита, РФ

*Проведено комплексное динамическое обследование 68 пациентов с переломами длинных костей нижних конечностей. Первую группу клинического сравнения составили 36 пациентов (средний возраст  $36,3 \pm 1,4$  года), профилактика венозных тромбоэмболических осложнений которым проводилась парентеральными антикоагулянтами прямого действия с последующим переходом на антагонисты витамина К. Во второй группе ( $n=32$ ; средний возраст  $39,3 \pm 2$  года) профилактика осуществлялась пероральным антикоагулянтом дабигатрана этексилатом. Продолжительность приема антикоагулянтов составила 30 дней. Отмечено, что применение перорального антикоагулянта дабигатрана этексилата при переломах длинных костей конечностей обеспечивает эффективный, прогнозируемый, стойкий антикоагулянтный эффект, не требует рутинного контроля параметров коагуляции, что позволяет рекомендовать данный препарат к более широкому применению у пациентов ортопедо-травматологического профиля.*

**Ключевые слова:** переломы длинных костей, венозный тромбоз, профилактика, дабигатрана этексилат.

### *Use of Dabigatran Etxilate for Prevention of Venous Thromboembolic Complications in Long Bone Fractures*

A.M. Miromanov

Chita State Medical Academy, Chita, Russia

*Complex dynamic examination of 68 patients with fractures of lower extremities long bones. In first comparative group (36 patients, mean age  $36.3 \pm 1.4$  years) prevention of thromboembolic complications was performed with parenteral direct anticoagulants followed by vitamin K antagonists. In second group (32 patients, mean age  $39.3 \pm 2.0$  years) dabigatran etexilate was used. Duration of anticoagulant therapy made up 30 days. It was noted that in fractures of long bones of the extremities application of dabigatran etexilate ensured effective, prognosticating, stable anticoagulant action and did not require routine control of coagulation parameters that enabled to recommend that drug for wider use in trauma and orthopaedic patients.*

**Key words:** long bones fractures, venous thrombosis, prevention, dabigatran etexilate.

**Введение.** Актуальность венозных тромбоэмболических осложнений (ВТЭО) в травматологии и ортопедии определяется значительной частотой их возникновения, скрытым клиническим течением, трудностью лечения и высоким уровнем летальности [1–3].

Установлено, что частота развития тромбоза глубоких вен нижних конечностей при переломах костей голени достигает 77%, бедра — 80%, при множественной и сочетанной травме — 40–77%, причем клинически флелотромбоз в 80–85% случаев протекает бессимптомно, а в 10% осложняется тромбоэмболией легочной артерии [1, 3, 4]. Тромбозы глубоких вен ведут к увеличению сроков пребывания больных в стационаре, развитию хронической венозной недостаточности, негативно сказывающейся на качестве жизни больного [5, 6].

Развившиеся осложнения обуславливают снижение результативности оперативных вмеша-

тельств и требуют больших экономических затрат на лечение [7]. В настоящее время улучшение результатов лечения заболеваний опорно-двигательной системы достигается не только совершенствованием техники оперативных пособий, использованием новых лечебных технологий, но и профилактическими мероприятиями с использованием современных лекарственных препаратов. В России, к сожалению, профилактика ВТЭО при травмах опорно-двигательного аппарата носит рекомендательный характер [3, 8], а потому проводится далеко не у всех пациентов.

С недавнего времени на отечественном рынке медицинских препаратов появились пероральные антикоагулянты, одним из которых является дабигатрана этексилат (Прадакса®; регистрационное удостоверение ЛП 000872-181011) — представитель прямых ингибиторов тромбина [9]. Назначать подобные препараты рекомендуется только при

ортопедических операциях [8], однако, учитывая доказанную эффективность дабигатрана этексилата при ортопедических заболеваниях, перспективным является его использование и в ургентной травматологии.

Цель исследования — оценить эффективность применения дабигатрана этексилата в профилактике венозных тромбоемболических осложнений при переломах длинных костей конечностей.

#### ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

В работе с пациентами соблюдали этические принципы, закрепленные Хельсинкской Декларацией Всемирной медицинской ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki (1964, 2011 — поправки) и Правилами клинической практики в Российской Федерации, утвержденными Приказом № 266 Минздрава РФ от 19.06.2003.

Проведено комплексное клиническое обследование 68 пациентов с переломами длинных костей нижних конечностей. Группу сравнения составили 36 пациентов (средний возраст  $36,3 \pm 1,4$  года), профилактика ВТЭО которым проводилась парентеральными антикоагулянтами прямого действия (эноксапарин натрия) с последующим переходом на антагонисты витамина К (варфарин). Пациентам основной группы (32 человека; средний возраст  $39,3 \pm 2$  года) назначали пероральный антикоагулянт дабигатрана этексилат (Прадакса®).

Результаты исследований сравнивали с показателями 30 здоровых доноров в возрасте от 18 до 40 лет.

В работе использовали классификацию М.Е. Мюллера и соавт. [10] (табл. 1).

Всем больным с закрытыми переломами при поступлении выполняли открытую репозицию отломков с последующим функциональным металлоостеосинтезом пластинами или штифтами. У пациентов с открытыми переломами проводили первичную хирургическую обработку, наложение аппаратов наружной фиксации и адекватное дренирование. Время с момента получения травмы до операции при открытых переломах не превышало 2 ч, при закрытых — 6–8 ч. Пациенты обеих групп были сопоставимы по возрасту, нозологическим формам, распространенности патологического процесса и проводимому операционному лечению. В связи с отсутствием статистически значимых различий по изучаемым параметрам больные с закрытыми и открытыми переломами длинных костей нижних конечностей объединены в одну группу.

В раннем послеоперационном периоде проводили традиционную консервативную терапию (антибактериальные средства, местное медикаментозное лечение). Профилактику ВТЭО осуществляли следующим образом: в группе сравнения подкожно вводили эноксапарин натрия (Клексан®) в дозе 40 мг через 12 ч после операции, затем 40 мг 1 раз в сутки в течение 10 дней. Спустя 5 дней приема эноксапарина натрия начинали подбор дозы антагонистов витамина К — варфарина. Парентеральное введение антикоагулянта прекращали после достижения показателя МНО 2,0–3,0 в двух последовательных анализах, взятых с интервалом в сутки. В основной группе назначали дабигатрана этексилат перорально по 220 мг 1 раз в сутки, причем первый раз пациенты принимали препарат через 4 ч после операции в половинной суточной дозе (110 мг). Профилактику ВТЭО в обеих группах осуществляли в течение 30 дней после оперативного вмешательства.

В исследование не включали пациентов с грубой сопутствующей патологией, способной повлиять на оценку результатов, а также лиц женского пола в период *mensis*.

Тромбозы глубоких вен нижних конечностей исключались с помощью ультразвуковой доплерографии, которую выполняли на 2-е сутки после оперативного вмешательства. Далее состояние пациентов контролировали клинически.

В качестве лабораторного критерия эффективности профилактики антикоагулянтами использовали показатель активированного частичного тромбoplastинового времени (АЧТВ) [11]. Также оценивали состояние микроциркуляторного русла с помощью неинвазивного метода лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ), определяя показатель микроциркуляции (ПМ). Использовали аппарат ЛАКК-02 (НПП «Лазма», Россия). Датчик устанавливали по передней поверхности проксимальной части первого межплюсневоего промежутка пораженной конечности. Исследование проводили в одно и то же время при одинаковой температуре в помещении ( $21^\circ\text{C}$ ) в течение 7–10 мин. Перед исследованиями испытуемые не принимали пищу или напитки, не курили [12].

Исследования осуществляли при поступлении, на 2, 5, 10 и 30-е сутки после оперативного вмешательства.

Для оценки психологического состояния пациентов использовали опросника Спилбергера — Ханина. Тестирование выполняли всем пациентам

Табл. 1. Распределение пациентов по характеру и локализации переломов

Группа	Открытые переломы			Закрытые переломы					Итого
	IO2, MT2, NT1	IO3, MT2, NT1	IO4, MT3, NT1	32A2	33C2	41C2	42A2	42C1	
Сравнения	7	7	1	2	1	3	8	7	36
Основная	6	7	1	2	1	2	7	6	32



перед оперативным вмешательством, через 10 и 30 дней после него.

Статистическую обработку данных проводили с помощью пакета программы BIOSTAT. Для описания характера распределения количественных параметров определяли средние величины (*M*) и их стандартные отклонения (*SD*). Данные пациентов в разные сроки посттравматического периода сравнивали с помощью критерия Ньюмена — Кейлса. Для межгруппового сравнения количественных показателей использовали критерий Манна — Уитни, качественных —  $\chi^2$ . Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

### РЕЗУЛЬТАТЫ

В 1-е сутки после травмы уровень АЧТВ в группе сравнения был ниже, чем в контроле в 1,1 раза, а ПМ — в 2 раза ( $p < 0,05$ ), не отличаясь от аналогичных показателей основной группы (табл. 2).

На 2-е сутки после операции АЧТВ и ПМ в обеих группах оставались неизменными при сопоставлении с 1-ми сутками после травмы. В основной группе на этом сроке зафиксировано повышение АЧТВ в 1,1 раза относительно группы сравнения ( $p < 0,01$ ). К 5-м суткам значение АЧТВ статистически значимо повысилось по сравнению как с первым днем после травмы, так и с контролем только в основной группе. К 10-м суткам в основной группе регистрировали повышение АЧТВ ( $p < 0,03$ , см. табл. 2), тогда как на 30-е сутки увеличение АЧТВ, напротив, регистрировали в группе сравнения ( $p < 0,0001$ ). Что касается ПМ, то на 5, 10 и 30-е сутки послеоперационного периода разницы между группами не выявлено (см. табл. 2).

Прием дабигатрана этексилата характеризовался отсутствием ВТЭО и кровотечений, тогда как в группе больных, принимавших варфарин, в 1 случае зарегистрировано развитие носового кровотечения на 20-е сутки после операции.

Анализ данных анкетирования по опроснику Спилбергера — Ханина перед операцией в группе

сравнения выявил очень высокую тревожность (ОВТ) у 15,6% пациентов, высокую тревожность (ВТ) у 73,9%, среднюю тревожность (СТ) у 10,5%. Показатели основной группы оказались сопоставимы и составили 15,9, 74,2 и 9,9% соответственно. На 10-е сутки после операции в группе сравнения ВТ зафиксирована у 47,2% пациентов, СТ — у 52,8%, тогда как в основной группе ВТ регистрировали в 15,6% наблюдений, СТ — в 40,6%, низкую тревожность (НТ) — в 28,1% и очень низкую тревожность (ОНТ) — в 15,6% ( $p < 0,05$ ). При контрольном анкетировании через 1 мес после операции в группе сравнения СТ диагностировали у 19,4% обследованных, НТ — у 66,7%, ОНТ — у 13,9%. В основной группе соответствующие показатели составили 3,1, 34,4 и 62,5% ( $p < 0,05$ ).

### ОБСУЖДЕНИЕ

Используемые нами показатели состояния системы гемостаза достоверно отражают течение процессов тромбообразования [13, 14].

Изменение показателей АЧТВ и ПМ в 1-й день травмы при переломах длинных костей конечностей происходит вследствие тотального спазма сосудов [2, 12], что может быть связано с ответом организма на стресс и характерно для первой стадии адаптационного синдрома [15]. На 2-е сутки после оперативного вмешательства изучаемые параметры не отличались от показателей первых суток, что также обусловлено стрессом, в роли которого выступала операция [15]. Кроме того, переломы длинных костей конечностей и операционная травма сопровождаются механическим повреждением сосудов с нарушением макро- и микроциркуляции и являются мощным фактором активации окислительных и иммунных процессов, что служит дополнительным предрасполагающим фактором к нарушению процессов свертывания крови [12, 14, 16].

Значимое отличие АЧТВ в основной группе при сопоставлении с группой сравнения на 2-е сутки

Табл. 2. Динамика показателя АЧТВ и ПМ у пациентов с переломами длинных костей нижних конечностей (*M*±*SD*)

Показатель	Срок исследования	Группа сравнения	Основная группа
АЧТВ, с	Контроль ( <i>n</i> =30)	36,02±2,06	
	1-е сутки после травмы	33,9±3,16 <sup>1</sup>	34,1±3,48 <sup>1</sup>
	2-е сутки после операции	34,6±3,26 <sup>1</sup>	37±4,28 <sup>6</sup>
	5-е сутки после операции	36,9±4,07	38,8±5,40 <sup>1,2</sup>
	10-е сутки после операции	39,6±5,07 <sup>1,2,3</sup>	43,7±9,60 <sup>1,2,3,4,6</sup>
	30-е сутки после операции	64,9±15,90 <sup>1,2,3,4,5</sup>	53,2±10,90 <sup>1,2,3,4,5,6</sup>
ПМ, перф. ед.	Контроль ( <i>n</i> =30)	4,81±1,25	
	1-е сутки после травмы	2,38±1,34 <sup>1</sup>	2,39±1,37 <sup>1</sup>
	2-е сутки после операции	2,45±0,65 <sup>1</sup>	2,59±1,15 <sup>1</sup>
	5-е сутки после операции	4,43±1,48 <sup>1,3</sup>	4,41±1,53 <sup>2,3</sup>
	10-е сутки после операции	4,85±1,54 <sup>2,3</sup>	4,59±1,38 <sup>2,3</sup>
	30-е сутки после операции	4,87±1,41 <sup>2,3</sup>	4,76±1,02 <sup>2,3</sup>

Примечание. Достоверность различий: 1 — по сравнению с контролем; 2 — с 1-ми сутками; 3 — со 2-ми сутками; 4 — с 5-ми сутками, 5 — с 10-ми сутками после операции; 6 — с группой сравнения.

связано с быстрым развитием фармакологического эффекта дабигатрана этексилата, который принимали через 4 ч после операции [8].

К 5-м суткам исследуемые показатели в группах не различались, что свидетельствует о сопоставимом эффекте применяемых препаратов [17, 18]. На фоне консервативного лечения купируется сосудистый спазм, вследствие чего возрастает приток крови к поврежденному сегменту конечности и модулируется системный ответ организма. Усиление нутритивного кровообращения ускоряет элиминацию продуктов тканевого распада [12], повышает эффективность иммунных реакций [19].

На 10-е сутки после операции показатель АЧТВ превышал контрольные значения, что указывает на развитие гипокоагуляции на фоне применения антикоагулянтов и отсутствие тромботических осложнений [2, 13]. Мощный антитромботический эффект прямых ингибиторов тромбина обусловлен их особым блокирующим действием на тромбин (ключевой белок, участвующий в процессе свертывания крови), причем не только на свободный, но и на связанный с тромбом [20]. Нормализация ПМ свидетельствует об уменьшении застоя крови и улучшении местного кровообращения, что сопровождается нормализацией процессов ангиогенеза и репарации [12, 14].

Значимое различие показателей АЧТВ и объективные клинические данные (отсутствие ВТЭО и кровотечений в основной группе) к 30-м суткам послеоперационного периода подтверждают тот факт, что в отличие от антагонистов витамина К дабигатрана этексилат обеспечивает эффективный, прогнозируемый и стойкий антикоагулянтный эффект. Препарат не взаимодействует с пищевыми продуктами, практически не взаимодействует с лекарствами, не требует рутинного контроля параметров коагуляции и корректировок дозы [17, 18, 20].

При более детальном рассмотрении данных анкетирования отмечено, что основные беспокойства больных группы сравнения были связаны, во-первых, с длительной подборкой оптимальной дозы варфарина, во-вторых, с необходимым контролем показателей свертывания на амбулаторном этапе. Что касается результатов анкетирования, полученных на 30-е сутки, то практически две трети пациентов указали на значительные трудности при выполнении лабораторного контроля, которые были связаны как с социальными условиями, так и с особенностями организации помощи на амбулаторно-поликлиническом этапе.

Таким образом, эффективность дабигатрана этексилата выше, чем у антагонистов витамина К (варфарин) и сопоставима с таковой низкомолекулярных гепаринов при профилактике ВТЭО не только после ортопедических операций, но и при острой травме. Данный факт позволяет рекомендовать препарата Прадакса® к более широкому

применению у пациентов ортопедо-травматологического профиля.

#### ЛИТЕРАТУРА [REFERENCES]

1. Копенкин С.С. Профилактика венозных тромбозных осложнений в ортопедической хирургии: новые возможности. Вестник травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова. 2010; 1: 35-8 [Kopyonkin S.S. Prevention of venous thromboembolic complications in orthopaedic surgery: new possibilities. Vestnik travmatologii i ortopedii im. N.N. Priorova. 2010; 1: 35-8 (in Russian)].
2. Гуманенко Е.К., Немченко Н.С., Бояринцев В.В., Гаврилин С.В. Нарушения в системе гемостаза при тяжелых ранениях и травмах: диагностика и лечение СПб: Фолиант; 2006 [Gumanenko E.K., Nenchenko N.S., Boyarintsev V.V., Gavrilin S.V. Disorders of hemostasis system in severe wounds and injuries: diagnosis and treatment. St. Petersburg: Foliant; 2006 (in Russian)].
3. Терещенко С.Н., ред. Тромбоземболия легочной артерии. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2010 [Tereshchenko S.N., ed. Pulmonary thromboembolism. Moscow: GEOTAR-Media; 2010 (in Russian)].
4. Pellegrini V.D. Jr, Donaldson C.T., Farber D.C., Lehman E.B., Evarts C.M. The Mark Coventry Award: Prevention of readmission for venous thromboembolism after total knee arthroplasty. Clin. Orthop. Relat. Res. 2006; 452: 21-7.
5. Galster H., Kolb G., Konrystorz A., Seidlmayer C., Paal V. The pre- and postsurgical activation of coagulation and thromboembolic risk for different risk groups. Thromb. Res. 2000; 1000: 381-8.
6. Geerts W.H., Pineo G.F., Heit J.A., Bergqvist D., Lassen M.R., Colwell C.W., Ray J.G. Prevention of venous thromboembolism: the Seventh ACCP Conference on Antithrombotic and Thrombolytic Therapy. Chest. 2004; 126 (3): 338S-400S.
7. Миронов С.П. Состояние ортопедо-травматологической службы в Российской Федерации и перспективы внедрения инновационных технологий в травматологии и ортопедии. Вестник травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова. 2010; 4: 10-3 [Mironov S.P. State of orthopaedic-traumatologic service in Russian Federation and perspectives for introduction of innovative technologies in traumatology and orthopaedics. Vestnik travmatologii i ortopedii im. N.N. Priorova. 2010; 4: 10-3 (in Russian)].
8. Российские клинические рекомендации: профилактика венозных тромбозных осложнений в травматологии и ортопедии. Травматология и ортопедия России. 2012; 1: 1-24 [Russian clinical guidelines. Prevention of venous thromboembolic complications in traumatology and orthopaedics. Travmatologiya i ortopediya Rossii 2012; 1: 24 (in Russian)].
9. Кулинчик Т.В., Реброва О.Ю., Маргиева А.В., Авксентьева М.В., Воскресенский О.Ю., Петрова Н.В., Рейно Е.В. Клиническая эффективность и безопасность первичной профилактики тромботических осложнений после ортопедических операций. Вестник травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова. 2012; 3: 39-47 [Kulinchik T.V., Rebrova O.Yu., Margieva A.V., Avksent'eva M.V., Voskresenskiy O.Yu., Petrova N.V., Reino E.V. Clinical efficacy and safety of primary thrombotic complications prevention after orthopaedic operations. Vestnik travmatologii i ortopedii im. N.N. Priorova. 2012; 4: 39-47 (in Russian)].
10. Muller M.E., Nazarian S., Koch P. The Comprehensive classification of fractures of long bones. Heidelberg-New York: Springer-Verlag; 1996.
11. Кишкун А.А. Руководство по лабораторным методам диагностики. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2007 [Kishkush A.A.

