

ВОЗМОЖНОСТИ И ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ СКАФФОЛД-ТЕХНОЛОГИЙ ДЛЯ РЕГЕНЕРАЦИИ КОСТНОЙ ТКАНИ

© А. Н. Иванов,¹ И. А. Норкин, Д. М. Пучиньян

Саратовский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии Минздрава РФ;

¹ электронный адрес: lex558452@rambler.ru

Обзор посвящен одному из актуальных вопросов тканевой инженерии — созданию и внедрению биоматериалов, способных замещать и восстанавливать дефекты костной ткани. Представлены современные данные о возможностях применения скаффолд-технологий в регенерации костной ткани. Изложены основные параметры и свойства, предъявляемые к современным скаффолд-системам. Приведены результаты экспериментальных исследований, посвященных применению матриц в условиях *in vitro* и *in vivo*. Показаны преимущества и недостатки различных материалов, а также их сочетаний, используемых для изготовления скаффолдов. Особое внимание уделено системам адресной доставки и регулируемого выделения факторов, стимулирующих регенерацию костной ткани.

Ключевые слова: скаффолды, регенерация костной ткани, факторы роста.

Принятые сокращения: BMP-2 и BMP-7 — костные морфогенетические белки 2 и 7 соответственно (bone morphogenetic protein), BSP — костный сиалопротеин, FGF — фактор роста фибробластов, IGF — инсулиноподобный фактор роста, PDGF-B — фактор роста тромбоцитов-В, TGF- β 1 — трансформирующий фактор роста бета-1, VGEF — фактор роста эндотелия сосудов.

Создание и внедрение биоматериалов, способных замещать или восстанавливать дефекты ткани, является одной из актуальных современных проблем мультидисциплинарных биомедицинских и клинических исследований (Grayson et al., 2009). Основной целью тканевой инженерии является развитие технологий создания структурно-функциональных заменителей, трехмерная структура которых соответствует поврежденным тканям. Это достигается созданием тканеинженерных конструкций, представляющих собой клетки, помещенные на скаффолды (Grayson et al., 2009; Dvir et al., 2011). Функциональное назначение скаффолов заключается в создании структурной поддержки (обеспечении прикрепления и миграции клеток), оптимальных условий для метаболизма и дифференцировки клеток, возможностей васкуляризации и ремоделирования регенерирующей ткани. Кроме того, скаффолд позволяет моделировать биомеханические свойства имплантируемой конструкции (эластичность, прочность) (Chan, Leong, 2008). Поэтому создание скаффолов, или матриков, является одним из ключевых моментов тканевой инженерии (Freed et al., 2006).

Важно отметить, что в процессе имплантации скаффолов, заселенных стволовыми клетками, происходит активная перестройка матрицы, что было показано в экспериментах с применением матриков на основе фиброна шелка при регенерации костной ткани. Мезенхимные стволовые клетки человека на скаффолдах из фиброна шелка в условиях *in vitro* образовывали костеподобные структуры (губчатого или пластинчатого типа). Через 8 нед после имплантации инженерной костной ткани в область дефектов свода черепа у мышей отмечались реге-

нерация костей и закрытие дефекта (Hofmann et al., 2013). Авторы отмечают, что независимо от диаметра пор все имплантаты были хорошо интегрированы и васкуляризованы. Тип костной структуры, генерированный в пробирке (губчатая или пластинчатая кость), не оказал существенного влияния на заживление дефекта свода черепа вследствие эффективной реконструкции его структуры после имплантации (Hofmann et al., 2013).

В силу медицинского предназначения скаффолды должны обладать рядом следующих свойств: 1) высокой пористостью, сочетающейся с механической стабильностью, для обеспечения возможности васкуляризации и нормального метаболизма ткани (Healy, Guldberg, 2007); 2) жесткостью, соответствующей механическим свойствам тканей организма, так как это влияет на дифференцировку клеток (Discher et al., 2005; Яременко и др., 2011); 3) отсутствием токсичности для обеспечения биосовместимости как с имплантируемыми клеточными компонентами, так и тканями реципиента (Kathuria et al., 2009); 4) способностью к биодеградации для обеспечения роста ткани и ее васкуляризации (Schilling et al., 2013); 5) биологической активностью компонентов для облегчения регенерации за счет использования матрицы в качестве средства доставки или резервуара для экзогенных факторов роста (Ko et al., 2010; Zhao et al., 2013).

В настоящее время ведется активное изучение возможности применения скаффолд-технологий в регенерации костной и хрящевой тканей. Для регенерации костной ткани были предложены скаффолды из различных материалов природного происхождения (хитозана, коллагена, альгината, агарозы и др.) и синтетического (полиме-

ров молочной и полигликолевой кислот, поликапролактона) (Ko et al., 2010; Martel-Estrada et al., 2012).

