

БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ

УДК 611.018.4-089.844-003.93:577.3

**ТКАНЕИНЖЕНЕРНЫЕ СТРАТЕГИИ
ДЛЯ ВОССТАНОВЛЕНИЯ ДЕФЕКТОВ КОСТНОЙ ТКАНИ.
СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ВОПРОСА**

Корель А.В., Кузнецов С.Б.

*ФГБУ «Новосибирский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии
им. Я.Л. Цивьяна» Минздрава России, Новосибирск, e-mail: akorel@niito.ru*

В настоящее время одной из основных проблем в травматологии-ортопедии, челюстно-лицевой хирургии и онкологии остается проблема замещения малых и значительных по объему дефектов костной ткани. Для решения этой задачи необходимо создание биоинженерных конструкций, характеризующихся следующими свойствами: сохранение физических и анатомических особенностей костной ткани, высокая прочность, быстрая фиксация в месте имплантации и репарация тканями реципиента, а также отсутствие реакции отторжения имплантата. В клинической практике используется несколько типов трансплантатов, каждый из которых имеет свои преимущества и недостатки. В данном обзоре приводятся все основные типы костных имплантов, обсуждаются характеристики и особенности их применения, а также перспективы их клинического использования. Кроме того, приводятся мнения различных исследователей о том, какими свойствами должны обладать идеальные заменители костной ткани для регенеративной медицины. Также обсуждаются свойства и перспективы применения сложных конструкций, состоящих из скаффолдов различного химического состава и строения костных клеток или клеток-предшественников в качестве имплантов. Приводятся преимущества и недостатки различных типов клеток для использования их в тканеинженерных конструкциях.

Ключевые слова: регенерация костной ткани, скаффолды, тканеинженерные конструкции, клеточные технологии

**TISSUE ENGINEERING STRATEGIES FOR REPAIRING BONE DEFECTS.
THE CURRENT STATE OF THE ISSUE**

Korel A.V., Kuznetsov S.B.

*Novosibirsk Research Institute of Traumatology and Orthopaedics n.a. Y.L. Tsivyan,
Novosibirsk, e-mail: akorel@niito.ru*

At the present time, one of the main problems of traumatology, orthopedics, maxillofacial surgery and oncology remains the replacement of small and relatively large bone defects. To solve this problem, it is necessary to create bioengineering constructions characterized by the following properties: maintenance of the physical and anatomical features of the bone tissue, high strength, fast fixation at the implantation site and reparation of the recipient's tissues, as well as the absence of an implant rejection reaction. In clinical practice, several types of transplants are used, each of which has its own advantages and disadvantages. In this review, we present all the main types of bone implants, discuss their characteristics and features of their use, as well as the prospects for their clinical use. In addition, we present the opinions of various researchers on what properties ideal bone tissue substitutes for regenerative medicine should have. The properties and prospects for the use of complex structures consisting of scaffolds of different chemical composition and structure of bone cells or progenitor cells as implants are also discussed. The advantages and disadvantages of various cell types for use in fabric engineering designs are given.

Keywords: bone tissue regeneration, scaffolds, tissue engineering constructions, cellular technologies

Костная ткань обладает способностью к регенерации, однако в ряде случаев при потере больших объемов кости, остеопорозе, после резекции опухолевых образований восстановление костных дефектов естественным путем весьма затруднено, если вообще возможно [1]. Чтобы восстановить крупные костные дефекты, используют костные трансплантаты. Известно, что только в Соединенных Штатах Америки ежегодно регистрируется в среднем 15 миллионов пациентов с переломами костей, из которых в 1,6 миллиона случаев требуется применение костных трансплантатов при лечении [2]. Примерное соотношение наблюдается во всем мире, так что спрос на

костные трансплантаты велик и, скорее всего, он будет увеличиваться.

В настоящее время для замещения костных дефектов применяются следующие материалы:

– природного происхождения: аутокость (фрагмент кости пациента), аллокость (фрагмент трупной кости человека), ксенокость (фрагменты костей животных), фитогенные материалы, получаемые из водорослей (фосфаты кальция), фрагменты кораллов (карбонатные системы), шелк;

– искусственного происхождения: различные типы керамики, биологически активное стекло, трикальцийфосфат, гидроксипатит, никелид титана, а также

органические полимеры, такие как полиметилметакрилат, полилактиды, полигликолиды и их сополимеры, поликапролактон, полиуретан, поликарбонат и другие;

– композитные материалы, например, синтетические полимеры с включением керамики;

– костнопластические материалы в комбинации с ростовыми природными или рекомбинантными факторами, например костными морфогенетическими белками, факторами роста.

