

БИОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ БИОДЕГРАДИРУЕМОГО МАТЕРИАЛА НА ОСНОВЕ ФИБРОИНА ШЕЛКА ДЛЯ ЗАМЕЩЕНИЯ КОСТНОЙ ТКАНИ

© Алексей Александрович Климентьев, Виктория Андреевна Набока

Санкт-Петербургский государственный технологический институт (технический университет).
190013, Санкт-Петербург, Московский пр., д. 26

Контактная информация: Алексей Александрович Климентьев — студент 3 курса бакалавриата факультета химической и биотехнологии. E-mail: klimentino96@mail.ru

Поступила: 04.06.2021

Одобрена: 26.08.2021

Принята к печати: 28.09.2021

РЕЗЮМЕ: Биологические свойства биodeградируемого материала для замещения костной ткани, полученного из трех основных компонентов: фиброина шелка *Bombyx mori*, фосфатов кальция и казеина оценивались *ex vivo*, испытания состояли из исследования 24-часовой цитотоксичности с использованием культуры мононуклеарных лейкоцитов здоровой собаки и с использованием лейкозных Т-лимфобластоподобных клеток человека. В культуре мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток (ММСК) жировой ткани собаки определяли остеогенный потенциал образцов, измеряя секрецию остеокальцина, определяя минерализацию межклеточного матрикса (окраской ализарином). Анализ полученных результатов исследования показал более выраженные *ex vivo* процессы минерализации межклеточного вещества при наибольшем процентном содержании фосфатов кальция в материале. При 24-часовом контакте *in vitro* с образцами материала трех разных составов на 5–7% возрастало число погибших (преимущественно путем некроза) лейкозных Т-лимфобластоподобных клеток при наибольшем содержании фосфатов кальция, в то время как на содержании мононуклеарных лейкоцитов здоровой собаки это не отражалось.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: фосфат кальция; костнозамещающий материал; регенерация костной ткани; цитотоксичность.

BIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF THE BIODEGRADABLE MATERIAL FOR BONE REPAIR

© Alexey A. Klimentyev, Victoria A. Naboka

Saint-Petersburg State Institute of Technology. 190013, Saint-Petersburg, Moskovsky pr., 26

Contact information: Alexey A. Klimentyev — 3rd year undergraduate student of the Faculty of Chemical and Biotechnology. E-mail: klimentino96@mail.ru

Received: 04.06.2021

Revised: 26.08.2021

Accepted: 28.09.2021

ABSTRACT: The biological properties of the biodegradable bone replacement material obtained from three main components: *Bombyx mori* silk fibroin, calcium phosphates and casein were evaluated *ex vivo*, the tests consisted of a 24-hour cytotoxicity study using a culture of mononuclear leukocytes from a healthy dog and using human leukemic T-lymphoblast-like cells. In the culture of multipotent mesenchymal stromal cells (MMSCs) of dog adipose tissue, the osteogenic potential of the samples was determined by measuring the secretion of osteocalcin, determining the mineralization of the intercellular matrix (alizarin staining). Analysis of the results of the study showed more pronounced *ex vivo* processes of mineralization of the intercellular substance with the highest percentage of calcium phosphates in the material. With 24-hour *in vitro* contact with samples of material of three different compositions, the death rate (mainly by necrosis) of leukemia T-lymphoblast-like

cells increased by 5–7%, with the highest calcium phosphate content, while the content of mononuclear leukocytes of a healthy dog was not reflected.

KEY WORDS: calcium phosphate; bone replacement material; bone tissue regeneration; cytotoxicity.

ВВЕДЕНИЕ

С каждым годом в клинической практике возрастает количество операций по устранению дефектов костной ткани с применением искусственных биоматериалов. Огромное значение имеет в том числе помощь пациентам с патологическими переломами, являющимися серьезным осложнением опухолевого поражения. Проблема оказания помощи таким пациентам состоит в том, что при выборе тактики лечения необходимо учитывать множество факторов. Хотя кость обладает большой способностью к самовосстановлению, некоторые дефекты или переломы слишком велики для восстановления. Операцией выбора является остеопластика с применением материалов для замещения костной ткани. В России доля костнопластических операций составляет менее 10% из-за недостатка новейших технологий производства биоматериалов [7, 8, 10]. Именно поэтому разработка и введение в производство технологии получения новых костнозамещающих материалов является актуальной задачей [2, 7, 10, 15].

В настоящее время в ортопедии используются костно-пластические [13, 22] и биокомпозиционные материалы [1, 4, 16, 25], способные изменять метаболизм костной ткани. Для наиболее быстрого и неосложненного сращения поврежденных костей материал должен полностью заполнять объем дефекта, обладать хорошей остеоиндуктивностью для формирования кости. Он должен также сохранять функциональные качества во время сращения костной ткани [7, 15, 20], обладать достаточно устойчивыми механическими свойствами. И, кроме того, быть биосовместимым, то есть быть биodeградируемым, и не вызывать иммунных реакций [3, 24].