Каждый из материалов, используемых для создания скафболдов, имеет свои характерные преимущества и недостатки. Матриксные материалы для остеогенерации, изготовленные на основе гидроксиапатита, вызывают интерес в связи с их сходством с костной тканью, а также вследствие присущей им биосовместимости и остеокондуктивности. Скафболды на основе гидроксиапатита пригодны для адгезии остеобластов. Но их недостатками являются низкая скорость резорбции в условиях организма, а также хрупкость, особенно при высокой пористости матрикса (Smith et al., 2009). Механическая прочность хитозана тоже относительно невелика, кроме того, он имеет склонность к набуханию. Стволовые клетки и белки плохо адгируют к альгинату. В то же время композитные скафболды на основе комплекса хитозан—альгинат пре-восходят по механическим характеристикам один хитозан, а по адгезивным свойствам — один альгинат (Florczyk et al., 2011).

Целый ряд исследований свидетельствует о высокой эффективности композитных скафболдов в регенерации костной ткани (Chesnutt et al., 2009a, 2009b, Liao et al., 2010). Так, было показано эффективное применение композитных скафболдов на основе хитозана и желатина для культивирования мезенхимных стволовых клеток костного мозга с целью имплантации в дефекты альвеолярных отростков костей челюсти. Обнаружено, что композитный матрикс с мезенхимными стволовыми клетками способствует костной регенерации, увеличению минерализации кости, а также васкуляризации, при этом отмечено полное рассасывание матрицы (Miranda et al., 2012).

Для того чтобы улучшить структурные свойства и биодеградацию минеральных материалов на основе гидроксиапатита, их объединяют с рядом природных и синтетических полимеров. Результаты исследований свидетельствуют о том, что гибридные скафболды из гидроксиапатита и хитозана способствуют регенерации костной ткани, поддерживая адгезию и пролиферацию мезенхимных стволовых клеток как *in vitro*, так и *in vivo* (Liu et al., 2013). Преимущества комбинирования гидроксиапатита с природными и (или) синтетическими полимерами при создании скафболдов заключаются в улучшении управления конструктивными параметрами, такими как пористость и биодеградация. Так, пористость матриксов гидроксиапатита составляет менее 70 %, а включение в состав скафболдов полимеров позволяет увеличить ее до 90 % (Smith et al., 2006). При этом следует отметить, что экспрессия генов остеогенных маркеров в 2 раза выше у клеток, культивируемых на композитных скафболдах из гидроксиапатита и хитозана, по сравнению с матриксом из чистого хитозана (Frohbergh et al., 2012). Таким образом, одним из перспективных направлений развития скафболд-технологий является создание гибридов, или композитных матриксов, так как они в ряде случаев имеют лучшие характеристики, чем моно-компонентные матриксы.

Скафболды на основе хитозана и гидроксиапатита обладают высокой биомимикрией с иерархически организованной естественной костной тканью. В то же время трехкомпонентные матрицы на основе хитозана, коллагена и гидроксиапатита в большей степени способствуют пролиферации остеобластов, экспрессии ими щелочной фосфатазы и минерализации по сравнению с двухкомпонентными скафболдами (хитозан—гидроксиапатит,

коллаген—гидроксиапатит) (Zhang et al., 2010). На трехкомпонентных скафболдах из хитозана, желатина и гидроксиапатита адгезия и пролиферация клеток более активны, чем на двухкомпонентных (Isikli et al., 2012).

Для регенерации костной ткани немаловажное значение имеют механические свойства скафболдов. Показано, что введение в состав скафболдов на основе капролактона и гидроксиапатита углеродных нанотрубок позволяет увеличить прочность в 1,5, а упругость — в 2 раза. При этом клеточные культуры лучше адгезируют и пролиферируют на композитных скафболдах, чем на капролактоновой матрице. Кроме того, обнаружено, что при имплантации крысам композитные скафболды не вызывают значительной воспалительной реакции и хорошо васкуляризуются (Dorj et al., 2013).

Таким образом, одним из способов управления свойствами скафболда является комбинация в его составе различных материалов природного и синтетического происхождения. С целью исключения нежелательных характеристик и использования преимуществ отдельных материалов в настоящее время создаются различные матриксы, состоящие из двух или более компонентов. Особенностью скафболдов, используемых для регенерации костной ткани, является включение в их состав минеральных компонентов, которые позволяют улучшить конструктивные параметры и механические свойства матрикса.