Следует отметить, что костно-пластические материалы также могут классифицироваться по их влиянию на окружающие клетки и ткани – остеогенности (способность формировать неокость), остеоиндуктивности (способность вызывать остеогенную дифференцировку клеток – предшественников) и остеокондуктивности (способность вызывать соединение фрагментов кости) [3].

На настоящий момент аутологичные костные трансплантаты считаются «золотым стандартом» для восстановления костной ткани. Тем не менее это не может решить проблему регенерации в случаях, связанных с потерей больших объемов костной массы. Кроме того, при данном виде трансплантации организму пациента также требуется восстанавливать «донорский участок» [4], что тяжело переносится пациентами пожилого возраста и не всегда приводит к положительному результату лечения.

Аллогенные костные трансплантаты можно использовать в качестве альтернативы аутологичным, но они представляют потенциальный риск иммунного отторжения и патогенной трансмиссии [5]. Кроме того, небольшое число доноров и этические проблемы при использовании трупного материала ограничивают клинический спрос на этот вид трансплантатов. Учитывая эти обстоятельства, необходимость разработки эффективных и надежных костных трансплантатов очевидна. Последние разработки в области тканевой инженерии, направленные на создание искусственной функциональной ткани, способствуют созданию кости *in vitro* [6].

Тканевая инженерия в настоящее время является одной из самых многообещающих технологий восстановления поврежденных органов и тканей. Основной задачей тканевой инженерии является создание структурно-функциональных имитаций биологических тканей, трехмерная структура которых соответствует поврежденным тканям реципиента. В наиболее приближенном варианте это специализированные клетки, помещенные на/в скаффолды. Скаффолды, или

матрицы, представляют из себя трехмерные пористые или волокнистые структуры, основная функция которых состоит в обеспечении механического каркаса для клеток [1, 7], а также оптимальных условий для метаболизма и дифференцировки клеток, возможностей для неоваскуляризации и ремоделирования регенерирующей ткани [8]. В инженерии костной ткани скаффолд должен имитировать внеклеточный матрикс кости, выполняя аналогичные функции [1, 9, 10]. Помимо этого, материал скаффолда должен позволять модификации биомеханических свойств импланта (эластичность, прочность) [9], что очень важно в тканевой инженерии костной ткани.

В последнее время был достигнут определенный прогресс в инженерии костной ткани. В частности, был достигнут успех в поиске источников клеток для тканеинженерных конструкций, разработке биосовместимых и биодеградируемых скаффолдов, дизайне биореакторов для эффективного культивирования и заселения матриц остеогенными клетками, а также в выявлении факторов роста, которые могут инициировать формирование эндогенной кости и/или способствовать ее васкуляризации [11]. Многочисленные доклинические испытания с различными животными моделями продемонстрировали хорошие результаты [12]. Однако для внедрения в клиническую практику необходимо решение ряда вопросов: подбор оптимальных источников клеток, выбор материала для создания скаффолда, создание конструкции с клетками *in vitro* и метод оперативной доставки конструкции в место дефекта.

В последние несколько десятилетий активно исследуются стволовые клетки, как для получения *in vitro* костных клеток, так и регенерации костной ткани в естественных условиях. Были предложены две гипотезы для объяснения механизма регенерации кости стволовыми клетками. В традиционном подходе остеогенные стволовые клетки / клетки-предшественники участвуют в образовании новой костной ткани путем непосредственной дифференцировки в функциональную ткань. Совсем недавно установлено, что факторы, секретируемые стволовыми / клетками-предшественниками, могут способствовать регенерации функциональной ткани [13]. Много усилий в настоящее время сосредоточено на поиске источников стволовых клеток, условий их культивирования для клинических испытаний. Стволовые клетки представляют особый интерес в регенеративной медицине, так как обладают рядом характеристик, которые отличают их от других типов кле-

