



Научные обзоры / Scientific reviews

© КОНЕВ В. А., ЛАБУТИН Д. В., БОЖКОВА С. А.

УДК: 617.3

DOI: 10.20333/25000136-2021-4-5-17

Экспериментальное обоснование клинического применения стимуляторов остеогенеза в травматологии и ортопедии (обзор литературы)

В. А. Конев, Д. В. Лабутин, С. А. Божкова

Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии имени Р. Р. Вредена, Санкт-Петербург 195427, Российская Федерация

Резюме. Анализ научных публикаций, посвященных оценке эффективности и экспериментальному обоснованию применения клеточных технологий и факторов роста для стимуляции остеогенеза в клинической практике травматологов-ортопедов. Поиск в электронных базах данных PubMed, e-LIBRARY осуществлялся за период с 2010 по 2020 г. Фильтр – рандомизированные клинические исследования. Ключевыми словами были: «platelet growth factor OR vascular endothelial growth factor OR bone morphogenetic proteins OR autologous bone marrow stromal cells AND bone defect AND human». В части анализа экспериментальных исследований были отобраны работы в период с 2010 по 2020 г. по комбинации ключевых слов «mesenchymal stromal cells AND osteogenesis OR bone regeneration», «growth factors AND mesenchymal stromal cells AND osteogenesis OR bone regeneration». В дополнение к этому были процитированы основополагающие источники, описывающие свойства ММСК, а также проблемы их остеогенной дифференцировки. Несмотря на многочисленность экспериментальных работ по применению клеточных технологий для стимуляции остеогенеза, остается множество нерешенных вопросов относительно оптимальных способов получения этих клеток, их культивирования, совместного применения их с морфогенетическими белками и факторами роста. Большинство экспериментальных работ демонстрирует эффективность клеточных технологий в отношении регенерации костной ткани. Клиническое применение rhBMP-2, PDGF в комплексном лечении пациентов с костными дефектами продемонстрировало свою эффективность. При этом факторы роста могут эффективно использоваться в различных комбинациях с ММСК. Использование имплантатов обогащенных факторами роста в ряде случаев, могут быть альтернативой аутотрансплантатам. На сегодняшний день крайне мало работ с результатами рандомизированных контролируемых клинических исследований, посвященных стимуляции репарации костной ткани. Противоречивые результаты проанализированных публикаций, могут быть обусловлены малым количеством пациентов, включенных в исследование. С учетом активного развития репаративной медицины в целом, дальнейшее изучение возможностей по стимуляции остеогенеза с локальным применением клеточно-инженерных конструкции представляется перспективным направлением для травматологии и ортопедии.

Ключевые слова: стимуляция остеогенеза, тромбоцитарный фактор роста, сосудистый эндотелиальный фактор роста, костные морфогенетические белки, аутологичнестромальные клетки костного мозга, костный дефект.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.
Для цитирования: Конев ВА, Лабутин ДВ, Божкова СА. Экспериментальное обоснование клинического применения стимуляторов остеогенеза в травматологии и ортопедии (обзор литературы). *Сибирское медицинское обозрение.* 2021;(4):5-17. DOI: 10.20333/25000136-2021-4-5-17

Experimental justification for clinical application of bone growth stimulators in traumatology and orthopaedics (a review)

V. A. Konev, D. V. Labutin, S. A. Bozhkova

R. R. Vreden National Medical Research Center of Traumatology and Orthopedics, St. Petersburg, Russian Federation, 195427

Abstract. Analysis of scientific publications devoted to efficacy assessment and experimental justification of cell technology and growth factors application for osteogenesis stimulation in clinical practice of traumatologists-orthopaedists. The search was performed for papers published in PubMed and E-library digital databases within the period of 2010-2020. The search filter was set to explore randomised clinical trials. The key words were: “platelet growth factor OR vascular endothelial growth factor OR bone morphogenetic proteins OR autologous bone marrow stromal cells AND bone defect AND human”. Works dated 2010-2020 were selected for analysis of experimental studies using the following key word combinations: “mesenchymal stromal cells AND osteogenesis OR bone regeneration”, “growth factors AND mesenchymal stromal cells AND osteogenesis OR bone regeneration”. In addition, essential literatures describing properties of multipotent mesenchymal stromal cells (MSCs) were cited as well as issues in their osteogenic differentiation. Despite the great number of experimental works related to cell technology application for bone growth stimulation, a large variety of unresolved issues associated with optimal means to create such cells, their cultivation and combined application with morphogenetic proteins and growth factors remains. Clinical application of rhBMP-2, PDGF has demonstrated efficacy in complex treatment of patients with bone defects. Therewith, growth factors may be efficaciously used in different combinations with MSCs. In a number of cases, application of implants enriched with growth factors may become an alternative for autogenic grafts. To the present day, there is crucial deficit in the number of works presenting results of randomised controlled clinical trials devoted to stimulation of bone tissue repair. The controversial results of the publications analysed may be based on a low number of patients enrolled. With consideration for active development of reparative medicine as a whole, further investigation of possibilities in bone growth stimulation with local application of cell-engineering constructions is considered to be a promising trend for traumatology and orthopaedics.

Key words: bone growth stimulation, platelet-derived growth factor, vascular endothelial growth factor, bone morphogenetic proteins, autologous bone marrow stromal cells, bone defect.

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest associated with the publication of this article.

Citation: Konev VA, Labutin DV, Bozhkova SA. Experimental justification for clinical application of bone growth stimulators in traumatology and orthopaedics (a review). *Siberian Medical Review.* 2021;(4):5-17. DOI: 10.20333/25000136-2021-4-5-17

Введение

В современной хирургической практике сохраняется высокая актуальность исследований, посвященных разработке различных методов замещения дефектов костной ткани, что определяется большой распространенностью дегенеративной и воспалительной патологии опорно-двигательного аппарата, требующей хирургического лечения, а также высокой частотой травматических повреждений. Основными причинами формирования дефектов костной ткани являются ортопедические операции, в большей степени ревизионные оперативные вмешательства по поводу резекции первичных и метастатических опухолевых очагов и некоторых заболеваний костей, а также оскольчатых и импрессионных переломов, инфекционных и некротических процессов в костной ткани, дегенеративных кистозных перестроек. Во всех этих случаях перед хирургом встает проблема выбора костно-пластического материала для замещения дефектов разнообразной формы, объема и происхождения, а зачастую и при наличии металлического или полимерного имплантата в области дефекта кости. В большинстве случаев перечисленные выше группы заболеваний приводят к временной или стойкой нетрудоспособности, что обуславливает их высокую социальную значимость [1].

На сегодняшний день существует огромное множество различных видов костнопластического материала, включающих аутологичную и аллогенную кость, деминерализованный костный матрикс и целый ряд материалов синтетического и биологического происхождения [2, 3]. В последние несколько десятилетий интенсивно развиваются методы тканевой инженерии и активно исследуется применение различных видов клеток и факторов роста для регенерации костной ткани [4]. Однако, во всем кажущемся многообразии не существует идеальных материалов, полностью отвечающих потребностям специалистов. Сложность проблемы состоит в необходимости решения разнонаправленных задач. Идеальный материал для замещения должен обладать достаточной механической прочностью, хорошо интегрироваться с окружающей костью и обладать остеоиндуктивностью. И если проблема физической целостности кости стоит не столь остро, и в ряде случаев при больших дефектах костей, не позволяющих использовать костнопластические материалы, возможно применение индивидуальных металлоконструкций, то разработка методов стимуляции остеогенеза для восстановления кости как органа является до настоящего времени нерешенной задачей.

Целью настоящего обзора был анализ научных публикаций, посвященных оценке эффективности и экспериментальному обоснованию применения клеточных технологий и факторов роста для стимуляции остеогенеза в клинической практике травматологов-ортопедов.

Материал и методы

Методология включения публикаций: поиск литературы, релевантность информации, отбор и анализ

литературных данных. Для ответа на вопросы, обозначенные в данном обзоре, осуществлялся поиск в электронной базе PubMed и eLibrary. В части анализа клинического применения изучаемых факторов глубина поиска составила последние 10 лет, фильтр – рандомизированные клинические исследования. Ключевыми словами были: «platelet growth factor OR vascular endothelial growth factor OR bone morphogenetic proteins OR autologous bone marrow stromal cells AND bone defect AND human».

Всего по данным ключевым словам было найдено 52 рандомизированных контролируемых исследования, из них 34 посвящены применению изучаемых методов в стоматологии, 3 исследования – в челюстно-лицевой хирургии, 3 – в пластической хирургии, 3 – в кардиологии, 1 – в гематологии, в 3-х публикациях изучали возможности регенерации хрящевой ткани в ортопедии, и лишь 5 исследований относились к травматологии и ортопедии, включая спинальную травму. В выборку для анализа публикаций включены исследования в области травматологии и ортопедии (8 клинических исследований) (рис.).

Далее был выполнен поиск экспериментальных работ, посвященных методикам стимуляции остеогенеза, использованным в отобранных рандомизированных клинических исследованиях в период с 2010 по 2020 г. Были использованы комбинации ключевых слов «mesenchymal stromal cells AND osteogenesis OR bone regeneration», «growth factors AND mesenchymal stromal cells AND osteogenesis OR bone regeneration». В дополнение к этому были процитированы основополагающие источники, описывающие свойства ММСК, а также проблемы их остеогенной дифференцировки.

