

**ХИМИЯ И ТЕХНОЛОГИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ
И БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ**
**CHEMISTRY AND TECHNOLOGY OF MEDICINAL COMPOUNDS
AND BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES**

ISSN 2410-6593 (Print), ISSN 2686-7575 (Online)

<https://doi.org/10.32362/2410-6593-2021-16-1-36-54>



УДК 57.089.67

ОБЗОРНАЯ СТАТЬЯ

Остеопластические материалы нового поколения на основе биологических и синтетических матриц

Д.Д. Лыкошин^{1,*}, В.В. Зайцев², М.А. Костромина¹, Р.С. Есипов¹

¹Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова, Российская академия наук, Москва, 117997 Россия

²Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова, Министерство здравоохранения Российской Федерации, Москва, 127299 Россия

*Автор для переписки, e-mail: ldd-94@yandex.ru

Аннотация

Цели. Цель литературного обзора – анализ остеопластических материалов и хирургических имплантатов нового поколения, изучение особенностей, характеристик и результатов их клинического применения.

Методы. Обзор суммирует объем научно-исследовательских материалов, представленных на порталах «PubMed» и «eLIBRARY». Проанализирован и обобщен материал 129 научных статей по следующим разделам: биологические, кальций-фосфатные, полимерные и биокompозитные матрицы в качестве носителей целевых фармацевтических субстанций (рекомбинантных белковых остеоиндукторов, антибиотиков и биологически активных химических реагентов). Глубина поиска 10 лет.

Результаты. Среди всех видов остеопластических матриц, применяемых в настоящее время в мировой хирургической остеологии, куда входит нейрохирургия, травматология и ортопедия, стоматология, челюстно-лицевая и детская хирургия деминерализованный костный матрикс (ДКМ) занимает 26%. Полимерные и биокompозитные матрицы сегодня представляются наиболее перспективными материалами в сравнении с ДКМ. Особое внимание в разработке новых видов матриц уделяется возможности фиксации остеогенных факторов и целевых фармацевтических субстанций на материале-носителе с целью их контролируемого и пролонгированного выпуска на участке хирургической имплантации. Полимерные и биокompозитные материалы способны замедлять время высвобождения фармсубстанций в месте имплантации, способствуя снижению токсичности и пролонгации терапевтического эффекта, являясь перспективной альтернативой аутогенной кости. Использование композитных носителей различного состава *in vivo* демонстрирует высокие показатели остеогенеза, способствует запуску биоминерализации и позволяет варьировать скорость деградации материала.

Выводы. Остеопластические материалы различного состава в сочетании с лекарственными средствами показали ускорение регенерации и минерализации костной ткани *in vivo*, исключая системные побочные реакции. И, хотя некоторые материалы уже зарегистрированы в качестве коммерческих препаратов, все еще сохраняется ряд нерешенных проблем. Из-за ограниченности клинических исследований материалов на людях остаются открытыми такие вопросы как недостаточное понимание токсичности материалов, времени их резорбции, скорости доставки лекарственного средства и его высвобождения, а также возможные неблагоприятные эффекты от использования имплантатов различного состава.

Ключевые слова: остеосинтез, остеопластические материалы, регенеративная медицина, тканевая инженерия, остеогенез, хондроогенез, рекомбинантные остеоиндукторы

Для цитирования: Лыкошин Д.Д., Зайцев В.В., Костромина М.А., Есипов Р.С. Остеопластические материалы нового поколения на основе биологических и синтетических матриц. *Тонкие химические технологии*. 2021;16(1):36–54. <https://doi.org/10.32362/2410-6593-2021-16-1-36-54>

REVIEW ARTICLE

New-generation osteoplastic materials based on biological and synthetic matrices

Dmitry D. Lykoshin¹@, Vladimir V. Zaitsev², Maria A. Kostromina¹, Roman S. Esipov¹

¹*Shemyakin and Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow, 117997 Russia*

²*N.N. Priorov National Medical Research Center of Traumatology and Orthopedics, Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, 127299 Russia*

@Corresponding author, e-mail: ldd-94@ya.ru

Abstract

Objectives. The purpose of this analytical review is to evaluate the market for osteoplastic materials and surgical implants, as well as study the features of new-generation materials and the results of clinical applications.

