

## ПЕРСПЕКТИВНЫЕ МЕТОДЫ ЗАМЕЩЕНИЯ ДЕФЕКТОВ КОСТЕЙ ЧЕРЕПА

© Дмитрий Евгеньевич Алексеев<sup>1</sup>, Дмитрий Владимирович Свистов<sup>1</sup>, Александр Евгеньевич Коровин<sup>1</sup>, Леонид Андреевич Румянцев<sup>1</sup>, Илья Константинович Крамченинов<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации, 194044, Россия, Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева д. 6

<sup>2</sup> 3-я научная рота Военно-инновационного технополиса «ЭРА», 143405, Россия, Московская обл., г. Красногорск военный городок Павшина 33/1 в. ч. 26302.

**Контактная информация:** Дмитрий Евгеньевич Алексеев — канд. мед. наук, майор медицинской службы, адъюнкт кафедры нейрохирургии. E-mail: dealekseev@mail.ru

**РЕЗЮМЕ.** В статье рассматриваются современные методы лечения повреждений костей черепа в условиях мирного и военного времени. На основе литературного анализа обобщены современные данные о клиническом применении клеточных технологий в тканевой инженерии. Рассматриваются как положительные, так и отрицательные стороны использования различной природы имплантатов. Предпочтение отдается материалам-носителям биоорганического происхождения, стимулирующим остеогенез. Развитие новых биотехнологических методов в трансплантологии немислимо без активного участия специалистов самого разнообразного профиля. Перспективным на сегодняшний день являются технологии создания ген-активированных костных имплантатов при помощи генной инженерии, что обеспечивает необходимую жизнедеятельность заселенных стволовых клеток. Успехи отечественной регенеративной медицины в области трансплантологии позволят в недалеком будущем значительно улучшить качество жизни пострадавших на этапах ранней реабилитации.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** клеточные технологии; остеогенез; стволовые клетки; тканевая инженерия кости; трансплантат.

## PROMISING METHODS FOR SUBSTITUTION OF SKULL BONE DEFECTS

© Dmitry E. Alexeev<sup>1</sup>, Dmitriy V. Svistov<sup>1</sup>, Alexandr E. Korovin<sup>1</sup>, Leonid A. Rumyantsev<sup>1</sup>, Ilya K. Kramcheninov<sup>2</sup>

<sup>1</sup> S. M. Kirov Military Medical Academy, 194044, Russia, St. Petersburg, Academician Lebedeva street, 6

<sup>2</sup> 3<sup>rd</sup> scientific company of the Military-innovative technopolis «ERA», 143405, Russia, Moscow region, Krasnogorsk military town Pavshina 33/1 incl. 26302.

**Контактная информация:** Dmitry E. Alexeev — Ph. D. (Medicine), Major of the Medical Service, Adjunct of the Department of Neurosurgery, E-mail: dealekseev@mail.ru.

**ABSTRACT:** The article considers the modern methods of treatment of injuries of the skull bones in wartime and peacetime. On the basis of literary analysis shows the clinical application of cell technologies in tissue engineering. Discusses the positive and negative aspects of the use of implants of different nature. Preferred carrier material bioorganic origin stimulating osteogenesis. Development of new biotechnological methods in transplantation is impossible without the active participation of experts of diverse profiles. Promising to date are the technology of gene-activated bone implants with the help of genetic engineering, which provides the necessary vital functions of populated stem cells. The successes of domestic regenerative medicine in the field of transplantation in the near future will allow to significantly improve the quality of life of victims in the early stages of rehabilitation.

**KEYWORDS:** cellular technology; osteogenesis; stem cells; bone tissue engineering; graft.



При анализе боевых повреждений головы основное внимание военных врачей традиционно сводится к огнестрельным ранениям. Огнестрельные ранения черепа и головного мозга относятся к одним из наиболее тяжелых боевых повреждений. К сожалению «расцвет терроризма» и использование в большинстве случаев взрывных устройств в общественных местах делают рассматриваемую проблему актуальной не только для военной нейрохирургии, но и для нейрохирургов лечебных учреждений системы Министерства здравоохранения. Кроме того, восполнение костных дефектов при воспалительно-деструктивных заболеваниях после удаления массивных новообразований также является открытым вопросом современной медицины, который требует своего разрешения [1–3].

Костная ткань не всегда способна самостоятельно полностью восстанавливаться, поэтому целесообразным является увеличение оптимальных темпов ее восстановления за счет вмешательства извне. Сложность в замещении костных дефектов при огнестрельных или иных ранениях заключается в ограниченном количестве прогрессивных методов лечения, способных в короткие сроки и качественно восстановить поврежденную кость. Количество раненых и больных с подобной патологией не уменьшается, что определяет необходимость совершенствовать применяемые и разрабатывать новые методы заживления поврежденной костной ткани. Недостаточность собственных возможностей организма к остеогенезу при обширных костных дефектах в условиях репаративной регенерации требуют поиска новых путей стимулирования остеосинтеза. Для заживления больших по объему костных повреждений применяют имплантаты, обладающие стимуляционной активностью, индуцирующие остеогенез и резорбирующиеся в течение определенного времени, необходимого для полного восстановления кости в структурном и функциональном отношении [4]. Литературные данные указывают на наличие материалов, отвечающих поставленным требованиям, для использования их в качестве имплантатов, которые имеют свои как положительные, так и отрицательные стороны. Наличие большого количества литературных публикаций по данной проблематике свидетельствует о важности поиска новых биотехнологических способов регенерации костной ткани [5–7].