ток. Стволовые клетки представляют собой неспециализированные плюрипотентные клетки, которые способны дифференцироваться в клетки всех трех зародышевых листков, различные типы взрослых клеток и представляют собой единственный тип клеток, который имеет возможность делиться до бесконечности. Мезенхимальные стволовые клетки (МСК) представляют собой клетки с ограниченной потенциальностью и характеризуются следующими параметрами: 1) экспрессируют клеточные поверхностные маркеры, которые не являются гемопоэтическими или неэндотелиальными, а также ряд других маркеров клеточной поверхности, в том числе CD73, CD105 и CD90, и 2) способностью к дифференцировке в трех направлениях: остеобласты, хондроциты и адипоциты [14]. Существует три источника МСК: костный мозг, жировая ткань и надкостница [15]. МСК, выделенные из костного мозга (КМ-МСК) широко используются как для аутологичных, так и для аллогенных трансплантаций. КМ-МСК легко размножаются в культуре и дифференцируются в остеобласты при использовании специальных дифференцировочных сред. В тканевой инженерии КМ-МСК используются для создания костного имплантата путем заселения их в соответствующие скаффолды [16]. Однако выделенные из тканей взрослых пациентов КМ-МСК продемонстрировали относительно низкую эффективность при остеогенной дифференцировке в естественных условиях в нескольких сравнительных исследованиях [17, 18]. Мезенхимальные стволовые клетки, полученные из ткани надкостницы, показали лучшую способность к минерализации и неоваскуляризации, чем выделенные из костного мозга взрослых пациентов МСК, и продемонстрировали хорошую эффективность в репарации модели дефекта свода черепа. Тем не менее потенциал этих клеток ограничен небольшим объемом надкостницы, а также сложностью процесса выделения [19].

Эмбриональные стволовые клетки (ЭСК) и взрослые мезенхимальные стволовые клетки (МСК) являются основными типами стволовых клеток, используемых для инженерии костной ткани. ЭСК обладают абсолютной плюрипотентностью, поэтому они могут генерировать типы клеток из всех трех зародышевых слоев: энтодермы, эктодермы и мезодермы. Однако многие факторы, включая этические проблемы, иммунологическую несовместимость, потенциал развития злокачественных опухолей, гетерогенную дифференцировку, недостаточное понимание и слабый контроль направленной

дифференцировки, ограничивают применение ЭСК и МСК [20].

Создание индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК) открыло новые источники клеток для инженерии костной ткани [21]. Тем не менее получение ИПСК является сложным и малоэффективным процессом. Кроме того, необходим точный контроль процесса дифференцировки перед внедрением в клиническую практику. Это особенно актуально, так как наличие недифференцированных клеток может привести к образованию тератомы после трансплантации [22].

Разработка скаффолдов является одним из основных аспектов при конструировании костных трансплантатов. С одной стороны, эти скаффолды должны быть жесткими и устойчивыми к внешним воздействиям, поскольку они функционируют как опорная конструкция костного трансплантата. С другой стороны, они должны быть пористыми, биосовместимыми, остеоиндуктивными и остеокондуктивными [23]. Кроме того, они должны обладать относительно низкой скоростью деградации, что имеет решающее значение для обеспечения механической поддержки до полной регенерации костного дефекта. Скаффолды могут быть изготовлены из естественных, искусственных и композитных материалов, объединяющих первые и вторые.

Природные материалы, применяемые для инженерии костной ткани, включают в себя биологические полимеры и неорганические материалы. Наиболее часто используемыми биологическими полимерами для инженерии скаффолдов являются коллаген, хитозан, эластин, целлюлоза, гиалуроновая кислота, альгинат, фибрин, желатин и т.д. Для примера, хитозан представляет собой гидрофильный линейный полисахарид, полученный щелочным деацетилизацией хитина ракообразных. Он обладает многими полезными свойствами, такими как: биосовместимость (отсутствие воспалительной или аллергической реакции), биоразлагаемость (естественно разлагается гидролитическими ферментами, такими как лизоцим) и нетоксичность (не выделяет токсических веществ при деградации) [24]. Природные материалы являются предпочтительными, поскольку обладают естественными биологическими сигналами, которые способствуют адгезии клеток и способствуют хемотаксисной реакции при имплантации *in vivo* [25]. При использовании в качестве трансплантатов эти полимеры легко перестраиваются клетками реципиента. Кроме того, волокнистые свойства полимеров позволяют регулировать

структуру и пористость во время изготовления скаффолдов [26].