Methods. This review summarizes the volumes of research articles presented in the electronic database PubMed and eLIBRARY. A total of 129 scientific articles related to biological systems, calcium phosphate, polymer, and biocomposite matrices as carriers of pharmaceutical substances, primary recombinant protein osteoinductors, antibiotics, and biologically active chemical reagents were analyzed and summarized. The search depth was 10 years.

Results. Demineralized bone matrix constitutes 26% of all types of osteoplastic matrices used globally in surgical osteology, which includes neurosurgery, traumatology and orthopedics, dentistry, and maxillofacial and pediatric surgery. Among the matrices, polymer and biocomposite matrices are outstanding. Special attention is paid to the possibility of immobilizing osteogenic factors and target pharmaceutical substances on the scaffold material to achieve controlled and prolonged release at the site of surgical implantation. Polymeric and biocomposite materials can retard the release of pharmaceutical substances at the implantation site, promoting a decrease in the toxicity and an improvement in the therapeutic effect. The use of composite scaffolds of different compositions *in vivo* results in high osteogenesis, promotes the initialization of biomineralization, and enables the tuning of the degradation rate of the material.

Conclusions. Osteoplastic materials of various compositions in combination with drugs showed accelerated regeneration and mineralization of bone tissue *in vivo*, excluding systemic side reactions. Furthermore, although some materials have already been registered as commercial drugs, a plethora of unresolved problems remain. Due to the limited clinical studies of materials for use on humans, there is still an insufficient understanding of the toxicity of materials, time of their resorption, speed of drug delivery, and the possible long-term adverse effects of using implants of different compositions.

Keywords: *osteosynthesis, osteoplastic materials, regenerative medicine, tissue engineering, osteogenesis, chondrogenesis, recombinant osteoinducers*

For citation: Lykoshin D.D., Zaitsev V.V., Kostromina M.A., Esipov R.S. New-generation osteoplastic materials based on biological and synthetic matrices. *Tonk. Khim. Tekhnol. = Fine Chem. Technol.* 2021;16(1):36–54 (Russ., Eng.). <https://doi.org/10.32362/2410-6593-2021-16-1-36-54>

Ежегодно в мире проводится примерно 2.2 млн операций, связанных с переломами и посттравматическими дефектами костной ткани, и, по прогнозам, их количество возрастет до 6 млн к 2050 г. [1, 2]. В некоторых случаях, таких как несращиваемые переломы критических размеров или приращение костной ткани в дентальной имплантологии, способность к саморегенерации кости недостаточна, и требуется направленная тканевая регенерация, в том числе и с применением остеозамещающих материалов. Оптимальный остеопластический материал должен обладать основными биомедицинскими характеристиками:

- биосовместимость – материал должен взаимодействовать с клеточным компонентом кости, не вызывая токсического или иммунологического ответа;
- остеоиндуктивность – способность материала индуцировать миграцию и дифференцировку мезенхимальных стволовых клеток (МСК) реципиента в остеобласты и хондроциты, которые являются основными клетками костной и хрящевой ткани;
- остеокондуктивность – способность материала выступать поддерживающей конструкцией для прорастания сосудов и структур новой ткани;
- контролируемая резорбция с образованием нетоксичных продуктов распада;
- открытая бимодальная пористая структура (поры 200–500 мкм для прорастания в материал костных клеток и сосудов; микропоры <100 мкм для межтканевых жидкостей);
- возможность адгезии и химической фиксации фармацевтических субстанций на структурах носителя без снижения их активности;
- сохранность биологических характеристик при хранении в течение длительного времени;
- технологичность процесса изготовления при коммерческом производстве [3–5].