Выделяют пять основных направлений пластики костных дефектов: аутопластика, аллопластика, ксенопластика, имплантация и применение комбинированных трансплантатов (тканей и небологических субстратов). Аутопластика кости является «золотым стандартом» и эффективным с биологической и клинической точек зрения методом пересадки кости в зону дефекта. Костная ткань в данном случае берется от самого пациента, что не вызывает реакции иммунологического отторжения. Однако количество такой ткани в организме ограничено, изъятие которой сопровождается дополнительным хирургическим вмешательством и стрессом для больного. По этим причинам активно во всем мире ведутся поиски путей замены аутокости [8].

Для восполнения костных дефектов, наряду с металлоконструкциями, наиболее оптимальными костнозамещающими субстанциями являются различные пластические материалы, обладающие необходимым набором свойств. К материалам, используемым для создания трансплантатов способных замещать или вовсе устранять костный дефект, применяются определенные требования. Они должны обладать высокой способностью к остеогенезу, не содержать антигенов, быть просты в получении и технологической обработке. Трансплантаты также должны быть удобными для клинического применения, быть способными к биодеградации с постепенным замещением костной тканью и экономически выгодными [9–11].

Клинические исследования и наблюдения показали, что для эффективного лечения переломов костей только совершенствования соединения и удержания отломков при помощи высокотехнологичных компрессионно-дистракционных аппаратов недостаточно. Изделия для эндопротезирования имеют свои существенные пределы. В связи с этим, активно развивается направление лечения пациентов травматолого-ортопедического профиля, основанное на использовании клеточных технологий [12, 13].

Применение мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток (ММСК) и тканевой инженерии в нейрохирургии, травматологии и ортопедии представляет большой интерес, так как обеспечивает инновационный подход для создания материала, который может быть использован не только для воссоздания утраченных тканей, но и для обеспечения регенерации костной ткани [14]. Потребность в клеточной трансплантации возникает, как правило, в случае развития состояния «остеогенной недостаточности», когда собственный камбиальный резерв остеогенных клеток организма не в состоянии обеспечить надлежащий процесс остеорепарации [16].

К настоящему времени «золотым стандартом» в биоимплантологии и регенеративной медицине является пересадка остеогенных клеток, полученных из различных тканевых источников пациента. Такими тканевыми источниками могут являться костный мозг, жировая клетчатка, пульпа зуба, надкостница, строма кроветворных органов, периферическая кровь и др. [15, 17–20]. Достойное место в клеточной технологии постепенно начали занимать человеческие индуцированные плюрипотентные стволовые клетки (ИПСК). ИПСК активно применяются в клеточной и генной терапии и в тканевой инженерии. ИПСК имеют высокий потенциал к остеогенной дифференциации, что очень важно для костно-тканевой инженерии и клеточной терапии [21].

В широком спектре лечения костной патологии трансплантация клеточной взвеси в область нарушенной консолидации не обладает должным качественным превосходством по отношению к традиционным методам лечения [22, 23]. Применение методов тканевой инженерии способствует преодолению этого барьера. Тканевая инженерия — это раздел биотехнологии, подразумевающий трансплантацию культиви-

рованных стволовых клеток на биосовместимом носителе с целью создания *de novo* недостающего или восстановления поврежденной ткани или органа [24].

Идеология тканевой инженерии в приложении к костной хирургии подразумевает использование культивированных остеогенных клеток и материала-носителя, обеспечивающего мобилизацию клеток, адресную их доставку, стабильное нахождение в реципиентном ложе и гистотипическую дифференцировку [25].

Выбор оптимального носителя для культуры остеогенных клеток является одним из ключевых этапов создания тканеинженерного эквивалента костной ткани. Идеальный имплантационный материал, из которого может быть изготовлен носитель, должен обладать преимуществами ауто трансплантата: биосовместимостью, пористой структурой, возможностью адсорбции индуктивных факторов, механической прочностью, предсказуемой и воспроизводимой скоростью деградации, возможностью 3D-моделирования его формы. Он должен поддерживать рост сосудов, быть нетоксичным, а также экономически доступным [26].

Спектр материалов для изготовления носителей достаточно широк. Однако выделить наиболее оптимальный из них крайне трудно. В интересах тканевой инженерии используются в качестве носителей остеопластические материалы — деминерализованный костный матрикс (ДКМ), трехмерные матрицы из полимолочных и полигликолиевых кислот; коллагеновые криогели. Для создания тканевых эквивалентов костной ткани посредством технологий тканевой инженерии могут также применяться стеклокристаллические материалы — биоситалы; аналоги костной ткани — минералы гидроксипапатит, трикальций фосфат; полисахариды природного происхождения — хитозан, полигидроксиалканоаты, альгинаты и др. Каждый из материалов обладает рядом достоинств и недостатков [27–29]. Успешным в лечении поврежденной костной ткани оказался аллогенный деминерализованный и децеллюляризованный (бесклеточный) костный матрикс. Наличие в нем биологически активных веществ — костных морфогенетических белков (BMP), трансформирующего  $\beta$ -фактора роста (TGF- $\beta$ ), эпидермального фактора роста (PDGF), инсулиноподобных факторов роста I и II типа (IGF I, IGF II), основного и кислотного факторов роста фибробластов (bFGF, aFGF), а также сохранение естественной архитектоники, делает этот материал весьма привлекательным для тканевой инженерии [30].