Мезенхимальные мультипотентные стволовые клетки

Применение биоматериалов без дополнительных биологически активных компонентов часто недостаточно для получения оптимальных результатов костной регенерации. В последнее время все больше исследований посвящены применению клеточных технологий (мезенхимальных мультипотентных стволовых клеток (ММСК), тромбоцитарной взвеси), а также факторов роста, или их комбинаций, обладающих высоким дифференцировочным потенциалом, для восстановления регенераторной способности костной ткани [5, 6]. Относительная доступность названных биологических субстанций и возможность применения аутоматериалов позволяет рассматривать их в качестве перспективного направления регенеративной медицины и тканевой инженерии [7, 8]. Такие субстанции оказывают высокое стимулирующее действие на клеточную дифференцировку предшественников остеобластов в остециты [9, 10], что позволяет достичь лучших результатов в инженерии костной ткани и является перспективной стратегией в наши дни [11, 12].

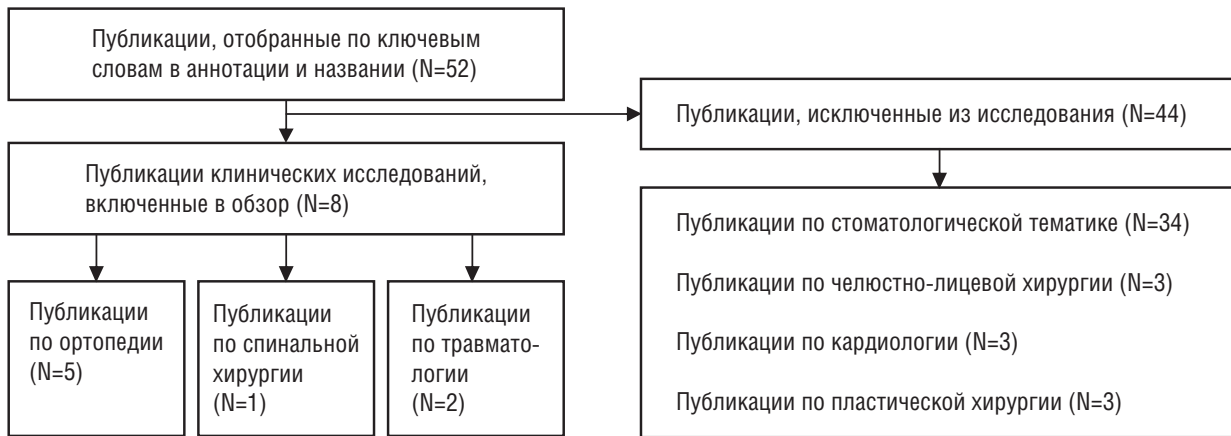


Рисунок. Процесс отбора публикаций по заданным критериям.
 Figure. The process of publications selection according to the criteria.

ММСК являются самым популярным видом клеток-предшественников, применяемых в тканевой инженерии. Они обладают способностью к *in vitro* дифференцировке в остеобласты, хондробласты, адипоциты, миоциты, теноциты и гепатоциты [13, 14]. К возможным источникам ММСК относят костный мозг, жировую ткань, пульпу зуба и пупочный канатик [15]. Из-за малого количества ММСК, доступного после выделения из ткани, их выращивают в условиях *in vitro* с целью достижения необходимой концентрации клеток желаемого фенотипа. Согласно общепринятым минимальным критериям, ММСК должны обладать способностью к прикреплению и росту на поверхности культурального пластика, дифференцировке по остеогенному, хондрогенному и адипогенному типам, а также иметь на поверхности мембраны маркеры CD73, CD90, CD105 при одновременном отсутствии CD11b или CD14, CD19 или CD79α, CD34, CD45, HLA-DR [16]. При использовании ММСК для регенерации костной ткани, до введения в область дефекта их выращивают внутри пористых органических и неорганических биоматериалов (матрицы). Ввиду большого разнообразия доступных матриц, отличающихся по своему химическому составу, пористости и способам изготовления, четкие стандарты относительно количества ММСК и продолжительности их культивирования в матрицах до настоящего времени не определены. В свою очередь это усложняет возможность получения воспроизводимых результатов в ходе исследований, а также проведение стандартизации биоматериалов для клинического применения [17, 18].

В тканевой инженерии ММСК используют как в неактивированном (нативном) состоянии, так и после индукции их дифференцировки по необходимому типу. В большинстве исследований регенерации костной ткани используют прямую имплантацию ММСК, предварительно дифференцированных по остеогенному типу [19, 20]. Основным недостатком данного подхода является его сходство с процессами при эндесмальном (интрамембранозном) окостенении, когда

образование новой костной ткани начинается напрямую после дифференцировки клеток-предшественников в остеобласты. Необходимо отметить, что этот тип окостенения играет преимущественную роль только в образовании костей черепа и ключицы. При этом формирование губчатого вещества длинных костей туловища и конечностей, как в период эмбрионального развития, так и в случае восстановления дефекта после перелома происходит путем эндохондрального окостенения, при котором образование костной ткани проходит этапы хондрогенеза и гипертрофии с последующей трансдифференцировкой в клетки костной ткани [21]. Альтернативным подходом в этом случае может быть проведение предварительной *in vitro* стимуляции ММСК по хондрогенному типу до их имплантации в область костного дефекта. Так, в исследовании P. Janicki et al. показано гетеротопическое формирование костной ткани у атимусных мышей через 8 недель после имплантации гранул бета-трикальций фосфата с ММСК [22]. При этом исследователи проводили индукцию хондрогенеза ММСК в течение 6 недель до имплантации, а клетки в очаге формирования костной ткани были донорского происхождения. В работе E. Farrell et al. на похожей модели показана возможность гетеротопического образования костной ткани у мышей в области имплантации ММСК, стимулированных по хондрогенному типу [23]. При этом остеобласты дифференцировались из локальных клеток реципиента, а остециты были смешанного происхождения.

Аналогичные результаты были также получены и в других исследованиях с человеческими ММСК, полученными из костного мозга и из стромально-васкулярной фракции жира [24]. Кроме того, была показана преимущественная роль продолжительной предварительной хондрогенной индукции ММСК в гипертрофические хондробласты, для которых характерно увеличение экспрессии генов коллагена X, сиалопротеина и матрикс-металлопротеиназы 13 [24]. Результаты представленных выше исследований указывают на то, что

нет окончательного понимания роли донорских ММСК в процессе остеогенеза в организме реципиента.

С учетом того, что контроль роста и подтверждение конечного фенотипа ММСК возможны только *in vitro* в условиях лаборатории, проследить судьбу этих клеток после имплантации, а также контролировать процесс их дальнейшей дифференцировки затруднительно. В связи с этим, возможным решением может служить разработка технологий использования паракринной функции ММСК для стимуляции дифференцировки и миграции локальных клеток-предшественников реципиента в область костного дефекта. Известно, что после подкожной имплантации мышам пористой керамики с ММСК в первые 7 дней наблюдалась миграция в зону имплантации локальных CD31+ клеток-предшественников эндотелия, а на 11 день – скопление CD146+ клеток, схожих с перицитами [25]. В контрольной группе животных участие локальных клеток-предшественников при использовании пористой керамики без ММСК не обнаруживалось. Эти данные демонстрируют важную роль паракринной активации миграции локальных клеток-предшественников в процессе ангиогенеза, который начинается на начальном этапе остеогенеза. На сегодняшний день методы тканевой инженерии с клеточными культурами получили клиническое применение [26]. Значительная часть исследований посвящена успешному замещению костного дефекта трансплантатом со стволовыми аутоклетками [27]. Сообщалось об успешном лечении пациентов с переломами костей конечностей с наличием костных дефектов. Замещение дефектов выполняли пористым гидроксиапатитом, заселенным аутологичными ММСК. Пациентов отслеживали в отдаленные сроки (15–27 месяцев после имплантации). По данным авторов, консолидация перелома и интеграция гидроксиапатита наблюдалась через 2 месяца после операции [27]. R. Quarto et al. схожим образом замещали дефекты длинных трубчатых костей пористыми керамическими материалами заселенным ММСК. Авторы указывают на полное восстановление опорной функции конечности в среднем за 7 месяцев после операции. При анализе отдаленных результатов исследования, установлено, что трансплантат не резорбировался и сохранил свою структуру даже через 7 лет после операции [28]. В проспективном контролируемом исследовании, при ревизионном тотальном эндопротезировании тазобедренного сустава дефекты бедренной кости замещали β -трикальцийфосфатом, содержащим аутологичные мезенхимальные стромальные клетки (основная группа, 9 пациентов), в контрольной группе клеточные технологии не применяли. Результаты лечения оценивали с применением шкалы Harris Hip Score, рентгенографии и DEXA-сканирования через 6 недель, а также через 3, 6 и 12 месяцев после операции. Между обеими группами пациентов наблюдалась значительная разница в заживлении костного дефекта ($P < 0,05$) [29]. В схожем проспективном клиническом

исследовании были сравнены результаты лечения пациентов, которым замещали дефекты бедренной кости при ревизионном эндопротезировании β -трикальцийфосфатом, обогащенным аутологичными МСК (группа А), чистым β -трикальцийфосфатом (группа В), губчатым аллотрансплантатом (группа С). По данным исследования, не наблюдалось значительных различий между экспериментальной группой А с группой С. Достоверные различия были зарегистрированы между результатами лечения в группах В и С [30].