Наиболее распространенным белком в различных тканях, включая кость, является коллаген. Скаффолды из коллагена очень привлекательны для создания биоинженерных конструкций, поскольку его механические свойства могут быть изменены путем сшивания с различными химическими агентами (глутаровый альдегид, формальдегид и т. д.), либо при их физической обработке (УФ-облучение, нагрев и т. д.) [28, 29]. Гиалуроновая кислота представляет собой простой линейный полисахарид, состоящий из повторяющегося дисахарида, который является гидрофильным, неиммуногенным, он легко модифицируется и синтезируется. Скаффолды из гиалуроновой кислоты заменяются внеклеточным матриксом, продуцируемым клетками реципиента при воздействии гиалуронидазы. Данные природные материалы имеют огромную биологическую активность: способствуют клеточной адгезии, а также росту клеток. Они являются биоразлагаемыми, позволяя клеткам реципиента заменять искусственный каркас собственным внеклеточным матриксом. Основными недостатками из натуральных биологических полимеров являются механопрочностные характеристики, ограничивающие их использование в качестве костных трансплантатов. Ограниченная физическая и механическая стабильность, а также высокая скорость деградации ограничивают применение скаффолдов из биодеградируемых материалов для восстановления костной ткани. Основные минералы кости (гидроксиапатит и трифосфат кальция) так же являются перспективными кандидатами для создания скаффолдов. Их механические свойства могли бы обеспечить механическую поддержку в области дефекта после трансплантации, но эти вещества являются по своей природе хрупкими, что не позволяет эффективно противостоять внешнему воздействию. В настоящее время они используются, как правило, в сочетании с полимерными материалами с более высокой вязкостью для достижения оптимизированных свойств в месте имплантации [30].

По сравнению с природными, искусственные материалы могут быть разработаны и произведены с заданными химическими и физическими свойствами. Использование искусственных материалов позволяет управлять механическими свойствами скаффолдов, в том числе прочностью на разрыв, устойчивостью к истиранию и скоростью деградации, а также адаптировать желаемые биологические свойства, такие как снижение риска токсичности, им-

муногенности и инфицирования [31]. Искусственные материалы, однако, не имеют биоактивных свойств, таких как биосовместимость, остеоиндуктивность, остеокондуктивность, что обуславливает необходимость модификации этих материалов перед использованием.

При изготовлении костных трансплантатов используют две отдельные группы синтетических биоматериалов: керамика и синтетические полимеры. Керамические полимеры (неорганические оксиды и соли), такие как гидроксиапатит (НА), β -трикальцийфосфат (β -ТСР) и двухфазный фосфат кальция (ВСР) механически жесткие, что делает их пригодными для трансплантации в дефекты костной ткани. Керамика имитирует естественную структуру костей, а взаимодействие клеток с керамикой способствует пролиферации и дифференцировке МСК в остеобласты [32]. Особый интерес представляют скаффолды, содержащие в своем составе фосфаты кальция, гидроксиапатиты, β -трикальцийфосфаты, поскольку они имитируют химическую и кристаллическую природу минеральной фазы нативной кости [32], и, следовательно, они будут биосовместимыми. Последние исследования продемонстрировали, что добавлением легирующих добавок в такие скаффолды можно контролировать биосовместимость, скорость деградации и механическую прочность [34]. Такие конструкции были определены как биоактивные стекла, силикатные биоактивные стекла, боратные биоактивные стекла, фосфатные биоактивные стекла и акерманит. Было показано, что легированные биологические стекла с различными элементами в качестве легирующей добавки, такими как Cu, Zn и Sr, способствуют росту костной ткани [35]. Эти биостекла продемонстрировали усиление процесса ангиогенеза и заживления ран мягких тканей. И эта способность биостекла может быть применена на практике как альтернативный подход к использованию дорогостоящих факторов роста для стимуляции неоваскуляризации тканеинженерных конструкций [36].

Искусственные полимеры, такие как полистирол, полигликолевая кислота (PGA) и поли-L-молочная кислота (PLLA), обладают необходимыми свойствами: их пространственная структура может корректироваться в зависимости от состава полимера. Однако при заселении клетками конструкций из таких материалов наблюдается плохая клеточная адгезия и пролиферация. Это происходит потому, что данные синтетические полимеры при гидролизе понижают локальный pH, чем могут вызвать

некроз клеток [37]. Поскольку керамика обладает превосходными остеоиндуктивными свойствами, но имеет повышенную хрупкость, а синтетические полимеры проявляют низкую остеоиндуктивность, но обладают лучшей механической прочностью, эластичностью и разлагаемостью, то учитывая все эти факты, исследователи пытаются разработать в последнее время каркасы из керамических и полимерных композитов. Наиболее часто используемые трехмерные композиты изготавливаются из искусственных полимеров, таких как поли-молочная кислота (PLA), PGA, поли-ε-капролактон (PCL), поли-лактид-ко-гликолид (PLGA), полипропиленфумарат, (PPF) и природных полимеров, таких как коллаген I типа и хитозан. Эти композиты имеют жесткие губчатые структуры, часто содержат гидроксиапатит, усиливающий адгезию МСК, дифференцировку в остеогенном направлении, и способствуют выживанию клеток [38] на скаффолдах.