- Manual of laboratory methods for diagnosis. Moscow: GEOTAR-Media; 2007 (in Russian)].
12. *Крупаткин А.И., Сидоров В.В.* Лазерная доплеровская флоуметрия микроциркуляции крови. М.: Медицина; 2005 [*Krupatkin A.I., Sidorov V.V.* Laser Doppler flowmetry of microcirculation. Moscow: Meditsina; 2005 (in Russian)].
  13. *Нетесин Е.С., Кузнецов С.М., Голуб И.Е.* Клинико-лабораторный контроль антикоагулянтной терапии. Сибирский медицинский журнал. 2007; 3: 109–13 [*Netesin E.S., Kuznetsov S.M., Golub I.E.* Clinical and laboratory control of anticoagulant therapy. Sibirskiy meditsinskiy zhurnal. 20-7; 3: 109-13 (in Russian)].
  14. *Миromanov А.М., Глушченко И.А., Миromanova Н.А., Шаповалов К.Г.* Значение показателей микроциркуляции и компонентов сосудистого тонуса в диагностике тромбозомболических осложнений у больных с переломами длинных трубчатых костей. Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. 2011; 4: 127–32 [*Miromanov A.M., Glushchenko I.A., Miromanova N.A., Shapovalov K.G.* Value of indices of microcirculation and components of vascular tonus in diagnostics of tromboembolic complications in patients with fractures of long tubular bones. Bulletin of the East Siberian Scientific Center SB RAMS. 2011; 4: 127-32 (in Russian)].
  15. *Кузник Б.И., Лиханов И.Д., Цепелев В.Л., Сизоненко В.А.* Теоретические и клинические аспекты биорегулирующей терапии в хирургии и травматологии. Новосибирск: Наука; 2008 [*Kuznik B.I., Likhonov I.D., Tsepelev V.L., Sizonenko V.A.* Theoretical and clinical aspects of bioregulating therapy in surgery and traumatology. Novosibirsk: Nauka; 2008 (in Russian)].
  16. *Ахтямов И.Ф., Гарифуллов Г.Г., Миронова И.В., Юсеф А.И., Коваленко А.Н.* Изменение свертывающей системы крови при эндопротезировании тазобедренного сустава (предварительное сообщение). Травматология и ортопедия России. 2006; 4 (42): 38–42 [*Akhtyamov I.F., Garifullov G.G., Mironova I.V., Yuosef A.I., Kovalenko A.N.* The change of coagulant system of blood at hip replacement (preliminary report). Travmatologiya i ortopediya Rossii. 2006; 4 (42): 38-42 (in Russian)].
  17. *Eriksson B.I., Dahl O.E., Rosencher N., Kurth A.A., van Dijk C.N., Frostick S.P. et al.* Dabigatran etexilate versus enoxaparin for prevention of venous thromboembolism after total hip replacement: a randomized, double-blind, non-inferiority trial. Lancet. 2007; 370 (9591): 949–56.
  18. *Eriksson B.I., Dahl O.E., Rosencher N., Kurth A.A., van Dijk C.N., Frostick S.P. et al.* Oral dabigatran etexilate vs. subcutaneous enoxaparin for prevention of venous thromboembolism after total knee replacement: the RE-MODEL randomized trial. J. Thromb. Haemost. 2007; 5 (11): 2178–85.
  19. *Петрищев Н.Н., ред.* Дисфункция эндотелия: причины, механизмы, фармакологическая коррекция. СПб: Издательство СПбГМУ; 2003 [*Petrishchev N.N., ed.* Dysfunction of endothelium: causes, mechanisms, pharmacologic correction. St.Petersburg: St.Petersburg GMU; 2003 (in Russian)].
  20. *Stangier J.* Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of the oral direct thrombin inhibitor dabigatran etexilate. Clin. Pharmacocinet. 2008; 47: 285–95.

**Сведения об авторе:** *Миromanov Александр Михайлович* — доктор мед. наук, доцент, зав. кафедрой травматологии и ортопедии.

**Для контактов:** 672090, Чита, ул. Горького, 39а, ЧГМА. Тел.: +7 (924) 386-18-16. E-mail: miromanov\_a@mail.ru.

### ВНИМАНИЮ АВТОРОВ!

При направлении статей в редакцию просим обращать особое внимание на правильность представления материала.

Все термины и определения должны быть научно достоверны, их написание (как русское, так и латинское) должно соответствовать «Энциклопедическому словарю медицинских терминов» (в 3-х томах, под ред. акад. Б.В. Петровского).

Лекарственные препараты должны быть приведены только в международных непатентованных названиях, которые употребляются первыми, затем в случае необходимости приводятся несколько торговых названий препаратов, зарегистрированных в России (в соответствии с информационно-поисковой системой «Клифар-Госреестр» [Государственный реестр лекарственных средств]).

Желательно, чтобы написание ферментов соответствовало стандарту Enzyme Classification, названия наследуемых или семейных заболеваний—международной классификации наследуемых состояний у человека (Mendelian Inheritance in Men [<http://ncbi.nlm.nih.gov/Omim>]).

Названия микроорганизмов должны быть выверены в соответствии с «Энциклопедическим словарем медицинских терминов» (в 3 томах, под ред. акад. Б.В. Петровского) или по изданию «Медицинская микробиология» (под ред. В.И. Покровского).

Написание Ф.И.О. авторов, упоминаемых в тексте, должно соответствовать списку литературы.

Помимо общепринятых сокращений единиц измерения, физических, химических и математических величин и терминов (например, ДНК), допускаются аббревиатуры словосочетаний, часто повторяющихся в тексте. Все вводимые автором буквенные обозначения и аббревиатуры должны быть расшифрованы в тексте при их первом упоминании. Не допускаются сокращения простых слов, даже если они часто повторяются.

Дозы лекарственных средств, единицы измерения и другие численные величины должны быть указаны в системе СИ.

© Коллектив авторов, 2015

## СКРИНИНГОВАЯ ДИАГНОСТИКА СКОЛИОЗА МЕТОДОМ КОМПЬЮТЕРНОЙ СТАБИЛОМЕТРИИ

О.Д. Давыдов, А.И. Монтиле, Ю.В. Марчук, А.А. Монтиле

ГБУЗ СО детская клиническая больница восстановительного лечения  
«Научно-практический центр «Бонум», Екатеринбург, РФ

Обследовано 47 молодых людей в возрасте 18–20 лет, из них 11 человек с диагностированным идиопатическим сколиозом I и II степени (группа «сколиоз») и 36 человек без ортопедической и неврологической патологии (группа «норма»). Использован метод компьютерной стабилометрии. Получены функциональные зависимости, характеризующие распределение скоростей движения центра давления стоп на поверхности опоры во фронтальной плоскости, отличающиеся параметрически у обследуемых обеих групп. Выявлен диагностический признак — количество интервалов движения с постоянными скоростями длительностью 0,02 с, позволяющий отнести обследуемого к группе риска по сколиозу. Клиническая апробация способа диагностики проведена в двух группах детей (по 12 человек) в возрасте 7–8 лет: в группе «сколиоз-контроль» у детей с клинически подтвержденным диагнозом идиопатического сколиоза I и II степени и в группе «норма-контроль» у детей без ортопедической патологии. Чувствительность метода составила 92%. Разработанная методика может быть рекомендована как скрининговая для выявления детей группы риска с начальными степенями сколиоза.

Ключевые слова: идиопатический сколиоз, компьютерная стабилометрия, скрининговая диагностика, группа риска.

### *Screening Diagnosis for Scoliosis using Computed Stabilometry*

O.D. Davydov, A.I. Montile, Yu.V. Marchuk, A.A. Montile

Scientific Practical Center «Bonum», Ekaterinburg, Russia

Forty seven young patients aged 18–20 years were examined; 11 patients with I and II stages of idiopathic scoliosis (group «scoliosis») and 36 individuals with neither orthopaedic nor neurologic pathology (group «norm»). Method of computed stabilometry was used. Functional dependences that characterized distribution of the rates of feet pressure center on the supporting surface in frontal plane which differed parametrically in representatives of both groups were obtained. A diagnostic parameter, i.e. the number of movement intervals with constant velocity of 0.02 s., that enabled to consider a person to be at-risk group, was identified. Clinical testing of diagnostic technique was performed in 2 groups of children (12 in each group) aged 7–8 years: group «scoliosis-control» included patients with clinically confirmed I and II stage idiopathic scoliosis, group «norm-control» — children without orthopaedic pathology. Sensitivity of the method made up 92%. Elaborated technique can be recommended as a screening diagnosis for identification of at-risk children with initial stages of scoliosis.

Key words: idiopathic scoliosis, computed stabilometry, screening diagnosis, risk group.

Сколиоз является распространенным ортопедическим заболеванием, занимающим одно из первых мест в структуре патологий детского и подросткового возраста. Частота его встречаемости, по данным различных авторов, достигает 10% [1]. Клинико-рентгенологическая картина, течение и исход сколиотических деформаций хорошо изучены [2, 3]. Последние четыре десятилетия ознаменовались значительным прогрессом в хирургическом лечении сколиозов [4]. Однако, несмотря на явные успехи, сколиотическая болезнь продолжает оставаться одной из наиболее сложных проблем современной ортопедии. Так, до конца не изучены этиология и патогенез, в частности, самой распространенной формы — идиопатического сколиоза, поэтому отсутствуют этиопатогенетические способы

лечения. Тем не менее очевидно, что ранняя диагностика, профилактика и систематическое консервативное лечение данного заболевания позволяют снизить риск развития грубых деформаций позвоночника [4, 5].

Раннее выявление нарушений осанки или формирующихся сколиотических деформаций возможно при проведении массовых скрининговых обследований. При этом, в соответствии с современными представлениями, скрининговый метод должен отвечать ряду требований: быть неинвазивным, обеспечивать объективную регистрацию симптомов, количественную и качественную оценку степени проявления функциональных отклонений, максимально возможную скорость диагностического процесса [6]. В насто-

ящее время разработаны и предложены для массового внедрения методики и скрининговые системы, предназначенные для визуального выявления деформаций позвоночника, такие как мураровая топография [7], растровая стереография [8] и др. С этой целью успешно используется метод компьютерно-оптической топографии (КОМОТ), разработанный в Новосибирском НИИТО [9]. Применение вышеперечисленных методик позволяет выявить уже обозначившиеся деформации позвоночника, но требует высокой квалификации медицинского персонала и наличие специализированных аппаратно-программных комплексов. Представляется целесообразным разработать методику предварительного формирования групп риска по сколиозу с «отсевом» заведомо здоровых лиц, которая может быть реализована врачом общей практики или средним медперсоналом в ходе диспансерного обследования детей и подростков. Таким образом, будет уменьшен поток пациентов, направляемых к ортопедам, использующим более тонкие и специализированные методики для уточнения диагноза.

Широко известны биомеханические методы диагностики функциональных нарушений опорно-двигательного аппарата, в том числе с применением компьютерной стабилотрии [1, 10, 11]. Используются базовые и векторные показатели движения центра давления тела пациента на стабилотрической платформе, такие как смещение во фронтальной и сагиттальной плоскостях, площадь статокинезиограммы, скорость перемещения и др. Все они неспецифичны для рассматриваемой патологии, поскольку, позволяя определить наличие и степень выраженности статодинамических нарушений у пациента, не информативны с точки зрения выявления их причин.

Нами на протяжении последних лет ведется разработка нового способа анализа стабилотрических сигналов, учитывающего индивидуальные особенности патологического процесса у каждого пациента, с целью повышения эффективности диагностики и дифференциальной диагностики функциональных нарушений опорно-двигательного аппарата. В результате проведенных исследований определен набор новых признаков, позволяющий преодолеть недостатки, обусловленные применением базовых статистических и векторных стабилотрических показателей [12].

Полученные при клинической апробации результаты показали высокую информативность разработанной системы показателей и эффективности способа их использования для диагностики и дифференциальной диагностики ряда заболеваний: посттравматического остеоартроза голеностопного и таранно-пяточного суставов, плоскостопия, детского церебрального паралича, сенситивной атаксии при полинейропатии и др. Учитывая актуальность ранней диагностики сколиотической болезни, разработан метод обработки результатов ста-

билотрических тестов, основанный на новой системе показателей.

Цель исследования: разработать способ скрининговой диагностики начальных степеней (I–II) сколиоза с использованием компьютерной стабилотрии.

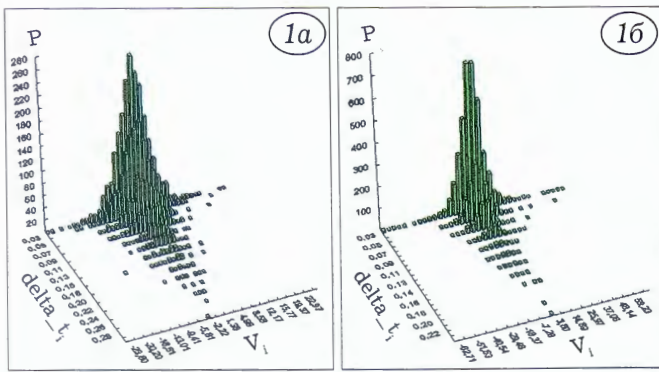
#### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Обследовано 47 человек в возрасте от 18 до 20 лет. Из них 11 пациентов с идиопатическим сколиозом I и II степени, верифицированным рентгенологически, вошли в группу «сколиоз», а 36 человек без ортопедической и неврологической патологии составили группу «норма».

Клиническая апробация разработанного способа скрининговой диагностики сколиоза проведена в двух группах детей в возрасте 7–8 лет. Первую группу «сколиоз-контроль» составили 12 детей с диагнозом идиопатический сколиоз, из них 10 — I степени, 2 — II степени. Во вторую группу «норма-контроль» вошло 12 детей без патологии.

Стабилотрическое исследование проведено на компьютерном стабилотрическом стабилизаторе Стабилан-01 (ЗАО «ОКБ «Ритм», Таганрог). Испытуемый должен был в течение 20 с стоять неподвижно с открытыми глазами, сохраняя естественную непринужденную позу. Для того чтобы не отвлекаться на посторонние сигналы, испытуемый фиксировал взгляд на меняющиеся по цвету кружки на экране монитора, установленного на уровне глаз на расстоянии 2 м, и считал количество кругов белого цвета. Для повышения достоверности получаемых данных каждому обследованному было проведено по три аналогичных теста с перерывом в 5 мин.

По выборкам стабилотриграмм каждого обследуемого для фронтальной и сагиттальной координат перемещения центра давления были выделены интервалы движения с постоянной скоростью и определены: длительность каждого интервала ( $\Delta t_i$ ) и скорость на нем ( $V_i$ ), а также число интервалов с различными длительностями и скоростями. Результаты были экспортированы в программу обработки биометрических данных «Радикал», с помощью которой были построены диаграммы рассеяния ( $\Delta t_i, V_i$ ) и в программу Statistica v.6.0, в которой были получены гистограммы, характеризующие распределения интервалов ( $\Delta t_i, V_i$ ). Поскольку форма и параметры диаграмм и гистограмм для сагиттальной координаты в группах «сколиоз» и «норма» не отличались, то в дальнейшем использовали только данные для фронтальной координаты. Были выделены интервалы неизменного движения минимальной длительностью  $\Delta t_{0,02}$  с, которые упорядочивались по возрастанию скорости, нормировались на максимальные положительные (вектор скорости направлен вправо) и отрицательные (вектор скорости направлен влево) значения и центрировались по нулевой скорости. Нормирование позволяет учитывать различия в степени развитости мышечного аппарата и явля-



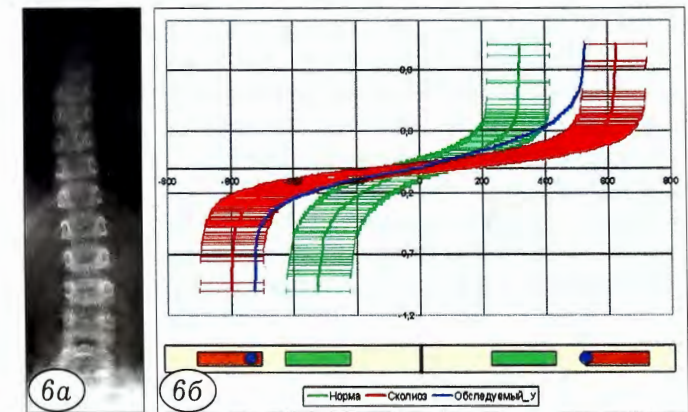
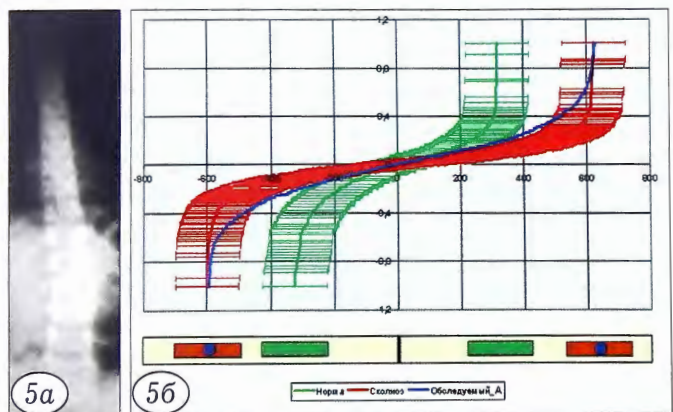
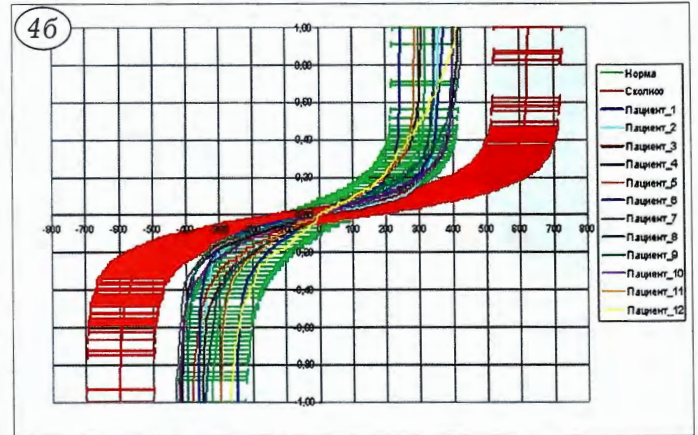
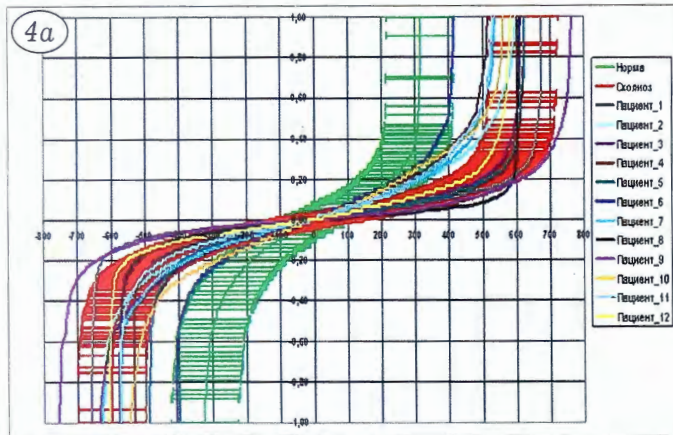
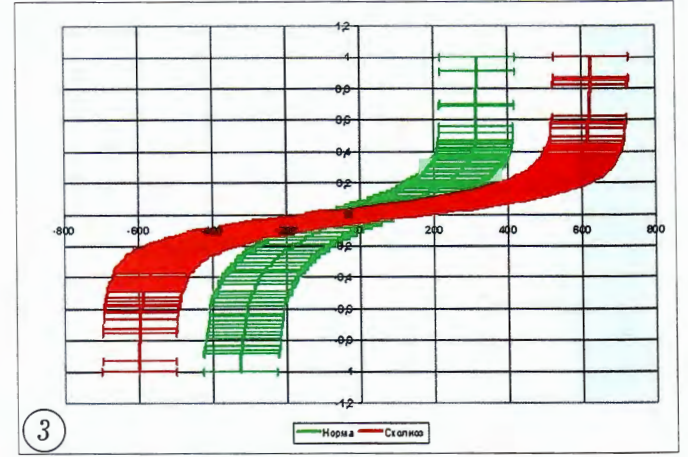
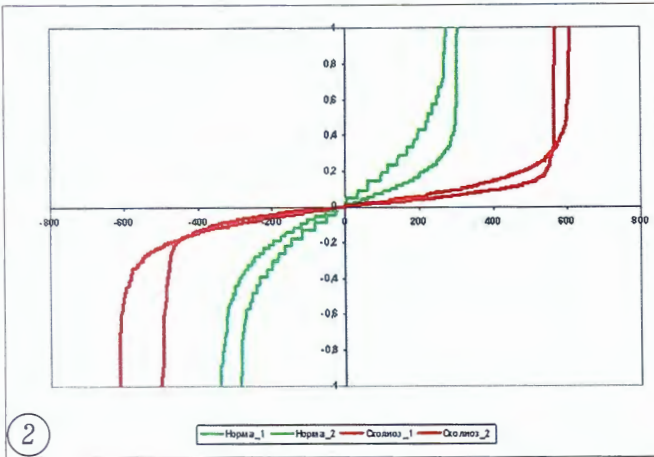
**Рис.1.** Гистограммы интервалов ( $\Delta t_i, V_i$ ) для обследуемых из группы «норма» (а) и группы «сколиоз» (б).  $\Delta t_i$  — длительность интервала непрерывного движения (в с),  $V_i$  — скорость движения (в мм/с), P — количество интервалов (в абсолютных значениях).