В результате нашего поиска в системе PubMed вошло две публикации с результатами рандомизированных клинических исследований эффективности применения культуры ММСК, выделенных из разных источников, пациентам с патологией коленного сустава, в которых оценивали эффект вмешательства на клинические симптомы, болевой синдром и восстановление хрящевой поверхности [31, 32]. K. L. Wong et al., в своем рандомизированном исследовании использовали внутрисуставное введение культивированных ММСК из костного мозга. В исследование было включено 56 пациентов с медиальным остеоартритом коленного сустава, разделенных на основную ($n = 28$) и контрольную группы ($n = 28$). Всем пациентам выполняли высокую остеотомию большеберцовой кости и микрофрактуринг суставных поверхностей коленного сустава. Пациентам основной группы интраоперационно дополнительно забирали костный мозг из подвздошного гребня контралатеральной стороны. Через 3 недели после операции пациентам основной группы вводили внутрисуставно гиалуроновую кислоту с культивированными ММСК, тогда как контрольная группа получала инъекцию только гиалуроновой кислоты. Обе группы лечения достигли значимого улучшения показателей в динамике по шкалам Тегнера, Лисхольма и IKDC, а также по данным МСКТ через год после операции, однако, в группе с введением ММСК контрольные показатели значимо превосходили аналогичные в контрольной группе [31].

В другом рандомизированном клиническом исследовании, была изучена эффективность ММСК, полученных из жировой ткани, в сочетании с фибриновым клеем и микрофрактурином (основная группа, $n = 40$) в сравнении с микрофрактурином без дополнительной стимуляции (контрольная группа, $n = 40$) при лечении пациентов с хрящевыми дефектами коленного сустава. Снижение болевого синдрома и симптоматических проявлений по шкале Лисхольма и шкале оценки травм коленного сустава и остеоартрита (KOOS) было более выражено с основной группе в сравнении с контрольной (боль, $36,6 \pm 11,9$ VS $30,1 \pm 14,7$ ($P = 0,034$) соответственно); симптомы составили, $32,3 \pm 7,2$ в опытной группе против $27,8 \pm 6,8$ в контрольной группе ($P = 0,005$). По данным МСКТ, через год после операции не было установлено значимых различий в доле пациентов с интактной субхондральной пластинкой и субхондральной костью, которые

составили соответственно 62 и 40 % в основной группе, 47,5 и 52,5 % – в контрольной группе. Кроме того, структура хрящевого регенерата, по данным гистологического исследования между группами, также не различалась [32].

Применение мезенхимальных стволовых клеток может открыть новые перспективы в травматологии и ортопедии, трансплантологии и пластической хирургии, однако существует множество нерешенных вопросов относительно оптимальных способов получения этих клеток, их культивации, оптимальных способов доставки в трансплантационное ложе, сочетания стволовых клеток с факторами роста [26]. Несмотря на обнадеживающие результаты, клеточные технологии в большинстве стран не одобрены для применения, остается открытым вопрос в отношении эффективности и безопасности таких методик [33], отсутствует нормативно-правовая база, регламентирующая их клиническое использование. Есть данные о том, что пролиферация стволовых клеток может стать причиной новообразований. Их туморогенность остается до настоящего времени основным «камнем преткновения» [34]. Известно, что преостеобласты характеризуются морфологией недифференцированной мезенхимной клетки. По мере пролиферации эти клетки способны дифференцироваться в остеобласты. В связи с этим количество работ, посвященных клиническому применению ММСК, крайне ограничено.

Костные морфогенетические белки

Еще одним направлением стимуляции остеогенеза является использование костных морфогенетических белков (Bone Morphogenetic Proteins – BMPs). В настоящее время открыто 20 разновидностей BMPs, наиболее изучены факторы роста – BMP-2, BMP-7, однако, полученные результаты разнородны [35]. Человеческие рекомбинантные BMP-2 и BMP-7 разрешены для клинического применения при спондилодезе и переломах трубчатых костей с несращением или замедленным сращением, когда использование аутологичной или аллогенной кости малоэффективно или невозможно [36]. При этом BMP показывают эффективность только в достаточно высоких дозах. Например, локальное применение BMP-2 в коллагеновых губках в концентрации 1,5 мг/мл (общая доза 12 мг) по сравнению с 0,75 мг/мл (общая доза 6 мг) дополнительно к интрамедуллярному остеосинтезу приводило к 44 % снижению риска повторного хирургического вмешательства по поводу осложнений [35]. В свою очередь, при увеличении дозы BMP возникает вероятность развития нежелательных реакций, связанных со стимуляцией синтеза провоспалительных интерлейкинов (IL-1b, IL-6, IL-10, IL-17, IL-18, TNF- α), избыточным остеокластогенезом с остеолитом, эктопическим остеогенезом и формированием костных кист [37]. По данным D. Gothard, BMP-2 усиливает остеогенез в 1,2-21,0 раза, а BMP-7 – в 1,1-95,0 раз, однако, оптимальная концентрация этих факторов

роста на сегодняшний день неизвестна, применяемые дозы препаратов варьировали от 100 мкг до 3,5 мг [35]. Автор описывает совместный усиливающий эффект BMP-2 и BMP-7, при этом остеогенез усиливался в 1,5 раза по сравнению использованием каждого фактора по отдельности. Однако проведенное рандомизированное клиническое исследование не выявило достаточных доказательств, в пользу того, что аутоотрансплантаты из гребня подвздошной кости в сравнении с имплантатами, обогащенными BMP-2, эквивалентны по качеству регенерации при замещении костных дефектов в условиях открытых переломах костей голени (The Major Extremity Trauma Research Consortium [38]). По нашему мнению, возможные исходы лечения данной группы пациентов напрямую обуславливают тяжесть травмы, особенно это касается открытых переломов конечности, где любая трансплантация сопряжена с высокими рисками послеоперационных осложнений. Однако, полученные результаты свидетельствуют, что имплантаты с rhBMP-2 могут быть альтернативой аутоотрансплантатам, особенно в случаях невозможности их получения.

Другое рандомизированное клиническое исследование продемонстрировало эффективность BMP-2 при лечении «взрывных» переломов груднопоясничного отдела позвоночника, обработанных рекомбинантным морфогенетическим белком (rhBMP-2). В работе выполнено сравнение этой технологии с аллогенной костной трансплантацией. В отдаленные сроки после оперативного лечения дефекты травмированного позвонка были выявлены в 18 случаях (75,0 %) в контрольной группе (аллокость) и только в 5 случаях в основной группе с использованием rhBMP-2 (20,8 %) ($\chi^2 = 14,108, P = 0,000$). Кроме того, у пациентов с дефектами поврежденного позвонка степень дефекта кости составляла $7,50 \% \pm 3,61 \%$ в контрольной группе и $2,70 \% \pm 0,66 \%$ в основной группе ($t = 6,026, P = 0,000$) [39]. Тем не менее, проведенные мета-анализы работ с результатами клинического применения BMP-2 демонстрируют низкую эффективность этого фактора на фоне существенной частоты развития осложнений, которая составила 11 %, а частота выявления злокачественных опухолей – 3,4 % [40, 41].

Решение данной проблемы и повышение эффективности использования BMP возможно путем использования безопасных низких доз BMP совместно с ММСК в пористых матрицах. Известно, что BMP-2 в малой дозе (10 нг/мл) при прямой стимуляции ММСК увеличивал экспрессию генов транскрипционного фактора Runx2 и остеопонтина, играющих ключевую роль при остеогенезе, а BMP-7 в той же дозе ингибировал экспрессию Runx2, но активировал ген агреккана, специфичный для хондрогенеза [42]. В другом исследовании применение комбинации BMP-2 и ММСК в бифазном фосфате кальция или хитозановом гидрогеле приводило к значительному усилению костеобразования *in vivo* [43, 44]. По-видимому, данный эффект был обусловлен изолированным стимулирующим воздействием

ВМР-2 на костные репаративные процессы. В частности, A. Decambon et al. обнаружили отсутствие синергетического эффекта ВМР-2 с ММСК в низкой дозе 10 мкг/мл (общая 0,4 мкг) в модели эктопического остеогенеза у мышей [45]. При этом в данной модели имплантированный ВМР-2 стимулировал образование костной ткани за счет локальных остеобластов реципиента, а не донорских ММСК. Более того, площадь костной ткани при использовании высокой дозы ВМР-2 (100 мкг/мл, общая 4,2 мкг) была сопоставима, как в комбинации с ММСК, так и без них. Таким образом, полноценное клиническое применение ММСК и ВМР в одной матрице станет возможным только после разрешения противоречий относительно механизмов их взаимодействия.