Одним из эффективных направлений является создание композитных материалов. С одной стороны, это может увеличить прочность искусственного материала, с другой стороны, в случае использования полимеров придать изделию упруго-эластические свойства, характерные для живой материи. В качестве эластомеров могут применяться различные классы полимерных материалов, в биологии и медицине наиболее привлекательной является группа

биodeградируемых (co)полимеров, компоненты которых являются природными веществами в молекулярно-наноразмерном диапазоне (молочная, гликолевая, оксимасляная кислоты и т.д.). Они снимают проблемы интоксикации организма-реципиента при разрушении имплантируемого полимера, но обладают недостаточными прочностными свойствами. Перспективными материалами считаются полимеры (и их композиты), особенно класс биodeградируемых и/или биорезорбируемых полимеров, синтезированных на основе природных малотоксичных мономеров (молочная, валериановая, оксимасляная кислоты и т.п.) [4, 10, 23, 25].

Биodeградируемая полимолочная кислота — одно из средств выбора в ряду биополимеров для трехмерной печати заменителей (протезов) биологических тканей. Однако для костной ткани требуются композиты (прежде всего, с фосфатами кальция), что вносит научно-технические вопросы, требующие своего решения в каждом конкретном случае. В первую очередь, это вопросы биомеханического соответствия композитных имплантатов высоким нагрузкам в костной ткани [6, 17]. Известно, что соответствие прочностных параметров изделий для биологии и медицины предполагаемому направлению их использования является одним из главных условий, наряду с токсикологическими испытаниями, необходимых для практического использования имплантатов. В настоящее время установлено отсутствие токсичности у полигидроксibuтирата (ПГБ), полигидроксивалерата (ПГВ) и их сополимеров (ПГБ/ПГВ), относящихся к группе полигидроксикарбоанатов (ПГА), у полимолочной кислоты выявлена возможность создания композитных материалов с гидроксипатитом, обладающих способностью индуцировать рост костной ткани *in vivo* [10, 12, 23, 26].

Биорезорбируемые полимеры и фосфаты кальция теоретически должны контролируемо замещаться костной тканью, что приведет к заращанию дефекта кости. Сращание костной ткани со структурой трехмерного имплантата значительно повышает механическую прочность биокомпозита «имплантат–кость». Проблема состоит в том, что при растворении полимеров изменяется pH тканевой жидкости

(как правило, снижается). Кроме того, частицы полимеров поглощают гигантские клетки инородных тел. В совокупности (био)химический и клеточный ответы на имплантат приводят к развитию асептического воспаления и образованию толстой капсулы из соединительной ткани между имплантатом и костью. Возникает микроподвижность имплантата, присоединение инфекционных агентов, инфекционное воспаление и неизбежное его удаление, которое в целом обозначают как «неуспех имплантата» [10, 20, 22, 26].

Одним из универсальных материалов, используемых в качестве каркасного компонента, обладающего устойчивыми механическими свойствами, является фиброин шелка из коконов тутового шелкопряда *Bombyx mori*. К таким свойствам, кроме его механических показателей, можно отнести возможность контроля скорости биodeградации за счет регулирования конформационного состояния белка [1, 11].

Шелковые поверхности предлагают активные центры, которые способствуют минерализации и/или связыванию биоактивных молекул, которые способствуют регенерации костей. Здесь подчеркивается современное состояние шелковых биоматериалов в инженерии костной ткани, охватывающее их широкое применение в качестве матриц клеточного каркаса для микронаносителей для доставки факторов роста костей и терапевтических молекул к пораженным или поврежденным участкам для облегчения регенерации кости. В обзоре обосновывается, что выбор протеина шелка в качестве биоматериала обусловлен не только его природной полимерной природой, механической прочностью, гибкостью и широким диапазоном совместимости клеток, но и его способностью сдерживать рост гидроксиапатита (ГА), главного неорганического компонента костного минерального матрикса, в результате чего улучшается остеоинтеграция [1, 2, 14].

Применение в ортопедии для замещения костной ткани материалов с гидроксиапатитом известно уже давно. Это обусловлено биологической совместимостью и активностью ГА к остеоинтеграции, так как ГА является аналогом минеральной составляющей костной ткани. Большой интерес к гидроксиапатиту вызван также его сходством по физико-химическим свойствам с минеральной составляющей костной ткани и высокой биологической активностью [5, 7, 17].

В настоящее время на российском рынке имеется ряд имплантатов как отечественного, так и импортного производства, для восстанов-

ления дефектов костной ткани, образовавшихся в результате травмы или операции. Эти имплантаты изготавливаются преимущественно из кальцийфосфатной керамики и стеклокерамических композитов. В качестве типичного примера материала и цен можно привести блоки CROSS.BONE (Biotech International, Франция) размером 05×03×10 см до 15×30×35 см ценой от 190 до 1140 евро. Основа этих материалов — гидроксиапатит и β-трикальций фосфат.