В состав многокомпонентных скафболд-систем входит ряд биологически активных веществ, которые способствуют росту и дифференцировке имплантированных клеток (Chan, Leong, 2008). Так, эксперименты демонстрируют высокую эффективность гибридных скафболдов на основе хитозана и гидроксиапатита в регулировании высвобождения лекарственных средств и, следовательно, их способности служить в качестве временного носителя фармакологических препаратов, используемых в регенерации тканей (Teng et al., 2009). Оказалось, что наличие остеогенных добавок (аскорбиновой кислоты, β -глицерофосфата и др.) в гидроксиапатит-хитозановых скафболдах увеличивает экспрессию генов коллагена I типа, щелочной фосфатазы и остеокальцина в мышиных мезенхимных стволовых клетках, культивируемых на этих матрицах. Кроме того, повышение экспрессии этих генов сочетается с увеличением секреции щелочной фосфатазы и коллагена (Peng et al., 2012).

Отдельного внимания заслуживают скафболды, содержащие и постепенно высвобождающие остеоиндуktивные факторы роста, такие как BMP-2 и BMP-7 (костные морфогенетические белки 2 и 7 соответственно), BSP (костный сиалопротеин), TGF- β 1 (трансформирующий фактор) и др. В частности, для регенерации костной ткани были использованы скафболды на основе коллагена, содержащие BMP-2 и BSP (Kruger et al., 2013). Показано, что через 4 нед после имплантации матрицы на основе тио-хитозана, содержащие BMP-2, усиливают формирование кости в естественных условиях в большей степени (в 1,8 раза), чем скафболды из коллагена, содержащие BMP-2; при этом минеральная плотность костной ткани не зависит от использования носителя (коллагена или тио-хитозана) для BMP-2 (Bae et al., 2013).

Для доставки остеоиндуktивных факторов роста активно создаются гибридные скафболды. Показано, что супрамолекулярная интеграция в коллагеновую матрицу амфи菲尔ных нановолокон позволяет при более низкой дозе BMP-2 добиваться более эффективной полноценной

и быстрой регенерации костного дефекта бедренной кости у крыс (Lee et al., 2013). Увеличения эффективности адресной доставки BMP-2 можно добиться, используя скаффолды, состоящие из хитозановых микросфер, интегрированных в коллагеновую матрицу. При этом композитный скаффолд (из хитозана и коллагена) превосходит коллагеновый аналог в регенерации костной ткани у кроликов (Hou et al., 2012).

Важным свойством подобных матриксных систем является медленное высвобождение ростовых факторов. Обнаружено, что включение BMP-2 в состав скаффолов из апатита и коллагена значительно увеличивает активность щелочной фосфатазы культивируемых на этой матрице остеобластов. Апатит-коллагеновые скаффолды выделяют BMP-2 медленнее, чем коллагеновые, что приводит к увеличению объема кости в 2.5 раза и свидетельствует о более выраженному остеоактивном действии (Yang et al., 2011).

Синтетические полимеры обладают большими возможностями локального высвобождения факторов роста из-за их простой обработки и легкости моделирования физических, химических и механических свойств (Vo et al., 2012). Гепаринконъюгированные скаффолды из полилактида и гликоглида сохраняют способность выделять BMP-2 и стимулировать увеличение активности щелочной фосфатазы остеобластов на протяжении не менее 14 сут в условиях *in vitro*. Исследования формирования кости *in vivo* свидетельствуют о том, что наличие BMP-2 в этом скаффолде увеличивает как объем, так и минерализацию образующейся кости (Jeon et al., 2007).

При использовании синтетических скаффолов для контролируемого высвобождения факторов роста могут возникать некоторые проблемы в отношении скорости деградации и плохой очистки высокомолекулярных полимеров (Vo et al., 2012). Создание композитных матриксов на основе естественных и синтетических материалов помогает обеспечить требуемые характеристики для контролируемого высвобождения функциональных белков и восстановления костной ткани. Результаты исследований свидетельствуют о том, что включение рекомбинантного BMP-2 в композитный скаффолд из гидроксиапатита, коллагена и полилактида способствует повышению способности стволовых клеток к остеогенезу альвеолярного отростка челюсти кролика (Liu et al., 2011). Авторы указывают, что костная ткань, созданная на основе этого скаффолда, содержащего рекомбинантный BMP-2, может быть лучшей альтернативой аутогенной кости для клинической реконструкции костных дефектов.

Другой возможный путь решения проблемы биодеградации синтетических скаффолов, содержащих факторы роста, заключается во введении в их состав веществ, способствующих ускорению расщепления полимеров. Показано, что введение восстановленного глутатиона в состав полиэтиленгликолевого матрикса, содержащего BMP-2, позволяет добиться не только усиления остеоиндуктивных свойств, но и ускорения биодеградации скаффолда, что в совокупности обеспечивает улучшение условий регенерации костной ткани (Yang et al., 2013).