Факторы роста

К другим рекомбинантным факторам стимуляции остеогенеза относят фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), фактор роста тромбоцитов (PDGF) и инсулиноподобный фактор роста (IGF). VEGF играет ключевую роль в процессе остеогенеза. При эндохондральном окостенении он секретируется перихондральными клетками-предшественниками, способствует образованию остеобластов и активирует процесс ремоделирования промежуточного хряща в костную ткань [46]. VEGF способен активировать гены остеогенеза, а также дифференцировку остеобластов *in vitro* [47]. Установлено, что доставка VEGF в область дефекта увеличивает плотность кровеносных сосудов и стимулирует регенерацию кости у кроликов и крыс [48]. Прямое трехкратное введение VEGF (10 мкг) в область перелома большеберцовой кости у мышей приводило к увеличению объема новообразованной костной ткани в дефекте по сравнению с контрольной группой [49]. При введении имплантатов с VEGF в область костного дефекта наблюдали увеличение васкуляризации и костной массы в 1,6-2,0 раза, кроме того, известно, что комбинирование VEGF с ВМР-2 в экспериментах *in vitro* приводит к потенцированию эффекта усиления остеогенеза [50]. В работе S. Sharma et al. показано, что дополнительная экспрессия (оверэкспрессия) факторов – VEGF и ВМР-2 в ММСК из костного мозга в эктопической модели костеобразования приводила к увеличению объема костной ткани только при их комбинировании [51].

Еще одним сильным стимулятором репарации тканей является PDGF (*Platelet-derived growth factor*), синтезируемый в мегакариоцитах и содержащийся в α -гранулах в тромбоцитах. Рецепторы к данному фактору расположены на фибробластах сосудистой стенки и клетках гладкой мышечной ткани. PDGF стимулирует пролиферацию этих клеток, предполагается, что он может регенерировать костную ткань как митоген. Он значительно увеличивает приток иммунных клеток и фибробластов в поврежденные ткани, стимулирует выработку коллагена и тем самым сокращает время

заживления. PDGF обладает способностью быть хемоаттрактантом для стволовых клеток и стимулировать секрецию факторов роста макрофагами. Известно, что PDGF усиливает регенерацию в области костного дефекта в 1,4-2,4 раза [35]. При этом, в высоких концентрациях проявляется замедление остеогенеза в области повреждения кости. Отмечено, что в некоторых случаях при совместном применении PDGF и VEGF не наступает консолидация перелома, а в комбинации PDGF и ВМР-2 именно последний усиливает остеогенез и, предположительно, является необходимым для эндохондрального окостенения [35]. Введение PDGF-BB совместно с ММСК и бета-три-кальций фосфатом в область критического дефекта теменных костей крыс существенно улучшало морфометрические показатели костеобразования по сравнению с контрольными группами [52]. В другом экспериментальном исследовании не было получено подтверждения значимой стимуляции регенерации костной ткани фактором PDGF [53]. Тем не менее, есть примеры успешного клинического применения фактора роста PDGF-BB в ортопедической практике. T. R. Daniels et al. в своем проспективном рандомизированном контролируемом исследовании продемонстрировали эффективность клинического применения фактора роста rhPDGF-BB в сочетании с β -ТСР-коллагеном при артродезировании голеностопного сустава в сравнении с использованием аутотрансплантата. По данным компьютерной томографии, полное сращение всех вовлеченных в сустав костных структур через 24 недели после оперативного лечения было установлено у 53 из 63 (84 %) пациентов, с применением rhPDGF-BB в сочетании с β -ТСР-коллагеном, и у 100 из 154 (65 %) пациентов с аутопластикой зоны артродеза ($P < 0,001$). При этом среднее время до консолидации составило $14,3 \pm 8,9$ недель для пациентов с rhPDGF-BB в сочетании с β -ТСР-коллагеном по сравнению с $19,7 \pm 11,5$ недель для пациентов с аутотрансплантатом ($P < 0,01$). В своей работе авторы отметили, что на 52 неделе после операции положительный результат лечения пациентов был у 57 из 63 (91 %) пациентов с rhPDGF-BB в сочетании с β -ТСР-коллагеном и у 120 из 154 (78 %) пациентов с аутотрансплантатом ($P < 0,001$). В исследовании описано 2 инфекционных осложнения в группе пациентов с аутотрансплантацией [54]. Еще в одном клиническом исследовании эффективность фактора роста rhPDGF-BB при выполнении артродеза голеностопного сустава была сопоставима с костным аутотрансплантатом, что позволяет рассматривать данную методику как безопасную и эффективную альтернативу аутотрансплантатам при артродезе стопы и голеностопного сустава [55].

PRP технология

PRP технология – введение в патологическую зону аутологичной, обогащенной тромбоцитами плазмы крови, с содержащимися в α -гранулах тромбоцитов факторами роста (PDGF – тромбоцитарный фактор

роста, VEGF – фактор роста эндотелия сосудов, TGF – трансформирующий фактор роста, IGF-I, IGF-II, FGF, ECGF и др.) [56]. По мнению большинства современных авторов, применение PRP позволяет получить естественную концентрацию аутологических факторов роста, поэтому в настоящее время в различных областях медицины широко проводятся эксперименты для выявления ее способности ускорять регенерацию ткани с низким потенциалом к восстановлению [57]. Введение в зону перелома обогащённой тромбоцитами плазмы сокращало сроки заживления костной раны на 8-10 % [58]. В эксперименте на крысах показано, что введение тромбоцитарной взеси в область костного дефекта бедра снижает интенсивность локальной воспалительной реакции, а использование PRP в комбинации с коллагеном сокращает время репарации костного дефекта [59]. В другом экспериментально-клиническом исследовании продемонстрирована эффективность данного метода при стимуляции остеогенеза при оскольчатых переломах. По итогам исследования авторы установили, что формирование костной мозоли в группе с использованием PRP технологий наступало раньше чем в группе без дополнительной стимуляции [60]. Авторы экспериментального исследования на модели поперечного перелома вертлужной впадины у собак показали, что сочетание PRP с аскорбиновой кислотой и глюкозой оказывало выраженное стимулирующее воздействие на заживление переломов таза при локальном введении данной комбинации в раннем посттравматическом периоде [61].

Широко используемая в стоматологической практике PRP-технология, к сожалению, практически не встречается в клинических исследованиях травматолого-ортопедического профиля с высоким доказательным уровнем. Нам удалось найти лишь два рандомизированных клинических исследований за анализируемый период времени. В работе F. Macule-Beneito отражены результаты ревизионного эндопротезирования коленного сустава с замещением костных дефектов лиофилизированным костным аллотрансплантатом в сочетании с PRP пациентам основной группы ($n = 9$). В контрольной группе устанавливали лиофилизированные аллотрансплантаты без внесения дополнительных факторов роста ($n = 7$). Исследователи не обнаружили существенных различий, между группами пациентов [62]. На наш взгляд, малое количество наблюдений не позволяет с уверенностью судить говорить о наличии или отсутствии эффекта применения PRP- технологий.

В рандомизированном исследовании M. Cervellin показана эффективность PRP, вносимой на костное ложе донорского участка и сухожилие, в отношении снижения болевого синдрома через 12 мес. после реконструкции передней крестообразной связки коленного сустава с использованием трансплантатов сухожилия надколенника у молодых спортсменов. По прошествии 12 месяцев, в основной группе, согласно

шкале VISA, баллы были значительно выше ($84,5 \pm 11,8$ и $97,8 \pm 2,5$ соответственно ($p = 0,041$), тогда как значимых различий в послеоперационных баллах по ВАШ между двумя группами не наблюдалось. Кроме того, у 85 % пациентов группы PRP дефект большеберцовой кости и надколенника был заполнен новообразованной костной тканью (заполнено > 70 % костной щели), тогда как у пациентов контрольной группы этот процент составлял всего 60 % ($p > 0,05$) [63]. По-видимому, данное направление может получить дальнейшее развитие в травматолого-ортопедической практике, по аналогии со стоматологической хирургией, где множество исследований демонстрируют эффективность PRP-технологий [64].

В качестве потенциальной альтернативы BMP рассматривают рекомбинантный IGF-1, который в низких дозах активирует остеогенную дифференцировку человеческих ММСК *in vitro* [65]. IGF-1-пептид по своему строению и функции он схож с проинсулином. Данный цитокин участвует в реализации действия гормона роста в тканях, однако, в отличие от гормона роста, который высвобождается эпизодически и содержание которого в крови значительно колеблется в течение суток, количество IGF-1 стабильно и его не надо повторно измерять. IGF-1 депонируется в кости и высвобождается по мере её резорбции. Цитокин не вызывает остеогенную дифференцировку стволовых клеток, но усиливает функцию зрелых остеобластов [66]. IGF-1 связан с модулированием механотрансдукции в костной ткани, а также способствуют образованию в грануляционной ткани первичной мозоли, состоящей из соединительной и хрящевой тканей [67]. В фазу репарации морфогенетические белки, выделяющиеся из поврежденной кости, способствуют дифференцировке плюрипотентных клеток грануляционной ткани в остеобласты и хондробласты. Эти клетки продуцируют смесь хряща, грубоволокнистой кости и фиброзной ткани, которые формируют первичную мозоль. Ее формирование начинается через 7-9 сут. после травмы [68]. Системное введение IGF-1 совместно с имплантацией ММСК в область дефекта приводило к значительному улучшению морфометрических и биомеханических показателей костной ткани при переломе большеберцовой кости у мышей [69]. К сожалению, в ходе анализа мировой научной литературы за последние 10 лет нам не удалось найти рандомизированные контролируемые исследования применения IGF-1 при травматолого-ортопедических вмешательствах.