Активно проводятся работы по изучению заселения MMCK на коммерческие носители (Palacos<sup>®</sup>, Osteocel<sup>®</sup>, Oral Bone<sup>®</sup>). Коммерческий спрос на продукцию на основе тканеинженерных эквивалентов костной ткани растет с каждым годом. Данные препараты предназначены для устранения небольших челюстно-лицевых дефектов. Они представлены аллогенными костными матрицами, содержащими MMCK и костный цемент [31].

В настоящий момент одной из основных проблем в данной области является создание больших по протяженности

тканеинженерных эквивалентов. Обеспечение надлежащей трофики пересаженных клеток является критическим этапом всей технологии. Без необходимого кровоснабжения графты больших размеров в условиях *in vivo* испытывают дефицит кислорода и нутриентов, в результате чего клетки погибают, а матрикс замещается волокнистой соединительной тканью. Для повышения выживаемости клеток применяют модуляторы роста сосудов, являющиеся цитокинами — эндотелиальный сосудистый фактор роста и основной фактор роста фибробластов, а также методы префабрикации, основанные на временном помещении носителя в богатую кровоснабжаемую ткань для формирования в нем собственной сосудистой сети. Затем на этапе основной трансплантации её соединяют с кровеносным руслом пациента [32, 33].

В Институте стволовых клеток человека (Москва) с целью повышения индукции ангиогенеза создали ген-активированный костный графт, который состоит из носителя на основе коллагена и гидроксипапатита и плазмидной конструкции, имеющей в своем составе ген *VEGF-A165* человека. Данный ген в составе генно-инженерной конструкции отвечает за экспрессию белков сосудистых эндотелиальных факторов роста, которые секретируются различными клетками для стимуляции васкулогенеза и ангиогенеза. Было установлено, что инкубирование графта с культурой мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток приводит к повышению экспрессии ими белка VEGF, а при имплантации его в дефекты темных костей кроликов наблюдалась трансфекция клеток реципиентного ложа, что сопровождалось более выраженным ангиогенезом, по сравнению с контролем [34].

Большое количество экспериментальных исследований было посвящено оптимизации процессов остеорепарации с применением методов клеточных технологий на модели дефектов костей черепа. В 2004 г. была выполнена операция по замещению тканеинженерной конструкцией, резецированной по онкологическим показаниям нижней челюсти у мужчины. По истечении 6 месяцев пациент сообщил о восстановлении способности принимать пищу и возможности устного общения. В мире выполнены несколько операций по трансплантации в область повреждений тканеинженерных эквивалентов костной ткани у человека. В литературе описан случай восстановления обширного дефекта костей мозгового отдела черепа площадью 120 см<sup>2</sup>, сформированный в результате травмы и развившегося остеомиелита [35].

В настоящее время в мире проводятся исследования по созданию биоиндуктивных материалов на основе рекомбинантных морфогенетических белков кости (rhBMPs), в первую очередь rhBMP-2. Белки семейства BMP являются одними из ключевых факторов в ремоделировании и регенерации костной ткани [36]. Эти белки обладают мощным остеоиндуктивным действием и способны стимулировать образование новой костной ткани путем индукции мезенхимальных клеток в функционально активные остеобласты [37]. Остеоиндуктивные материалы стимулируют миграцию клеток реципиента в зону повреждения, которые секрети-

руют разные цитокины. Эти цитокины, включая BMPs, вызывают остеобластическую дифференцировку клеток и за счет этого обеспечивается регенерация костной ткани. В ходе экспериментов было доказано, что включение рекомбинантных морфогенетических белков rhBMP-2 в композитные материалы, предназначенных для пластики костных дефектов, значительно повышает их остеоиндуктивность, что проявляется в формировании структурированного коллагена и в активации кальцификации [38, 39].

В наш век высоких технологий лидирующее место в данной области начали занимать технологии 3D биопечати. Благодаря биопечати стало возможным создавать анатомически индивидуальные, жизнеспособные и функциональные в структурном отношении тканеинженерные аналоги костной ткани. Так команда исследователей из Колумбийского университета под руководством W. L. Grayson (2010) сообщила о создании ими трансплантата нижней челюсти из децеллюляризированной трабекулярной кости, заселенной человеческими мезенхимальными стволовыми клетками [40]. В 2013 году американская компания Oxford Performance Materials, сообщила об успешно проведенной операции, в ходе которой, пациенту был установлен имплантат, замещающий часть костей черепа. С помощью 3D-сканера была создана виртуальная модель головы пациента и, учитывая особенности строения черепа и травмы, был напечатан идеально подходящий имплант. А группа исследователей во главе J. H. Shim (2014) сообщили об успешном изготовлении на основе трехмерной печати трансплантата из PCL/PLGA/ $\beta$ -TCP (полимолочной/полигликолиевого/трикальцийфосфат) материала. Полученный трансплантат пропитывали раствором костно-морфогенетического белка (BMP-2) и вживляли в 8 мм дефект свода черепа. Полное восстановление дефекта свода черепа произошло к 8 неделе [41]. Использование 3D принтеров дают возможность печатать протезы, учитывающие мельчайшие индивидуальные особенности человека.