Важной составляющей успешной регенерации ткани является ее васкуляризация (Kanczler, Orefeo, 2008), поэтому в состав скаффолов включают вещества, стимулирующие ангиогенез, такие как факторы роста эндотелия сосудов (VGEF), тромбоцитов (PDGF), фибробластов (FGF) и инсулиноподобный фактор роста (IGF). Показано, что имплантация в сегментарный дефект бедренной

кости мышей полилактидного скаффолда с клетками стromы костного мозга вызывает большее увеличение объема костного регенерата в случае включения в матрицу инкапсулированного VGEF (Kanczler, Orefeo, 2008.). Есть данные о стабильном высвобождении VGEF и обеспечении его повышенной концентрации в зоне костного дефекта на протяжении 5 нед композитным скаффолдом на основе хитозана, альгината и полилактида (De la Riva et al., 2009).

Альтернативным вариантом повышения эффективности системы скаффолда является включение в ее состав генно-инженерных компонентов — векторов, несущих определенные гены. Так, показано, что включение в скаффолды на основе хитозана и коллагена генно-инженерного вектора, кодирующего TGF- β 1, повышает скорость пролиферации клеток периодонтальной связки человека, размещенных на этой матрице, и экспрессии коллагена типов I и III (Zhang et al., 2006). Этими же авторами продемонстрировано положительное влияние включения в комплексную скаффолд-систему плазмид, кодирующих PDGF-B (Zhang et al., 2007). Кроме того, показана возможность внесения нескольких генов (BMP-7 и PDGF-B) для модификации биологических свойств скаффолд-системы (Zhang et al., 2009).

Таким образом, модификация скаффолд-систем, создаваемых для регенерации костной ткани, возможна путем включения в ее состав различных компонентов, повышающих ее остеоиндуктивные характеристики, в том числе факторов, стимулирующих клеточную пролиферацию, минерализацию, васкуляризацию и биодеградацию матрицы. Современные технологии позволяют вводить в состав скаффолд-систем как непосредственно биологически активные вещества, обладающие остеоиндуктивным эффектом, так и генно-инженерные векторы, кодирующие соответствующие гены. Повышение остеоиндуктивных свойств скаффолов за счет введения в их состав биологически активных компонентов способствует значительному ускорению регенерации тканей.

Биосовместимость скаффолов во многом определяется по выраженности воспалительной реакции тканей при имплантации матрицы. Данные из литературы свидетельствуют о том, что воспалительная реакция тканей при имплантации различных скаффолов сильно варьирует в зависимости от используемых материалов. С помощью прижизненной флуоресцентной микроскопии показано, что имплантация мышам пористых матриц из полилактид-гликоглида и скаффолов из коллагена, хитозана и гидроксиапатита в кожные складки спины вызывает воспалительные процессы с различной степенью выраженности (Rücker et al., 2006). Авторы показали, что имплантация полилактид-гликоглидных матриц вызывает небольшое увеличение лейкоцитов в месте имплантации по сравнению с контролем. Выраженность лейкоцитарной инфильтрации и повышение проницаемости капилляров у животных незначительно различались при имплантации им полилактид-гликоглидных матриц и изогенной костной ткани (Rücker et al., 2006). При этом отмечается усиление ангиогенеза, сопоставимое с васкуляризацией костных имплантов. Гистологически выявлена инфильтрация матрицы макрофагами, что, вероятно, связано с процессами резорбции биоматериала. Имплантация животным скаффолов на основе коллагена, хитозана и гидроксиапатита вызывала сильное воспаление и заметное повышение проницаемости капилляров. Процесс сопровождался индукцией апоптоза в окружающих тканях и

угнетением ангиогенеза. На основании этих данных авторы делают вывод о лучшей биосовместимости матриц из полилактида и гликолида по сравнению с композитными, состоящими из коллагена, хитозана и гидроксиапатита (Rücker et al., 2006).

Более поздние исследования свидетельствуют о временной лейкоцитарной инфильтрации и хорошей васкуляризации при имплантации мышам в кожные складки спины полилактид-гликолидных скафболдов, содержащих остеобластоподобные клетки (Tavassol et al., 2010). В то же время было показано, что при имплантации мышам в кожные складки спины скафболдов на основе гидроксиапатита лейкоцитарная инфильтрация не выражена, а васкуляризация хорошая, сопоставимая с таковой при имплантации аутогенной перфорированной костной ткани (Rücker et al., 2008).