Гранулированный материал BoneMedic-Dm (ЗАО «Арника», Россия) состоит из кораллового кремнийсодержащего гидроксиапатита и β-трикальций фосфата стоимостью 2 490 руб. за 0,25 г (цены 2011 г). В то же время в литературе сообщается о разработках заменителей костной ткани на основе полимеров и полимерно-керамических композитов. Однако эти материалы пока не вышли из стадии экспериментального использования и не поступили в широкую продажу.

В настоящее время процент осложнений и неудовлетворительных результатов лечения имеющимися у хирургов конструкциями остается на постоянно высоком уровне и составляет в России по разным данным 2–37% (в муниципальных лечебных заведениях РФ — до 50%, средневропейский уровень — не более 4%) вследствие недостаточной биосовместимости и прочности изделий, прежде всего на границе раздела «имплантат/биологическая ткань» [7, 12, 14, 16].

Несмотря на важность и необходимость разработок новых материалов на основе гидроксиапатита и фосфата кальция для улучшения ортопедических имплантатов, эти работы в основном остаются на исследовательском уровне. Кроме того, все еще актуальны исследования биodeградируемых полимеров, связанных с их деградацией, а именно скоростью разрушения материала и токсичностью побочных продуктов. Стоит также отметить, что перспективы использования материалов для замещения костной ткани в медицине определяются их свойствами.

Разработанный нами материал для замещения костной ткани был изготовлен из трех основных компонентов. Значительную долю в составе материала составил гидроксиапатит, который обладает сходством по физико-химическим свойствам с минеральной составляющей костной ткани человека и высокой биологической активностью, а также фиброина, обладающего уникальными химическими, биологическими и механическими свойствами [1, 2, 8].

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценить *ex vivo* биологические свойства биodeградируемого материала на основе фиброина шелка для замещения костной ткани как потенциального материала для биоинженерии костной ткани.

ЗАДАЧИ ИССЛЕДОВАНИЯ

1. Определить цитотоксичность образцов материала на жизнеспособность мононуклеарных лейкоцитов периферической крови здоровой собаки.

2. Оценить цитотоксичность в отношении лейкозных Т-лимфобластоподобных клеток человека линии T-cell leukemia 1301.

3. Изучить влияние образцов на остеогенный потенциал стромальных стволовых клеток, используя культуру мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток (ММСК), выделенных из жировой ткани собаки методом липоаспирации.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В экспериментах *in vitro* применяли 51 экспериментальный образец из разработанного нами биodeградируемого материала для замещения костной ткани, полученного на основе β -формы фиброина, биологического гидроксиапатита, с добавлением фосфата магния, гидрофосфата кальция и гидроокиси кальция, при соотношении компонентов, % мас.: гидроксиапатит — 52–54, фосфат магния — 32–34, гидрофосфат кальция — 10–12, гидроокись кальция — 2–5 и связующего компонента — казеина в аммиачном растворе. В ходе исследования были изучены свойства материала в двух вариантах соотношения сухой массы к раствору казеина 1) 1:1; 2) 1:1,5.

Для тестирования цитотоксичности *in vitro* изучали влияние образцов материала на жизнеспособность мононуклеарных лейкоцитов периферической крови здоровой собаки, а также их цитотоксичность в отношении лейкозных Т-лимфобластоподобных клеток человека линии T-cell leukemia 1301 (Sigma-Aldrich, США) (далее Т-клеток) [4, 5].

В качестве здоровых клеток-мишеней использовали фракцию мононуклеарных лейкоцитов крови из периферической крови собаки. Работа с животными была выполнена в соответствии с протоколами, утвержденными Комитетом по уходу и использованию животных, и согласно декларации Всемирной медицин-

ской организации Хельсинки (2000). Взвесь мононуклеарных лейкоцитов культивировали в концентрации 3×10^6 нуклеаров/мл с культуральной средой следующего состава: 100% среды DMEM/F12 (1:1), 10 мМ HEPES буфера и 280 мг/л L-глутамина [5].

Для изучения цитотоксичности по отношению к опухолевым клеткам Т-клетки в концентрации 1×10^4 кл/мл культивировали в течение 24 часов при температуре 37 °С и 5% CO₂ с питательной средой в составе 90% RPMI-1640, 10% инактивированной сыворотки крови эмбрионов коров и 0,3 мг/л L-глутамина. В качестве контроля использовали клеточную взвесь без экспериментальных образцов. Затем клеточную взвесь центрифугировали и, заменив надосадок 1 мл культуральной среды, ресуспендировали. Согласно рекомендациям ISO 10993-5, жизнеспособность мононуклеаров крови оценивали по их способности не окрашиваться 0,4% раствором трипанового синего, подсчет проводили в камере Горяева. Процентное соотношение апоптоз/некроз определяли методом проточной цитофлуориметрии.