В медицинской отечественной науке к сегодняшнему дню накоплен достаточный опыт экспериментальных исследований клеточных технологий применительно к травматологии и нейрохирургии, однако остается много вопросов в восстановительной медицине. Необходимо стимулировать научную работу отечественных военных и гражданских исследователей в этом важном направлении, результаты которых в скором времени должны значительно улучшить качество жизни больных и пострадавших с дефектами костей черепа и опорно-двигательного аппарата. Активное развитие биотехнологий в нейрохирургии, травматологии и ортопедии, внедрение их в клиническую практику позволит качественно совершенствовать методы лечения раненых и больных в мирное и военное время.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Коновалов А. Н., Лихтерман Л. Б., Потапов А. А. Клиническое руководство по черепно-мозговой травме. М.: Антидор 2001. 656 с.
2. Оганесян А. К., Мкртчян В. Г. Преимущества применения деминерализованных ксеногенных костных трансплантатов. Медицинский вестник Эрбуни. 2004; 3 (19): 48–54.
3. Kulkarni S., Kamath S., Nayak R., Kumar S., Desai A., Krishnan G., Ganeshkar S., Thakur S. Rehabilitation of a patient with gunshot injury through the iliac graft and implant-retained restorations with a 3-year follow-up: a brief clinical study. J. Craniofac Surg. 2014; 25 (2): 207–210.
4. Henkel J., Woodruff M. A., Epari D. R., Steck R., Glatt V., Dickinson I. C., Choong P. F. M., Schuetz M. A., Hutmacher D. W. Bone Regeneration Based on Tissue Engineering Conceptions A 21st Century Perspective. Bone Res. 2013; 1 (3): 216–248.
5. Деев Р. В., Исаев А. А., Кочич А. Ю. и др. Клеточные технологии и в травматологии и ортопедии: пути развития. Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. 2007; 2 (4): 18–30.
6. Лекишвили М. В., Склянчук Е. Д., Акатов В. С., Очкурено А. А., Гурьев В. В., Рагинов И. С., Бугров С. Н., Рябов А. Ю., Фадеева И. С., Юрасова Ю. Б., Чеканов А. С. Костнопластические остеоиндуктивные материалы в травматологии и ортопедии. Гений ортопедии. 2015; 4: 61–67.
7. Шишацкая Е. И., Николаева Е. Д., Шумилова А. А., Шабанов А. В., Волова Т. Г. Культивирование мультипотентных мезенхимных стромальных клеток костного мозга на носителях из резорбируемого биопластотана. Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. 2013; 8 (1): 57–65.
8. Oryan A., Alidadi S., Moshiri A., Maffulli N. Bone regenerative medicine: classic options, novel strategies, and future directions. Journal of Orthopaedic Surgery and Research. 2014; 9: 1–27.
9. Волова Т. Г., Шишацкая Е. И. Биоразрушаемые полимеры: синтез, свойства, применение. Красноярский писатель. 2011: 24–27.
10. Деев Р. В., Исаев А. А., Кочич А. Ю., Тихилов Р. М. Пути развития клеточных технологий в костной хирургии. Травматология и ортопедия России. 2008; 1 (47): 65–75.
11. Шишацкая Е. И., Николаева Е. Д., Горева А. В. и др. Исследование пленочных матриц из резорбируемых полигидроксикарбонатов различного химического состава in vivo: реакция тканей и кинетика биоразрушения. Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. 2012; 7 (1): 73–80.
12. Ezhov M. Yu., Ezhov I. Yu., Kashko A. K., Kayumov A. Yu., Zykin A. A., Gerasimov S. A. Unsolved questions about the regeneration of cartilage and bone. Advances in current natural sciences. 2015; 5: 126–131.
13. Макушин В. Д., Ступина Т. А. К вопросу об активизации процессов, регулирующих восстановление структуры суставного хряща (обзор литературы и собственные данные). Гений Ортопедии. 2014; 1: 82–88.
14. Bose S., Roy M., Bandyopadhyay A. Recent advances in bone tissue engineering scaffolds. Trends Biotechnol. 2012; 30 (10): 546–554.
15. Kravchenko S. V., Zaporoschenko A. Yu., Savitskaya I. M. Comparative evaluation of the biological properties of bone bioimplants Tutoplast® and bioactive ceramic material "Syntekost" when implanted in the middle ear in the experiment. Morphologia. 2014; 8 (3): 35–41.
16. Алексеева И. С., Волков А. В., Кулаков А. А., Гольдштейн Д. В. Клинико-экспериментальное обоснование использования ком-