**Рис. 2.** Графики распределения скоростей движения, упорядоченных по возрастанию.

Здесь и на рис. 3–6 ось абсцисс — нормированная скорость, ординат — количество интервалов отклонения влево и вправо от центра. Зеленый тренд — норма, красный — сколиоз.

**Рис. 3.** Зоны «нормы» и риска по сколиозу.

**Рис. 4.** Результаты тестирования группы «сколиоз-контроль» (а) и группы «норма-контроль» (б).



**Рис. 5.** Рентгенограмма (а) и пример тестирования (б) пациента П., 6 лет с левосторонним идиопатическим сколиозом груднопоясничного отдела позвоночника II степени (угол Кобба 15°).

**Рис. 6.** Рентгенограмма (а) и пример тестирования (б) пациента Г., 7 лет с правосторонним идиопатическим сколиозом груднопоясничного отдела позвоночника I степени (угол Кобба 10°).

ется необходимым, в частности, при обработке данных обследуемых различных возрастных групп.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Примеры типичных гистограмм, характеризующих распределение интервалов ( $\Delta t_i, V_i$ ) для обследованных групп «норма» и «сколиоз», приведены на рис. 1. Отчетливо видно уменьшение количества интервалов большой длительности, увеличение частоты появления интервалов малой длительности при одновременном расширении диапазона скоростей интервалов и вытягивании вверх имеющих колоколообразный вид сечений для фиксированных длительностей интервалов на гистограмме обследуемого из группы «сколиоз» по сравнению с гистограммой здорового.

Учитывая, что наибольшие изменения фиксировались при длительности интервалов  $\Delta t$  0,02 с, далее рассматривали диапазоны неизменного движения такой длительности.

Полученные для  $\Delta t$  0,02 с функциональные зависимости, характеризующие распределение скоростей движения, упорядоченные по возрасту, соответствовали виду кривых, характерных для устойчивого удержания равновесия по любому признаку у биологических объектов, но отличались параметрически в группах «норма» и «сколиоз». На рис. 2 представлены примеры кривых для двух типичных представителей каждой группы. Количество интервалов фиксированной длительности, но с разными скоростями, определяемому для каждой стабиллограммы, соответствует проекция части кривой на ось абсцисс, т.е. длина соответствующего отрезка. Поэтому общее количество интервалов при перемещениях вправо либо влево — это расстояние по оси абсцисс от нуля до максимальной нормированной скорости, зафиксированной для обследуемого, т.е. до крайней правой либо левой точки отдельной кривой. По результатам статистической обработки всех данных были выделены зоны нормы и зоны риска для сколиоза относительно кривых удержания равновесия (рис. 3).

Учитывая неполное перекрытие зон, можно заключить, что кривая произвольно выбранного обследуемого будет принадлежать одной из выделенных зон либо частично находиться в области неопределенности, наличие которой обусловлено высокими требованиями статистической достоверности различения. Сечения зон по оси нормированных скоростей на уровне максимальных положительных (перемещение вправо) и отрицательных (перемещение влево) нормированных скоростей не перекрываются. Таким образом, в качестве диагностического признака для отнесения обследуемого к группе риска по сколиозу достаточно использовать величины отклонений влево и вправо от середины отрезка с нулевыми значениями скорости до крайних точек с максимальными нормированными скоростями. При визуализации про-

стейшим признаком является попадание либо непопадание проекции концевых точек кривой в отрезки, соответствующие вышеопределенным сечениям зон «нормы» и «риска».

Результаты апробации способа скрининговой диагностики начальных степеней идиопатического сколиоза у детей 7–8 лет в группах «сколиоз-контроль» и «норма-контроль» проиллюстрированы рис. 4. Сколиоз был точно диагностирован у 11 детей, в 1 случае получен ложноотрицательный результат. У 11 детей без признаков патологии при визуальной индикации констатируется попадание нормированных скоростей в соответствующую зону нормы, в 1 случае отмечен незначительный выход за ее границы.

По результатам проведенного исследования получен диагностический признак, позволяющий отнести обследуемого к группе риска по сколиозу — количество интервалов движения с постоянными скоростями длительностью  $\Delta t$  0,02 с. Этот признак характерен только для фронтальной стабиллограммы, определяющей перемещение центра давления стоп на опорной поверхности в боковых направлениях (движения вправо–влево).

У обследуемых из группы «норма» количество интервалов для положительных (вправо) и отрицательных (влево) перемещений по отдельности по всем, полученным на настоящий момент, данным клинической апробации изменяется в диапазоне от 211 до 448; для идиопатического слабо выраженного сколиоза — от 498 до 732. Границы диапазонов, в которые попадают 95% наблюдений, рассчитанные по стандартной формуле  $Mean \pm 1,96 \cdot SD$  ( $Mean$  — выборочное среднее,  $SD$  — стандартное отклонение) и округленные до целых кратных 5 значений, составляют от 215 до 415 интервалов для «нормы» и от 500 до 700 интервалов для слабо выраженного сколиоза. С учетом особенностей формирования групп риска, а именно необходимости увеличения чувствительности за счет возможного снижения специфичности, при округлении диапазон группы риска расширялся, а диапазон «нормы», наоборот, сужался. Чувствительность и специфичность, рассчитанные по стандартной методике для округленных диапазонов и числовых данных, равняются для базовых групп «сколиоз» и «норма» 0,91 и 0,86 соответственно. Для двух групп детей «сколиоз-контроль» и «норма-контроль» в возрасте 7–8 лет чувствительность и специфичность метода составили соответственно 0,92 и 0,92.

На рис. 5 представлены рентгенограмма и типичные результаты стабиллометрического тестирования с визуальной индикацией, четко позволяющей отнести пациента к группе «сколиоз».

На рис. 6 представлены данные самого сложного из обследованных пациентов. Для отрицательных интервалов  $\Delta t$  0,02 с, характеризующих перемещение центра давления стоп на опорной поверхности стабиллометрической платформы вле-

во, отмечено попадание в визуальную область индикации принадлежности к «сколиозу». А для положительных интервалов, связанных с перемещениями центра давления стоп вправо, маркер оказался расположенным на границе зоны «сколиоз».

При анализе причин единичного случая ложноотрицательной диагностики в младшей возрастной группе выявлено, что у ребенка имеется осложненный акушерский анамнез. С диагнозом резидуального поражения центральной нервной системы с формированием синдрома гиперактивности и дефицита внимания пациент с раннего возраста находится на диспансерном наблюдении у педиатра и детского невролога. Учитывая это обстоятельство, можно предположить, что изначально ортопедический диагноз был поставлен неверно и в данном случае сколиоз не является идиопатическим, а относится к группе нейрогенных сколиозов, которым присущи иные патогенетические характеристики и функциональные нарушения, что требует дальнейшего изучения.

### ВЫВОДЫ

1. В результате проведенных исследований выявлены специфические для сколиоза изменения формы гистограммы, характеризующей частоту появления интервалов движения с постоянными скоростями при перемещении центра давления стоп на стабилметрической платформе во фронтальной плоскости.

2. На основании анализа кривых распределения интервалов различных длительностей, упорядоченных по возрастанию скоростей, обнаружена зависимость между количеством интервалов с различными скоростями для длительности 0,02 с и особенностями динамических процессов при удержании равновесия в вертикальной позе, характерная для обследуемых с идиопатическим сколиозом I–II степени.

3. Найден признак — количество интервалов движения с постоянными скоростями длительностью 0,02 с, позволяющий определять принадлежность обследуемого к группе риска по сколиозу.

4. Разработана методика скрининговой диагностики начальных степеней сколиоза с использованием данного признака, которая не требует приобретения дорогостоящих аппаратных комплексов и позволяет формировать группы риска по сколиозу врачам общей практики или среднему медицинскому персоналу для дальнейшего направления этих пациентов профильным специалистам.

### ЛИТЕРАТУРА [REFERENCES]

1. *Лейн Г.А., Гусев М.Г.* Комплексное биомеханическое обследование детей с начальными степенями идиопатического сколиоза. Хирургия позвоночника. 2007; 4:

53–7 [*Lein G.A., Gusev M.G.* Comprehensive biomechanical examination of children with initial stages of idiopathic scoliosis. *Khirurgiya pozvonochnika*. 2007; 4: 53–7 (in Russian)].

2. *Казьмин А.И., Кон И.И., Беленький В.Е.* Сколиоз. М.: Наука; 2001 [*Kaz'min A.I., Kon I.I., Belen'kiy V.E.* Scoliosis. Moscow: Nauka; 2001 (in Russian)].
3. *Ханаев А.Л., Гладков А.В., Черепанов Е.А.* Диагностика сколиотических деформаций позвоночника по биомеханическим параметрам. Хирургия позвоночника. 2006; 3: 71–5 [*Khanaev A.L., Gladkov A.V., Cherepanov E.A.* Diagnostics of spinal scoliotic deformities by biomechanical parameters. *Khirurgiya pozvonochnika*. 2006; 3: 99–105 (in Russian)].
4. *Дудин М.Г., Пинчук Д.Ю., Бекшаев С.С., Святогор И.А., Пинчук О.Д., Бумакова С.А. и др.* К вопросу об этиопатогенезе идиопатического сколиоза. Хирургия позвоночника. 2006; 4: 18–25 [*Dudin M.G., Pinchuk D.Yu., Bekshaev S.S., Svyatogor I.A., Pinchuk O.D., Bumakova S.A., et al.* On etiopathogenesis of idiopathic scoliosis. *Khirurgiya pozvonochnika*. 2006; 4: 18–25 (in Russian)].
5. *Садовой М.А., Садовая Т.Н., Цыцорина И.А.* Организация оказания специализированной ортопедической помощи детям с деформациями позвоночника. Хирургия позвоночника. 2011; 3: 99–105 [*Sadovaya M.A., Sadovaya T.N., Tsytsorina I.A.* Organization of specialized orthopedic care to children with spinal deformities. *Khirurgiya pozvonochnika*. 2011; 3: 99–105 (in Russian)].
6. *Садовая Т.Н.* Концепция раннего выявления, лечения и мониторинга деформаций позвоночника у детей. Хирургия позвоночника. 2009; 4: 80–4 [*Sadovaya T.N.* The concept of early detection, treatment, and monitoring of spinal deformities in child. *Khirurgiya pozvonochnika*. 2009; 4: 80–4 (in Russian)].
7. *Sahlstrand T.* The clinical value of Moire topography in the management of scoliosis. *Spine*. 1986; 11: 409–17.
8. *Stokes I.A., Moreland M.S.* Measurement of the shape of the surface of the back in patients with scoliosis. The standing and forward-bending position. *J. Bone Joint. Surg. Am.* 1987; 69: 203–11.
9. *Сарнадский В.Н., Садовой М.А., Фомичев Н.Г.* Способ компьютерной оптической топографии тела человека и устройство для его осуществления. Евразийский патент № 000111 [*Sarnadskiy V.N., Sadovoy M.A., Fomichyov N.G.* A method for computer optical topography of human body and a device for its implementation. Eurasian Patent No. 000111; 1998 (in Russian)].
10. *Кирпичев И.В., Львов С.Е., Чемоданов В.В.* Клинико-функциональная характеристика различных форм сколиозов у детей. Вестник Ивановской медицинской академии. 2005; 10 (1–2): 63–8 [*Kirpichyov I.V., Lvov S.E., Chemedanov V.V.* Clinical and functional characteristics of various types of scoliosis in children. *Vestnik Ivanovskoy meditsinskoy akademii*. 2005; 10 (1–2): 63–8 (in Russian)].
11. *Скворцов Д.В.* Клинический анализ движений. Стабилометрия. М.: Антидор; 2000 [*Skvortsov D.V.* Clinical analysis of movements. *Stabilometry*. Moscow: Antidor; 2000 (in Russian)].
12. *Давыдов О.Д., Монтиле А.И., Марчук Ю.В., Кузнецова Н.Л.* Способ диагностики функциональных нарушений опорно-двигательного аппарата. Патент РФ № 2497451; 2013 [*Davydov O.D., Montile A.I., Marchuk Yu.V., Kuznetsova N.L.* Method for the diagnosis of functional disorders of the musculoskeletal system. Patent RF, N 2497451; 2013 (in Russian)].

**Сведения об авторах:** *Давыдов О.Д.* — канд. мед. наук, врач-невролог НПЦ «Бонум»; *Монтиле А.И.* — канд. тех. наук, доцент Уральского государственного лесотехнического университета; *Марчук Ю.В.* — канд. физ.-мат. наук, начальник информационно-аналитического отдела врач-невролог НПЦ «Бонум»; *Монтиле А.А.* — младший науч. сотр. Ботанического сада УрО РАН.

**Для контактов:** Давыдов Олег Дмитриевич. 620142, Екатеринбург, пер. Банковский, д. 7. Тел.: +7 (950) 639–79–14. E-mail: davod09@yandex.ru.



© Коллектив авторов, 2015

## ОПЕРАТИВНОЕ ЛЕЧЕНИЕ БОЛЕЗНИ ЛЕДДЕРХОЗЕ У ПАЦИЕНТКИ С МУКОПОЛИСАХАРИДОЗОМ I ТИПА (ГУРЛЕР — ШЕЙЕ)

Н.А. Корышков, Л.К. Михайлова, А.С. Ходжиев

ФГБУ «Центральный научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова»  
Минздрава России, Москва, РФ

*Представлено описание пациентки 29 лет с мукополисахаридозом I типа и контрактурой Леддерхоze. При осмотре подошвенных поверхностей обеих стоп обращали на себя внимание опухолевидные выпячивания неправильной формы размерами до 6,5 см, резко болезненные при пальпации. Пациентке последовательно на двух стопах выполнены операции с иссечением подошвенного апоневроза и фиброзных узлов на фоне патогенетической энзимозамещающей терапии. Послеоперационный период без осложнений. Данное наблюдение свидетельствует о возможности и целесообразности как можно более раннего выполнения у таких пациентов операций в специализированных отделениях, что позволяет восстановить опороспособность стопы и значительно повысить качество жизни.*

**Ключевые слова:** мукополисахаридоз, подошвенный апоневроз, болезнь Леддерхоze, операция.

### *Surgical Treatment of Ledderhose Disease in Patient with Mucopolysaccharidosis Type I (Hurler-Sheie)*

*N.A. Koryshkov, L.K. Mikhailova, A.S. Khodjiev*

Central Institute of Traumatology and Orthopaedics named after N.N. Priorov,  
Moscow, Russia

*Case report of a 29 years old female patient with mucopolysaccharidosis type I and Ledderhose disease is presented. Examination of plantar surfaces showed tumor like protrusions up to 6.5 cm, of irregular shape and extremely painful at palpation, on both feet. Resection of plantar aponeurosis and fibrotic nodes on both feet was performed against a background of pathogenetic enzyme replacement therapy. No complications were observed in postoperative period. This case illustrates that in such patients performance of early surgical intervention at specialized departments is possible and reasonable, as it enables to restore weight bearing ability of the foot as well as significantly increases the quality of life.*

**Key words:** mucopolysaccharidosis, plantar aponeurosis, Ledderhose disease, surgery.

Контрактура Леддерхоze — заболевание, обусловленное развитием рубцового сморщивания подошвенного апоневроза. Впервые описана немецким хирургом G. Ledderhose (1855–1925) [1]. В результате постепенного сокращения апоневроза происходит формирование сгибательных контрактур IV и V пальцев стоп [2].

Развитию заболевания способствуют тяжелые физические нагрузки, вследствие чего могут возникать надрывы апоневроза (например, у спортсменов, занимающихся спортивной ходьбой и бегом — стайеров и марафонцев), при заболеваниях соединительной ткани (болезни накопления). По ходу сухожилий сгибателей пальцев формируются узелковые уплотнения, напоминающие контрактуру Дюпюитрена. При прогрессировании процесса подошвенный апоневроз укорачивается, что приводит к флексии стопы, сгибательной контрактуре пальцев и нарушению походки. Консервативное лечение контрактуры Леддерхоze неэффективно. Показана оперативная коррекция с

иссечением пораженного апоневроза. На ранних стадиях заболевания возможно выздоровление с восстановлением функции стопы и пальцев.

Под нашим наблюдением находилось 4 пациента с болезнью Леддерхоze, из них у одной была выявлена генетически обусловленная патология — болезнь накопления, мукополисахаридоз I типа [3, 4]. Прогрессирование процесса сморщивания подошвенного апоневроза у нее произошло после беременности и родов.

В доступной литературе нам не встретилось описания оперативного лечения пациентов с мукополисахаридозом I типа (Гурлер — Шейе) и болезнью Леддерхоze.

Представляем собственное клиническое наблюдение.

Больная Б., 29 лет. Диагноз: болезнь Леддерхоze — фиброматоз подошвенного апоневроза обеих стоп; мукополисахаридоз I типа (Гурлер — Шейе), субнанизм (рост 147 см); множественные контрактуры крупных суставов; хроническая умеренная железодефицитная ане-

мия; помутнение роговицы, двусторонняя вторичная глаукома (оперативное лечение слева), атрофия зрительного нерва слева; кардиомиопатия, митральный неревматический порок с преобладанием стеноза, недостаточность митрального клапана II ст. Н I; синдром карпального канала; хронический цистит, пиелонефрит (ремиссия); хронический гастрит (ремиссия).