Еще одним важнейшим фактором остеогенеза является TGF- β (трансформирующий фактор роста бета), принадлежащий к семейству димерных полипептидов с молекулярной массой 25 кДа, которые широко распространены в тканях и синтезируются многими клетками. До настоящего времени роль данного цитокина в процессе остеогенеза до конца не раскрыта. TFR- β относят к суперсемейству, включающему

**Результаты рандомизированных клинических исследований
при применении стимуляторов остеогенеза**

Results of randomised clinical trials devoted to application of bone growth stimulators

Исследование	Фактор стимуляции	Модель пациента // способ применения	Наблюдений в группах: основная (O) / сравнения (C)	Сроки наблюдения, мес.	Оценка эффективности	Результат
Wong KL, 2013	ММСК	Высокая остеотомия большеберцовой кости и микрофрактуринг при остеоартрите КС // Внутриартикулярное введение через 3 недели после операции ММСК/гиалуроновая кислота	28/28	6–24	Клинические симптомы по шкалам: Тегнера Лисхольма IKDC Результаты МСКТ	<u>O>C</u> <u>O>C</u> <u>O>C</u> <u>O>C</u>
Koh YG, 2016	ММСК	Костно-хрящевые дефекты после артротомии и микрофрактуринга // Внутриартикулярное введение ММСК/фибриновый клей	40/40	24	Шкала Лисхольма, шкала KOOS МСКТ: % пациентов с интактной субхондральной пластинкой и субхондральной костью Структура хрящевого регенерата (гистология)	<u>O>C</u> <u>O>C</u> O=C O=C
METRC*, 2019	BMP-2	Переломы голени // Замещение костного дефекта: BMP-2 / аутокость	16/14	12	Рентгенологическая оценка консолидации Восстановление опорной функции	O=C O=C
Yin F, 2017	BMP-2	Переломы позвоночника // Замещение костного дефекта: BMP-2 / аллокость	24/24	21–45	Классификация Франкеля (Угол Кобба) Доля пациентов с сохранением костных дефектов поврежденных позвонков Степень выраженности дефекта кости	O=C <u>O<C</u> <u>O<C</u>
Daniels TR, 2015	rhPDGF-BB + β -TCP-Collagen Matrix	Артродезирование голеностопного сустава // Замещение костного дефекта: rhPDGF-BB + β -TCP-Collagen Matrix / аутокость	63/12	6-13	Сращение костных структур через 6 мес. Среднее время консолидации Сращение костных структур через 13 мес.	<u>O>C</u> <u>O<C</u> <u>O>C</u>
DiGiovanni Di, 2011	rhPDGF-BB	Артродезирование голеностопного сустава // Замещение костного дефекта rhPDGF-BB / аутокость	14/7	9	Рентгенологическая оценка консолидации шкала AOFAS индекс функции стопы (FFI) форма-12 (SF-12) болевой синдром по шкале ВАШ	<u>O>C</u> O=C O=C O=C O=C
Cervellin M, 2012	PRP	Реконструкция крестообразной связки у спортсменов // Обработка костного ложа донорского участка и сухожилия PRP/аутокость	20/20	12	Функциональная и болевая оценка по опроснику VISA через 12 мес Болевой синдром по шкале ВАШ в раннем послеоперационном периоде Восстановление костной ткани в донорском участке	<u>O>C</u> O=C O>C
Macule-Beneito F, 2014	PRP	Ревизионное эндопротезирование // Замещение костного дефекта PRP/ аллокость	9/7	12	Оценка минеральной плотности костной ткани (двухэнергетическая рентгеновская абсорбциометрия (DEXA))	O=C

Примечание: * – The Major Extremity Trauma Research Consortium

O>C – выделены значимо различающиеся результаты ($p<0,05$)

Note: O>C – significantly different results are highlighted ($p<0,05$)

5 белков (ТФР- β 1 – ТФР- β 5), которые оказывают плейотропный эффект на целый ряд процессов, обеспечивая метаболическую активность клеток, включая рост, дифференцировку и биосинтез макромолекул межклеточного вещества. Присутствие рецепторов к ТФР на поверхности остеобластов и хондроцитов дает возможность предположить участие этих факторов на всех этапах регенерации кости [70]. Действие фактора способствует формированию хряща с последующим окостенением. К факторам, которые первыми запускают каскад процессов регенерации кости, относят PDGF и TGF- β . Эти факторы инициируют процесс регенерации кости. Оба фактора высвобождаются из дегранулирующих тромбоцитов в области раны. За этим следует увеличение числа тромбоцитов в области раны или травмы, что еще больше увеличивает количество данных факторов роста, необходимых для регенерации кости [71]. Эффективность TGF- β зависит как от плотности стоволовых клеток, так и от стадии дифференцировки. Эффект является дозозависимым и имеет двухфазное действие [72, 73]. Однократное воздействие TGF- β в дозе 1 нг/мл приводит к дифференцировке остеобластов, при повторном введении происходит торможение дифференцировки [66, 74]. При анализе мировых научных публикаций, так же не было найдено рандомизированных клинических исследований применения TGF- β в травматологии и ортопедии.

Результаты и обсуждение

Основным подходом к стимуляции репаративных процессов костной ткани является использование ММСК и рекомбинантных факторов роста. При этом комбинация указанных методик не всегда характеризуется синергизмом в отношении стимуляции остеогенеза и запускает активацию миграции и дифференцировки клеток-предшественников. Безопасное применение данного подхода для восстановления костных дефектов на практике требует дальнейшего изучения механизмов клеточного взаимодействия в процессе остеогенеза. Проведенный анализ научной литературы продемонстрировал, что, несмотря на существующие оптимистичные результаты работ, показывающих положительное влияние изученных стимуляторов остеогенеза на регенеративные процессы костной ткани в экспериментах, доказательная база их клинического применения у пациентов травматолого-ортопедического профиля на сегодняшний день крайне ограничена (табл.). Оба рандомизированных клинических исследования при сроках наблюдения до 2 лет подтвердили эффективность ММСК, выделенных от пациентов. Однако выявленные преимущества касались в основном выраженности клинических симптомов остеоартрита коленного сустава, в то время как данные объективных методов исследования (МСКТ и гистология) не выявили значимых различий между группами исследования. В одном из двух рандомизированных клинических исследований эффективности ВМР-2 была сопоставима с использованием

аутоотрансплантата, в другом – применение стимулятора остеогенеза позволило значительно сократить долю пациентов с костными дефектами и степень их выраженности [38, 39]. Такие же противоречивые результаты демонстрируют публикации результатов рандомизированных клинических исследований применения фактора роста rhPDGF-BB. Daniels et al. (2015) установили значимое положительное влияние rhPDGF-BB на консолидацию костных структур при формировании артродеза [54], тогда как ранее DiGiovanni et al. (2011) на аналогичной когорте пациентов показали, что эффективность данного фактора роста была сопоставима с аутоотрансплантатом [55]. Несмотря на обилие различных публикаций по применению PRP у пациентов травматолого-ортопедического профиля, нам удалось найти только два рандомизированных исследования, результаты которых, в итоге не дают однозначного ответа на вопрос об эффективности применения PRP [62, 63] (табл.).

На наш взгляд, противоречивые результаты проанализированных публикаций, могут быть обусловлены малым количеством пациентов, включенных в исследование (минимальная основная группа – 9 наблюдений, максимальная – 63), а также большим размером костных дефектов, относительно, к примеру, стоматологических вмешательств, и, следовательно, существенно большими затратами на создание эффективных концентраций клеток и/или факторов роста, что в свою очередь может увеличивать риск нежелательных явлений. Однако, с учетом активного развития репаративной медицины в целом, дальнейшее изучение возможностей по стимуляции остеогенеза с локальным применением клеточно-инженерных конструкций представляется перспективным направлением для травматологии и ортопедии.

Источник финансирования: государственное бюджетное финансирование.

Литература / References

1. Brian C Werner, Xudong Li, Francis H, Shen. Stem cells in preclinical spine studies. *The Spine Journal*. 2014; 14(3):542–551. DOI: 10.1016/j.spinee.2013.08.031
2. Stark JR, Hsieh J, Waller D. Bone Graft Substitutes in Single- or Double-Level Anterior Cervical Discectomy and Fusion: A Systematic Review. *Spine (Phila Pa 1976)*. 2019;44(10):618-628. DOI: 10.1097/BRS.0000000000002925. PMID: 30395088
3. Ishikawa K, Miyamoto Y, Tsuchiya A, Hayashi K, Tsuru K, Ohe G. Physical and Histological Comparison of Hydroxyapatite, Carbonate Apatite, and β -Tricalcium Phosphate Bone Substitutes. *Materials (Basel)*. 2018;11(10):1993. DOI: 10.3390/ma11101993. PMID: 30332751; PMCID: PMC6213161
4. Щаницын ИН, Иванов АН, Ульянов ВЮ, Норкин ИА. Современные концепции стимуляции регенерации костной ткани с использованием биологически активных скаффолдов. *Цитология*. 2019; 61(1):16–34.