- бинированного клеточного трансплантата на основе мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток жировой ткани у пациентов с выраженным дефицитом костной ткани. Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. 2012; 7 (1): 97–105.
17. Jin H. J., Bae Y. K., Kim M., Kwon S. J., Jeon H. B., Choi S. J., Kim S. W., Yang Y. S., Oh W., Chang J. W. Comparative Analysis of Human Mesenchymal Stem Cells from Bone Marrow, Adipose Tissue, and Umbilical Cord Blood as Sources of Cell Therapy. *Int. J. Mol. Sci.* 2013; 14 (9): 17986–18001.
  18. Lv F.-J., Tuan R. S., Cheung K. M., Leung V. L. Concise Review: The Surface Markers and Identity of Human Mesenchymal Stem Cells. *Stem cells.* 2014; 32 (6): 1408–1419.
  19. Marolt D., Knezevic M., Novakovic G. V. Bone tissue engineering with human stem cells. *Stem Cell Research & Therapy.* 2010; 1:10.
  20. Sarraf C. E., Otto W. R., Eastwood M. In vitro mesenchymal stem cell differentiation after mechanical stimulation. *Cell Prolif.* 2011; 44 (1): 99–108.
  21. Ardeshiryajimi A., Soleimani M., Hosseinkhani S., Parivar K., Yaghmaei P., A Comparative Study of Osteogenic Differentiation Human Induced Pluripotent Stem Cells and Adipose Tissue Derived Mesenchymal Stem Cells. *Cell Journal.* 2014; 16 (3): 235–244.
  22. Белокрылов Н. М., Денисов А. С., Белокрылов А. Н., Сотин А. В. Основные способы и материалы для замещения дефектов кости после удаления очага поражения при опухолевых и опухолеподобных заболеваниях у детей. *Пермский медицинский журнал.* 2014; 31 (5): 81–91.
  23. Кутянов Д. И., Родоманова Л. А. Современные принципы и тенденции использования осевых кровоснабжаемых лоскутов в реконструктивной хирургии конечностей. *Травматология и ортопедия России.* 2015; 1: 106–115.
  24. Новочадов В. В. Проблема управления клеточным заселением и ремоделированием тканеинженерных матриц для восстановления суставного хряща (обзор литературы). *Вестник Волгоградского государственного университета.* 2013; 1 (5): 19–29.
  25. Kanczler J. M., Oreffo R. O. C. Osteogenesis and angiogenesis: the potential for engineering bone. *European Cells and Materials.* 2008; 15: 100–114.
  26. Коровин А. Е., Нагибович О. А., Пелешок С. А., Копыленкова Т. И., Шилин В. П., Ольховик А. Ю., Шевченко В. А. 3D-моделирование и биопрототипирование в военной медицине/ Клиническая патофизиология. 2015; № 3: 17–23.
  27. Бухарова Т. Б., Антонов Е. Н., Попов В. К. Биосовместимость тканеинженерных конструкций на основе пористых полилактидных носителей, полученных методом селективного лазерного спекания, и мультипотентных стромальных клеток костного мозга. *Клеточные технологии в биологии и медицине.* 2010; № 1: 40–46.
  28. Мелихова В. С., Сабурин И. Н., Орлов А. А. Моделирование функционального остеогенеза с использованием биодеградируемого матрикса и аутогенных стромальных клеток подкожной жировой ткани. *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия.* 2009; 4 (1): 59–68.
  29. Yang Q., Peng J., Lu S. B., Guo Q. Y., Zhao B., Zhang L., Wang A. Y., Xu W. J. Evaluation of an extracellular matrix-derived acellular biphasic scaffold/cell construct in the repair of a large articular high-load-bearing osteochondral defect in a canine model. *Chin Med J.* 2011; 124 (23): 3930–3938.
  30. Севостьянова В. В., Elgudin Y. L., Wnek G. E. Свойства тканеинженерных матриц из поликапролактона, импрегнированных ростовыми факторами VEGF и bFGF. *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия.* 2012; 7 (4): 62–67.
  31. Cheng C. W., Solorio L. D., Alsberg E. Decellularized Tissue and Cell-Derived Extracellular Matrices as Scaffolds for Orthopaedic Tissue Engineering. *Biotechnol Adv.* 2014; 32 (2): 462–484.
  32. Amini A. R., Laurencin C. T., Nukavarapu S. P. Differential analysis of peripheral blood- and bone marrow-derived endothelial progenitor cells for enhanced vascularization in bone tissue engineering. *Journal of Orthopaedic Research.* 2012; 30 (9): 1507–1515.
  33. Mercado-Pagán Á. E., Stahl A. M., Shanjani Y., Yang Y. Vascularization in Bone Tissue Engineering Constructs. *Annals of Biomedical Engineering.* 2015; 43 (3): 718–729.
  34. Деев П. В., Дробышев А. Ю., Бозо И. Я., Галецкий Д. В., Королев В. О., Еремин И. И., Филоненко Е. С., Киселев С. Л., Исаев А. А. Создание и оценка биологического действия ген-активированного остеопластического материала, несущего ген VEGF человека. *Гены и клетки.* 2013; 8 (3): 78–85.
  35. Sándor G. K., Tuovinen V. J., Wolff J., Patrikoski M., Jokinen J., Nieminen E., Mannerström B., Lappalainen O., Seppänen R., Miettinen S. Adipose Stem Cell Tissue-Engineered Construct Used to Treat Large Anterior Mandibular Defect: A Case Report and Review of the Clinical Application of Good Manufacturing Practice-Level Adipose Stem Cells for Bone Regeneration. *Oral and Maxillofacial Surgery.* 2013; 71 (5): 938–950.
  36. Журавлева М. Н., Закирова Е. Ю., Масгутов Р. Ф., Валиуллин В. В., Деев П. В., Ризванов А. А. Влияние рекомбинантных плазмидных конструкций, кодирующих комбинации генов VEGF и BMP2 собаки и лошади, на дифференцировку мезенхимальных стромальных клеток *in vitro*. *Гены и клетки.* 2015; 10 (3): 42–49.
  37. Чеканов А. В., Фадеева И. С., Акатов В. С., Соловьева М. Е. Количественный эффект повышения остеоиндуктивности материала за счет включения в него рекомбинантного морфогенетического белка кости rhBMP-2. *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия.* 2012; 7 (2): 75–81.
  38. Nikolaou V. S., Tsiroidis E. Pathways and signalling molecules. *Current Orthopaedic* 2007; 21: 249–57.
  39. Reddi A. H. Bone Morphogenetic Proteins: from basic science to clinical applications. *J. Bone Joint Surg. Am.* 2001; 83: 1–6.
  40. Grayson W. L., Fröhlich M., Yeager K., Bhumiratana S., Chan M. E., Cannizzaro C., Wan L. Q., Liu X. S., Guo X. E., Vunjak-Novakovic G. Engineering anatomically shaped human bone grafts. *PNAS.* 2010; 107 (8): 3299–3304.
  41. Shim J. H., Yoon M. C., Jeong C. M., Jang J., Jeong S. I., Cho D. W., Huh J. B. Efficacy of rhBMP-2 loaded PCL/PLGA/β-TCP guided bone regeneration membrane fabricated by 3D printing technology for reconstruction of calvaria defects in rabbit. *Biomedical Materials.* 2014; 9 (6): 1–9.