Из анамнеза: от вторых нормальных родов. В период с 4-го до 10-й месяц жизни лечилась в поликлинике по месту жительства с диагнозом «дисплазия тазобедренных суставов» с применением отводящей шины. До 3 лет часто болела ринитами, отитами, ОРВИ. В возрасте 3 лет, в 1987 г., выявлены дефицит массы тела, отставание в росте, генетиком заподозрена болезнь накопления. В Московском медико-генетическом центре поставлен диагноз: мукополисахаридоз I типа (Гурлер — Шейе). С 2008 г. стала получать энзимозамещающую терапию препаратом «Альдуразим». В 2010 г. пациентка родила сына (масса тела 1852 г, рост 43 см), родоразрешение оперативным путем. С 2010 г. наблюдалась в амбулаторно-поликлиническом отделении ЦИТО по поводу контрактур в тазобедренных суставах.

С 2011 г. появились затруднения при ходьбе, выраженный болевой синдром в обеих стопах. В мае 2013 г. была консультирована специалистами группы патологии

стопы и голеностопного сустава травматолого-ортопедического отделения взрослых ЦИТО. Предъявляла жалобы на боль в подошвенной поверхности обеих стоп в покое и при ходьбе, деформацию подошвенной поверхности, особенно под головками IV и V плюсневых костей. На изменения на подошвенных поверхностях стоп обратила внимание 3 года назад. Связывает свою деформацию стоп с ношением жесткой, плоской обуви. *Местный статус:* кожные покровы обеих нижних конечностей обычной окраски. Отмечается комбинированное плоскостопие обеих стоп. При осмотре подошвенных поверхностей обеих стоп обращают внимание выпячивания в виде округлых образований неправильной формы размерами от 2–3 до 6,5х5х2,5 см (рис. 1). При пальпации апоневроза выраженная болезненность на всем протяжении, а в области разрастаний боль «острая». Движения в суставах среднего отдела обеих стоп незначительно ограничены. Чувствительность и иннервация обеих стоп не нарушены.

Была госпитализирована в отделение ортопедии взрослых для оперативного лечения.

По данным УЗИ — картина измененного подошвенного апоневроза с фиброзными узлами. На правой стопе визуализируется самое крупное соединительнотканное разрастание размером 6,5х5х2,2 см под головкой V плюсневой кости и 5 мелких и среднего размера образований от 0,4х1х1,5 до 3х1х0,5 см на уровне свода стопы. На левой стопе самый крупный узел размером 5,5х5х3,5 см также локализовался под головкой V плюсневой кости, размеры остальных варьировали от 0,3х1х1,5 до 3х1х0,8 см. Сосудисто-нервные пучки подошвенной поверхности обеих стоп без патологии, кровоток по магистральным сосудам стопы сохранен.

Лечение проведено в два этапа. 03.07.13 на правой стопе выполнена операция — иссечение подошвенного апоневроза (рис. 2). Положение больной на животе. После тщательной трехкратной обработки правой стопы и голени раствором антисептика на верхнюю треть голени наложен резиновый жгут. Произведена проводниковая анестезия по А.Ю. Пашуку [5] — обкалывания раствором нарпина (0,75%, 20 мл) периферических нервов по окружности нижней трети голени. Выполнены продольные разрезы по медиальному и латеральному краям правой стопы (рис. 2, а–в). Гидравлической препаровкой 0,5%



Рис. 1. Внешний вид обеих стоп до операции.

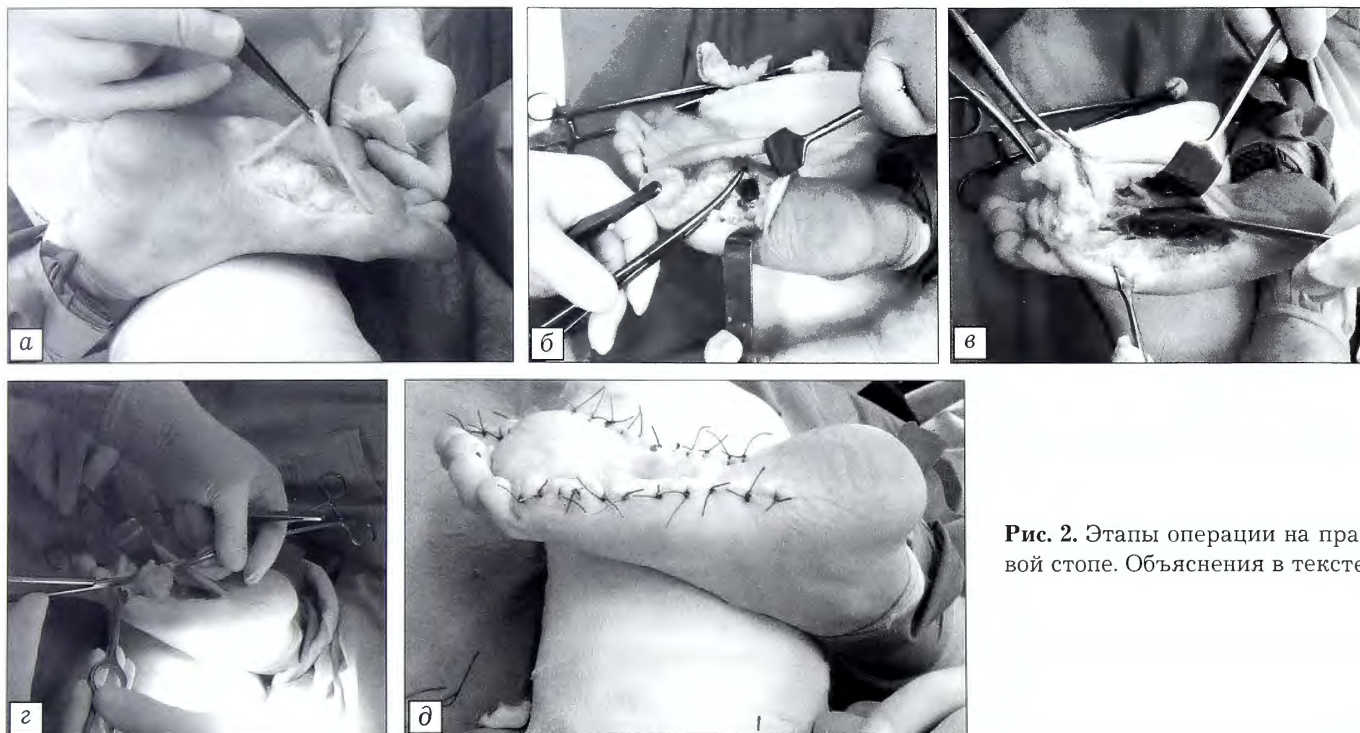
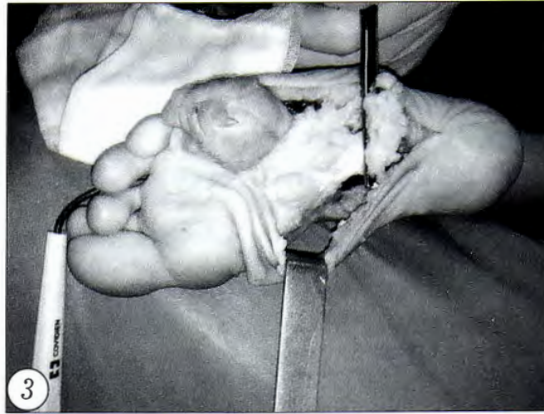


Рис. 2. Этапы операции на правой стопе. Объяснения в тексте.

**Рис. 3.** Этап операции на левой ноге: иссечение подошвенного апоневроза, начиная с пяточного бугра.

**Рис. 4.** Внешний вид обеих стоп через 3,5 мес после операции на левой стопе.



раствором новокаина остро и тупо разъединены мягкие ткани, иссечены фиброзные узлы вместе с подошвенным апоневрозом, начиная от дистальных отделов (рис. 2, г) подошвенного апоневроза до места его прикрепления к пяточному бугру. Раны промыты антисептиками, проведен гемостаз. Наложены кожные швы (рис. 2, д), асептическая повязка.

Патогистологическое исследование иссеченного материала от 15.07.2013. Макропрепарат: плотные дольчатые фрагменты желтовато-серого цвета с фокусами жира размером 6,5х5 до 2 см. На разрезе тягистая ткань серовато-белесоватого цвета местами окружена капсулой. Цитология: микроскопическая картина плантарного фиброматоза.

В послеоперационном периоде получала цефтриаксон 1 г внутримышечно 5 дней, трентал 5 мл в 250 мл 0,9% физиологического раствора внутривенно капельно, кетонал 2 мл при болях, промедол 2% 1 мл в первый день после операции, микседол 200 мг внутривенно капельно 3 дня.

Активизирована на 2-е сутки после операции, ходила при помощи костылей, не нагружая оперированную конечность. Выписана из стационара через 2 нед после операции, после снятия швов. С дополнительной опорой ходила в течение 1 мес, а на пятку начала приступать со 2-й недели. В течение трех месяцев после операции пользовалась гелиевыми стельками в обычной обуви.

Контрольный осмотр 29.11.13: справа — состояние после операции (иссечение подошвенного апоневроза), подошвенная поверхность ровная, послеоперационные рубцы мягкие, подвижные, безболезненные. Заживление под струпом. При ходьбе и стоянии болей и дискомфорта со стороны правой (оперированной) ноги не испытывает.

10.02.14 вторым этапом выполнена аналогичная операция на левой стопе. Единственным отличием было то, что иссечение подошвенного апоневроза с фиброзными узлами начинали не от головок пястных костей, а от пяточного бугра, что существенно облегчило проведение манипуляции (рис. 3). На кожу нанесены дренирующие насечки. Раны промыты антисептиками. Жгут снят, проведен гемостаз. Наложена повязка по Микуличу с использованием нитей кожных швов.

Послеоперационное ведение не отличалось от такового после вмешательства на правой стопе.

При контрольном осмотре через 3,5 мес после операции на левой стопе жалоб не предъявляет. Опороспособность обеих стоп восстановлена в полном объеме (рис. 4).

В течение всего периода наблюдения пациентка получала энзимотерапию препаратом «Наглазим».

**Сведения об авторах:** Корышков Н.А. — доктор мед. наук, вед. науч. сотр., руководитель группы патологии стопы и голеностопного сустава травматолого-ортопедического отделения взрослых; Михайлова Л.К. — доктор мед. наук, проф., ученый секретарь ЦИТО им. Н.Н. Приорова; Ходжиев А.С. — аспирант ЦИТО, группа стопы и голеностопного сустава травматолого-ортопедического отделения взрослых.

**Для контактов:** Корышков Николай Александрович. 127299, Москва, ул. Приорова, д. 10, ЦИТО. Тел.: +7 (926) 908-51-86. E-mail: nik-koryshkov@yandex.ru.

Некоторые ортопеды избегают оперировать пациентов с мукополисахаридозом, предполагая осложненное послеоперационное течение. В представленном наблюдении ни в одном случае течение послеоперационного периода не сопровождалось развитием гнойно-воспалительных осложнений.

На наш взгляд, таких пациентов можно и нужно оперировать в более ранние сроки, обеспечив тем самым повышение качества их жизни. Однако лечение необходимо проводить только в условиях специализированных отделений. Важным элементом диагностики и предоперационного планирования таких пациентов считаем УЗИ нижних конечностей с определением количества и формы фиброзных узлов в подошвенном апоневрозе, верификацией расположения сосудисто-нервных пучков подошвенной поверхности стоп. Немаловажным фактором, способствующим быстрому заживлению ран, является патогенетическая энзимотерапия.

#### ЛИТЕРАТУРА [ REFERENCES ]

1. Ledderhose G. Uber ZerreiBungen der Plantarfascie Archiv fur Klinische Chirurgie. 1894; 48: 853-6.
2. Матяшин И.М., Ольшанский А.А., Глузман А.М. Симптомы и синдромы в хирургии. Киев: Здоровья; 1975 [Matyashin I.M., Ol'shanskiy A.A., Gluzman A.M. Symptoms and syndromes in surgery. Kiev: Zdorov'ye; 1975 (in Russian)].
3. Волков М.В., Меерсон Е.М., Нечволодова О.Л., Самойлова Л. И., Юкина Г.П. Наследственные системные заболевания скелета. М.: Медицина; 1982 [Volkov M.V., Meerson E.M., Nechvolodova O.L., Samoilova L.I., Yuki-na G.P. Hereditary systemic skeleton diseases. Moscow: Meditsina; 1982 (in Russian)].
4. Козлова С.И., Демикова Н.С. Наследственные синдромы и медико-генетическое консультирование: Атлас-справочник. 3-е изд., перераб. и дополненное. М.: Авторская академия; 2007 [Kozlova S.I., Demikova N.S. Hereditary syndromes and medical genetic counseling: Atlas-Reference Book. 3<sup>rd</sup> ed. Moscow: Avtorskaya akademiya; 2007 (in Russian)].
5. Пащук А.Ю. Регионарное обезбоживание. М.: Медицина; 1987 [Pashchuk A.Yu. Regional anesthesia. Moscow: Meditsina; 1987 (in Russian)].

© Н.В. Загородный, К.М. Бухтин, 2015

## ПРИМЕНЕНИЕ РИВАРОКСАБАНА ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ ТРОМБОЭМБОЛИЧЕСКИХ ОСЛОЖНЕНИЙ ПОСЛЕ ЭНДОПРОТЕЗИРОВАНИЯ КРУПНЫХ СУСТАВОВ В УСЛОВИЯХ РЕАЛЬНОЙ КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКИ В РОССИИ (ПО ДАННЫМ ПРОСПЕКТИВНОГО МНОГОЦЕНТРОВОГО НЕИНТЕРВЕНЦИОННОГО ИССЛЕДОВАНИЯ СОПРАНО)

*Н.В. Загородный, К.М. Бухтин (по поручению команды исследователей СОПРАНО)*

ФГБУ «Центральный научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова»  
Минздрава России, Москва, РФ

---

*В статье представлены результаты первого отечественного локального проспективно-мультицентрового наблюдательного исследования с участием 2293 пациентов, получавших ривароксабан в качестве средства тромбопрофилактики после эндопротезирования крупных суставов. Исследование проведено в условиях «реальной клинической практики», т.е. без изменения обычного порядка оказания медицинской помощи после операции. Были изучены демографические показатели, распространенность отягчающих анамнестических факторов, которые определяют риск развития тромбоемболий, а также нежелательные явления (НЯ) на фоне приема препарата. Перерывы в приеме ривароксабана были отмечены у 5% пациентов. Всего было зарегистрировано 52 нежелательных явления у 45 пациентов, причем только в 11 случаях НЯ были связаны с приемом Ривароксабана. Лечащие врачи оценили эффективность применения препарата как очень хорошую и хорошую для 97,9% пациентов, переносимость — для 98,8% пациентов. Подавляющее большинство (98,4%) пациентов положительно оценило удобство применения исследуемого перорального антикоагулянта. Установлено, что эффективность ривароксабана в условиях особенностей организации медицинской помощи в России сопоставима с таковой, продемонстрированной в зарубежных исследованиях.*

**Ключевые слова:** эндопротезирование, тромбопрофилактика, пероральный антикоагулянт, ривароксабан, тромбоз глубоких вен, тромбоемболия легочной артерии.

### *Use of Rivaroxaban for Prevention of Thromboembolism after Major Joints Arthroplasty under Conditions of Real Clinical Practice in Russia (on the data of prospective multicenter non-interventional study SOPRANO)*

*N.V. Zagorodniy, K.M. Bukhtin (on a commission from research team SOPRANO)*

Central Institute of Traumatology and Orthopaedics named after N.N. Priorov,  
Moscow, Russia

*Results of first Russian local prospective multicenter observational study with participation of 2293 patients who received rivaroxaban for prevention of thromboembolism after major joints arthroplasty are presented. The study was performed under conditions of «real clinical practice», i.e. without any changes in postoperative management. Demographic indices, prevalence of aggravating anamnestic factors that determined the risk of thromboembolism development, and adverse effects (AE) against the background of drug intake were studied. Interruptions of rivaroxaban intake were noted in 5% of patients. The number of AE made up 52 in 45 patients and only in 11 cases AE were associated with rivaroxaban intake. Drug efficacy and tolerance was assessed by physicians as excellent and good in 97.9% and 98.8% of patients, respectively. The overwhelming majority (98.4%) of patients appreciated the convenience of oral anticoagulant intake. It was stated that under conditions of the organizational peculiarities of medical care in Russia the efficacy of rivaroxaban was comparable to that, demonstrated in foreign studies.*

**Key words:** arthroplasty, prevention of thromboembolism, prevention of thromboembolism, rivaroxaban, deep vein thrombosis, pulmonary embolism.

---

Тромбоз глубоких вен нижних конечностей и тромбоемболия легочной артерии (ТЭЛА) являются одними из самых тяжелых послеоперационных осложнений в ортопедической практике. При отсутствии адекватной профилактики частота их развития после эндопротезирования крупных суставов может достигать 50%.

К традиционно применяемым в ортопедии антикоагулянтам относятся нефракционированные гепарины (НФГ), низкомолекулярные гепарины (НМГ), фондапаринукс и антагонисты витамина К [1–4]. Каждая группа препаратов имеет преимущества, недостатки и ограничения в использовании.

Согласно рекомендациям антикоагулянтную терапию следует проводить в течение 5 нед после операции, т.е. после выписки пациента из стационара. При этом, как показывает наш опыт, возникает серьезная проблема приверженности пациентов принимаемой терапии. На этапе амбулаторного долечивания большинство пациентов и ухаживающие за ними лица сталкиваются с трудностями ввиду того, что широко применяемые после эндопротезирования НФГ, НМГ и фондапаринукс требуют регулярного подкожного введения [5]. Именно по этой причине многие пациенты самостоятельно прекращают профилактический курс антикоагулянтов раньше обозначенного срока. К ограничению применения гепаринов (и их производных) также можно отнести риск развития гепарининдуцированной тромбцитопении [6].

В России антикоагулянтную терапию после эндопротезирования крупных суставов необходимо назначать с учетом важной особенности нашей страны. Нередко вмешательства выполняются пациентам, проживающим в малонаселенной местности, в отдаленности от лечебно-профилактических учреждений, а потому чрезвычайно актуальным представляется использование эффективного и безопасного антикоагулянта, не требующего инъекционного введения, который можно применять в течение длительного периода (в том числе после выписки пациента из стационара).

Учитывая вышеизложенное, оптимальный антикоагулянтный препарат должен отвечать следующим требованиям: быть пероральным, иметь широкое терапевтическое окно, характеризоваться низким риском кровотечений при отсутствии необходимости в постоянном контроле показателей крови, не иметь значимых лекарственных и пищевых взаимодействий, а также, по возможности, воздействовать только на один фактор свертывания крови [7, 8]. В настоящее время разработано несколько антикоагулянтов, отвечающих данным требованиям, которые подавляют только один фактор свертывания, например тромбин или активированный фактор X (фактор Xa).

Целью настоящего исследования было оценить тромбопрофилактику с использованием перорального антикоагулянта ривароксабана (Ксарелто®) в послеоперационном периоде в условиях «реальной клинической практики» у пациентов, перенесших эндопротезирование крупных суставов. Задачами исследования были изучение демографической характеристики пациентов, выявление перерывов в тромбопрофилактике после выписки из стационара, сбор данных о нежелательных явлениях при использовании препарата, получение оценки лечащих врачей об эффективности и переносимости препарата пациентами, а также мнения пациентов об удобстве применения данного лекарственного средства во время амбулаторного этапа лечения.

## ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Исследование СОПРАНО («ProSpective multicentre nOn-interventional study on compliance and patient / doctor behavior of VTE prevention in major Orthopedic surgery») было локальным проспективным мультицентровым неинтервенционным. В исследование были включены 2293 пациента: 804 (35%) мужчины и 1489 (65%) женщин в возрасте от 19 до 93 лет (средний возраст составил  $60,08 \pm 11,54$  лет). Работа проведена в 53 специализированных травматологических и ортопедических отделениях стационаров России, где ежегодно осуществлялось не менее 50 операций планового эндопротезирования крупных суставов.

*Критерии включения* в наблюдательную программу: возраст старше 18 лет; проведение планового эндопротезирования коленного или тазобедренного сустава; планируемое назначение Ксарелто® для тромбопрофилактики венозных тромбоэмболических осложнений (ВТЭО) в стационаре; подписанная Форма информированного согласия. *Критерии невключения*: противопоказания к применению ривароксабана согласно действующей инструкции к препарату; отказ пациента на любом этапе от участия в исследовании; любые другие причины медицинского и немедицинского характера, которые, по мнению лечащего врача, могли препятствовать включению пациента в наблюдательную программу.

Анализ проводили по следующим группам пациентов. В первой группе (*Intent-to-treat, ITT*), в которую включены 2293 человека — все пациенты, у которых после эндопротезирования крупного сустава проводили тромбопрофилактику ривароксабаном — проанализированы демографические и другие исходные характеристики. Во второй группе (*Per protocol, PP*) — 2131 пациент, который завершил наблюдательную программу согласно протоколу, — оценивали эффективность препарата. *Популяцию безопасности* составили все пациенты, которые хотя бы однократно приняли ривароксабан после включения в наблюдательную программу.

В начале исследования пациенты проходили обследование в соответствии с медицинской практикой учреждения, в котором выполнялось эндопротезирование. Наблюдение за пациентами продолжали в течение всего периода тромбопрофилактики согласно принятой практике.

В ходе исследования в утвержденной форме регистрировали все нежелательные явления (НЯ), возникшие с момента первого приема препарата. В соответствии с правилами «Надлежащей клинической практики» *нежелательное явление* определяется как любое неблагоприятное с медицинской точки зрения состояние, возникшее у пациента, получившего фармацевтический продукт или препарат, не обязательно имеющее причинную связь с данным лечением. При развитии НЯ наблюдение

за пациентами продолжали до стабилизации их состояния.

Протоколом исследования было запланировано три визита пациента к врачу: визит включения в исследование и два визита наблюдения.

*Визит включения* проводили после подписания пациентом информированного согласия на участие в исследовании и до операции планового эндопротезирования. Осуществляли сбор демографических данных, анамнеза, физикальный осмотр, регистрацию сопутствующей терапии (включая антикоагулянтную, полученную до операции), а также данные о клинически значимых отклонениях от нормы в лабораторных анализах и в результатах ультразвукового ангиосканирования (УЗАС) сосудов нижних конечностей.

*Первый визит наблюдения* выполняли после оперативного лечения непосредственно перед или в момент выписки пациента из стационара. В ходе визита отмечали характер проводимой тромбопрофилактики после операции, вид операции и тип эндопротеза, вид анестезии, объем интраоперационной кровопотери, уточняли время назначения ривароксабана после операции, данные о послеоперационных осложнениях, а также значимых отклонениях от нормы в лабораторных анализах и результатах УЗАС сосудов нижних конечностей. На этом этапе регистрировали НЯ, а также назначали тромбопрофилактику на период амбулаторного долечивания и давали рекомендации о немедикаментозных методах тромбопрофилактики.

*Второй визит наблюдения* проводили после окончания тромбопрофилактики в ходе планового осмотра при посещении пациентом клиники либо во время телефонного разговора. Для пациентов, перенесших эндопротезирование коленного сустава, это были 14-е сутки после операции, эндопротезирование тазобедренного сустава — 35-е сутки. На данном этапе отмечали препараты для тромбопрофилактики, которые были фактически применены пациентом на этапе амбулаторного долечивания, выясняли причины изменения в схеме тромбопрофилактики в случае смены препарата, а также причины преждевременного прекращения тромбопрофилактики, если таковое имело место. Кроме того, уточняли дату первого приема антикоагулянта после выписки из стационара, фактическую продолжительность тромбопрофилактики. Собирали данные о клинически значимых отклонениях от нормы в клинических анализах и в результатах УЗАС сосудов нижних конечностей. Уточняли характер сопутствующей терапии, применялись ли немедикаментозные методы профилактики, регистрировали НЯ и отмечали сведения о дальнейшей тромбопрофилактике, если она была запланирована.

Кроме того, во время первого и второго визитов наблюдения оценивали удовлетворенность врача и пациента проводимой тромбопрофилактикой по критериям эффективности и переносимости рива-

роксабана в соответствии с четырьмя градациями: *очень хорошо, хорошо, удовлетворительно и не удовлетворительно.*

Наблюдение за пациентами считалось окончанным после выполнения всех визитов, предусмотренных дизайном исследования, т.е. по завершении тромбопрофилактики согласно рекомендациям АССР (2008) и Национальным рекомендациям по тромбопрофилактике. Решение о возможном продолжении тромбопрофилактики или, наоборот, сокращении сроков приема препарата принимал врач и регистрировал это в протоколе исследования.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Из 2293 пациентов (группа ITT), включенных в исследование, большинство — 1209 (52,8%) проживало в городах, 473 (20,7%) пациента — в мегаполисах, 374 (16,3%) — в сельской местности, 232 (10,1%) — в поселке городского типа. Основанием для проведения операции эндопротезирования в 1188 (51,9%) наблюдениях послужил коксартроз, в 816 (35,6%) — гонартроз, в 34 (1,5%) — ревматоидный артрит, в 3 (0,1%) — опухоль, в 10,8% — другие причины.

Отягчающие анамнестические факторы, определяющие риск развития осложнений, были оценены у 2286 пациентов. Так, ожирением (индекс массы тела 30 и выше) страдали 938 (41%) пациентов, опухоли или миелопролиферативные заболевания имели место у 36 (1,6%) обследованных, воспалительные заболевания кишечника — у 17 (0,7%), в возрасте 75 лет и старше было 198 (8,7%) пациентов, большие операции за последние 12 мес перенесли 166 (7,2%) человек, отягощенный семейный анамнез с точки зрения тромбоэмболий был у 47 (2,1%) прооперированных. Кроме того, 40 (2,7%) из 1476 женщин принимали гормональные контрацептивы. Тромбопрофилактику в течение двух недель, предшествовавших операции, получали 7,7% пациентов, указание на переливание крови или ее компонентов в анамнезе имели 10,8% больных.

Эндопротезирование тазобедренного сустава было проведено 62,3% пациентам, коленного сустава — 37,7%. У 96,5% пациентов был использован тотальный эндопротез, у 2,3% — биполярный, у 1,3% — однополюсный. Эндопротезы бесцементной фиксации были использованы в ходе 50,2% операций, цементной фиксации — 47,8% операций.

Вмешательства выполняли под спинальной (78,4%), эпидуральной (16,3%), общей (4,5%), проводниковой (0,7%) анестезией. Объем интраоперационной кровопотери варьировал от 0 до 2300 мл, в среднем составив 318 мл. Гемотрансфузии во время операции или в послеоперационном периоде потребовались 25,9% пациентам.

Профилактика ВТЭО у всех пациентов проводилась препаратом Ксарелто® в одной дозе — 10 мг 1 раз в сутки. У 98,7% пациентов использовали эластическое бинтование (чулки), у 0,5% пациентов,

кроме эластического бинтования, дополнительно применяли другие методы механической тромбопрофилактики; иные механические средства тромбопрофилактики без эластического бинтования (чулок) использовали у 0,4% пациентов. Большинство (75,3%) прооперированных первую дозу ривароксабана получили в течение 6–10 ч после операции, 21,6% — через 10 ч, 3% — в течение первых 6 часов после операции.

Продолжительность стационарного лечения в среднем составила 13 койко-дней: у 13,1% пациентов — менее 7 дней, у 70,7% — 8–14, у 16,2% — более 15 дней.

Совершил все три визита, т.е. завершил исследование согласно протоколу, 2131 пациент — группа РР. Эффективность ривароксабана на первом визите наблюдения была оценена лечащим врачом как *очень хорошая* или *хорошая* для 98,2% пациентов: клинически значимые отклонения в лабораторных показателях были зарегистрированы у 4 пациентов, в результатах УЗАС сосудов нижних конечностей — у 17. Переносимость ривароксабана была оценена как *хорошая* или *очень хорошая* у 99% пациентов. Об удобстве применения ривароксабана *хорошо* и *очень хорошо* высказались 98,6% пациентов. Для дальнейшего применения препарат был рекомендован 95,1% пациентам.

Результаты оценки тех же показателей во время *второго визита* наблюдения были следующими: эффективность применения лечащие врачи оценили как *очень хорошую* и *хорошую* для 97,9% пациентов, переносимость — для 98,8% пациентов. Подавляющее большинство (98,4%) обследованных указали на удобство применения исследуемого перорального антикоагулянта. Продолжение приема препарата после окончания исследования было рекомендовано 12% пациентов.

Перерывы в приеме ривароксабана имели место у 5% пациентов. Лечение было завершено раньше необходимого срока у 6% пациентов, из них у 1 ввиду неэффективности препарата и у 2 в связи с НЯ, обусловленными ривароксабаном.

В целом в ходе исследования было зарегистрировано 52 НЯ у 45 пациентов. В 19 случаях НЯ были расценены как серьезные: смерть (1 больной), угроза жизни (3), госпитализация (8), развитие стойкой нетрудоспособности (1), клинически значимые события (3). Только у 11 пациентов НЯ были связаны с приемом ривароксабана, у 22 — с проведенной операцией. Нежелательные явления, связанные с тромбозом, констатировали у 19 (0,83%) больных, из них у 13 — тромбоз глубоких вен, у 2 — тромбоз поверхностных вен, у 2 — ТЭЛА, у 2 — артериальный тромбоз. Нежелательные явления, связанные с кровотечением, имели место у 7 (0,3%) прооперированных: гематома (2), постгеморрагическая анемия (4), ректальное кровотечение (1). Отмена или приостановка приема препарата в связи с НЯ потребовалась в 8 наблюдениях.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Ривароксабан (Ксарелто®, Байер) — первый в группе прямой ингибитор фактора Ха для перорального приема. Безопасность и эффективность препарата были доказаны в ходе многочисленных исследований, выполненных с момента его разработки до регистрации в качестве лекарственного препарата. В исследованиях *in vitro* показано, что ривароксабан является мощным конкурентным ингибитором фактора Ха с  $K_i$  0,4 нмоль/л. Он высоко селективен к фактору Ха, а его ингибирующий эффект более чем в 10 000 раз превосходит таковой соответствующих сериновых протеаз [11–13]. По данным исследований *in vivo* у животных с диагностированной венозной тромбоемболией ривароксабан ингибирует активность фактора Ха при его применении в дозах, на фоне которых не происходит значительного увеличения времени кровотечения [14]. При этом препарат не влияет на агрегацию тромбоцитов и тромбоцитарный гемостаз [15–17].

По результатам исследований II фазы эффективность и безопасность широкого диапазона доз (от 5 до 20 мг) ривароксабана для профилактики ВТЭО после больших ортопедических операций — эндопротезирования тазобедренного или коленного сустава соответствовали аналогичным показателям для эноксапарина [18–23]. В последующем было показано, что ривароксабан достаточно эффективен и безопасен в дозе 10 мг 1 раз в сутки, и именно такая доза стала использоваться в дальнейших исследованиях.

Биодоступность ривароксабана при приеме внутрь составляет около 80%, пик его концентрации в плазме достигается через 2,5–4 ч [24–26]. В работах по фармакокинетике отмечена прямая линейная зависимость «доза — концентрация — эффект» и установлено, что фармакокинетика ривароксабана практически не зависит от пола, возраста и этнической принадлежности, а препарат сохраняет эффективность при крайних значениях массы тела [27, 28]. К удобству применения препарата можно отнести то, что ривароксабан не накапливается при приеме повторных доз и что его можно применять независимо от приема пищи [27, 29]. При этом ривароксабан минимально взаимодействует с другими лекарственными средствами при их одновременном назначении [30–33]. Одна треть препарата выводится почками в неизменном виде, 2/3 метаболизируется в печени с образованием неактивных метаболитов, которые в равных частях выводятся с желчью и почками [24].

Основанием для регистрации препарата послужили результаты исследований III фазы (серия исследований RECORD — Regulation of Coagulation in Orthopaedic Surgery to Prevent Deep Vein Thrombosis and Pulmonary Embolism): в четырех международных многоцентровых рандомизированных контролируемых клинических исследованиях RECORD (12 500 пациентов после планового эн-

допротезирования тазобедренного или коленного сустава) была изучена эффективность ривароксабана для профилактики ВТЭО по сравнению эноксапарином, вводимым подкожно. Все исследования объединял сходный дизайн, препарат сравнения, критерии эффективности и безопасности. В исследованиях RECORD 1–3 ривароксабан сравнивали с эноксапарином в дозе 40 мг 1 раз в день подкожно (режим профилактики, принятый в Европе и России), в исследовании RECORD 4 — с эноксапарином в дозе 30 мг 2 раза в день подкожно (режим профилактики, принятый в США). Во всех случаях ривароксабан показал себя как более эффективный по сравнению с эноксапарином препарат при использовании в большой ортопедической хирургии [4, 35–38].

Настоящее исследование СОПРАНО является единственным большим российским многоцентровым наблюдательным исследованием тромбопрофилактики после больших ортопедических операций на нижних конечностях с использованием новых пероральных антикоагулянтов. Основной целью исследования было сделать вывод о приемлемости тромбопрофилактики с использованием ривароксабана у пациентов, перенесших эндопротезирование крупных суставов, в условиях «реальной практики» после выписки из стационара. Под «реальной клинической практикой» понимали все особенности ведения и наблюдения за оперированными пациентами, учитывая нюансы оказания медицинской помощи на разных этапах лечения в различных учреждениях с поправкой на реальные условия жизни в России.

Эффективность тромбопрофилактики определяется, в частности, ее продолжительностью. Известно, что в России в период госпитализации профилактику ВТЭО проводят в соответствии с рекомендациями, тогда как после выписки из стационара больницы антикоагулянтная терапия не всегда бывает адекватной [9]. Именно поэтому нами был выбран неинтервенционный дизайн исследования, который, в отличие от клинических исследований, не предусматривает рандомизацию и «ослепление» [10]. Наблюдательные исследования являются ценным инструментом, так как позволяют проанализировать большие выборки пациентов без специального отбора в рамках рутинной клинической практики. Проспективное наблюдение в противоположность ретроспективному позволяет заранее спланировать дизайн, порядок сбора и обработки данных.

В ходе исследования установлено, что незначительные перерывы в приеме перорального антикоагулянта были только у 5% пациентов, причем они не были обусловлены непереносимостью препарата. В группе из 2131 пациента только в 3 (0,14%) наблюдениях прием Ксарелто® был прекращен по причинам, связанным с изучаемым препаратом. Лечащие врачи оценили эффективность применения препарата как *очень хорошую* и *хорошую* для

97,9% пациентов, переносимость — для 98,8% пациентов. Подавляющее большинство (98,4%) пациентов положительно оценило удобство применения исследуемого перорального антикоагулянта.

**Заключение.** Препарат Ксарелто® применяется с 2008 г. и зарегистрирован более чем в 120 странах мира. В России препарат зарегистрирован и используется с 2009 г. За это время у врачей уже накоплен положительный опыт его применения. Настоящее первое большое отечественное многоцентровое исследование СОПРАНО убедительно доказало, что ривароксабан, используемый для тромбопрофилактики после больших ортопедических операций с учетом условий и особенностей оказания медицинской помощи в России, характеризуется такой же высокой эффективностью, как и в многочисленных зарубежных исследованиях. Таким образом, ривароксабан по своим фармакологическим характеристикам, эффективности и безопасности в совокупности с высокой оценкой со стороны пациентов в отношении удобства его применения приближается к требованиям, предъявляемым к «идеальному» антикоагулянту.

*Работа выполнена при финансовой поддержке ЗАО Байер.*

#### ЛИТЕРАТУРА [ REFERENCES ]

1. Тихилов Р.М., Стойко Ю.М., Замятин М.Н., Божкова С.А. Профилактика тромбоэмболических осложнений в травматологии и ортопедии: Методические рекомендации. М.; 2006 [Tikhilov R.M., Stoiko Yu.M., Zamyatin M.N., Bozhkova S.A. Prevention of thromboembolic complications in traumatology and orthopaedics: Methodic recommendations. Moscow; 2006 (in Russian)].
2. Hirsh J. et al. ACA/ACC Expert Consensus Document on Warfarin Therapy American Heart Association/American College of Cardiology Foundation Guide to Warfarin Therapy. JACC 2003; 41: 633–52.
3. Pascual J., Diener H.C., Massiou H. Value of postmarketing surveillance studies in achieving a complete picture of antimigraine agents: using almotriptan as an example. J. Headache Pain. 2006; 7 (1): 27–33.
4. Turpie A.G., Lassen M.R., Davidson B.L., Bauer K.A., Gent M., Kwong L.M. et al; RECORD4 Investigators. Rivaroxaban versus enoxaparin for thromboprophylaxis after total knee arthroplasty (RECORD4): a randomised trial. Lancet. 2009 May 16; 373 (9676): 1673–80.
5. Perzborn E., Harwardt M. Recombinant Factor VII partially reverses the effects of the Factor Xa inhibitor rivaroxaban on thrombin generation, but not the effects of thrombin inhibitors, in vitro. J. Thromb. Haemost. 2007; 5 Suppl 2: Abstract P-W-640.
6. Arepally G., Cines D.B. Pathogenesis of heparin-induced thrombocytopenia and thrombosis. Autoimmun Rev. 2002; 1 (3): 125–32.
7. Bounameaux H. The novel anticoagulants: entering a new era. Swiss Med. Wkly. 2009; 139 (5–6): 60–64.
8. NICE. Venous thromboembolism: reducing the risk of venous thromboembolism (deep vein thrombosis and pulmonary embolism) in inpatients undergoing surgery. NICE clinical guidelines. www.nice.org.uk/nicemedia/pdf/VTEFullGuide.pdf (accessed May 23, 2008).
9. Стойко Ю.М., Замятин Н.М. Специфическая профилактика тромбоэмболических осложнений у паци-