[Shanicyn IN, Ivanov AN, Ul'yanov VY. The modern concept of stimulation of bone regeneration with the use of biologically active scaffolds. *Cytology*. 2019; 61(1):16–34. (In Russian)]

5. Lee YC, Chan YH, Hsieh SC, Lew WZ, Feng SW. Comparing the Osteogenic Potentials and Bone Regeneration Capacities of Bone Marrow and Dental Pulp Mesenchymal Stem Cells in a Rabbit Calvarial Bone Defect Model. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019;20(20):5015. DOI: 10.3390/ijms20205015

6. Janko M, Sahn J, Schaible A, Brune JC, Bellen M, Schroder K, Seebach C, Marzi I, Henrich D. Comparison of three different types of scaffolds preseeded with human bone marrow mononuclear cells on the bone healing in a femoral critical size defect model of the athymic rat. *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*. 2018;12(3):653–666. DOI: 10.1002/term.2484

7. Haneef K, Ali A, Khan I, Naeem N, Jamall S, Salim A. Role of IL-7 in Fusion of Rat Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells with Cardiomyocytes in vitro and Improvement of Cardiac Function in vivo. *Cardiovascular Therapeutics*. 2018;36(6):12479. DOI: 10.1111/1755-5922.12479.22

8. Kolk A, Boskov M, Haidari S, Tischer T, van Griensven M, Bissinger O, Plank CJ. Comparative analysis of bone regeneration behavior using recombinant human BMP-2 versus plasmid DNA of BMP-2. *Journal of Biomedical Materials Research. Part A*. 2019;107(1):163–173 DOI:10.1002/jbm.a.36545

9. Ishida W, Ramhmdani S, Xia Y, Kosztowski TA, Xu R, Choi J, De la Garza Ramos R, Elder BD, Theodore N, Gokaslan ZL, Sciubba DM, Witham TF, Bydon A, Wolinsky JP, Lo SL. Use of Recombinant Human Bone Morphogenetic Protein-2 at the C1-C2 Lateral Articulation without Posterior Structural Bone Graft in Posterior Atlantoaxial Fusion in Adult Patients. *World Neurosurgery*. 2019;123(1):69–76. DOI: 10.1016/j.wneu.2018.11.037. Epub 2018 Nov 15. PMID: 30448576

10. Rolvien T, Barbeck M, Wenisch S, Amling M, Krause M. Cellular Mechanisms Responsible for Success and Failure of Bone Substitute Materials. *International Journal of Molecular Sciences*. 2018;19(10):2893. DOI: 10.3390/ijms19102893. PMID: 30249051; PMCID: PMC6213546

11. Li G, Li P, Chen Q, Thu H., Hussain Z. Current updates on bone grafting biomaterials and recombinant human growth factors implanted biotherapy for spinal fusion: A review of human clinical studies. *Current Drug Delivery*. 2019;16(2):94–110. DOI:10.2174/1567201815666181024142354

12. Morris MT, Tarpada SP, Cho W. Bone graft materials for posterolateral fusion made simple: a systematic review. *European Spine Society*. 2018;27(8):1856–1867. DOI: 10.1007/s00586-018-5511-5516

13. Berebichez-Fridman R, Gómez-García R, Granados-Montiel J, Berebichez-Fastlicht E, Olivos-Meza A, Granados J, et al. The Holy Grail of Orthopedic Surgery: Mesenchymal Stem Cells—Their Current Uses and Potential Applications. *Stem Cells International*. 2017;(1):1–14. DOI: 10.1155/2017/2638305

14. Орлов АА, Сабурин ИИ, Сысоев СД, Григорьян АС. Влияние трансплантации аутогенных мезенхимальных стволовых клеток из жировой ткани на течение остеогенетического процесса (экспериментальное исследование). *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2014;58(1):3–7. [Orlov AA, Saburina IN, Sysoev SD, Grigor'yan AS. Influence of autogenous mesenchymal stem cell transplantation from adipose tissue on the course of the osteogenetic process (experimental study). *Pathological Physiology and Experimental therapy*. 2014;58(1):3–7. (In Russian)]

15. Fabre H, Ducret M, Degoul O, Rodriguez J, Perrier-Groult E, Aubert-Foucher E. Characterization of Different Sources of Human MSCs Expanded in Serum-Free Conditions with Quantification of Chondrogenic Induction in 3D. *Stem Cells International*. 2019;(2019):1–19. DOI: 10.1155/2019/2186728

16. Dominici M, Le Blanc K, Mueller I, Slaper-Cortenbach I, Marini FC, Krause DS. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy*. 2006;8(4): 315–317. DOI: 10.1080/14653240600855905

17. Leach JK, Whitehead J. Materials-Directed Differentiation of Mesenchymal Stem Cells for Tissue Engineering and Regeneration. *ACS Biomaterials Science and Engineering*. 2018;4(4):1115–1127. DOI: 10.1021/acsbiomaterials.6b00741

18. Orciani M, Fini M, Di Primio R, Mattioli-Belmonte M. Biofabrication and Bone Tissue Regeneration: Cell Source, Approaches, and Challenges. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 2017;(5): 17. DOI: 10.3389/fbioe.2017.00017

19. Iaquinta MR, Mazzoni E, Bononi I, Rotondo JC, Mazziotta C, Montesi M. Adult Stem Cells for Bone Regeneration and Repair. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. 2019;(7): 268. DOI: 10.3389/fcell.2019.00268

20. Шерегий АА, Полянский ПА, Харитонов ЗБ. Применение аутологического костного мозга в лечении переломов замедленной консолидации. *Медицина транспорта Украины*. 2012;(3):038-041. [Sheregij AA, Polyanskiy PA, Haritonova ZB. *Medicine of transport of Ukraine*. 2012;(3):038-041. (In Russian)]

21. Aghajanian P, Mohan S. The art of building bone: emerging role of chondrocyte-to-osteoblast transdifferentiation in endochondral ossification. *Bone Research*. 2018;6(1): 19. DOI: 10.1038/s41413-018-0021-z

22. Janicki P, Kasten P, Kleinschmidt K, Luginbuehl R, Richter W. Chondrogenic pre-induction of human mesenchymal stem cells on β -TCP: Enhanced bone quality by endochondral heterotopic bone formation. *Acta Biomaterialia*. 2010;6(8):3292–3301. DOI: 10.1016/j.actbio.2010.01.037

23. Farrell E, Both SK, Odörfer KI, Koevoet W, Kops N, O'Brien FJ, Baatenburg de Jong R J, Verhaar JA, Cuijpers V, Jansen J, Erben R G van Osch G JVM. In vivo generation of bone via endochondral ossification by

in-vitro chondrogenic priming of adult human and rat mesenchymal stem cells. *BMC Musculoskeletal Disorders*. 2011;12(1): 31. DOI: 10.1186/1471-2474-12-31

24. Osinga R, Maggio N, Todorov A, Allafi N, Barbero A, Laurent F, Johannes D, Schaefer, M, Scherberich A. Generation of a Bone Organ by Human Adipose Derived Stromal Cells Through Endochondral Ossification. *Stem Cells Translational Medicine*. 2016;5(8): 1090–1097. DOI: 10.5966/sctm.2015-0256

25. Tasso R, Augello A, Carida' M, Postiglione F, Tibiletti M, Bernasconi B, Astigiano S, Fais F, Truini M, Cancedda R, Pennesi G. Development of sarcomas in mice implanted with mesenchymal stem cells seeded onto bioscaffolds. *Carcinogenesis*. 2009; 30(1):150–157. DOI: 10.1093/carcin/bgn23

26. Предеин ЮА, Рерих ВВ. Костные и клеточные импланты для замещения дефектов кости. *Современные проблемы науки и образования*. 2016; (6). [Predein YA, Rerih VV. Bone and cellular implants for the replacement of bone defects. *Modern Problems of Science and Education*. 2016;(6). (In Russian)]

27. Marcacci M, Kon E, Moukhachev V, Lavroukov A, Kutepov S, Quarto R, Mastrogiacomio M, Cancedda R. Stem cells associated with macroporous bioceramics for long bone repair: 6- to 7-year outcome of a pilot clinical study. *Tissue Engineering*. 2007;13(5):947-955. DOI: 10.1089/ten.2006.0271

28. Quarto R, Mastrogiacomio M, Cancedda R, Kutepov S, Mukhachev V, Lavroukov A, Kon E, Marcacci M. Repair of large bone defects with the use of autologous bone marrow stromal cells. *New England Journal of Medicine*. 2001;344(5):385-386. DOI: 10.1056/NEJM2001020134405

29. Šponer P, Filip S, Kučera T, Brtková J, Urban K, Palička V, Kočí Z, Syka M, Bezrouk A, Syková E. Utilizing Autologous Multipotent Mesenchymal Stromal Cells and β -Tricalcium Phosphate Scaffold in Human Bone Defects: A Prospective, Controlled Feasibility Trial. *Biomedical Research International*. 2016;(2016):2076061. DOI: 10.1155/2016/2076061

30. Šponer P, Kučera T, Brtková J, Urban K, Kočí Z, Měřička P, Bezrouk A, Konrádová Š, Filipová A, Filip S. Comparative Study on the Application of Mesenchymal Stromal Cells Combined with Tricalcium Phosphate Scaffold into Femoral Bone Defects. *Cell Transplant*. 2018;27(10):1459-1468. DOI: 10.1177/0963689718794918

31. Wong KL, Lee KB, Tai BC, Law P, Lee EH, Hui JH. Injectable cultured bone marrow-derived mesenchymal stem cells in varus knees with cartilage defects undergoing high tibial osteotomy: a prospective, randomized controlled clinical trial with 2 years' follow-up. *Arthroscopy*. 2013;29(12):2020-2028. DOI: 10.1016/j.arthro.2013.09.074. PMID: 24286801

32. Koh YG, Kwon OR, Kim YS, Choi YJ, Tak DH. Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells With Microfracture Versus Microfracture Alone: 2-Year Follow-up of a Prospective Randomized Trial. *Arthroscopy*. 2016; 32(1):97-109. DOI: 10.1016/j.arthro.2015.09.010

33. Kiernan CH, Wolvius EB, Brama PA, Farrell E. The immune response to allogeneic differentiated mesenchymal stem cells in the context of bone tissue engineering. *Tissue Engineering Part A*. 2018; 24(1): 75–83. DOI: 10.1089/ten.teb.2017.0175

34. Mohamed SA, Howard L, McInerney V, Hayat A, Krawczyk J, Naughton S, Finnerty A, Holohan M, Duffy A, Moloney T, Kavanagh E, Burke P, Liew A, Tubassam M, Walsh SR, O'Brien T Autologous bone marrow mesenchymal stromal cell therapy for “no-option” critical limb ischemia is limited by karyotype abnormalities. *Cytotherapy*. 2020;22(6):313-321. DOI: 10.1016/j.jcyt.2020.02.007.