Для изучения влияния образцов на остеогенный потенциал стромальных стволовых клеток использовали культуру ММСК, выделенных из жировой ткани собаки методом липоаспирации [5, 6]. ММСК помещали в культуральные планшеты (в концентрации 3×10^4 клеток/лунку) в 1 мл среды (90% среды DMEM/F12 (1:1), 10% сыворотки крови плодов коровы, 50 мг/л гентамицина, 280 мг/л L-глутамина). В часть лунок помещали образцы исследуемого материала, затем добавляли культуральную среду. Количественное определение остеокальцина в супернатантах на 14, 17, 21-е сутки культивирования осуществляли по стандартной схеме проведения иммуноферментного анализа с помощью тест-набора N-MID Остеокальцин, (Immunodiagnostic Systems LTD., United Kingdom). После 21 суток клетки, прилипшие к пластику в лунках, окрашивали 2% раствором красителя ализарин. Участки розового окрашивания, свидетельствующие об осаждении кальция (процессе минерализации), документировали с помощью программы ZEN 2012 на микроскопе ZEISS Axio Observer A1.

Статистическая обработка данных осуществлялась с помощью программы «STATISTICA for Windows 10.0». Для оценки статистической значимости различий применяли параметрический t-критерий Стьюдента (Pt) или непараметрический критерий Манна-Уитни (P_U). Различия считались статистически значимыми при уровне значимости $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Исследования биосовместимости *in vitro* новых материалов для клинической практики проводили в соответствии с международными и российскими стандартами. Потенциальную токсичность проверяли методом, рекомендованным ISO 10993-5, ГОСТ Р ИСО 10993-5, основанном на определении способности клеток противостоять проницаемости мембран для витальных красителей (жизнеспособности) после прямого контакта с изделием и/или воздействия его вытяжек. Наиболее удобными для изучения цитотоксичности являются клетки крови и иммунной системы, реагирующие на любое экстремальное воздействие [6]. И поэтому мы изучали мононуклеарные лейкоциты крови, также принимающие активное участие в реакциях приживления/отторжения имплантатов [6, 9]. Для тестирования цитотоксичности *in vitro* использовали 24 образца материала и изучали:

- влияние образцов материала на жизнеспособность мононуклеарных лейкоцитов периферической крови здоровой собаки (12 образцов);

• цитотоксичность материала в отношении лейкозных Т-лимфобластоподобных клеток человека линии T-cell leukemia 1301 (Sigma-Aldrich, США) (далее Т-клеток) (12 образцов).

Согласно полученным результатам (табл. 1), процент выживших мононуклеарных лейкоцитов при добавлении образцов к клеточной суспензии оказался равным 100% для варианта 1 материала и 97% для варианта 2 материала и статистически значимо не отличался от показателя в контрольной культуре клеток.

Изучаемый нами материал в двух вариантах исполнения вызывал статистически значимое снижение (уровень значимости $p < 0,05$, табл. 2) жизнеспособности опухолевых клеток крови (лейкозных Т-лимфобластоподобных клеток человека линии T-cell leukemia 1301) в сравнении с клеточным контролем без образцов. Гибель лейкозных Т-лимфобластоподобных клеток человека линии T-cell leukemia 1301 усиливалась за счет процессов апоптоза,

Таблица 1

Цитотоксичность (*in vitro*) тестируемых образцов после 24 часов сокультивирования с мононуклеарными лейкоцитами крови здоровой собаки

№ п/п	Группа наблюдений	Жизнеспособные мононуклеарные лейкоциты, %
1	Контроль токсичности (культура клеток без образцов), n=4	100 (100–100)*
2	Культура клеток в присутствии образцов материала (вариант 1), n=4	100 (92–100)*
3	Культура клеток в присутствии образцов материала (вариант 2), n=4	97 (81–100)*

Примечание: n — число исследованных проб; * — диапазон значений.

Таблица 2

Цитотоксичность (*in vitro*) тестируемых образцов после 24 часов сокультивирования с лейкозными Т-лимфобластоподобными клетками человека линии T-cell leukemia 1301

№ п/п	Группа наблюдений	T-cell leukemia		
		жизнеспособные клетки, %	число погибших клеток, %	
			апоптоз	некроз
1	Контроль токсичности (культура клеток без образцов), n=4	82,3 (79,7–90,3)**	5,1 (4,5–6,0)**	13,0 (12,2–14,5)**
2	Культура клеток в присутствии образцов материала (вариант 1), n=4	69,8* (63,4–75,6)** $p < 0,002$	6,7* (5,1–7,8)** $p < 0,009$	23,9* (17–25,2)** $p < 0,004$
3	Культура клеток в присутствии образцов материала (вариант 2), n=4	75,4* (70,2–81,2)** $p < 0,01$	5,8 (4,6–6,9)**	18,9* (16,2–20,5)** $p < 0,002$

Примечание: n — число исследованных проб; * — статистически значимые различия с контролем, согласно U-критерию Манна–Уитни; ** — диапазон значений.

и более выражено — за счет некроза. Причем материал, изготовленный в соотношении 1:1 (сухая масса:раствор казеина), показал более выраженное снижение жизнеспособности лейкозных Т-лимфобластоподобных клеток человека линии T-cell leukemia 1301. Полученные нами результаты согласуются с некоторыми литературными ссылками о цитотоксичности аморфных (растворимых) фосфатов кальция [7].