- ентов с высоким и очень высоким риском. Трудный пациент. 2007; 6-7: 40-3.
10. Ciccone W.J. 2nd, Fox P.S., Neumyer M. et al. Ultrasound surveillance for asymptomatic deep venous thrombosis after total joint replacement. *J. Bone Joint Surg. Am.* 1998; 80 (8): 1167-74.
  11. Biemond B.J., Perzborn E., Friederich P.W., Levi M., Buetehorn U., Büller H.R. Prevention and treatment of experimental thrombosis in rabbits with rivaroxaban (BAY 597939) – an oral, direct factor Xa inhibitor. *Thromb. Haemost.* 2007; 97 (3): 471-7.
  12. Prandoni P., Bruchi O., Sabbion P., et al. Prolonged thromboprophylaxis with oral anticoagulants after total hip arthroplasty: a prospective controlled randomized study. *Arch Intern Med* 2002; 162: 1966-71.
  13. Friedman R. J. Optimal duration of prophylaxis for venous thromboembolism following total hip arthroplasty and total knee arthroplasty. *J. Am. Acad. Orthop. Surg.* 2007; 15 (3): 148-55.
  14. Turpie A.G. Oral, direct factor Xa inhibitors in development for the prevention and treatment of thromboembolic diseases. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2007; 27 (6): 1238-47.
  15. Perzborn E. FEIBA reverses the effects of a high dose of rivaroxaban in rats. *Pathophysiol. Haemost. Thromb.* 2008; 36: A40 Abstract P061.
  16. Pirmohamed M. Warfarin: almost 60 years old and still causing problems. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 2006; 62: 509-11.
  17. Planes A., Vochelle N., Darmon J.Y., Fagola M., Bellaud M., Huet Y. Risk of deep-venous thrombosis after hospital discharge in patients having undergone total hip replacement: double-blind randomised comparison of enoxaparin versus placebo. *Lancet.* 1996; 348: 224-8.
  18. Eriksson B.I., Borris L., Dahl O.E., Haas S., Huisman M.V., Kakkar A.K. et al.; ODIXa-HIP Study Investigators. Oral, direct Factor Xa inhibition with BAY 59-7939 for the prevention of venous thromboembolism after total hip replacement. *J. Thromb. Haemost.* 2006; 4 (1): 121-8.
  19. Eriksson B.I., Borris L.C., Dahl O.E. et al. A once-daily, oral, direct Factor Xa inhibitor, rivaroxaban (BAY 59-7939), for thromboprophylaxis after total hip replacement. *Circulation* 2006; 114: 2374-81.
  20. Weinz C., Buetehorn U., Daehler H.P., et al. Pharmacokinetics of BAY 59-7939 – an oral, direct Factor Xa inhibitor – in rats and dogs. *Pathophysiol. Haemost. Thromb.* 2004; 33 Suppl2: Abstract P0054.
  21. Weinz C., Schwartz T., Pleiss U., Schmeer K., Kubitzka D., Mueck W. et al. Metabolism and distribution of [<sup>14</sup>C]BAY59-7939 – an oral, direct factor Xa inhibitor – in rat, dog and human. *Drug Metab. Rev.* 2004; 36 (suppl1): 98. Abstract 196.
  22. Turpie A., Kassen M., Kakkar A., Eriksson B., Misselwitz F., Bandel T.J. et al. A pooled analysis of four pivotal studies of rivaroxaban for the prevention of venous thromboembolism after orthopaedic surgery: effect on symptomatic venous thromboembolism, death, and bleeding. *Blood.* 2008; 112: 36.
  23. Turpie A.G., Fisher W.D., Bauer K.A. et al. BAY 59-7939: an oral, direct factor Xa inhibitor for the prevention of venous thromboembolism in patients after total knee replacement: a phase II dose-ranging study. *J. Thromb. Haemost.* 2005; 3: 2479-86.
  24. 2008 Annex 1 Summary of Product Characteristics Rivaroxaban.
  25. Kubitzka D., Becka M., Zuehlsdorf M., Mueck W. Body weight has limited influence on the safety, tolerability, pharmacokinetics, or pharmacodynamics of rivaroxaban (BAY 59-7939) in healthy subjects. *J. Clin. Pharmacol.* 2007; 47 (2): 218-26.
  26. Kubitzka D., Becka M., Zuehlsdorf M., Mueck W. Effects of single-dose BAY 59-7939 – an oral, direct Factor Xa inhibitor – in subjects with extreme body weight. *Blood.* 2005; 106: Abstract 1872.
  27. Kubitzka D., Becka M., Mueck W. et al. The effect of extreme age, and gender, on the pharmacology and tolerability of rivaroxaban – an oral direct factor Xa inhibitor. *Blood.* 2006; 108: Abstract 905.
  28. Kubitzka D., Becka M., Zuehlsdorf M., Mueck W. No interaction between the novel, oral direct Factor Xa inhibitor BAY59-7939 and digoxin. *J. Clin. Pharmacol.* 2006; 46: Abstract 11.
  29. Kubitzka D., Haas S. Novel factor Xa inhibitors for prevention and treatment of thromboembolic diseases. *Expert. Opin. Investig. Drugs.* 2006; 15 (8): 843-55.
  30. Kubitzka D., Becka M., Mueck W., Zuehlsdorf M. Safety, tolerability, pharmacodynamics, and pharmacokinetics of rivaroxaban – an oral, direct Factor Xa inhibitor – are not affected by aspirin. *J. Clin. Pharmacol.* 2006; 46: 981-90.
  31. Kubitzka D., Becka M., Voith B., Zuehlsdorf M., Wensing G. Safety, pharmacodynamics, and pharmacokinetics of single doses of BAY59-7939, an oral, direct factor Xa inhibitor. *Clin. Pharmacol. Ther.* 2005; 78: 412-421.
  32. Kubitzka D., Becka M., Wensing G., Voith B., Zuehlsdorf M. Safety, pharmacodynamics, and pharmacokinetics of BAY 59-7939 – an oral, direct Factor Xa inhibitor – after multiple dosing in healthy male subjects. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 2005; 61: 873-880.
  33. Lassen M.R., Ageno W., Borris L.C., Lieberman J.R., Rosencher N., Bandel T.J. et al.; RECORD3 Investigators. Rivaroxaban versus enoxaparin for thromboprophylaxis after total knee arthroplasty. *N. Engl. J. Med.* 2008; 358 (26): 2776-86.
  34. Michota F.A. Prevention of venous thromboembolism after surgery. *Cleve Clin. J. Med.* 2009; 76 Suppl 4: S45-52.
  35. Kubitzka D, Becka M, Mueck W, Zuehlsdorf M. Rivaroxaban (BAY59-7939) – an oral, direct Factor Xa inhibitor has no clinically relevant interaction with naproxen. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 2007; 63: 469-76.
  36. Optimizing anticoagulation technology in the hospital setting – safe and cost-effective strategies for thrombosis prophylaxis and treatment. Findings and recommendations of the CLOT (Cost-Lowering Options for Optimizing Thromboprophylaxis). Clinical Consensus Panel. 2006.
  37. Scottish Intercollegiate Guidelines Network (SIGN). Prophylaxis of venous thromboembolism. A national clinical guideline. Edinburgh: SIGN Publication, 2002.
  38. Turpie A., Kassen M., Kakkar A., Eriksson B., Misselwitz F., Bandel T.J., et al. A pooled analysis of four pivotal studies of rivaroxaban for the prevention of venous thromboembolism after orthopaedic surgery: effect on symptomatic venous thromboembolism, death, and bleeding. *Blood.* 2008; 112: 36.

**Группа исследователей:** Сотиков К.В. — зав. отделением травматологии и ортопедии ГКБ №7, Москва; Лапынин П.В. — врач травматолог-ортопед ЦКБ РАН, Москва; Макаров М.А. — старший науч. сотр. НИИ ревматологии РАМН, Москва; Мурылев В.Ю. — зав. центра эндопротезирования ГКБ им. С.П. Боткина, Москва; Волошин В.П. — рук. отделения травматологии и ортопедии МОНИКИ, главный травматолог-ортопед МО, Москва; Шавырин Д.А. — старший науч. сотр. 6-го отделения костной патологии взрослых ЦИТО, Москва; Лазарев А.Ф. — зав. 1-м травматолого-ортопедическим отделением ЦИТО, Москва; Кесля Г.А. — зав. 8-м травматолого-ортопедическим

отделением ЦИТО, Москва; *Балберкин А.В.* — зав. 6-м отделением костной патологии взрослых ЦИТО, Москва; *Серебряков А.Б.* — зав. отделением ортопедии Лечебно-реабилитационного центра, Москва; *Приходько В.С.* — зав. травматолого-ортопедическим отделением Лечебно-реабилитационного центра, Москва; *Грицюк А.П.* — зав. травматолого-ортопедическим отделением клиники травматологии, ортопедии и патологии суставов Первого МГМУ им. И.М. Сеченова, Москва; *Серета А.П.* — врач травматолого-ортопед отделения клиники травматологии, ортопедии и патологии суставов Первого МГМУ им. И.М. Сеченова, Москва; *Захарян Н.Г.* — врач травматолого-ортопед ГКБ № 31, Москва; *Лазко Ф.Л.* — зав. отделением травматологии и ортопедии ГКБ №12, Москва; *Скипенко Т.О., Безверхий С.В.* — врачи травматологи-ортопеды ГКБ №12, Москва; *Казанцев А.Б.* — зав. 1-м травматологическим отделением ГКБ № 15, Москва; *Николаев М.В.* — врач-ортопед отделение травматологии №2, ГКБ № 15, Москва; *Бурыченко Б.П.* — зав. операционным отделением Центра травматологии ГВКГ им. акад. Н.Н. Бурденко, Москва; *Майсигов М.Н.* — травматолог-ортопед Европейского медицинского центра, Москва; *Лукьянов М.Ю.* — врач ортопед-травматолог СМКЦ им. Н.А. Семашко ФМБА России, Архангельск; *Анушин А.С.* — зав. отделением травматологии и ортопедии ОКБ КО, Калининград; *Преснов П.В.* — зав. травматолого-ортопедическим отделением МОКБ им. П.А. Баяндина, Мурманск; *Гончаров М.Ю.* — зав. травматолого-ортопедическим отделением №5 РНИИТО им. Р.Р. Вредена, Санкт-Петербург; *Печкуров А.Л.* — зав. отделением травматологии Национального медико-хирургического Центра им. Н.И. Пирогова, Санкт-Петербург; *Кравцов А.Г.* — зав. травматологическим отделением КБ № 122 им. Л.Г. Соколова, Санкт-Петербург; *Линник С.А.* — проф. каф. травматологии и ортопедии СЗГМУ им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург; *Кирчанов В.А.* — зав. ортопедическим отделением Воронежской ОКБ №1, Воронеж; *Бражкин С.Е.* — зав. ортопедическим отделением Ивановского областного госпиталя для ветеранов войн, Иваново; *Докалин А.Ю.* — зав. травматолого-ортопедическим отделением Курской ОКБ, Курск; *Муранчик Ю.И.* — зав. ортопедическим отделением Рязанской ОКБ, Рязань; *Гармаш М.Ю., Филимонов К.В.* — врачи травматологи-ортопеды Рязанской ОКБ, Рязань; *Попов Д.С.* — врач-кардиолог ОКБ, Тверь; *Мишустин А.Д.* — зав. отделением травматологии и ортопедии №1 Тульской ГКБ СМП им. Д.Я. Ванькина, Тула; *Ключевский В.В.* — врач травматолого-ортопед Ярославского областного госпиталя ветеранов войн, Ярославль; *Каплунов О.А.* — зав. 1-м ортопедическим отделением ГКБ №3, Волгоград; *Иванов П.В.* — главный врач КБ №12, Волгоград; *Аллам Н.Х.* — врач ортопед КБ №12, Волгоград; *Курицкий С.Н.* — зав. 3-м травматологическим отделением краевой клинической больницы № 1 им. Очаповского, Краснодар; *Напах Ю.В., Ткаченко Е.А.* — врачи травматологи-ортопеды краевой клинической больницы № 1 им. Очаповского, Краснодар; *Атапин В.Г.* — врач травматолого-ортопед отделения ортопедии Отделенческой КБ на ст. Краснодар ОАО «РЖД», Краснодар; *Машталов В.Д.* — зав. 1-м травматологическим отделением ГБ СМП №2, Ростов-на-Дону; *Сикилинда В.Д.* — зав. кафедрой травматологии и ортопедии РостГМУ, Ростов-на-Дону; *Алабут А.В.* — зав. травматолого-ортопедическим отделением клиники РостГМУ, Ростов-на-Дону; *Малахов С.А.* — зав. травматолого-ортопедическим отделением №1 Ставропольской краевой КБ, Ставрополь; *Ахтямов И.Ф.* — зав. кафедрой травматологии, ортопедии и хирургии экстремальных состояний КГМУ, Казань; *Каюмов А.Ю., Щетинин С.Б.* — врачи травматологи-ортопеды ортопедического отделения взрослых ПФМИЦ, Нижний Новгород; *Гейдешман Е.С.* — зав. травматолого-ортопедическим отделением Дорожной КБ, Самара; *Гиркало М.В.* — вед. науч. сотр. СарНИИТО, Саратов; *Слободской А.Б.* — зав. ортопедическим отделением ОКБ, Саратов; *Карпов С.Н.* — врач травматолого-ортопед Тольяттинской ГБ №2, Тольятти; *Новичков С.М.* — врач травматолого-ортопед Тольяттинской ГБ №4, Тольятти; *Гаташулин Р.Г.* — зав. травматолого-ортопедическим отделением Республиканской клинической больницы, Йошкар-Ола; *Зайцев М.Ю.* — врач клинической фармаколог Республиканской КБ, Чебоксары; *Жирова Т.А.* — зав. отделением анестезиологии-реанимации Уральского НИИТО им. В.Д. Чаклина, Екатеринбург; *Волокитина Е.А.* — профессор каф. травматологии и ортопедии ФПКиПП Уральского ГМУ, Екатеринбург; *Каминский А.В.* — зав. травматолого-ортопедическим отделением №8 РНЦ ВТО им. акад. Г.А. Илизарова, Курган; *Чегуров О.К.* — зав. травматолого-ортопедическим отделением №14 РНЦ ВТО им. акад. Г.А. Илизарова, Курган; *Вязовов В.Н.* — зав. травматолого-ортопедическим отделением Оренбургской ОКБ, Оренбург; *Тырсин Л.Д.* — зам. главного врача ГКБ №4, Оренбург; *Тихонович С.И., Енцов В. Ю.* — врачи-травматологи ГКБ №4, Пермь; *Лубнин А.М.* — зав. травматолого-ортопедическим отделением Краевой клинической больницы, Красноярск; *Гануш В.В.* — врач травматолого-ортопед ККБ, Красноярск; *Рудаев В.И.* — главный областной специалист травматолого-ортопед, КемГМА, Кемерово; *Найданов В.Ф.* — зав. отделением ортопедии КБ № 81, Северск; *Ростовцев А.В.* — зав. отделением травматологии Клинической больницы №81, Северск; *Бусоедов А.В.* — зав. травматологическим отделением ГКБ №1, Чита; *Пальшин Г.А.* — зав. кафедрой травматологии и ортопедии, Республиканская больница №2 — Центр экстренной медицинской помощи, Якутск.

**Сведения об авторах:** *Загородний Н.В.* — доктор мед. наук, проф., зав. отделением эндопротезирования крупных суставов; *Бухтин К.М.* — канд. мед. наук, врач отделения.

**Для контактов:** Загородний Николай Васильевич. 127299, Москва, ул. Приорова, д. 10, ЦИТО. Тел.: 8 (495) 601-45-70. E-mail: artto@mail.ru.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ПРОЧНОСТНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК КОНСТРУКЦИЙ ДЛЯ ОСТЕОСИНТЕЗА ВЕРТЛУЖНОЙ ВПАДИНЫ

Э.И. Солод, А.Ф. Лазарев, Н.С. Гаврюшенко, Л.В. Фомин, И.Н. Сахарных, С.С. Стоюхин

ФГБУ «Центральный научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова»  
Минздрава России, Москва, РФ

*На пластиковых моделях таза смоделированы три часто встречающихся не ассоциированных перелома вертлужной впадины: поперечный перелом, переломы передней и задней колонн. В одинаковых условиях проведены сравнительные испытания прочности трех видов остеосинтеза: с помощью реконструктивной пластины, канюлированных винтов и спиц, а также нашей разработки — винтов ЦИТО диаметром 3 мм с неполной мелкошаговой резьбой. Кроме того, оценена прочность канюлированного винта и винта ЦИТО. Исследования проводили на сервогидравлической универсальной испытательной машине. Установлено, что самая стабильная фиксация имеет место при фиксации канюлированным винтом и винтом ЦИТО. Последний по прочности уступает канюлированному винту, однако обеспечивает необходимую жесткость фиксации.*

**Ключевые слова:** перелом вертлужной впадины, эксперимент, прочность, металлофиксатор.

### *Experimental Analysis of Strength Characteristics of Devices for Acetabular Osteosynthesis*

*E.I. Solod, A.F. Lazarev, N.S. Gavryushenko, L.V. Fomin, I.N. Sakharnykh, S.S. Stoyukhin*

Central Institute of Traumatology and Orthopaedics named after N.N. Priorov,  
Moscow, Russia

*Three common elementary acetabular fractures, i.e. transverse fracture, fractures of anterior and posterior column, were simulated on plastic pelvis models. Comparative testing of three types of osteosynthesis — with reconstructive plate, cannulated screws and pins or using our new CITO flattened fine thread screws 3 mm in diameter were performed under similar conditions. Strength of cannulated screw and CITO screw was evaluated. Testing was performed on servo-hydraulic universal testing machine. The most stable fixation was achieved with cannulated screw and CITO screw. The latter was inferior in strength however ensured required rigid fixation.*

**Key words:** acetabular fracture, testing, rigidity, metal fixator.

В настоящее время при погружном остеосинтезе переломов вертлужной впадины в основном применяются фиксация пластиной с кортикальными винтами из обширных открытых доступов и чрескожная фиксация различными канюлированными винтами и спицами по закрытой методике [1–5].

Стабильность остеосинтеза пластиной при открытом способе оперативного лечения не вызывает сомнений, но данный вид вмешательства характеризуется известными проблемами и недостатками, как то: значительные размеры доступов; большие кровопотери и продолжительность операции; громоздкость конструкции; риск воспаления послеоперационной раны, вторичной девитализации отломков, тракционной нейропатии и развития асептического некроза головки бедренной кости [2, 3].

Современная малоинвазивная хирургия вертлужной впадины позволяет решить эти проблемы посредством выполнения закрытого вмешательства с использованием различных металлофиксаторов и техник их введения. Самыми распространенными являются канюлированные винты Synthes АО [2–12]. Длина этих винтов варьируется от 30 до 130 мм, диаметр — от 4,5 до 7,3 мм. На конце винта имеется резьбовой конец длиной 32 или 16 мм. Резьбовая насечка выступает над поверхностью винта на 1,5 мм. Недостатком этих винтов при использовании в малоинвазивном остеосинтезе вертлужной впадины зачастую является нехватка длины, особенно при фиксации транстектальных и высоких двухколон-

ных переломов. Большой диаметр винта нередко становится причиной перфорации кости, а сам винт выходит за кортикальный слой или в полость сустава [9, 13]. Из-за относительно крупной резьбы возникает большое сопротивление при его удалении. Для того чтобы провести винт предварительно необходимо засверливать направляющую спицу и по ней канюлированным сверлом формировать канал, при этом спица часто уходит, теряется репозиция.

С целью исключения вышеперечисленных недостатков, уменьшения продолжительности вмешательства, интраоперационной травматизации и обеспечения стабильного остеосинтеза нами разработаны оригинальные конструкции для фиксации повреждений костей таза, названные винтами ЦИТО. Винты диаметром 3 мм с неполной мелкошаговой резьбой были спроектированы в 1-м травматологическом отделении и изготовлены в ЦИТО им. Н.Н. Приорова из высокотехнологичного титанового сплава марки ВТ6.

Целью настоящего исследования было определить стабильность фиксации при различных видах остеосинтеза вертлужной впадины и прочность используемых при этом металлофиксаторов.