Особое значение имеет иммунологическая совместимость при использовании скафболдов, содержащих остеоиндуктивные компоненты. Проведенные исследования свидетельствуют о том, что при имплантации мышам в дефекты свода черепа скафболдов на основе фиброна шелка, содержащих аденоизнусный вектор, несущий ген BMP-7, возникает повышение в сыворотке крови воспалительных цитокинов (интерлейкинов 2 и 6, а также фактора некроза опухоли α). Однако уровни этих цитокинов у животных возвращаются к контрольным значениям через 2–4 нед после имплантации. На основании этих данных авторы делают вывод о приемлемой долгосрочной совместимости материала скафболда (Zhang et al., 2012).

Одним из возможных подходов к улучшению биосовместимости скафболдов является создание матриксов, вызывающих минимальный воспалительный ответ. Результаты исследований свидетельствуют о том, что скафболды на основе полиуретана не обладают цитотоксическими эффектами при имплантации мышам в кожную складку спины. Кроме того, методом прижизненной флуоресцентной микроскопии показано, что параметры лейкоцитарной адгезии в венулах не превышают значений группы контроля. Это подтверждает хорошую биосовместимость данных скафболдов в естественных условиях. В то же время данные прижизненной микроскопии и гистологического анализа свидетельствуют о медленной и слабо выраженной васкуляризации скафболдов на основе полиуретана. В заключение авторы отмечают, что скафболды на основе полиуретана могут быть использованы в тканевой инженерии, так как не вызывают выраженной воспалительной реакции после имплантации в организм, однако нуждаются в дополнительной модификации с целью улучшения васкуляризации (Laschke et al., 2009).

В настоящее время существует альтернативное мнение, согласно которому перспективным является проектирование новых биоматериалов, которые могут модулировать воспалительную реакцию, а не просто уменьшать ее (Santos et al., 2013). Так, было изучено влияние включения фиброногена как иммуномодулирующего биоматериала в структуру скафболда на основе хитозана для улучшения регенерации кости. Результаты свидетельствуют о том, что включение в матрикс фиброногена приводит к более выраженному остеогенезу, а также стимулирует ангиогенез. Вместе с тем у животных, которым имплантировали фиброногенсодержащий скафболд на основе хитозана, происходило значительное увеличение числа лимфоцитов и миелоидных клеток лимфоузлов, в то время как уровни Т-лимфоцитов существенно не менялись. В совокупности авторы оценивают представленные

результаты как свидетельство потенциальной корреляции между иммунным ответом и остеогенными свойствами скафболда (Santos et al., 2013).

Таким образом, биосовместимость скафболд-систем зависит от степени выраженности воспалительного ответа при их имплантации в ткани. Иммуногенные свойства скафболдов зависят от материалов, входящих в их состав. Ряд исследований свидетельствует о тесной взаимосвязи иммунного ответа, возникающего при имплантации скафболда, с процессами ее васкуляризации.

Проведенный анализ данных из литературы позволяет заключить, что разработка и внедрение скафболд-технологий представляют собой активно развивающееся направление тканевой инженерии, открывающее значительные перспективы для регенеративной медицины. Создание монокомпонентных скафболдов не позволяет достичь предъявляемых к матрицам требований. Достигнение необходимых структурно-механических свойств, параметров биосовместимости и биодеградации скафболдов возможно за счет комбинирования различных материалов природного и синтетического происхождения. Для регенерации костной ткани наиболее перспективно использование сложных скафболд-систем на основе материалов синтетического происхождения с включением в их состав минеральных компонентов, а также различных биологически активных веществ, в том числе факторов, стимулирующих клеточную пролиферацию, минерализацию и васкуляризацию образующейся костной ткани и биодеградацию матрицы.