## REFERENCES

- Konovalov A. N., Likhberman L. B., Potapov A. A. *Klinicheskoe rukovodstvo po cherepno-mozgovoy travme*. M.: Antidor; 2001. 656 p. (in Russian).
- Oganesyan A. K., Mkrtchyan V. G. *Preimushchestva primeneniya demineralizovannykh ksenogennykh kostnykh*. *Nauchno-Prakticheskiiy Meditsinskiy Zhurnal «Meditsinskiy vestnik Erebuni»*. 2004; 3 (19): 48–54. (in Russian).
- Kulkarni S., Kamath S., Nayak R., Kumar S., Desai A., Krishnan G., Ganeshkar S., Thakur S. Rehabilitation of a patient with gunshot injury through the iliac graft and implant-retained restorations with a 3-year follow-up: a brief clinical study. *J Craniofac Surg*. 2014; 25 (2): 207–10.
- Henkel J., Woodruff M. A., Epari D. R., Steck R., Glatt V., Dickinson I. C., Choong P. F. M., Schuetz M. A., Huttmacher D. W. Bone Regeneration Based on Tissue Engineering Conceptions A 21st Century Perspective. *Bone Res*. 2013 Sep; 1 (3): 216–248.
- Deev R. V., Isaev A. A., Kochish A. Yu. *Kletochnye tekhnologii i v travmatologii i ortopedii: puti razvitiya*. *Kletochnaya transplantologiya i tkanevaya inzheneriya*. 2007; 2 (4): 18–30. (in Russian).
- Lekishvili M. V., Sklyanchuk E. D., Akatov V. S., Ochurenko A. A., Gur'ev V. V., Raginov I. S., Bugrov S. N., Ryabov A. Yu., Fadeeva I. S., Yurasova Yu. B., Chekanov A. S. *Kostnoplachestskie osteoinduktivnye materialy v travmatologii i ortopedii*. *Geniy ortopedii*. 2015; 4: 61–67. (in Russian).
- Shishatskaya E. I., Nikolaeva E. D., Shumilova A. A., Shabanov A. V., Volova T. G. *Kul'tivirovanie mul'tipotentnykh mezenkhimnykh stromal'nykh kletok kostnogo mozga na nositelyakh iz rezorbiruемого bioplastotana*. *Kletochnaya transplantologiya i tkanevaya inzheneriya*. 2013; 8 (1): 57–65. (in Russian).
- Oryan A., Alidadi S., Moshiri A., Maffulli N. Bone regenerative medicine: classic options, novel strategies, and future directions. *Journal of Orthopaedic Surgery and Research*. 2014; 9: 1–27.
- Volova T. G., Shishatskaya E. I. *Biorazrushaemye polimery: sintez, svoystva, primenenie*. *Krasnoyarskiy pisatel'*; 2011: 24–27 (in Russian).
- Deev R. V., Isaev A. A., Kochish A. Yu. *Kletochnye tekhnologii i v travmatologii i ortopedii: puti razvitiya*. *Kletochnaya transplantologiya i tkanevaya inzheneriya*. 2007; 2 (4): 18–30. (in Russian).
- Shishatskaya E. I., Nikolaeva E. D., Goreva A. V. i dr. *Issledovanie plenochnykh matriksov iz rezorbiruemykh poligidroksialkanoatov razlichnogo khimicheskogo sostava in vivo: reaktsiya tkaney i kinetika biorazrusheniya*. *Kletochnaya transplantologiya i tkanevaya inzheneriya*. 2012; 7 (1): 73–80. (in Russian).
- Ezhov M. Yu., Ezhov I. Yu., Kashko A. K., Kayumov A. Yu., Zykin A. A., Gerasimov S. A. Unsolved questions about the regeneration of cartilage and bone. *Advances in current natural sciences*. 2015; 5: 126–131.
- Makushin V. D., Stupina T. A. *K voprosu ob aktivizatsii protsessov, reguliruyushchikh vosstanovlenie struktury sustavnogo khryashcha (obzor literatury i sobstvennyye dannye)*. *Geniy Ortopedii*. 2014; 1: 82–88. (in Russian).
- Bose S., Roy M., Bandyopadhyay A. Recent advances in bone tissue engineering scaffolds. *Trends Biotechnol*. 2012; 30 (10): 546–554.