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

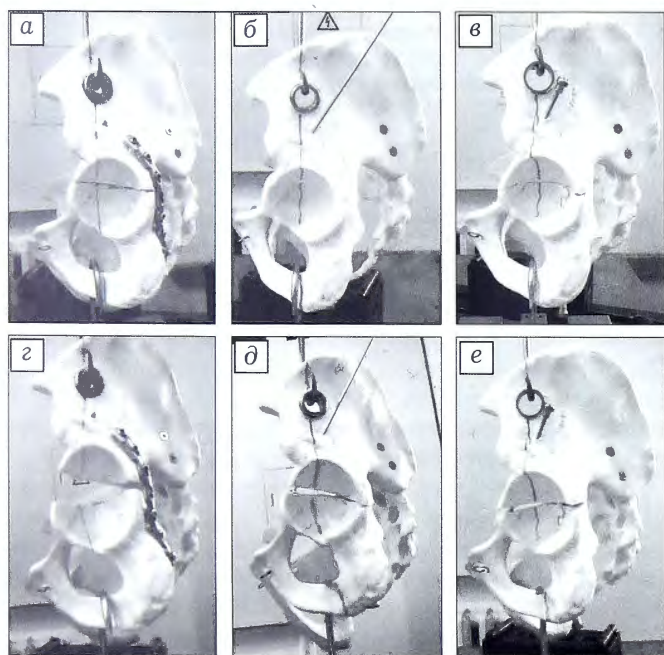
Исследования проведены в лаборатории испытания новых материалов ЦИТО им. Н.Н. Приорова. Стабильность различных видов остеосинтеза вертлужной впадины и механическую прочность метал-

лофиксаторов оценивали на сервогидравлической универсальной испытательной машине («WALTER + bai ag», Швейцария). В статическом режиме машина способна развивать силу 10 кН, а в динамическом — примерно 12 кН. Скорость нагружения образцов составляла 5 мм/мин. Ошибка измерения силы и деформации не выходила за пределы 0,5%. В исследовании использовались методы разрушающего контроля: сжатие и растяжение.

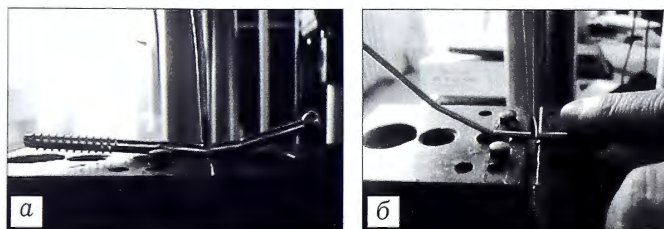
Температура окружающего воздуха в ходе испытаний составляла 19–23°C. Для проведения биомеханических исследований из программного обеспечения DIONpro были извлечены и адаптированы технические программы, которые позволили с большой степенью объективности осуществить весь комплекс работ.

Степень смещения и деформация испытуемого образца отслеживались автоматически и фиксировались на графике. Управление подвижной траверсой осуществляли с помощью дистанционного устройства.

На пластиковых моделях таза («Synbone», Швейцария) смоделированы три часто встречающихся не ассоциированных перелома вертлужной впадины: поперечный перелом, отдельно переломы передней и задней колонн. Для каждого вида перелома в одинаковых условиях проведены сравнительные испытания прочности трех видов остеосинтеза: с помощью реконструктивной пластины и кортикального



**Рис. 1.** Внешний вид моделей с переломами обеих колонн вертлужной впадины до (а–в) и после (г–е) растяжения. а, г — пластина и кортикальный винт, б, д — канюлированный винт и спица, в, е — винты ЦИТО.



**Рис. 2.** Внешний вид канюлированного винта (а) и винта ЦИТО (б) после сжатия.

винта (по методике АО), канюлированных винтов и спиц, а также нашей разработки — винтов ЦИТО.

Остеосинтез по методике АО выполняли следующим образом: заднюю колонну фиксировали реконструктивной пластиной и кортикальными винтами диаметром 3,5 мм, а в переднюю колонну устанавливали кортикальный винт достаточной длины, позволяющей пройти за линию перелома (рис. 1, а). Фиксацию переломов вертлужной впадины в использовании канюлированного винта и двухмиллиметровой спицы с резьбовым концом осуществляли по отработанной методике (рис. 1, б) [4]. Остеосинтез винтами ЦИТО проводили по методике [4], при этом в роли канюлированного винта и спицы выступали винты ЦИТО (рис. 1, в).

Также в сравнительном аспекте оценили прочность канюлированного винта Synthes АО диаметром 7,3 мм и винта ЦИТО диаметром 3 мм при сжатии (рис. 2).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

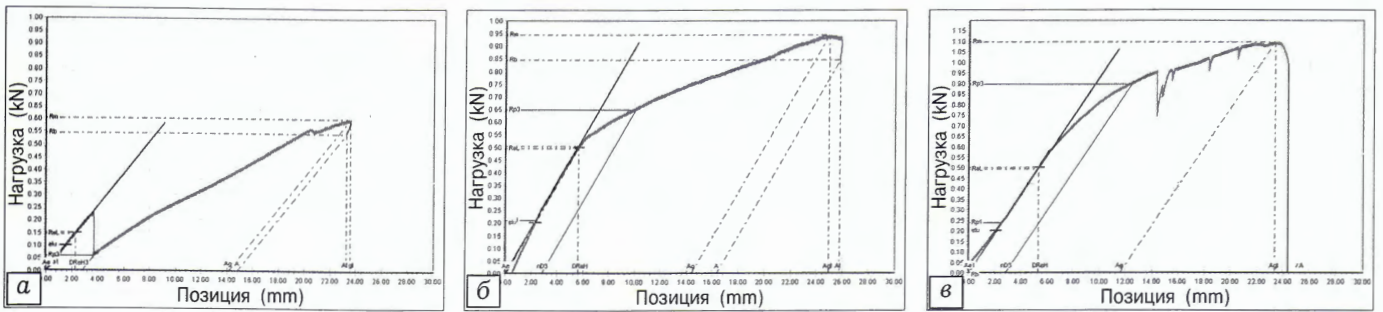
Из данных таблицы и диаграмм видно, что остеосинтез пластиной и кортикальными винтами при испытаниях на растяжение продемонстрировал самый низкий результат: предел прочности (Rm) составил 603,67 МПа. Наилучшие показатели продемонстрировали винты ЦИТО — 1098 МПа (см. таблицу, рис. 1, г–е; рис. 3).

Полученные данные позволяют заключить, что остеосинтез пластиной и кортикальными винтами среди изученных является наименее прочным, хотя и удовлетворяет требованиям к погружному остеосинтезу и используемым металлофиксаторам. Это в свою очередь обуславливает более позднюю активизацию больных и более длительный восстановительный послеоперационный период, что противоречит принципам ранней реабилитации пациентов.

Предел прочности, после которого начинались деформация и смещение в зоне перелома при остеосинтезе канюлированным винтом и спицей, оказал-

*Показатели стабильности фиксации в зависимости от вида остеосинтеза*

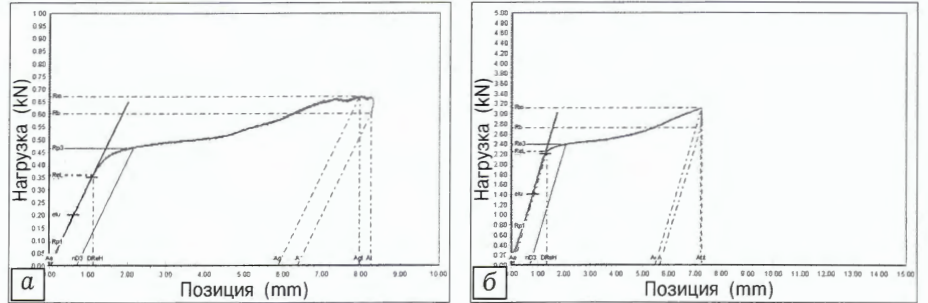
Наименование изделия	Предел прочности, МПа	Удлинение при разрушении, %
Остеосинтез поперечного перелома: пластиной и кортикальными винтами	603,67	2,02
канюлированным винтом и спицей	942,67	11,64
винтами ЦИТО	1098,00	18,12
Остеосинтез задней колонны: пластиной и кортикальными винтами	594,00	1,34
канюлированным винтом	751,00	12,94
винтом ЦИТО	1053,00	6,06
Остеосинтез передней колонны: пластиной и кортикальными винтами	177,00	1,43
канюлированным винтом	245,67	1,43
винтом ЦИТО	293,00	1,43



**Рис. 3.** Результаты испытания прочности остеосинтеза поперечного перелома обеих колонн вертлужной впадины. а — пластина и кортикальный винт, б — канюлированный винт и спица, в — винты ЦИТО.

**Рис. 4.** Результаты испытания прочности канюлированного винта Synthes АО (а) и винта ЦИТО (б).

ся выше на треть, что по нашему мнению, говорит о преимуществе данного вида остеосинтеза, наряду с меньшей травматичностью в ходе проведения этих металлофиксаторов.



Остеосинтез винтами ЦИТО показал самые высокие показатели стабильности фиксации переломов. Несмотря на то что его диаметр в два с лишним раза меньше, чем у канюлированного винта, он полностью отвечает прочностным требованиям, предъявляемым к фиксаторам, призванным обеспечить надежный остеосинтез вертлужной впадины. Среди преимуществ данного фиксатора следует отметить отсутствие необходимости в предварительном рассверливании канала канюлированным сверлом по направляющей спице, а небольшой диаметр винта позволяет дополнительно фиксировать одну из колонн вертлужной впадины вторым винтом, исключив тем самым ротацию костных фрагментов при оскольчатых переломах и гарантировав стабильность остеосинтеза.

Как показали результаты испытаний прочности винтов, прочность канюлированного винта в несколько раз превышает таковую винта ЦИТО: пределы прочности, после которых начиналась деформация винта при сдавливании, составили 74,55 МПа (удлинение при разрушении 16,15%) и 16,02 МПа (удлинение при разрушении 18,2%) соответственно (рис. 4), что, видимо, обусловлено разностью диаметров винтов и меньшей металлоемкостью винта ЦИТО. Однако жесткости фиксации, которую обеспечивает винт ЦИТО, находясь внутри кости, хватает с избытком для стабильного остеосинтеза.

#### ВЫВОДЫ

1. Самые высокие показатели стабильности фиксации переломов обеих колонн вертлужной впадины были получены при использовании канюлированного винта и винта ЦИТО.
2. Остеосинтез пластиной и кортикальными винтами является наименее стабильным, хотя и отвечает требованиям, предъявляемым к металлофиксаторам для погружного остеосинтеза.
3. Винт ЦИТО по прочности уступает канюлированному винту, однако обеспечивает достаточную жесткость фиксации.

#### ЛИТЕРАТУРА [ REFERENCES ]

1. Judet R., Judet J., Letournel E. Fracture of Acetabulum classification and surgical approaches for open reduction. *J. Bone Joint Surg.* 1964; 46 (8): 1615–46.
2. Солод Э.И., Лазарев А.Ф., Лазарев А.А., Гудушари Я.Г., Какабадзе М.Г., Роскидайло А.С., Дан И.М. Возможности оперативного лечения переломами вертлужной впадины с использованием малоинвазивных технологий. *Вестник травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова.* 2009; 2: 3–9 [Solod E.I., Lazarev A.F., Lazarev A.A., Gudushauri Ya. G., Kakabadze M.G., Roskidailo A.S., Dan I.M. Potentialities of Surgical Treatment for Acetabular Fractures Using Low-Invasive Techniques. *Vestnik travmatologii i ortopedii im. N.N. Priorova.* 2009; 2: 3–9 (in Russian)].
3. Лазарев А.Ф. Оперативное лечение повреждений таза: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. М.; 1992 [Lazarev A.F. Surgical treatment of pelvic injuries: Dr. med. sci. Diss. Moscow; 1992 (in Russian)].
4. Лазарев А.Ф., Солод Э.И. Способ закрытого остеосинтеза переломов вертлужной впадины. Патент RU № 2327427 от 27.06.2008 [Lazarev A.F., Solod E.I. Method of closed osteosynthesis for acetabular fractures. Patent RF, N 2327427; 2008 (in Russian)].
5. Gary J.L., Lefavre K.A., Gerold F., Hay M.T., Reinert C.M., Starr A.J. Survivorship of the native hip joint after percutaneous repair of acetabular fractures in the elderly. *Injury.* 2011; 42 (10): 1144–51.
6. Mouhsine E., Garofalo R., Borens O., Wettstein M., Blanc C.H., Fischer J.F. et al. Percutaneous retrograde screwing for stabilisation of acetabular fractures. *Injury.* 2005; 36 (11): 1330–6.
7. Starr A.J., Jones A.L., Reinert C.M., Borer D.S. Preliminary results and complications following limited open reduction and percutaneous screw fixation of displaced fractures of the acetabulum. *Injury.* 2001; 32: 45–50.
8. Gay S.B., Sistrom C., Wang G.J., Kahler D.A., Boman T., McHugh N., Goitz H.T. Percutaneous screw fixation of acetabular fractures with CT guidance: preliminary results of a new technique. *Am. J. Roentgenol.* 1992; 158 (4): 819–22.
9. Attias N., Lindsey R.W., Starr A.J., Borer D., Bridges K., Hipp J.A. The use of a virtual three-dimensional model to evaluate the intraosseous space available for percutaneous screw fixation of acetabular fractures. *J. Bone Joint Surg. Br.* 2005; 87 (11): 1520–3.
10. Chen K.N., Wang G., Cao L.G., Zhang M.C. Differences of percutaneous retrograde screw fixation of anterior

column acetabular fractures between male and female: A study of 164 virtual three-dimensional models. *Injury*. 2009; 40 (10): 1067–72.

11. *Rommens P.M.* Is there a role for percutaneous pelvic and acetabular reconstruction? *Injury*. 2007; 38: 463–77.  
12. *Starr A.J., Reinert C.M., Jones A.L.* Percutaneous fixation

of the columns of the acetabulum: a new technique. *J. Orthop. Trauma*. 1998; 12 (1): 51–8.

13. *Routt M.L., Simonia P.T., Grujic L.* The retrograde medullary superior pubic ramus screw for the treatment of anterior pelvic ring disruptions: a new technique. *J. Orthop. Trauma*. 1995; 9: 35–44.

**Сведения об авторах:** *Солод Э.И.* — доктор мед. наук, вед. науч. сотр. 1-го отделения травматологии взрослых, *Лазарев А.Ф.* — доктор мед. наук, профессор, зав. 1-м отделением травматологии взрослых; *Гаврюшенко Н.С.* — доктор мед. наук, профессор, зав. лабораторией испытания новых материалов; *Фомин Л.В.* — инженер той же лаборатории; *Сахарных И.Н., Стоюхин С.С.* — аспиранты 1-го отделения травматологии взрослых.  
**Для контактов:** Солод Эдуард Иванович. 127299, Москва, ул. Приорова, д. 10, ЦИТО. Тел.: 8 (495) 450–09–17.  
E-mail: cito@cito-priorov.ru



## ИНФОРМАЦИЯ

### ПРОБЛЕМА ОСТЕОПОРОЗА В ТРАВМАТОЛОГИИ И ОРТОПЕДИИ

VI конференция с международным участием  
2–3 февраля 2015 г., Москва, ЦИТО

По заключению экспертного совета ВОЗ, остеопороз занимает особое место среди патологии опорно-двигательного аппарата, так как характеризуется ростом его распространенности и высоким риском возникновения на его фоне переломов. Сложившаяся ситуация требует пересмотра направления профилактических мер и роли травматолога-ортопеда не только в раннем выявлении лиц из группы риска этих переломов, но и предотвращения повторных переломов, вероятность которых после первого перелома возрастает в 1,5–9,5 раз. Отсутствие должного понимания проблемы остеопороза является причиной роста числа осложнений после операций остеосинтеза и эндопротезирования. С заболеванием все чаще связывают и увеличение срока заживления переломов у лиц молодого и среднего возраста. Все выше перечисленные проблемы и меры борьбы с ними обсуждаются с периодичностью один раз в три года на научно-практических конференциях «Проблема остеопороза в травматологии и ортопедии», которые проводятся в ЦИТО им. Н.Н. Приорова. Шестая конференция, в работе которой приняли участие 207 участников разных городов России, один зарубежный гость (США), прошла 2–3 февраля 2015 г.

Касаясь организационных аспектов, академик РАН проф. С.П. Миронов (Москва) отметил рост заболеваемости остеопорозом в Российской Федерации: среди взрослого населения в среднем на 2,3% в год, а среди лиц старше трудоспособного возраста на 3,3%. Впервые зарегистрировано свыше 1000 больных остеопорозом среди детского населения. Анализ заболеваемости в субъектах страны свидетельствует не только о различной распространенности заболевания, но и о недостатках в организации амбулаторной травматолого-ортопедической службы, что приводит к гиподиагностике заболевания. Именно недостатки организационного порядка (А.С. Карпухина и др., Чебоксары; Л.П. Евстигнеева и др., Екатеринбург), не позволяя достоверно определить распространенность переломов проксимального отдела бедра и рассчитать потребность в металлоконструкциях при лечении данной категории больных. Для организации адресных лечебно-профилактических мероприятий в группах риска развития переломов на фоне остеопороза необходимы региональные ретроспективные исследования по эпидемиологии переломов (В.В. Епанов с соавт., Якутск). Все докладчики сошлись во мнении, что отсутствие диспансерного наблюдения и системы мер по раннему выявлению нарушений минеральной плотности кости — причина не только высокого риска перелома, но и высокой (более 30%) смертности у лиц старших возраст-

ных групп с переломами проксимального отдела бедренной кости. Одним из следствий несовершенства системы организации помощи больным с переломами на фоне остеопороза являются и поздние сроки оперативного лечения, что тоже отражается на исходах лечения и повышает смертность (А.С. Карпухина и др., Чебоксары). На примере Московской области (М.А. Добрицына и др., Москва) отмечено влияние низкой информированности населения о возможных переломах на фоне остеопороза и существенном влиянии заболевания на качество жизни (Е.А. Прохорова и др., Москва).

Связь остеопороза с генетическими нарушениями общеизвестна: 80% вариабельности минеральной плотности костной ткани обусловлено генетическими факторами. Эти данные стали основанием для поиска генетических маркеров предрасположенности к остеопорозу. В докладе Р.И. Хусановой и др. (Уфа) отмечена значимость полиморфных вариантов генов рецепторов витамина D и витамин D-связывающего белка в развитии остеопороза у женщин постменопаузального возраста Волго-Уральского региона России (именно там проводилось данное популяционное исследование). Связь генетики с нарушениями минерализации получила свое продолжение и в докладах заседания, посвященного ювенильной форме остеопороза. Усугубляются эти нарушения и социальными факторами. Так, В.В. Кривовой (Тверь) отмечены региональные особенности формирования пиковой массы кости и влияния образа жизни (низкое потребление кальция, гиподинамия и гипокinezия) на увеличение сроков консолидации переломов (В.Н. Меркулов и др., Москва). Своевременное назначение препаратов кальция (остеонон) и препаратов витамина D в этих случаях, по мнению авторов, позволяет нормализовать сроки сращения и формирования пиковой массы кости.

Среди травматологов-ортопедов растет понимание того, что переломы (С.П. Миронов и др., Москва) на фоне остеопороза нельзя рассматривать как изолированное состояние, а потому лечение должно быть направлено как на восстановление целостности кости, так и на предупреждение новых переломов в будущем, что возможно только посредством влияния на ремоделирование костной ткани лекарственными препаратами. Это положение нашло отражение в лекции С.В. Гюльназаровой (Екатеринбург), показавшей, что любой перелом осевого скелета в настоящее время рассматривается как фактор, запускающий развитие посттравматической остеопении из-за изменения механического напряжения. Функциональная нагрузка на конечность способствует регрессу иммобилизационного остеопороза (И.А. Зельский и др., Екатеринбург), однако из-за нарушений ремоделирования дефицит минеральной плотности кости сохраняется до 10 лет.