Список литературы

- Яременко А. И., Галецкий Д. В., Королев В. О. 2011. Современные остеопластические и остеоиндуктивные материалы. Состояние проблемы. Перспективы применения в стоматологии и челюстно-лицевой хирургии. Институт стоматологии. 2 : 70–71. (Jaremenko A. I., Galetsky D. V., Korolev V. O. 2011. Modern osteoplastic and osteoinductive materials. State of the problem. Prospects for application in dentistry and maxillofacial surgery. The Dental Institute. 2 : 70–71.)
- Bae I. H., Jeong B. C., Kook M. S., Kim S. H., Koh J. T. 2013. Evaluation of a thiolated chitosan scaffold for local delivery of BMP-2 for osteogenic differentiation and ectopic bone formation. BioMed Res. Intl. Article ID 878930; <http://dx.doi.org/10.1155/2013/878930>.
- Chan B. P., Leong K. W. 2008. Scaffolding in tissue engineering: general approaches and tissue-specific considerations. Eur. Spine J. 17 : 467–479.
- Chesnutt B. M., Viano A. M., Yuan Y., Yang Y., Guda T., Apfelord M. R., Ong J. L., Haggard W. O., Bumgardner J. D. 2009a. Design and characterization of a novel chitosan/nanocrystalline calcium phosphate composite scaffold for bone regeneration. J. Biomed. Mater. Res. 88 : 491–502.
- Chesnutt B. M., Yuan Y., Buddington K., Haggard W. O., Bumgardner J. D. 2009b. Composite chitosan/nano-hydroxyapatite scaffolds induce osteocalcin production by osteoblasts *in vitro* and support bone formation *in vivo*. Tissue Eng. Part. 15 : 2571–2579.
- De la Riva B., Nowak C., Sánchez E., Hernández A., Schulz-Siegmund M., Pec M. K., Delgado A., Evora C. 2009. VEGF-controlled release within a bone defect from alginate/chitosan/PLA-H scaffolds. Eur. J. Pharm. Biopharm. 73 : 50–58.
- Discher D. E., Janmey P., Wang Y. L. 2005. Tissue cells feel and respond to the stiffness of their substrate. Science. 310 : 1139–1143.
- Dorj B., Won J. E., Kim J. H., Choi S. J., Shin U. S., Kim H. W. 2013. Robocasting nanocomposite scaffolds of poly(caprolactone)/hydroxyapatite incorporating modified carbon nanotubes for