35. Gothard D, Smith E, Kanczler J, Rashidi H, Qutachi O, Henstock J, Rotherham M, Haj A, Shakesheff K, Orefo R. Tissue engineered bone using select growth factors: a comprehensive review of animal studies and clinical translation studies in man. *European Cells and Materials*. 2014; (28): 166–207, DOI: 10.22203/ecm.v028a13

36. Ong KL, Villarraga ML, Lau E, Carreon LY, Kurtz SM, Glassman SD. Off-Label Use of Bone Morphogenetic Proteins in the United States Using Administrative Data. *Spine*. 2010;35(19): 1794–1800. DOI: 10.1097/BRS.0b013e3181ecf6e4

37. James AW, LaChaud G, Shen J, Asatrian G, Nguyen V, Zhang X, Ting K, Soo Ch. A Review of the Clinical Side Effects of Bone Morphogenetic Protein-2. *Tissue Engineering Part B: Reviews*. 2016;22(4): 284–297. DOI: 10.1089/ten.teb.2015.0357

38. The Major Extremity Trauma Research Consortium (METRC) A Randomized Controlled Trial Comparing rhBMP-2/Absorbable Collagen Sponge Versus Autograft for the Treatment of Tibia Fractures With Critical Size Defects. *Journal of Orthopaedic Trauma*. 2019; 33(8): 384-391. DOI: 10.1097/BOT.0000000000001492

39. Yin F, Sun Z, Yin Q, Song S, Gu S, Rui Y. Treatment of thoracolumbar burst fractures with short-segment pedicle instrumentation and recombinant human bone morphogenetic protein 2 and allogeneic bone grafting in injured vertebra. *Chinese Journal of Reparative and Reconstructive Surgery*. 2017;31(9):1080-1085. DOI: 10.7507/1002-1892.201703065

40. Mesfin A, Buchowski JM, Zebala LP, Bakhsh WR, Aronson AB, Fogelson JL, Hershman S, Kim HJ, Ahmad A, Bridwell KH. High-dose rhBMP-2 for adults: major and minor complications: a study of 502 spine cases. *The Journal of Bone and Joint Surgery*. 2013;95(17):1546-1553. DOI: 10.2106/JBJS.L.01730. PMID: 24005194

41. Fu R, Selph S, McDonagh M, Peterson K, Tiwari A, Chou R, Helfand M. Effectiveness and harms of recombinant human bone morphogenetic protein-2 in spine fusion: a systematic review and meta-analysis. *American College of Physicians--American Society of Internal Medicine*. 2013;158(12):890-902. DOI: 10.7326/0003-4819-158-12-201306180-00006. PMID: 23778906

42. Knippenberg M, Helder MN, Zandieh Doulabi B, Wuisman P, Klein-Nulend J. Osteogenesis versus chondrogenesis by BMP-2 and BMP-7 in adipose stem cells.

- Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2006;342(3): 902–908. DOI: 10.1016/j.bbrc.2006.02.052
43. Gohil SV, Kuo CL, Adams DJ, Maye P, Rowe DW, Nair L. Evaluation of the donor cell contribution in rhBMP-2 mediated bone formation with chitosan thermogels using fluorescent protein reporter mice: donor cell contribution in bone formation. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*. 2016;104(4): 928–941. DOI: 10.1002/jbm.a.35634
44. Kim BS, Choi MK, Yoon JH, Lee J. Evaluation of bone regeneration with biphasic calcium phosphate substitute implanted with bone morphogenetic protein 2 and mesenchymal stem cells in a rabbit calvarial defect model. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology*. 2015;120(1): 2–9. DOI: 10.1016/j.oooo.2015.02.017
45. Decambren A, Devriendt N, Larochette N, Manassero M, Bourguignon M, El-Hafci H. Effect of the Bone Morphogenetic Protein-2 Doses on the Osteogenic Potential of Human Multipotent Stromal Cells- Containing Tissue Engineered Constructs. *Tissue Engineering Part A*. 2019;25(7–8): 642–651. DOI: 10.1089/ten.tea.2018.0146
46. Hu K, Olsen B. Osteoblast-derived VEGF regulates osteoblast differentiation and bone formation during bone repair. *Journal of Clinical Investigation*. 2016;126(2): 509–526. DOI: 10.1172/JCI82585
47. Fahimipour F, Rasoulianboroujeni M, Dashtimoghdam E, Khoshroo K, Tahriri M, Bastami F, Lobner D, Tayebi L. 3D printed TCP-based scaffold incorporating VEGF-loaded PLGA microspheres for craniofacial tissue engineering. *Dental materials: official publication of the Academy of Dental Materials*. 2017;33(11):1205–1216. DOI: 10.1016/j.dental.2017.06.016
48. Vo TN, Kasper FK, Mikos AG. Strategies for controlled delivery of growth factors and cells for bone regeneration. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2012;64(12): 1292–309. DOI: 10.1016/j.addr.2012.01.016
49. Ogilvie CM, Lu C, Marcucio R, Lee M, Thompson Z, Hu D, Helms JA, Miclau T. Vascular endothelial growth factor improves bone repair in a murine nonunion model. *University of Iowa Department of Orthopaedics*. 2012;(32):90–4.
50. Wang Z, Sun J, Li Y, Chen C, Xu Y, Zang X, Li L, Meng K. Experimental study of the synergistic effect and network regulation mechanisms of an applied combination of BMP-2, VEGF, and TGF- β 1 on osteogenic differentiation. *Journal of Cellular Biochemistry*. 2020;121(3): 2394–2405. DOI: 10.1002/jcb.29462
51. Sharma S, Sapkota D, Xue Y, Rajthala S, Yassin MA, Finne-Wistrand A, Mustafa K. Delivery of VEGFA in bone marrow stromal cells seeded in copolymer scaffold enhances angiogenesis, but is inadequate for osteogenesis as compared with the dual delivery of VEGFA and BMP2 in a subcutaneous mouse model. *Stem Cell Research and Therapy*. 2018;9(1): 23. DOI: 10.1186/s13287-018-0778-4
52. Xu L, Lv K, Zhang W, Zhang X, Jiang X, Zhang F. The healing of critical-size calvarial bone defects in rat with rhPDGF-BB, BMSCs, and β -TCP scaffolds. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. 2012;23(4): 1073–1084. DOI: 10.1007/s10856-012-4558
53. Luvizuto E, Tangl S, Dobsak T, Reich K, Gruber R, Sonoda CK, Okamoto R. Effect of recombinant PDGF-BB on bone formation in the presence of β -tricalcium phosphate and bovine bone mineral matrix: a pilot study in rat calvarial defects. *BMC Oral Health*. 2016; 16(1): 52. DOI: 10.1186/s12903-016-0210-3
54. Daniels TR, Younger AS, Penner MJ, Wing KJ, Le IL, Russell IS, Lalonde KA, Evangelista PT, Quiton JD, Glazebrook M, DiGiovanni CW. Prospective Randomized Controlled Trial of Hindfoot and Ankle Fusions Treated With rhPDGF-BB in Combination With a β -TCP-Collagen Matrix. *Foot and Ankle International*. 2015;36(7):739–748. DOI: 10.1177/1071100715576370
55. Digiovanni CW, Baumhauer J, Lin SS, Berberian WS, Flemister AS, Enna MJ, Evangelista P, Newman J. Prospective, randomized, multi-center feasibility trial of rhPDGF-BB versus autologous bone graft in a foot and ankle fusion model. *Foot and Ankle International*. 2011;32(4):344–354. DOI: 10.3113/FAI.2011.0344
56. Алексеев АА, Бобровников АЭ. Местное применение стимуляторов регенерации для лечения ран. *Комбустиология*. 2010;(41):5–15. [Alekseev AA, Bobrovnikov AE. Local application of stimulators of regeneration for treatment of wounds. *Combustiology*. 2010;(41):5–15. (In Russian)]
57. Малыгина МА, Боровкова НВ, Сахарова ОМ, Пономарев ИН. Применение богатой тромбоцитами плазмы при заболеваниях и повреждениях опорно-двигательного аппарата. *Трансплантология*. 2017; 9(4):325–334. [Malygina MA, Borovkova NV, Saharova OM, Ponomarev IN. The use of platelet-rich plasma in diseases and injuries of the musculoskeletal system. *Transplantation*. 2017;9(4):325–334. (In Russian)]
58. Родин ИА, Киселёв ИГ, Вишневская ЛП, Родин МИ. Стимуляция остеорегенерации с помощью PRP-терапии. *Известия Оренбургского государственного аграрного университета*. 2018;(3):186–190. [Rodin IA, Kiselyov IG, Vishniveckaya LP, Rodin MI. Stimulation of osteoregenerative with the help of PRP therapy. *Proceedings of the Orenburg state agrarian University*. 2018;(3):186–190. (In Russian)]
59. Ваза АЮ, Боровкова НВ, Макаров МС, Файн АМ, Пономарев ИН. Стимуляция остеогенеза инъекционной формой трансплантата из коллагена I типа и богатой тромбоцитами плазмы в эксперимент. *Гены и Клетки*. 2017;(3):53–54. [Vaza A.Y, Borovkova NV, Makarov MS, Fajn AM, Ponomarev IN. Stimulation of osteogenesis by injecting a type 1 collagen graft and platelet-rich plasma into cells. *Genes and Cells*. 2017;(3):53–54. (In Russian)]
60. Блаженко АН, Родин ИА, Понкина ОН, Муханов МЛ, Самойлова АС, Веревкин АА, Очкась ВВ, Алиев РР. Влияние А-PRP-терапии на репаративную регенерацию костной ткани при свежих переломах костей конечностей. *Инновационная медицина Кубани*.