Много работ посвящено стратегии улучшения процесса васкуляризации в области трансплантации искусственных конструкций, так как это является важным фактором в обеспечении выживания трансплантата и, следовательно, восстановления костной ткани [39, 40]. Слабый ангиогенез является основной проблемой в тканевой инженерии [41]. В настоящее время существуют различные стратегии, которые направлены на улучшение васкуляризации трансплантатов. К ним относятся: индукция васкуляризации в естественных условиях, дизайн скаффолдов, а также методы преваскуляризации с использованием систем со-культивирования [40–42].

В последнее время разрабатываются новые подходы, синтез скаффолдов с клетками в условиях 3D-системы. Некоторые из них были введены в клиническое применение. Основное преимущество этой системы заключается в том, что 3D-среда наиболее естественна для клеток костной ткани. Для создания «живого» скаффолда, обеспечивающего механическую поддержку и биологически активные сигналы для клеток с остеогенным потенциалом, исследователи разработали биореакторы для имитации естественных физиологических условий. Главным преимуществом является то, что эта система позволяет управлять всеми переменными. В отличие от классических статических культур *in vitro*, биореакторы позволяют применять механическое воздействие на клетки, которое очень важно при остеогенной дифференцировке [43]. Были исследованы различные модели биореакторов [44, 45]. Недавно разработанные

перфузионные биореакторы показали, что использование перистальтических насосов позволяет добиться улучшения таких параметров, как клеточная пролиферация, подача питательных веществ по всему скаффолду, а также усиление остеогенной дифференцировки [45].

Еще одним новым направлением в разработке «живых» скаффолдов является создание градиентных ячеистых скаффолдов. Ячеистые структуры с градуированными размерами пор и уровнем пористости могут имитировать градуированную структуру костной ткани [46]. Преимущество градиентных ячеистых структур над равномерными ячеистыми структурами состоит в том, что первые обеспечивают более реальную среду, для обеспечения биологических и механических функций. Для ортопедических применений, связанных с разделением напряжений, осевая градуированная ячеистая структура продемонстрировала сбалансированные механические характеристики [47]. Предполагается, что использование в качестве импланта градуированных ячеистых структур позволит улучшить распределение нагрузки в соседних тканях, повысит остеointegrацию с костной тканью реципиента и обеспечит оптимальную проницаемость питательных веществ [48].

Заключение

Ежегодно для лечения тяжелых форм переломов костей требуется большое количество костных трансплантатов. Ограничения применения в клинике ауто-трансплантатов и алло-трансплантатов инициировали развитие новых альтернативных методов тканевой инженерии, которые может предложить новое решение для производства костных трансплантатов для клинического применения. В последние годы в разработке имитаций костной ткани были достигнуты значительные успехи, хотя проблема перевода этих разработок в клиническое применение до сих пор не решена. Широко исследуются различные типы стволовых клеток для формирования минерализованной костной ткани *in vitro*. В противоположность этому, гораздо меньше число исследований сосредоточено на оценке эффективности дифференцировки стволовых клеток и её возможных побочных эффектов. Одним из основных препятствий для нормальной интеграции трансплантата является сложный процесс взаимодействия с микроокружением реципиентного ложа. Это особенно актуально для аллогенных клеток, где иммунная реакция реципиента, вероятно, играет очень важную роль. Применение биоматериалов для скаффолдов важно при создании кост-

ных имплантов, поскольку они способны обеспечивать механическую поддержку во время восстановления костной ткани. Для получения оптимальных механических свойств с высокой степенью биосовместимости были разработаны многочисленные композиционные материалы из различных компонентов.