В клинической регенеративной медицине «золотым стандартом» считается применение аутотрансплантатов. Аутогенные костные трансплантаты являются остеоиндуктивными, остеокондуктивными и полностью гистосовместимыми материалами [6]. Однако аутотрансплантаты имеют ограничения в количестве донорской ткани доступной для трансплантации. Необходимость дополнительного хирургического вмешательства для забора костной ткани, как правило, из

гребня подвздошной кости, несет риск формирования длительного постоперационного болевого синдрома [4].

Ограничения, связанные с получением аутогенных трансплантатов, можно преодолеть с помощью аллотрансплантатов, полученных от других доноров. На сегодняшний день аллотрансплантаты составляют 25% остеопластических матриц, применяемых в хирургической остеологии [6]. Только в США ежегодно имплантируется около миллиона аллогенных матриц [7]. Их основными преимуществами перед аутогенными имплантатами является неограниченность донорского материала и возможность получать трансплантаты различных форм и размеров [6]. Тем не менее, потенциальный риск передачи бактериальной и вирусной инфекции является главным недостатком этого материала [8]. К тому же, ограниченная остеоиндуктивная способность аллотрансплантатов является основной причиной рецидивов или несращений костной ткани, которые встречаются в 15–20% случаев [6]. Активизация остеоиндуктивности аллогенных костных матриц может быть достигнута добавлением рекомбинантных остеоиндуктивных белков [9]. Однако опыт фиксации рекомбинантных костных морфогенетических белков (rhBMPs) на аллогенный матрикс, ввиду их неконтролируемого высвобождения из каркаса матрикса, демонстрирует неконтролируемое избыточное костеобразование, выходящее за область регулируемой патологии [10].

Современные технологические решения предполагают использование природных и синтетических полимеров, кальцийфосфатов и их модификаций, в том числе в комплексе с остеоиндуктивными ростовыми факторами (рис. 1). Эти материалы считаются наиболее перспективными для применения в остеопластике, поскольку позволяют задавать требуемые характеристики на этапе создания имплантата [3].

Потребность в пластических материалах и хирургических имплантатах с каждым годом будет увеличиваться. В связи с этим разработка универсального остеопластического материала, который мог бы удовлетворить все вышеуказанные требования, остается главной задачей.

В данном обзоре мы рассмотрим характеристики остеопластических матриц, потенциально перспективных для применения в хирургической остеологии, и случаи их клинического применения.

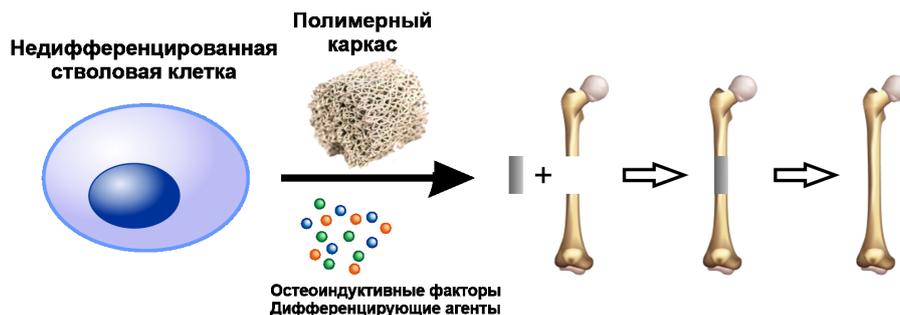


Рис. 1. Подход тканевой инженерии к лечению кости: недифференцированные стволовые клетки высеивают на полимерный каркас вместе с дифференцирующими агентами и ростовыми факторами, затем имплантируют *in vivo*.

Fig. 1. Tissue engineering approach to bone treatment: undifferentiated stem cells are seeded on a polymer scaffold together with differentiating agents and growth factors, followed by implanting *in vivo*.