Способность материалов для замещения костной ткани воспроизводить клеточное и тканевое микроокружение является одной из важных характеристик таких материалов в биоинженерии биологических тканей. В качестве молекулярного маркера остеогенной дифференцировки ММСК принято использовать биохимические маркеры, поэтому мы определяли остеокальцин — межклеточный белок, являющийся растворимым компонентом костного матрикса и выделяемый остеобластами [5, 18, 20].

Согласно данным таблицы 3, культивирование ММСК жировой ткани собаки в стандартной культуральной среде (без остеогенных добавок; контроль) в присутствии образцов материала для замещения костной ткани не сопровождалось значительным увеличением уровня остеокальцина в изученные сроки эксперимента.

Таким образом, ММСК жировой ткани, взаимодействующие с исследуемыми образцами материала, не отличались по уровню секреции остеокальцина в сравнении с контролем.

Статистически значимое различие в уровне секреции остеокальцина на 14-е сутки были выявлены только в культуре клеток с материалом, изготовленным в соотношении 1:1 (фиброин + кальцийфосфаты:раствор казеина), к концу периода наблюдений (21-е сутки) кон-

центрация остеокальцина не отличалась от таковой в других группах наблюдения (табл. 2).

Следовательно, исследуемые образцы практически не влияют на способность ММСК секретировать остеокальцин в стандартной культуральной среде без остеогенных добавок.

При окраске клеток ализарином красным на 21-е сутки исследования были выявлены участки культуры клеток с интенсивным красным окрашиванием. Поскольку ализарин красный имеет сродство к солям кальция, он дает прочное окрашивание в участках минерализации, прежде всего за счет фосфатов кальция [5, 7] (рис. 1, б, в). В то же время, в группе контроля ММСК практически не окрашивались ализарином (рис. 1, а).

Таким образом, разработанный нами материал для замещения костной ткани продемонстрировал способность усиливать *in vitro* минерализацию межклеточного матрикса. Возможно, это связано с его остеогенной активностью в отношении стимулирования дифференцировки и созревания ММСК в костные клетки, что ранее уже было показано в работах исследователей [6, 18]. Остеогенная активность материала обусловлена наличием в его составе биологического гидроксиапатита, с добавлением фосфата магния, гидрофосфата кальция и гидроокиси кальция. Остеогенные свойства КФ материалов убедительно доказаны в работах многочисленных исследователей [9, 21]. Биodeградация кальцийфосфатов создает необходимую концентрацию ионов кальция и фосфора, являющихся промотерами для остеобластов. В результате происходит стимуляция процессов пролиферации и дифференцировки остеогенных прекурсоров с трансформацией их в специализированные клетки и образованием новой костной ткани. Этот механизм основан на феномене структурно-

Таблица 3

Концентрация остеокальцина (нг/мл) в межклеточной среде культуры мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток жировой ткани собаки (контроль роста) в различные сроки контакта с тестируемыми образцами, Ме (Q_1 – Q_3).

№ п/п	Группа наблюдений	Концентрация остеокальцина, нг/мл		
		14-е сутки	17-е сутки	21-е сутки
1	Контроль (культура клеток без образцов), n=9	0,91 (0,85–0,99)**	1,21 (0,98–1,32)**	1,33 (1,24–1,46)**
2	Культура клеток в присутствии образцов материала (вариант 1), n=9	1,29* (1,08–1,40)** p < 0,009	1,32 (1,19–1,49)**	1,39 (1,23–1,47)**
3	Культура клеток в присутствии образцов материала (вариант 2), n=9	1,14 (0,98–1,23)**	1,22 (1,14–1,31)**	1,30 (1,18–1,38)**

Примечание: * — статистически значимые различия с группами 1 и 2, согласно U-критерию Манна–Уитни; n — количество исследованных образцов (лунок в планшете) в каждой группе; ** — диапазон значений.

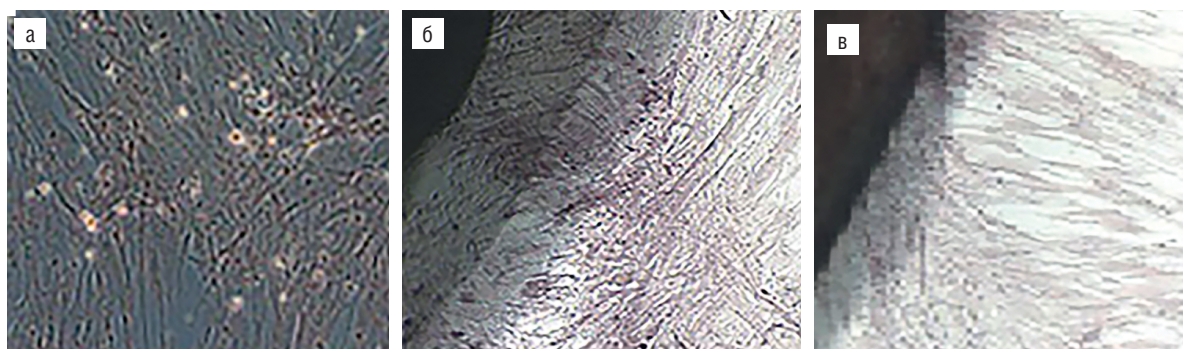


Рис. 1. 21-суточная культура ММСК жировой ткани собаки с участками минерализации, окрашенными ализарином красным: а — контроль; б — вариант 1; в — вариант 2

функционального соответствия неорганической/органической составляющей костной ткани [9]. Минерализация межклеточного матрикса является одной из основных функций остеобластов [7, 17].