2019;(3):32- 38. [Blazhenko AN, Rodin IA, Ponkina ON, Muhanov ML, Samojlova AS, Verevkin AA, Ochkas' VV, Aliev RR. The effect of A-PRP therapy on the reparative regeneration of bone tissue in fresh limb bone fractures. *Innovative Medicine of Kuban*. 2019;(3):32-38. (In Russian)] DOI: 10.35401/2500-0268-2019-15-3-32-38

61. Силантьева ТА, Краснов ВВ. Влияние локально-го комплексного введения аутологичной плазмы крови, аскорбиновой кислоты и глюкозы на заживление переломов таза в эксперименте. *Вестник травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова*. 2014;(1): 45-51 [Silant'eva TA, Krasnov VV. The effect of local complex administration of autologous plasma, ascorbic acid and glucose on the healing of pelvic fractures in the experiment. *Bulletin of Traumatology and Orthopedics named after N. N. Priorov*. 2014;(1): 45-51. (In Russian)]

62. Macule-Beneyto F, Segur-Vilalta J, Vilchez-Cava-zos F, Esteban-Navarro P, Vidal-Sicart S, Acosta-Olivo C. Bone defects in revision knee arthroplasty: filling with bone allograft plus platelet-derived growth factors. *Cirugía y Cirujanos*. 2014;82(4):395-401.

63. Cervellin M, de Girolamo L, Bait C, Denti M, Volpi P. Autologous platelet-rich plasma gel to reduce donor-site morbidity after patellar tendon graft harvesting for anterior cruciate ligament reconstruction: a randomized, controlled clinical study. *Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy*. 2012;20(1):114-120. DOI: 10.1007/s00167-011-1570-5

64. Franchini M, Cruciani M, Mengoli C, Masiello F, Marano G, D'Aloja E, Dell'Aringa C, Pati I, Veropalumbo E, Pupella S, Vaglio S, Liumbruno GM. The use of platelet-rich plasma in oral surgery: a systematic review and meta-analysis. *Blood Transfusion = Trasfusione del sangue*. 2019;17(5):357-367. DOI: 10.2450/2019.0177-19

65. Reible B, Schmidmaier G, Moghaddam A, Westhauser F. Insulin-Like Growth Factor-1 as a Possible Alternative to Bone Morphogenetic Protein-7 to Induce Osteogenic Differentiation of Human Mesenchymal Stem Cells in Vitro. *International Journal of Molecular Sciences*. 2018;19(6): 1674. DOI: 10.3390/ijms19061674

66. Ochiai H, Okada S, Saito A, Hoshi K, Yamashita H, Takato T, Azuma T. Inhibition of insulin-like growth factor-1 (IGF-1) expression by prolonged transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1) administration suppresses osteoblast differentiation. *The Journal of Biological Chemistry*. 2012; 287(27): 22654–22661. DOI: 10.1074/jbc.m111.279091

67. Marzona L, Pavolini B. 2009. Play and players in bone fracture healing match. Clinical cases in mineral and bone metabolism. *The official journal of the Italian Society of Osteoporosis, Mineral Metabolism, and Skeletal Diseases*. 2009; 6(2): 159–162.

68. 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): 18. DOI: 10.1186/1749-799X-9-18

69. Myers TJ, Yan Y, Granero-Molto F, Weis JA, Longobardi L, Li T, Li Y, Contaldo C, Ozkan H, Spagnoli A.

Systemically delivered insulin-like growth factor-I enhances mesenchymal stem cell-dependent fracture healing. *Growth Factors*. 2012;30(4): 230–241. DOI: 10.3109/08977194.2012.683188

70. Bourgue W, Gross M, Hall B. Expression of four growth factors during fracture repair. *The International Journal of Developmental Biology*. 1993;37(4): 573-579.

71. Казакова ВС, Новиков ОО, Жилиякова ЕТ. Перспективы использования факторов роста в восстановлении костной ткани. Обзор литературы. *Научные результаты биомедицинских исследований*. 2015;1(3):151-158. [Kazakova VS, Novikov OO, Zhilyakova ET, et al. Prospects for the use of growth factors in bone tissue regeneration. Literature review. *Research Result. Medicine and Pharmacy Series*. 2015;1(3):151-158. (In Russian)] DOI: 10.18413/2313-8955-2015-1-3-151-158

72. Zhang H, Ahmad M, Gronowicz G. Effects of transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1) on in vitro mineralization of human osteoblasts on implant materials. *Biomaterials*. 2003; 24(12): 2013–2020. DOI: 10.1016/S0142-9612(02)00616-6

73. Kaji H, Naito J, Sowa H, Sugimoto T, Chihara K. Smad3 differently affects osteoblast differentiation depending upon its differentiation stage. *Hormon- und Stoffwechselforschung*. 2006; 38(11):740–745. DOI: 10.1055/s-2006-955085

74. Ochiai H, Yamamoto Y, Yokoyama A, Yamashita H, Matsuzaka K, Abe S, Azuma T. Dual nature of TGF- β 1 in osteoblastic differentiation of human periodontal ligament cells. *The Hard Tissue Biology Network Association*. 2010; 19(3): 187–191. DOI: 10.2485/jhtb.19.187

Сведения об авторах

Конов Владимир Александрович, к. м. н., научный сотрудник отделения профилактики и лечения раневой инфекции; врач травматолог - ортопед отделения № 1 НМИЦТО им. Р. Р. Вредена; адрес: Российская Федерация, 19542, Санкт-Петербург, ул. Академика Байкова, д. 8; тел.: (812) 6709511; e-mail: vladimirkonev24@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8728-6491>

Лабутин Дмитрий Владимирович, младший научный сотрудник отделением профилактики и лечения раневой инфекции НМИЦТО им. Р. Р. Вредена; адрес: Российская Федерация, 19542, Санкт-Петербург, ул. Академика Байкова, д. 8; тел.: (812) 6709511; e-mail: mailbox@dlabutin.com, <https://orcid.org/0000-0002-4405-7688>

Божкова Светлана Анатольевна, д. м. н., заведующая научным отделением профилактики и лечения раневой инфекции; адрес: Российская Федерация, 19542, Санкт-Петербург, ул. Академика Байкова, д. 8; тел.: (812) 6709511; e-mail: clinpharm-rniito@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2083-2424>

Author information

Vladimir A. Konev, Cand. of Med. Sci., researcher of the Department of Prevention and Treatment of Wound Infection; traumatologist-orthopedist of the Department № 1 of the R. R. Vreden National Medical Research Center. Address: Akademika Baykova str., 8, Saint Petersburg, Russian Federation 19542; Phone: (812) 6709511; e-mail: vladimirkonev24@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8728-6491>

Dmitry V. Labutin, Junior Researcher of the Department of Prevention and Treatment of Wound Infection of the R. R. Vreden National Medical Research Center. Address: Akademika Baykova str., 8, Saint Petersburg, Russian Federation 19542; Phone: (812) 6709518; e-mail: mailbox@dlabutin.com, <https://orcid.org/0000-0002-4405-7688>

Svetlana A. Bozhkova, Dr. of Med. Sci., Head of the Scientific Department of Prevention and Treatment of Wound Infection Address: Akademika Baykova str., 8, Saint Petersburg, Russian Federation 19542; Phone: (812) 6709518; e-mail: clinpharm-rniito@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2083-2424>

Дата поступления 03.06.2021

Дата рецензирования 16.06.2021

Принята к печати 21.06.2021

Received 03 June 2021

Revision Received 16 June 2021

Accepted 21 June 2021