- hard tissue reconstruction. *J. Biomed. Mater. Res. A.* 101 : 1670—1681.
- Dvir T., Timko B. P., Kohane D. S., Langer R. 2011. Nanotechnological strategies for engineering complex tissues. *Nat. Nanotechnol.* 6 : 13—22.
- Florczyk S. J., Kim D. J., Wood D. L., Zhang M. A. 2011. Influence of processing parameters on pore structure of 3D porous chitosan—alginate polyelectrolyte complex scaffolds. *J. Biomed. Mater. Res.* 98 : 614—620.
- Freed L. E., Guilak F., Guo X. E., Gray M. L., Tranquillo R., Holmes J. W., Radisic M., Sefton M. V., Kaplan D., Vunjak-Novakovic G. 2006. Advanced tools for tissue engineering: scaffolds, bioreactors, and signaling. *Tissue Eng.* 12 : 3285—3305.
- Frohbergh M. E., Katsman A., Botta G. P., Lazarovici P., Schauer C. L., Wegst U. G., Lelkes P. I. 2012. Electrospun hydroxyapatite-containing chitosan nanofibers crosslinked with genipin for bone tissue engineering. *Biomaterials.* 33 : 9167—9178.
- Grayson W. L., Martens T. P., Eng G. M., Radisic M., Vunjak-Novakovic G. 2009. Biomimetic approach to tissue engineering. *Semin. Cell Develop. Biol.* 20 : 665—673.
- Healy K. E., Guldberg R. E. 2007. Bone tissue engineering. *J. Musculoskelet Neuronal Interact.* 7 : 328—330.
- Hofmann S., Hilbe M., Fajardo R. J., Hagenmuller H., Nuss K., Arras M., Muller R., von Rechenberg B., Kaplan D. L., Merkle H. P., Meinel L. 2013. Remodeling of tissue-engineered bone structures *in vivo*. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 85 : 119—129.
- Hou J., Wang J., Cao L., Qian X., Xing W., Lu J., Liu C. 2012. Segmental bone regeneration using rhBMP-2-loaded collagen/chitosan microspheres composite scaffold in a rabbit model. *Biomed. Mater.* 7 : 035002.
- Isikli C., Hasirci V., Hasirci N. 2012. Development of porous chitosan-gelatin/hydroxyapatite composite scaffolds for hard tissue-engineering applications. *J. Tissue Eng. Regen. Med.* 6 : 135—143.
- Jeon O., Song S. J., Kang S. W., Putnam A. J., Kim B. S. 2007. Enhancement of ectopic bone formation by bone morphogenetic protein-2 released from a heparin-conjugated poly(L-lactic-co-glycolic acid) scaffold. *Biomaterials.* 28 : 2763—2771.
- Kanczler J. M., Orefeo R. O. 2008. Osteogenesis and angiogenesis: the potential for engineering bone. *Eur. Cell Mater.* 15 : 100—114.
- Kathuria N., Tripathi A., Kar K. K., Kumar A. 2009. Synthesis and characterization of elastic and macroporous chitosan-gelatin cryogels for tissue engineering. *Acta Biomater.* 5 : 406—418.
- Ko H. F., Sfeir C., Kumta P. N. 2010. Novel synthesis strategies for natural polymer and composite biomaterials as potential scaffolds for tissue engineering. *Philos. Trans. Math. Phys. Eng. Sci.* 368 : 1981—1997.
- Kruger T. E., Miller A. H., Wang J. 2013. Collagen scaffolds in bone sialoprotein-mediated bone regeneration. *Sci. World J.* Article ID 812718; <http://dx.doi.org/10.1155/2013/812718>.
- Laschke M. W., Strohe A., Scheuer C., Eglin D., Verrier S., Alini M., Pohleman T., Menger M. D. 2009. *In vivo* biocompatibility and vascularization of biodegradable porous polyurethane scaffolds for tissue engineering. *Acta Biomater.* 5 : 1991—2001.
- Lee S. S., Huang B. J., Kaltz S. R., Sur S., Newcomb C. J., Stock S. R., Shah R. N., Stupp S. I. 2013. Bone regeneration with low dose BMP-2 amplified by biomimetic supramolecular nanofibers within collagen scaffolds. *Biomaterials.* 34 : 452—459.
- Liao F., Chen Y., Li Z., Wang Y., Shi B., Gong Z., Cheng X. 2010. A novel bioactive three-dimensional beta-tricalcium phosphate/chitosan scaffold for periodontal tissue engineering. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 21 : 489—496.
- Liu H. C., E L. L., Wang D. S., Su F., Wu X., Shi Z. P., Lv Y., Wang J. Z. 2011. Reconstruction of alveolar bone defects using bone morphogenetic protein 2 mediated rabbit dental pulp stem cells seeded on nano-hydroxyapatite/collagen/poly(L-lactide). *Tissue Eng. Part A.* 17 : 2417—2433.
- Liu H., Peng H., Wu Y., Zhang C., Cai Y., Xu G., Li Q., Chen X., Ji J., Zhang Y., OuYang H. W. 2013. The promotion of bone regeneration by nanofibrous hydroxyapatite/chitosan scaffolds by effects on integrin-BMP/Smad signaling pathway in BMSCs. *Biomaterials.* 34 : 4404—4417.
- Martel-Estrada S. A., Olivas-Armendáriz I., Martinez-Pérez C. A., Hernández T., Acosta-Gómez E. I., Chacón-Nava J. G., Jiménez-Vega F., García-Casillas P. E. 2012. Chitosan/poly(DL-lactide-co-glycolide) scaffolds for tissue engineering. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 23 : 2893—2901.
- Miranda S. C., Silva G. A., Mendes R. M., Abreu F. A., Caliari M. V., Alves J. B., Goes A. M. 2012. Mesenchymal stem cells associated with porous chitosan-gelatin scaffold: a potential strategy for alveolar bone regeneration. *J. Biomed. Mater. Res. A.* 100 : 2775—2786.
- Peng H., Yin Z., Liu H., Chen X., Feng B., Yuan H., Su B., Ouyang H., Zhang Y. 2012. Electrospun biomimetic scaffold of hydroxyapatite/chitosan supports enhanced osteogenic differentiation of mMSCs. *Nanotechnol.* 23 : 485102 : doi: 10.1088/0957-4484/23/48/485102.
- Rücker M., Laschke M. W., Junker D., Carvalho C., Schramm A., Mühlhaupt R., Gellrich N. C., Menger M. D. 2006. Angiogenic and inflammatory response to biodegradable scaffolds in dorsal skinfold chambers of mice. *Biomaterials.* 27 : 5027—5038.
- Rücker M., Laschke M. W., Junker D., Carvalho C., Tavassol F., Mühlhaupt R., Gellrich N. C., Menger M. D. 2008. Vascularization and biocompatibility of scaffolds consisting of different calcium phosphate compounds. *J. Biomed. Mater. Res. A.* 86 : 1002—1011.
- Santos S. G., Lamghari M., Almeida C. R., Oliveira M. I., Neves N., Ribeiro A. C., Barbosa J. N., Barros R., Maciel J., Martins M. C., Goncalves R. M., Barbosa M. A. 2013. Adsorbed fibrinogen leads to improved bone regeneration and correlates with differences in the systemic immune response. *Acta Biomater.* 9 : 7209—7217.
- Schilling T., Brandes G., Tudorache I., Cebotari S., Hilfiker A., Meyer T., Biskup C., Bauer M., Waldmann K. H., Bach F. W., Haverich A., Hassel T. 2013. *In vivo* degradation of magnesium alloy LA63 scaffolds for temporary stabilization of biological myocardial grafts in a swine model. *Biomed. Tech. (Berlin).* 29 : 1—10.
- Smith I. O., Liu X. H., Smith L. A., Ma P. X. 2009. Nanostructured polymer scaffolds for tissue engineering and regenerative medicine. *Wiley Interdiscip. Rev. Nanomed. Nanobiotechnol.* 1 : 220—236.
- Smith I. O., McCabe L. R., Baumann M. J. 2006. MC3T3-E1 osteoblast attachment and proliferation on porous hydroxyapatite scaffolds fabricated with nanophasess powder. *Int. J. Nanomed.* 1 : 189—194.
- Tavassol F., Schumann P., Lindhorst D., Sinikovic B., Voss A., von See C., Kampmann A., Bormann K. H., Carvalho C., Mühlhaupt R., Harder Y., Laschke M. W., Menger M. D., Gellrich N. C., Rücker M. 2010. Accelerated angiogenic host tissue response to poly(L-lactide-co-glycolide) scaffolds by vitalization with osteoblast-like cells. *Tissue Eng. Part A.* 16 : 2265—2279.
- Teng S. H., Lee E. J., Wang P., Jun S. H., Han C. M., Kim H. E. 2009. Functionally gradient chitosan/hydroxyapatite composite scaffolds for controlled drug release. *J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater.* 90 : 275—282.
- Vo T. N., Kasper F. K., Mikos A. G. 2012. Strategies for controlled delivery of growth factors and cells for bone regeneration. *Adv. Drug. Deliv. Rev.* 64 : 1292—1309.
- Yang F., Wang J., Hou J., Guo H., Liu C. 2013. Bone regeneration using cell-mediated responsive degradable PEG-based scaffolds incorporating with rhBMP-2. *Biomaterials.* 34 : 1514—1528.
- Yang H. S., La W. G., Bhang S. H., Lee T. J., Lee M., Kim B. S. 2011. Apatite-coated collagen scaffold for bone morphogenetic protein-2 delivery. *Tissue Eng. Part A.* 17 : 2153—2164.
- Zhang Y., Cheng X., Wang J., Wang Y., Shi B., Huang C., Yang X., Liu T. 2006. Novel chitosan/collagen scaffold containing transforming growth factor-beta1 DNA for periodontal tissue engineering. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 344 : 362—369.
- Zhang Y., Reddy V. J., Wong S. Y., Li X., Su B., Ramakrishna S., Lim C. T. 2010. Enhanced biomineralization in osteoblasts on a novel electrospun biocomposite nanofibrous substrate of hy-