Благодаря наличию в составе материала кальцийфосфатов он может выступать для ММСК в качестве источника кальция, фосфора и фосфатов кальция, которые, в свою очередь, вызывают активацию остеобластов, способствуют их пролиферации [3, 19]. Именно растворение фосфатов кальция является важным компонентом усиления их остеогенных свойств.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что разработанный нами материал для замещения костной ткани способствует *ex vivo* минерализации межклеточного матрикса в культуре ММСК жировой ткани. При 24-часовом *in vitro* контакте материал способствует гибели лейкозных Т-клеток линии T-cell leukemia 1301, при этом не оказывая влияния на жизнеспособность мононуклеарных лейкоцитов.

Разработанный нами материал, благодаря его способности снижать жизнеспособность опухолевых клеток, может иметь значение при выборе материалов для остеосинтеза переломов у больных, страдающих гемобластозами, так как главная стратегия (иммуно)биотерапии лейкемии связана с индукцией апоптоза лейкозных клеток [6].

БЛАГОДАРНОСТЬ

Авторы выражают благодарность Т.В. Дружининой — медицинскому советнику, кандидату медицинских наук — за организацию, по-

мощь в проведении экспериментов. Авторы выражают особую благодарность И.А. Хлусову — профессору кафедры морфологии и общей патологии СибГМУ, профессору кафедры экспериментальной физики НИ ТПУ, доктору медицинских наук, профессору — за ценные советы при планировании исследования и рекомендации по оформлению статьи.

Данная работа выполнена в рамках НИР на базе ООО «Биохит».

ЛИТЕРАТУРА

1. Агапова О.И., Агапов И.И. Биodeградируемые изделия на основе фиброина шелка для тканевой инженерии и регенеративной медицины. М.: Техносфера; 2018.
2. Агапова О.И., Дружинина Т.В., Трофимов К.В. и др. Биodeградируемые пористые матриксы для регенерации костной ткани. Перспективные материалы. 2015; 8: 17–25.
3. Бочкарев В.В., Виденин В.Н., Дружинина Т.В. и др. Биodeградируемый материал на основе гидроксиапатита для замещения костной ткани в эксперименте на животных. Актуальные вопросы ветеринарной биологии. 2016; 30(2): 54–60.
4. Волова Т.Г., Севастьянов В.И., Шишацкая Е.И. Полиоксиканоаты (ПОА) — биоразрушаемые полимеры для медицины. Новосибирск: Издательство СО РАН; 2003.
5. Дружинина Т.В., Бочкарев В.В., Виденин В.Н. и др. Замещение костной ткани у животных с использованием биodeградируемого материала на основе гидроксиапатита. Вопросы реконструктивной и пластической хирургии. 2015; 18(1): 32–8.
6. Дружинина Т.В., Талалаев С.Я., Закиров Н.П. и др. Клеточные реакции на трехмерные матриксы из полимолочной кислоты и гидроксиапатита, полученные методом 3D-печати. Бюллетень сибирской медицины. 2016; 15(5): 16–29.
7. Дружинина Т.В., Трофимов К.В., Найданов В.Ф. и др. Применение биodeградируемого материала для