- Kravchenko S. V., Zaporoschenko A. Yu., Savitskaya I. M. Comparative evaluation of the biological properties of bone bioimplants *toplast®* and bioactive ceramic material «Syntekost» when implanted in the middle ear in the experiment. *Morphologia*. 2014; 8 (3): 35–41.
- Alekseeva I. S., Volkov A. V., Kulakov A. A., Gol'dsheyn D. V. *Kliniko-ekspiremental'noye obosnovaniye ispol'zovaniya kombinirovannogo kletochnogo transplantata na osnove mul'tipotentnykh mezenkhimal'nykh stromal'nykh kletok zhirovoy tkani u patsiyentov s vyrazhennym defitsitom kostnoy tkani*. *Kletochnaya transplantologiya i tkanevaya inzheneriya*. 2012; 7 (1): 97–105. (in Russian).
- Jin H. J., Bae Y. K., Kim M., Kwon S. J., Jeon H. B., Choi S. J., Kim S. W., Yang Y. S., Oh W., Chang J. W. Comparative Analysis of Human Mesenchymal Stem Cells from Bone Marrow, Adipose Tissue, and Umbilical Cord Blood as Sources of Cell Therapy. *Int. J. Mol. Sci*. 2013; 14 (9): 17986–18001.
- Lv F.-J., Tuan R. S., Cheung K. M., Leung V. L. Concise Review: The Surface Markers and Identity of Human Mesenchymal Stem Cells. *Stem cells*. 2014; 32 (6): 1408–1419.
- Marolt D., Knezevic M., Novakovic G. V. Bone tissue engineering with human stem cells. *Stem Cell Research & Therapy*. 2010; 1:10.
- Sarraf C. E., Otto W. R., Eastwood M. *In vitro mesenchymal stem cell differentiation after mechanical stimulation*. *Cell Prolif*. 2011; 44 (1): 99–108.
- Ardeshirylajimi A., Soleimani M., Hosseinkhani S., Parivar K., Yaghmaei P., A Comparative Study of Osteogenic Differentiation Human Induced Pluripotent Stem Cells and Adipose Tissue Derived Mesenchymal Stem Cells. *Cell Journal*. 2014; 16 (3): 235–244.
- Belokrylov N. M., Denisov A. S., Belokrylov A. N., Sotin A. V. *Osnovnyye sposoby i materialy dlya zameshcheniya defektov kosti posle udaleniya ochaga porazheniya pri opukholevykh i opukholepodobnykh zabolevaniyakh u detey*. *Permskiy meditsinskiy zhurnal*. 2014; 31 (5): 81–91. (in Russian).
- Kutyayev D. I., Rodomanova L. A. *Sovremennyye printsipy i tendentsii ispol'zovaniya osevykh krovosnabzhaemykh loskutov v rekonstruktivnoy khirurgii konechnostey*. *Travmatologiya i ortopediya Rossii*. 2015; (1):106–115. (in Russian).
- Novochadov V. V. *Problema upravleniya kletochnym zaseleniem i remodelirovaniem tkaneinzhenernykh matrits dlya vosstanovleniya sustavnogo khryashcha (obzor literatury)*. *Vestnik Volgogradskogo gosudarstvennogo universiteta*. 2013; 1 (5): 19–29. (in Russian).
- Kanczler J. M., Oreffo R. O. C. Osteogenesis and angiogenesis: the potential for engineering bone. *European Cells and Materials*. 2008; 15: 100–114.
- Korovin A. E., Nagibovich O. A., Peleshok S. A., Kopylenkova T. I., Shilin V. P., Ol'khovik A. Yu., Shevchenko V. A. *3D-modelirovanie i bioprototipirovanie v voennoy meditsine*. *Klinicheskaya patofiziologiya*. 2015; 3: 17–23. (in Russian).
- Bukharova T. B., Antonov E. N., Popov V. K. *Biosovmestimost' tkaneinzhenernykh konstruksiy na osnove poristyykh polilaktidnykh nositeley, poluchennykh metodom selektivnogo lazernogo spekaniya, i mul'tipotentnykh stromal'nykh kletok kostnogo mozga*. *Kletochnye tekhnologii v biologii i meditsine*. 2010; 1: 40–6. (in Russian).
- Melikhova B. C., Saburina I. N., Orlov A. A. *Modelirovanie funktsional'nogo osteogeneza s ispol'zovaniem biodegradiruемого matrik-*