В лекции С.С. Родионовой (Москва) проведен сравнительный анализ биологической стабильности при остеосинтезе и эндопротезировании у лиц с остеопорозом и без остеопороза, а также дан срез фармакологических препаратов, используемых при повреждениях и заболеваниях костей на фоне системного остеопороза. Приведены аргументы, свидетельствующие о том, что усиление резорбции в период стрессового ремоделирования у

пациентов с системным остеопорозом не всегда компенсируется усилением костеобразования, а значит приводит к избыточной потере костной массы. Отмечен большой клинический опыт использования зарубежными коллегами деносумаба — препарата, являющегося полным человеческим антителом и обладающего выраженным антирезорбтивным действием. При длительном приеме деносумаб значительно снижает вероятность новых переломов. Возможность использования антирезорбтивных препаратов для нормализации ремоделирования у больных системным остеопорозом (бисфосфонатов или моноклональных антител), в том числе и генериков бисфосфонатов, показана в ряде сообщений (Л.А. Марченкова и др., Москва; А.Ю. Кочиш и др., С-Петербург). Авторы отметили, что профиль переносимости и эффективности отечественного генерика (резокластин ФС 5 мг) по исследуемым показателям сходен с таковым оригинального препарата золедроновой кислоты в эквивалентной дозе, а поддержка производства дженериков и их использование в клинической практике — одна из стратегических целей ВОЗ для обеспечения широкого доступа населения к медицинской помощи. Бисфосфонаты при их назначении пациентам с переломом шейки бедра в раннем послеоперационном периоде увеличивают массу не только губчатой, но и кортикальной кости (А.Н. Торшанин и др., Москва).

О возможности использования препарата, усиливающего интенсивность костеобразования, доложил доктор К. Kroch (США). Терапия терипаратидом продолжительностью более 6 мес способствовала снижению частоты невертебральных переломов у пациентов как с переломом бедра в анамнезе, так и без предшествующих переломов бедра и страдающих остеопорозом. Очень важно, что риск невертебральных переломов сохранялся на низком уровне и после отмены препарата. Однако отмечено, что с возрастом и увеличением числа сопутствующих заболеваний у пациентов с переломом бедра в анамнезе в ходе лечения терипаратидом чаще возникали серьезные нежелательные явления. В то же время сохраняющаяся необеспеченность в должной мере лекарственными препаратами является одной из причин того, что только 9% лиц с переломом шейки бедренной кости возвращаются к уровню физической активности, на котором находились до перелома (С.П. Миронов и др., Москва).

Одним из вопросов, обсуждаемых на конференции, стало качество кости до операции, влияние металлоконструкций на качество и количество кости. Показано (Л.К. Брижань и др., Москва), что неадекватная оценка состояния больного до операции негативным образом влияет на результат вмешательства и качество его жизни после операции. Авторами разработана и внедрена в практику методика использования балльных шкал для определения «ортопедического возраста», отражающего прежде всего качество кости.

Особенностью лечения переломов на фоне остеопороза остается двухкомпонентный подход, заключающийся в операции остеосинтеза с дифференцированным выбором метода остеосинтеза, учитывающем характер повреждения, срок с момента травмы, и последующей фармакотерапии, направленной на нормализацию ремоделирования костной ткани (А.Ф. Лазарев и др., Москва). Использование биоактивных конструкций, по мнению некоторых авторов (А.Р. Комков и др., Кемерово), может улучшить исходы лечения патологических переломов. Биоактивная титановая спираль для остеосинтеза проксимальных переломов плеча у лиц пожилого возраста при системном остеопорозе не только стабилизирует отломки, но и влияет на структуру кости в зоне повреждения. Использование эндопротезов с биоактивным покрытием способствует предупреждению преждевременного расшатывания, что увеличивает срок службы эндопротезов (М.В. Лекишвили и др., Москва). Полученные результаты атомно-силовой микроскопии (Л.Б. Резник и др., Омск) подтверждают, что при остеопорозе не только уменьшается количество кости, но и возникает выраженные структурные нарушения качества кости за счет трансформации коллагеновых волокон.

Обсуждались (Н.В. Загородний и др., Москва) влияние на костную ткань и развитие нестабильности продуктов износа полиэтилена и роль имплантата в развитии остеолита, который, по мнению некоторых авторов (М.А. Макаров и др., Москва), увеличивается при цементной фиксации имплантатов. Продемонстрировано положительное влияние динамической фиксации на стабильность имплантата при лечении сколиоза, сочетающегося с остеопорозом (А.А. Кулешов и др., Москва).

Отмечено, что внедрение в клиническую практику работы травматологов-ортопедов новых технологичных и экономически доступных методов ранней диагностики остеопороза (рентгеновские денситометры), а также информирование пациента по вопросам остеопороза с рекомендациями выполнения денситометрии, повышают число пациентов с диагностированным и леченым остеопорозом (У.Р. Хакимов и др., Москва; М.А. Добрицына и др., Москва). Однако отсутствие преемственности между травматологами и врачами общей практики, по общему мнению, существующее повсеместно, снижает эффективность лечения заболевания.

Очень интересным оказалось заседание, посвященное остеопорозу, ассоциированному с другими заболеваниями. Обсуждалась тактика лечения при сочетании остеопороза и сахарного диабета (Е.В. Доскина и др., Москва), остеопороза и деформирующего артроза. Использование у пациентов, страдающих одновременно остеопорозом и остеоартрозом, оксигенотерапии (С.В. Гюльназарова и др., Екатеринбург) и препаратов, влияющих на суставной хрящ (С.С. Родионова и др., Москва), значительно повышает качество жизни пациентов. Интересными с точки зрения улучшения диагностики метаболических остеопатий были сообщения о гипофосфатазии (Н.Ю. Калиниченко, Москва) и гиперпаратиреодной остеодистрофии (Н.В. Безлюдная и др., Чебоксары).

В заключение было отмечено, что подобные конференции имеют большое практическое значение, так как позволяют проводить единую тактику в диагностике и лечении больных остеопорозом, нуждающихся в хирургическом лечении. В то же время указано на необходимость организации работы на федеральном уровне по созданию Российского реестра переломов шейки бедренной кости. Многоцентровые эпидемиологические исследования распространенности остеопороза и частоты переломов, возникающих на его фоне, целесообразность которых ни у кого не вызывает сомнения, следует проводить с более активным привлечением к работе травматологов-ортопедов. Необходимо создание стандартов диагностики заболевания и базовой лекарственной терапии с позиции доказательной медицины и экономической точки зрения. Замедленное формирование пика костной массы у детей и подростков, отмеченное во многих регионах России, следует расценивать как признак нарушения физиологического развития скелета. Оптимизацию возрастных темпов прироста минеральной плотности кости у детей и подростков путем комплексного воздействия, включающего формирование здорового образа жизни, использование препаратов кальция и витамина D, можно рассматривать как раннюю профилактику остеопороза. Выявленная значимость полиморфизма вариантов генов рецепторов витамина D и витамин D-связывающего белка в развитии остеопороза у женщин постменопаузального периода в ряде регионов России подтверждает важность включения денситометрического обследования лиц молодого и среднего возраста, входящих в группы риска остеопороза, в стандарты, используемые в системе обязательного медицинского страхования. Актуальным остается создание биоконпозиционных материалов на основе частично деминерализованного костного матрикса и препаратов, нормализующих резорбцию, так как системный остеопороз является одной из главных причин отсроченных осложнений при остеосинтезе и эндопротезировании.

*профессор Родионова С.С.,  
профессор Очкурченко А.А. (Москва)*

## ВНИМАНИЮ АВТОРОВ

«Вестник травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова» предназначен для травматологов-ортопедов и специалистов смежных областей медицины — научных работников, практических врачей, организаторов науки и здравоохранения. В журнале публикуются оригинальные статьи — теоретические, клинические и экспериментальные исследования, заметки из практики (краткие сообщения), лекции, обзоры литературы, информационные сообщения по актуальным проблемам травматологии и ортопедии.

Решение о публикации статьи принимается редакционной коллегией на основании отзыва независимого рецензента (специалиста по проблеме), оценки соответствия работы этическим требованиям, а также правилам технической подготовки рукописи. Редакция оставляет за собой право редактировать статью.

### Требования к оформлению рукописей

- Статья представляется в одном экземпляре, подписанном всеми авторами. На первой странице — виза руководителя, заверенная печатью. Рукопись сопровождается официальным направлением от учреждения, в котором выполнена работа, с указанием, что данный материал не публиковался в других изданиях, и заключением об отсутствии в нем сведений, не подлежащих опубликованию. Кроме того, прикладываются копии авторских свидетельств, патентов, удостоверений на рационализаторские предложения или разрешений на публикацию, если эти документы упомянуты в тексте статьи.

- Статья печатается с одной стороны листа, все элементы текста через 2 межстрочных интервала, ширина полей справа, сверху и внизу — 2,5 см, слева — 4 см. Используется шрифт Times New Roman, размер шрифта 12 пунктов. Страницы нумеруются арабскими цифрами. Общий объем оригинальной статьи — до 12, обзорной работы — до 16, кратких сообщений — до 5 страниц.

- На титульном листе приводятся: название статьи; имена, фамилии, отчества авторов на русском и английском языках с указанием их ученой степени, звания, места работы и занимаемой должности; полное название учреждения (учреждений), где выполнена работа, в именительном падеже с указанием ведомственной принадлежности. Дается информация «для контактов» — почтовый и электронный адрес, телефон одного из авторов (для переписки с редакцией и публикации в журнале).

- Оригинальные статьи, как правило, должны иметь следующие разделы: «введение», «материал и методы», «результаты», «обсуждение», «заключение» («выводы»).

- К статьям прилагается резюме (не более 1/2 страницы) на русском и английском языках, в котором кратко излагаются цель работы, материал и методы, основные выводы. В конце резюме приводятся 3–8 ключевых слов (словосочетаний).

- Список литературы печатается на отдельном листе, через 2 интервала, каждый источник с новой строки. Все работы перечисляются в порядке цитирования. В списке обязательно указываются: по книгам — фамилия автора (авторов) и его инициалы, полное название книги, место и год издания, цитируемые страницы (от — до); по журналам, сборникам, научным трудам — фамилия автора (авторов) и его инициалы, название статьи, название журнала, сборника, научного труда, год, том, номер и страницы (от — до). Неопубликованные работы в список не включаются. Для оригинальных статей список литературы следует ограничить 30 источниками, для обзорных — 60, для лекций и других материалов — 15. Библиографические ссылки в тексте статьи даются в квадратных скобках номерами в соответствии с пристатейным списком литературы.

- Иллюстрации (рисунки, графики, фотографии, схемы) представляются в двух экземплярах с указанием их номера, фамилии автора, пометкой «верх». Иллюстрации должны быть четкими, пригодными для воспроизведения. Их число не должно превышать 10 (включая а, б и т.д.). Подписи к рисункам печатаются на отдельном листе с указанием номера рисунка. В подписях приводится объяснение значения всех кривых, букв, цифр и других условных обозначений. В подписях к микрофотографиям указывается увеличение (окуляр, объектив) и метод окраски или импрегнации материала. В тексте обязательно дается ссылка на каждый рисунок.

- Таблицы должны быть построены наглядно, иметь название; заголовки граф должны точно соответствовать их содержанию. В тексте указывается место таблицы и ее порядковый номер.

- Сокращения слов в тексте следует избегать (за исключением общепринятых сокращений — ГОСТ 7.12–93 для русского и ГОСТ 7.11–78 для иностранных европейских языков). Если все-таки приходится пользоваться сокращениями, их следует расшифровать при первом упоминании термина и далее использовать по всему тексту.

- Единицы измерения должны приводиться в соответствии с Международной системой единиц (СИ).

- К рукописи должна быть приложена ее электронная версия. Иллюстрации представляются обязательно в виде отдельных графических файлов (без дополнительных обозначений — стрелок, букв и т.п.): в формате TIFF или JPG (разрешение 400 dpi), векторные рисунки — в виде публикации Corel Draw (версия 7), диаграммы — в виде таблиц данных Excel. Используются следующие типы носителей: CD-R; CD-RW; дискеты 1,44 МВ.

*Не принятые к печати рукописи редакцией не возвращаются.*



## СОДЕРЖАНИЕ

## CONTENS

<i>Миронов С.П., Омельяненко Н.П., Карпов И.Н., Иванов А.В., Хлыстова А.В.</i> Начальные этапы дистракционного остеогенеза . . . . .	6	<i>Mironov S.P., Omel'yanenko N.P., Karpov I.N., Ivanov A.V., Khlystova A.V.</i> Initial Steps of Distraction Osteosynthesis	
<i>Шангина О.Р., Хасанов Р.А., Булгакова Л.А., Мусина Л.А.</i> Сравнительная характеристика фиброархитектоники и прочностных свойств лиофилизированных аллотрансплантатов с различным типом волокнистого остова . . . . .	12	<i>Shangina O.R., Khasanov R.A., Bulgakova L.A., Musina L.A.</i> Comparison of Fibroarchitectonics and Strength Properties Preservation Criteria of Lyophilized Allografts with Different Type of Fibrous Framework	
<i>Власов М.В., Бугров С.Н., Богосъян А.Б., Мусихина И.В.</i> Экспериментальное моделирование процессов репаративной регенерации соединительной ткани в неблагоприятных условиях . . . . .	18	<i>Vlasov M.V., Bugrov S.N., Bogos'yan A.B., Musukhina I.V.</i> Experimental Modelling of the Processes for Connective Tissue Reparative Regeneration under Unfavorable Conditions	
<i>Чайлахян Р.К., Шехтер А.Б., Тельпухов В.И., Иванов С.В., Герасимов Ю.В., Воробьева Н.Н., Москвина И.Л., Баграташвили В.Н.</i> Восстановление неполнослойных повреждений гиалинового хряща суставов кроликов трансплантацией мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток костного мозга . . . . .	23	<i>Chailakhyan R.K., Shekhter A.B., Tel'pukhov V.I., Ivannikov S.V., Gerasimov Yu.V., Vorobieva N.N., Moskvina I.L., Bagratashvili V.N.</i> Repair of Partial Thickness Articular Hyaline Cartilage Injuries with Multipotent Mesenchymal Stromal Bone Marrow Cells Transplantation in Rabbits	
<i>Сергеева Н.С., Комлев В.С., Свиридова И.К., Кирсанова В.А., Ахмедова С.А., Кувшинова Е.А., Федотов А.Ю., Тетерина А.Ю., Баринов С.М.</i> Оценка композиционных материалов состава альгинат — фосфаты кальция, предназначенных для использования в технологиях прототипирования при замещении костных дефектов in vitro . . . . .	28	<i>Sergeeva N.S., Komlev V.S., Sviridova I.K., Kirsanova V.A., Akhmedova S.A., Kuvshinova E.A., Fedotov A.Yu., Teterina A.Yu., Barinov S.M.</i> In Vitro Evaluation of the Composite Alginate — Calcium Phosphate Materials for Prototyping Technologies in Bone Defects Substitution	
<i>Бозо И.Я., Деев Р.В., Дробышев А.Ю., Комлев В.С., Рожков С.И., Еремин И.И., Далгатов И.Г., Воложин Г.А., Грачев В.И., Федотов А.Ю., Исаев А.А.</i> Эффективность ген-активированного остеопластического материала на основе октакальциевого фосфата и плазмидной ДНК с геном vegf в восполнении «критических» костных дефектов . . . . .	35	<i>Bozo I.Ya., Deev R.V., Drobyshev A.Yu., Komlev V.S., Rozhkov S.I., Eryomin I.I., Dalgatov I.G., Volozhin G.A., Grachyov V.I., Fedotov A.Yu., Isaev A.A.</i> Efficacy of Gen-Activated Osteoplastic Material Based on Octacalcium Phosphate and Plasmid DNA containing vegf Gene for Critical-sized Bone Defects Substitution	
<i>Чеканов А.С., Волошин В.П., Лекишвили М.В., Очкурченко А.А., Мартыненко Д.В.</i> Реконструкция тазобедренного сустава деминерализованными аллоимплантатами при ревизионном эндопротезировании . . . . .	43	<i>Chekanov A.S., Voloshin V.P., Lekishvili M.V., Ochkurenko A.A., Martynenko D.V.</i> Hip Reconstruction with Demineralized Allografts in Revision Arthroplasty	
<i>Волков А.В.</i> К вопросу о безопасности остеопластических материалов . . . . .	46	<i>Volkov A.V.</i> On the Safety of Osteoplastic Materials	
<i>Миromanов А.М.</i> Использование дабигатрана этексилата в профилактике венозных тромбоземблических осложнений при переломах длинных костей нижних конечностей . . . . .	70	<i>Miromanov A.M.</i> Use of Dabigatran Etexilate for Prevention of Venous Thromboembolic Complications in Long Bone Fractures	
<i>Давыдов О.Д., Монтиле А.И., Марчук Ю.В., Монтиле А.А.</i> Скрининговая диагностика сколиоза методом компьютерной стабилотрии . . . . .	76	<i>Davydov O.D., Montile A.I., Marchuk Yu.V., Montile A.A.</i> Screening Diagnosis for Scoliosis using Computed Stabilometry	
<i>Корышков Н.А., Михайлова Л.К., Ходжиев А.С.</i> Оперативное лечение болезни Леддерхозе у пациентки с мукополисахаридозом I типа (Гурлер — Шейе) . . . . .	81	<i>Koryshkov N.A., Mikhailova L.K., Khodjiev A.S.</i> Surgical Treatment of Ledderhose Disease in Patient with Mucopolysaccharidosis Type I (Hurler-Sheie)	
<i>Загородний Н.В., Бухтин К.М.</i> Применение ривароксабана для профилактики тромбоэмблических осложнений после эндопротезирования крупных суставов в условиях реальной клинической практики в России (по данным проспективного многоцентрового неинтервенционного исследования СОПРАНО) . . . . .	84	<i>Zagorodniy N.V., Bukhtin K.M.</i> Use of Rivaroxaban for Prevention of Thromboembolism after Major Joints Arthroplasty under Conditions of Real Clinical Practice in Russia (on the data of prospective multicenter non-interventional study SOPRANO)	
<i>Солод Э.И., Лазарев А.Ф., Гаврюшенко Н.С., Фомин Л.В., Сахарных И.Н., Стояухин С.С.</i> Экспериментальный анализ прочностных характеристик конструкций для остеосинтеза вертлужной впадины . . . . .	91	<i>Solod E.I., Lazarev A.F., Gavryushenko N.S., Fomin L.V., Sakharnykh I.N., Stoyukhin S.S.</i> Experimental Analysis of Strength Characteristics of Devices for Acetabular Osteosynthesis	
<b>Обзор литературы</b>		<b>Literature Review</b>	
<i>Деев Р.В., Дробышев А.Ю., Бозо И.Я.</i> Обычные и активированные остеопластические материалы . . . . .	51	<i>Deev R.V., Drobyshev A.Yu., Bozo I.Ya.</i> Ordinary and Activated Osteoplastic Materials	
<b>Информация</b>		<b>Information</b>	
<i>Проблема остеопороза в травматологии и ортопедии (VI конференция с международным участием) . . . . .</i>	94	<i>Problem of Osteoporosis in Traumatology and Orthopaedics (VI conference with international participation)</i>	