- замещения костной ткани в травматологии. Бюллетень сибирской медицины. 2014; 13(5): 209–15.
8. Набока В.А., Климентьев А.А., Габидуллин Р.Ф. Биodeградируемый материал для замещения костной ткани. Медицина: теория и практика. 2019; 4(3): 209–15.
9. Попов В.П., Хлусова М.Ю., Зайцев К.В. и др. Значение фазового состава кальцийфосфатных покрытий для остеогенной дифференцировки стромальных стволовых клеток *in vivo*. Сибирский научный медицинский журнал. 2012; 32(6): 9–14.
10. Пташников Д.А., Усиков В.Д., Засульский В.Ю. Патологические переломы костей. Практическая онкология. 2006; 7(2): 117–25.
11. Сафонова Л.А., Боброва М.М., Агапова О.И. и др. Биологические свойства пленок из регенерированного фибрина шелка. Современные технологии в медицине. 2015; 7(3): 6–13.
12. Хлусов И.А., Зайцев К.В., Жукова О.Б. и др. Динамика *in vitro* деградации нетканых матриц из полимолочной кислоты в модельной биологической жидкости. Бюллетень сибирской медицины. 2013; 12(6): 73–81.
13. Bakhshandeh B., Zarrintaj P., Oftadeh M. O. et al. Tissue engineering: strategies, tissues, and biomaterials. Biotechnology and Genetic Engineering Reviews. 2017; 33(2): 144–72.
14. Bhattacharjee P., Kundu, B., Naskar D. et al. Silk scaffolds in bone tissue engineering: An overview. Acta Biomaterialia. 2017; 63: 1–17.
15. Breme H., Biehl V., Reger N., Gawalt E. A metallic biomaterials: introduction. Handbook of Biomaterial Properties. 2016; 151–8.
16. Guglielmotti M.B., Olmedo D.G., Cabrini R.L. Research on implants and osseointegration. Periodontology 2000. 2019; 79(1): 178–89.
17. Harun W.S.W., Asri R.I.M., Alias J. et al. A comprehensive review of hydroxyapatite-based coatings adhesion on metallic biomaterials. Ceramics International. 2017; 44(2): 1250–68.
18. Majidinia M., Sadeghpour A., Yousefi B. The roles of signaling pathways in bone repair and regeneration. Journal of cellular physiology. 2018; 233(4): 2937–48.
19. Kfoury Y., Scadden D.T. Mesenchymal cell contributions to the stem cell niche. Cell stem cell. 2015; 16(3): 239–53.
20. Oreffo R.O.C., Driessens F.C.M., Planell J.A., Triffitt J.T. Growth and differentiation of human bone marrow osteoprogenitors on novel calcium phosphate cements. Biomaterials. 1998; 19: 1845–54.
21. Owston H., Giannoudis P.V., Jones E. Do skeletal muscle MSCs in humans contribute to bone repair? A systematic review. Injury. 2016; 47: S3–S15.
22. Ratner B.D., Hoffman A.S., Schoen F.J., Lemons J.E. Biomaterials Science: an introduction to materials in medicine. Third ed. California. Elsevier; 2013.
23. Shahbazarab Z., Teimouri A., Chermahini A.N., Azadi M. Fabrication and characterization of nanobiocomposite scaffold of zein/chitosan/nanohydroxyapatite prepared by freeze-drying method for bone tissue engineering. International Journal of Biological Macromolecules. 2018; 108: 1017–27.
24. Shishatskaya E.I., Khlusov I.A., Volova T.G. A hybrid PHB-hydroxyapatite composite for biomedical application: production, *in vitro* and *in vivo* investigation. Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition. 2006; 17(5): 481–98.
25. Soundarya S.P., Menon A.H., Chandran S.V., Selvarumugan N. Bone tissue engineering: Scaffold preparation using chitosan and other biomaterials with different design and fabrication techniques. International Journal of Biological Macromolecules. 2018; 119: 1228–39.
26. Wubneh A., Tsekoura E.K., Ayranci C., Uludağ H. Current state of fabrication technologies and materials for bone tissue engineering. Acta Biomaterialia. 2018; 80: 1–30.

REFERENCES

1. Agapova O.I., Agapov I.I. Biodegradiруемые изделия на основе фибрина шелка для тканевой инженерии и регенеративной медицины. [Biodegradable silk fibroin-based products for tissue engineering and regenerative medicine]. Moskva: Tekhnosfera Publ.; 2018. (in Russian).
2. Agapova O.I., Druzhinina T.V., Trofimov K.V. i dr. Biodegradiруемые пористые матрицы для регенерации костной ткани. [Biodegradable porous matrices for bone tissue regeneration]. Perspektivnye materialy. 2015; 8: 17–25. (in Russian).
3. Bochkarev V.V., Videnin V.N., Druzhinina T.V. i dr. Biodegradiруемый материал на основе гидроксиапатита для замещения костной ткани в эксперименте на животных. [Hydroxyapatite-based biodegradable material for bone replacement in an animal experiment.]. Aktual'nye voprosy veterinarnoy biologii. 2016; 30(2): 54–60. (in Russian).
4. Volova T.G., Sevast'janov V.I., Shishackaja E.I. Polioksialkanoaty (POA) — biorazrushаемые полимеры для медицины. [Polyoxalkanoates (POA) — biodegradable polymers for medicine]. Novosibirsk: Izdatel'stvo SO RAN; 2003. (in Russian).
5. Druzhinina T.V., Bochkarev V.V., Videnin V.N. i dr. Zameshchenie kostnoy tkani u zhivotnykh s ispol'zovaniem biodegradiруемого материала на основе гидроксиапатита. [Bone replacement in animals using a biodegradable material based on hydroxyapatite]. Voprosy rekonstruktivnoy i plasticheskoy khirurgii. 2015; 18(1): 32–8. (in Russian).
6. Druzhinina T.V., Talalaev S.Ya., Zakirov N.P. i dr. Kletchnye reaktsii na trekhmernye матрицы из полимолочной кислоты и гидроксиапатита, полученные методом 3D-печати. [Cellular reactions to three-dimensional