- sa i autogennykh stromal'nykh kletok podkozhnoy zhirovoy tkani. *Kletochnaya transplantologiya i tkanevaya inzheneriya*. 2009; 4 (1): 59–68. (in Russian).
29. Yang Q., Peng J., Lu S.B., Guo Q.Y., Zhao B., Zhang L., Wang A.Y., Xu W.J. Evaluation of an extracellular matrix-derived acellular biphasic scaffold/cell construct in the repair of a large articular high-load-bearing osteochondral defect in a canine model. *Chin Med J*. 2011; 124 (23): 3930–3938.
  30. Sevost'yanova V.V., Elgudin Y.L., Wnek G.E. Svoystva tkaneinzhenernykh matrits iz polikaprolaktona, impregnirovannykh rostovymi faktorami VEGF i bFGF. *Kletochnaya transplantologiya i tkanevaya inzheneriya*. 2012; 7 (4): 62–7. (in Russian).
  31. Cheng C.W., Solorio L.D., Alsberg E. Decellularized Tissue and Cell-Derived Extracellular Matrices as Scaffolds for Orthopaedic Tissue Engineering. *Biotechnol Adv*. 2014; 32 (2): 462–484.
  32. Amini A.R., Laurencin C.T., Nukavarapu S.P. Differential analysis of peripheral blood- and bone marrow-derived endothelial progenitor cells for enhanced vascularization in bone tissue engineering. *Journal of Orthopaedic Research*. 2012; 30 (9): 1507–1515.
  33. Mercado-Pagán Á.E., Stahl A.M., Shanjani Y., Yang Y. Vascularization in Bone Tissue Engineering Constructs. *Annals of Biomedical Engineering*. 2015; 43 (3): 718–729.
  34. Deev R.V., Drobyshev A.Yu., Bozo I.Ya., Galetskiy D.V., Korolev V.O., Eremin I.I., Filonenko E.S., Kiselev S.L., Isaev A.A. Sozdanie i otsenka biologicheskogo deystviya gen-aktivirovannogo osteoplasticheskogo materiala, nesushchego gen VEGF cheloveka. *Geny i kletki*. 2013; 8 (3): 78–85. (in Russian).
  35. Sándor G.K., Tuovinen V.J., Wolff J., Patrikoski M., Jokinen J., Nieminen E., Mannerström B., Lappalainen O., Seppänen R., Miettinen S. Adipose Stem Cell Tissue–Engineered Construct Used to Treat Large Anterior Mandibular Defect: A Case Report and Review of the Clinical Application of Good Manufacturing Practice–Level Adipose Stem Cells for Bone Regeneration. *Oral and Maxillofacial Surgery*. 2013; 71 (5): 938–950.
  36. Zhuravleva M.N., Zakirova E.Yu., Masgutov R.F., Valiullin V.V., Deev R.V., Rizvanov A.A. Vliyanie rekombinantnykh plazmidnykh konstruktsiy, kodiruyushchikh kombinatsii genov VEGF i BMP2 sobaki i loshadi, na differentsirovku mezenkhimal'nykh stromal'nykh kletok in vitro. *Geny i kletki*. 2015; 10 (3): 42–49. (in Russian).
  37. Chekanov A.V., Fadeyeva I.S., Akatov V.S., Solov'yeva M.Ye. Kolichestvennyy effekt povysheniya osteoinduktivnosti materiala za schet vklucheniya v nego rekombinantnogo morfogeneticheskogo belka kosti rhVMR-2. *Kletochnaya transplantologiya i tkanevaya inzheneriya*. 2012; 7 (2): 75–81. (in Russian).
  38. Nikolaou V.S., Tsiridis E. Pathways and signalling molecules. *Current Orthopaedic* 2007; 21: 249–257.
  39. Reddi A.H. Bone Morphogenetic Proteins: from basic science to clinical applications. *J. Bone Joint Surg. Am*. 2001; 83: 1–6.
  40. Grayson W.L., Fröhlich M., Yeager K., Bhumiratana S., Chan M.E., Cannizzaro C., Wan L.Q., Liu X.S., Guo X.E., Vunjak-Novakovic G. Engineering anatomically shaped human bone grafts. *PNAS*. 2010; 107 (8): 3299–3304.
  41. Shim J.H., Yoon M.C., Jeong C.M., Jang J., Jeong S.I., Cho D.W., Huh J.B. Efficacy of rhBMP-2 loaded PCL/PLGA/β-TCP guided bone regeneration membrane fabricated by 3D printing technology for reconstruction of calvaria defects in rabbit. *Biomedical Materials*. 2014; 9 (6): 1–9.