Идеальный трансплантат трудно получить. Он должен быть биосовместимым, биорезорбируемым, остеокондуктивным (должен способствовать клеточной адгезии, пролиферации и секретированию внеклеточного матрикса), остеоиндуктивным (индуцировать образование костей), остеогенным (стимулировать дифференцировку клеток в остеогенном направлении), обладать структурой, сходной со структурой костной ткани, что позволяет формировать прочные связи с ложем реципиента. Значительным недостатком тканеинженерных конструкций является проблема равномерного заселения, миграции и размещения клеток в объеме матрицы и отсутствие биодеградации вещества матрицы. Так как от равномерного распределения клеток в объеме матрицы зависит их способность к адгезии, пролиферации, последующей дифференцировке и синтетической активности. На настоящий момент известно, что геометрия поверхности, размеры пор в матрице могут оказывать влияние на клеточную пролиферацию, остеогенную индукцию и остеокондуктивные свойства, что реализуется через межклеточные взаимодействия.

Таким образом, несмотря на то, что на протяжении ряда последних лет ведется активный поиск решения проблемы замещения костных дефектов, возникших при различных патологических состояниях, в настоящее время идеальной стратегии так и не получено, а для клинического использования зарегистрировано всего несколько трансплантатов.

Список литературы

1. Кузнецова Д.С., Тимашев П.С., Баграташвили В.Н., Загайнова Е.В. Костные имплантаты на основе скаффолдов и клеточных систем в тканевой инженерии (обзор) // Современные технологии в медицине. 2014. Т. 6. № 4. С. 201–212.
2. O'Keefe R.J., Mao J. Bone tissue engineering and regeneration: from discovery to the clinic-an overview. *Tissue engineering. Part B. Reviews. Regenerative Medicine and Tissue Engineering*. 2011 vol. 608. P. 389–392.
3. Henkel J., Woodruff M.A., Epari D.R., et al. Bone Regeneration Based on Tissue Engineering Conceptions – A 21st Century Perspective *Bone Res. Int. J. of Oral Science, West China School of Stomatology*. 2013. Vol. 1. no. 3. P. 216–248. DOI: 10.4248/BR201303002.
4. Sasso R.C., LeHuec J.C., Shaffrey C. Iliac crest bone graft donor site pain after anterior lumbar interbody fusion: a prospective patient satisfaction outcome assessment. *J. Spinal Disord Tech*. 2005. vol. 18. P. 77–81.
5. Giannoudis P.V., Dinopoulos H., Tsiridis E. Bone substitutes: an update. *Injury*. 2005. vol. 36. no 3. P. 20–27.
6. Ripamonti U., Tsiridis E., Ferretti C., et al., Perspectives in regenerative medicine and tissue engineering of bone. *Brit J. Oral Maxillofac Surg*. 2011. vol. 49. P. 507–509.
7. Stella J.A., D'Amore A., Wagner W.R., Sacks M.S. On the biomechanical function of scaffolds for engineering load-bearing soft tissues. *Acta Biomater*. 2010. vol.6. no. 7. P. 2365–2381.
8. Иванов А.Н., Козадаев М.Н., Богомолова Н.В., и др. Исследование динамики заселения клеточными элементами и биосовместимости скаффолда на основе поликапролактона в условиях *in vivo* // Фундаментальные исследования 2015. № 1–2. С. 275–278.