- matrices of polylactic acid and hydroxyapatite obtained by 3D printing]. *Byulleten' sibirskoy meditsiny*. 2016; 15(5): 16–29. (in Russian).
7. Druzhinina T.V., Trofimov K.V., Naydanov V.F. i dr. *Primenenie biodegradirovannogo materiala dlya zameshcheniya kostnoy tkani v travmatologii*. [Application of biodegradable material for bone tissue replacement in traumatology]. *Byulleten' sibirskoy meditsiny*. 2014; 13(5): 209–15. (in Russian).
 8. Naboka V.A., Kliment'ev A.A., Gabidullin R.F. *Biodegradirovanny material dlya zameshcheniya kostnoy tkani*. [Biodegradable bone replacement material]. *Meditsina: teoriya i praktika*. 2019; 4(3): 209–15. (in Russian).
 9. Popov V.P., Khlusova M.Yu., Zaytsev K.V. i dr. *Znachenie fazovogo sostava kal'tsiyfosfatnykh pokrytiy dlya osteogennoy differentsirovki stromal'nykh stvolovykh kletok in vivo*. [Value of phase composition of calcium phosphate coatings for osteogenic differentiation of stromal stem cells in vivo] *Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal*. 2012; 32(6): 9–14. (in Russian).
 10. Ptashnikov D.A., Usikov V.D., Zasl'skiy V.Yu. *Patologicheskie perelomy kostey*. [Pathological bone fractures]. *Prakticheskaya onkologiya*. 2006; 7(2): 117–25. (in Russian).
 11. Safonova L.A., Bobrova M.M., Agapova O.I. i dr. *Biologicheskie svoystva plenok iz regenerirovannogo fibroina shelka*. [Biological properties of regenerated silk fibroin films]. *Sovremennyye tekhnologii v meditsine*. 2015; 7(3): 6–13. (in Russian).
 12. Khlusov I.A., Zaytsev K.V., Zhukova O.B. i dr. *Dinamika in vitro degradatsii netkannykh matriksov iz polimolochnoy kisloty v model'noy biologicheskoy zhidkosti*. [Dynamics of in vitro degradation of nonwoven matrices from polylactic acid in a model biological fluid]. *Bulletin of Siberian Medicine*. *Byulleten' sibirskoy meditsiny*. 2013; 12(6): 73–81. (in Russian).
 13. Bakhshandeh B., Zarrintaj P., Oftadeh M. O. et al. *Tissue engineering: strategies, tissues, and biomaterials*. *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews*. 2017; 33(2): 144–72.
 14. Bhattacharjee P., Kundu, B., Naskar D. et al. *Silk scaffolds in bone tissue engineering: An overview*. *Acta Biomaterialia*. 2017; 63: 1–17.
 15. Breme H., Biehl V., Reger N., Gawalt E. *A metallic biomaterials: introduction*. *Handbook of Biomaterial Properties*. 2016; 151–8.
 16. Guglielmotti M.B., Olmedo D.G., Cabrini R.L. *Research on implants and osseointegration*. *Periodontology* 2000. 2019; 79(1): 178–89.
 17. Harun W.S.W., Asri R.I.M., Alias J. et al. *A comprehensive review of hydroxyapatite-based coatings adhesion on metallic biomaterials*. *Ceramics International*. 2017; 44(2): 1250–68.
 18. Majidinia M., Sadeghpour A., Yousefi B. *The roles of signaling pathways in bone repair and regeneration*. *Journal of cellular physiology*. 2018; 233(4): 2937–48.
 19. Kfoury Y., Scadden D.T. *Mesenchymal cell contributions to the stem cell niche*. *Cell stem cell*. 2015; 16(3): 239–53.
 20. Oreffo R.O.C., Driessens F.C.M., Planell J.A., Triffitt J.T. *Growth and differentiation of human bone marrow osteoprogenitors on novel calcium phosphate cements*. *Biomaterials*. 1998; 19: 1845–54.
 21. Owston H, Giannoudis P.V, Jones E. *Do skeletal muscle MSCs in humans contribute to bone repair? A systematic review*. *Injury*. 2016; 47: S3–S15.
 22. Ratner B.D., Hoffman A.S., Schoen F.J., Lemons J.E. *Biomaterials Science: an introduction to materials in medicine*. Third ed. California. Elsevier; 2013.
 23. Shahbazarab Z., Teimouri A., Chermahini A.N., Azadi M. *Fabrication and characterization of nanobiocomposite scaffold of zein/chitosan/nanohydroxyapatite prepared by freeze-drying method for bone tissue engineering*. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2018; 108: 1017–27.
 24. Shishatskaya E.I., Khlusov I.A., Volova T.G. *A hybrid PHB-hydroxyapatite composite for biomedical application: production, in vitro and in vivo investigation*. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*. 2006; 17(5): 481–98.
 25. Soundarya S.P., Menon A.H., Chandran S. V., Selvamurugan N. *Bone tissue engineering: Scaffold preparation using chitosan and other biomaterials with different design and fabrication techniques*. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2018; 119: 1228–39.
 26. Wubneh A., Tsekoura E.K., Ayranci C., Uludağ H. *Current state of fabrication technologies and materials for bone tissue engineering*. *Acta Biomaterialia*. 2018; 80: 1–30.