roxyapatite/collagen/chitosan. *Tissue Eng. Part A.* 16 : 1949—1960.

Zhang Y., Shi B., Li C., Wang Y., Chen Y., Zhang W., Luo T., Cheng X. 2009. The synergistic bone-forming effects of combinations of growth factors expressed by adenovirus vectors on chitosan/collagen scaffolds. *J. Control Release.* 136 : 172—178.

Zhang Y., Wang Y., Shi B., Cheng X. 2007. A platelet-derived growth factor releasing chitosan/coral composite scaffold for periodontal tissue engineering. *Biomaterials.* 28 (8) : 1515—1522.

Zhang Y., Wu C., Luo T., Li S., Cheng X., Miron R. J. 2012. Synthesis and inflammatory response of a novel silk fibroin scaffold containing BMP7 adenovirus for bone regeneration. *Bone.* 51 : 704—713.

Zhao Y., Guo D., Hou S., Zhong H., Yan J., Zhang C., Zhou Y. 2013. Porous allograft bone scaffolds: doping with strontium. *PLoS ONE.* 8 : e69339.

Поступила 1 X 2013

THE POSSIBILITIES AND PERSPECTIVES OF USING SCAFFOLD TECHNOLOGY FOR BONE REGENERATION

A. N. Ivanov,¹ I. A. Norkin, D. M. Puchinian

Scientific-Research Institute of Traumatology and Orthopedics, Saratov;

¹e-mail: sarniito@yandex.ru

The article deals with the one of the topical problem of tissue engineering — the design and implementation of biomaterials that could replace and repair bone defects. This review presents the recent studies of the potential of scaffold technology in bone tissue regeneration. This article contains information about the basic parameters and properties of modern scaffold systems. The results of experimental *in vitro* and *in vivo* studies on the use of matrices made of various materials are shown. Advantages and disadvantages of various materials used for the production of scaffolds are discussed. Attention is paid to the advantages combinations of different materials to achieve the desired structural and functional properties. Particular attention is paid to technologies and systems of targeted delivery and controlled release of factors that stimulate bone tissue regeneration. Different strategies for modulating tissue reactions and immune responses that take place during scaffold implantation are presented.

Key words: scaffold, bone regeneration, growth factors.