9. Chan BP, Leon KW. Scaffolding in tissue engineering: general approaches and tissue-specific considerations. *Eur Spine J*. 2008. no. 17. P. 467–479.
10. Вахрушев И.В., Антонов Е.Н., Попова А.В., Константинова Е.В., Каралкин П.А., Холоденко И.В., Лупатов А.Ю., Попов В.К., Баграташвили В.Н., Ярыгин К.Н. Разработка тканеинженерных имплантов для регенерации костной ткани на основе полилактогликолидных скаффолдов нового поколения и мультипотентных мезенхимальных клеток пульпы молочного зуба (SHED – клеток) // Клеточные технологии в биологии и медицине. Издательство РАМН. 2012. № 1. С. 29–33.
11. Salgado A.J., Coutinho O.P., Reis R.L. Bone Tissue Engineering: State of the Art and Future Trends. *Macromolecular bioscience*. 2004. vol. 4. no. 8. P. 743–765.
12. Cancedda R., Giannon P., Mastrogiacomo M. A tissue engineering approach to bone repair in large animal models and in clinical practice. *Biomaterials*. 2007. vol.28. no. 29. P. 4240–4250.
13. Zhang Z.Y., Teoh S.H., Hui J.H., et al. The potential of human fetal mesenchymal stem cells for off-the-shelf bone tissue engineering application. *Biomaterials*. 2012. vol. 33. P. 2656–2672.
14. Dominici M., Le Blanc K., Mueller I., et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy*. 2006. vol. 8. no. 4. P. 315–317.
15. Robey P.G. Cell sources for bone regeneration: the good, the bad, and the ugly (but promising). *Tissue engineering. Part B, Reviews*. 2011. vol. 17. P. 423–430. DOI: 10.1089/ten.teb.2011.0199.
16. Marion N.W., Mao J.J. Mesenchymal Stem Cells and Tissue. *Methods Enzymol*. 2006. vol. 420. P. 339–361. DOI: 10.1016/S0076-6879(06)20016-8.
17. Liao Han-Tsung, Chen Chien-Tzung. Osteogenic potential: Comparison between bone marrow and adipose-derived mesenchymal stem cells. *World J Stem Cells*. 2014. vol. 6. no. 3. P. 288–295. Doi: 10.4252/wjsc.v6.i3.288.
18. Jin H. J., Bae Y. K., Kim M., et al. 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. vol. 14. no. 9. P. 17986–18001. DOI: 10.3390/ijms140917986.
19. Kim You-Kyoung, Nakata H., Yamamoto M. et al. Osteogenic Potential of Mouse Periosteum-Derived Cells Sorted for CD90 In Vitro and In Vivo. *Stem Cells Transl Med*. 2016. vol. 5. no. 2. P.227–234. DOI: 10.5966/sctm.2015-0013.
20. Tögel F., Westenfelder C. Adult bone marrow-derived stem cells for organ regeneration and repair. *Developmental Dynamics*. 2007. vol. 236. P.3321-31.
21. Takahash K., Tanabe K., Ohnuki M., et al. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell*. 2007. vol. 131. no. 5. P. 861–872.
22. Miyazaki S., Yamamoto H., Miyoshi N., et al. Emerging methods for preparing iPS cells. *Jpn. J. Clin. Oncol*. 2012. vol. 42. no. 9. P. 773–779. DOI: 10.1093/jjco/hys108.
23. O'Brien F.J. Biomaterials and scaffolds for tissue engineering. *Review. Materials Today*. 2011. vol. 14. P. 88–95.
24. Rodriguez-Vazquez M., Vega-Ruiz B., Ramos-Zuniga R., et al. Chitosan and its potential use as a scaffold for

- tissue engineering in regenerative medicine. *Biomed Res Int*. 2015. vol. 15. P. 1–15.
25. Stevens M.M. Biomaterials for bone tissue engineering. *Materials Today*. 2008. vol. 11. no. 5. P. 18–25.
26. Cen L., Liu W., Cui L., Zhang W., Cao Y. Collagen tissue engineering: development of novel biomaterials and applications. *Pediatr Res*. 2008. vol. 63. no. 5. P. 492–496. DOI: 10.1203/PDR.0b013e31816c5bc3.
27. Sundelacruz S., Kaplan D.L. Stem cell- and scaffold-based tissue engineering approaches to osteochondral regenerative medicine. *Seminars in cell & developmental biology*. 2009. vol. 20. no. 6. P. 646–655.
28. Lee C.R., Grodzinsky A.J., Spector M. The effects of cross-linking of collagen-glycosaminoglycan scaffolds on compressive stiffness, chondrocyte-mediated contraction, proliferation and biosynthesis. *Biomaterials*. 2001. vol. 22. no. 23. P. 3145–3154.
29. O'Brien F.J., Harley B.A., Yannas I.V. Influence of freezing rate on pore structure in freeze-dried collagen-GAG scaffolds. *Gibson L. Biomaterials*. 2004. vol. 25. no. 6. P. 1077–1086.
30. Wagoner Johnson A.J., Herschler B.A. A review of the mechanical behavior of CaP and CaP/polymer composites for applications in bone replacement and repair. *Acta Biomater*. 2011. vol. 7. no. 1. P. 16–30. DOI: 10.1016/j.actbio.2010.07.012.
31. Rezwani K., Chen Q.Z., Blaker J.J., Boccaccini A.R. Biodegradable and bioactive porous polymer/inorganic composite scaffolds for bone tissue engineering. *Biomaterials*. 2006. vol. 27. no. 18. P. 3413–3431.
32. Sethu S.N., Namashivayam S., Devendran S. Nanoceramics on osteoblast proliferation and differentiation in bone tissue engineering. *Int. J. Biol. Macromol*. 2017. vol. 98. P. 67–74. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2017.01.089.
33. Prema D., Gnanavel S., Anuraj S., Gopalakrishnan C. Synthesis and Characterization of Different Chemical Combination of Hydroxyapatite for Biomedical Application. *Materials Today: Proceedings*. 2018. vol. 5. Part 3. P. 8868–8874.
34. Holzapfel B.M., Rudert M., Hutmacher D.W. Scaffold-based Bone Tissue Engineering. *Orthopade*. 2017. vol. 46. no. 8. P. 701–710. DOI: 10.1007/s00132-017-3444-0.
35. Hoppe A., Güldal N.S., Boccaccini A.R. A review of the biological response to ionic dissolution products from bioactive glasses and glass-ceramics. *Biomaterials*. 2011. vol. 32. no. 11. P. 2757–2774. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2011.01.004.
36. Kaur G., Pandey O.P., Singh K., et al. A review of bioactive glasses: Their structure, properties, fabrication and apatite formation. *J. Biomed. Mater Res A*. 2014. vol. 102. no. 1. P. 254–274. DOI: 10.1002/jbm.a.34690.
37. Liu H.L., Liu S.J., Chen Q.Y. Excess molar enthalpies for ternary mixtures of (methanol or ethanol plus water plus tributyl phosphate) at T = 298.15 K. *J. Therm Anal Calorim*. 2012. vol. 107. no. 2. P. 837–841.
38. Armentano I., Puglia D., Luzi F., Arciola C.R., Morena F., Martino S., Torre L. Nanocomposites Based on Biodegradable Polymers. *Materials*. 2018. vol. 11. no. 5. P. 795. DOI: 10.3390/ma11050795.
39. Genova T., Munaron L., Carossa S., Mussano F. Overcoming physical constraints in bone engineering: 'the importance of being vascularized'. *J. Biomater Appl*. 2016. vol. 30. no. 7. P. 940–951. DOI: 10.1177/0885328215616749.
40. Chen J., Deng L., Porter C., et al. Angiogenic and Osteogenic Synergy of Human Mesenchymal Stem Cells and Human Umbilical Vein Endothelial Cells Cocultured on a Nanomatrix. *Sci Rep*. 2018. vol. 8. no. 1. P. 15749. DOI: 10.1038/s41598-018-34033-2.
41. Liu Y., Chan J.K., Teoh S.H. Review of vascularised bone tissue-engineering strategies with a focus on co-culture systems. *J Tissue Eng Regen Med*. 2015. vol. 9. no. 2. P. 85–105. DOI: 10.1002/term.1617.
42. Holmes B., Bulusu K., Plesniak M., Zhang L.G. A synergistic approach to the design, fabrication and evaluation of 3D printed micro and nano featured scaffolds for vascularized bone tissue repair. *Nanotechnology*. 2016. vol. 27. no. 6. P. 064001. DOI: 10.1088/0957-4484/27/6/064001.
43. Potier E., Noailly J., Ito K. Directing bone marrow-derived stromal cell function with mechanics. *J. Biomech*. 2010. vol. 43. no. 5. P. 807–817. DOI: 10.1016/j.jbiomech.2009.11.019.
44. Gaspar D.A., Gomide V., Monteiro F. J. The role of perfusion bioreactors in bone tissue engineering. *Biomater*. 2012. vol. 2. no. 4. P. 167–175. DOI: 10.4161/biom.22170.
45. Zhao F., Rietbergen B., Ito K, Hofmann S. Flow rates in perfusion bioreactors to maximise mineralisation in bone tissue engineering in vitro. *Journal of Biomechanics*. 2018. vol. 79. P. 232–237.
46. Leong K.F., Chua C.K., Sudarmadji N., Yeong W.Y. Engineering functionally graded tissue engineering scaffolds. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*. 2008. vol. 1. no. 2. P. 140–152.
47. Wang Q.B., Wang Q.G., Wan C.X. Preparation and evaluation of a biomimetic scaffold with porosity gradients in vitro. *Anais da Academia Brasileira de Ciencias*. 2012. vol. 84. no. 1. P. 9–16.
48. Садовой М.А., Ларионов П.М., Самохин А.Г., Рожнова О.М. Клеточные матрицы (скаффолды) для целей регенерации кости: современное состояние проблемы // Хирургия позвоночника. 2014. № 2. С. 79–86.