ОСТЕОПЛАСТИЧЕСКИЕ МАТРИКСЫ НА ОСНОВЕ БИОКЕРАМИКИ

Керамические материалы на основе фосфатов кальция обладают выраженными остеокондуктивными характеристиками, приводят к повышенному локальному взаимодействию с костью реципиента в области коррегируемой патологии и изготавливаются в виде блоков, гранул, пастообразных и инъектируемых форм [11]. Синтетические кальцийфосфаты в биологической системе вследствие метаболизма клеток организма распадаются на ионы кальция и фосфора, которые в дальнейшем входят в структуру регенерируемой костной ткани [12].

Гидроксиапатит

Наиболее популярным материалом из кальцийфосфатов является гидроксиапатит (ГАП). Он является основным неорганическим компонентом костной ткани и зубной эмали, хорошо усваивается человеческим организмом и находит широкое применение в ортопедии, травматологии и стоматологии с целью коррекции дефектов костной ткани [11].

Химическая формула гидроксиапатита $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. В кристаллической решетке молекулы ГАП выделяют два структурных каркаса. Первый – «апатитовый канал» образуемый группами OH^- , расположенными внутри решетки, которая ограничена столбцами из ионов Ca^{2+} и PO_4^{3-} . Второй – «остовый каркас», в котором могут размещаться ионы F^- , Cl^- , OH^- , CO_3^{2-} , способные изоморфно замещать PO_4^{3-} группы [12, 13].

Гидроксиапатит электронейтрален, обладает стабильной ионной решеткой и является устойчивым соединением, однако, в зависимости от количества ионов кальция в структуре гидроксиапатита, он может нести как положительный, так и отрицательный заряд [13]. В то же время, химическая стабильность

является главным недостатком для применения ГАП в остеопластике. Медленная и неполная резорбция синтетического ГАП ограничивает образование новой костной ткани [14]. Резорбция кальцийфосфатных материалов зависит от молярного соотношения Ca/P в их составе. Чем ниже значение отношения Ca/P , тем выше скорость резорбции материала [15].

За счет нестехиометричности состава гидроксиапатита и возможности проводить анионные или катионные замещения в кристаллической решетке, значение соотношения Ca/P в составе ГАП может варьировать от 1.5 до 1.67 [12, 15]. Введение в структуру ГАП ионов-заместителей приводит к искажению и деформации кристаллической решетки, что в дальнейшем приводит к увеличению растворимости и биорезорбируемости замещенного ГАП, по сравнению с чистым ГАП [14].

Материалы на основе ГАП могут быть модифицированы ковалентным присоединением коллагена с целью переноса и доставки различных терапевтических агентов (антибиотики, ростовые факторы), обеспечивая их пролонгированное высвобождение в месте травмы [16]. Использование рекомбинантных факторов роста костной ткани, таких как костные морфогенетические белки (ВМР), иммобилизованных на остеопластических носителях, позволяет эффективнее и быстрее коррегировать сложные врожденные и приобретенные патологии опорно-двигательной системы человека [10].

Ковалентное поперечное сшивание с использованием гидрохлорид(*N*-этил-*N'*-(3-диметиламинопропил)карбодиимида (EDC) и *N*-гидроксисукцинимид (NHS) широко используется для получения композитных материалов с повышенной биосовместимостью, более высоким потенциалом клеточной дифференцировки [17] и с повышенной устойчивостью к ферментативной деградации [18]. Этот метод позволяет получать амидные сшивки «нулевой длины» между группами карбоновых кислот и аминогруппами [19].

Для модификации поверхности гидроксиапатита коллагеном и иммобилизации на ней рекомбинантных ростовых факторов гидроксиапатит инкубируют в растворе бычьего сывороточного альбумина (БСА) и коллагена в присутствии смеси реагентов EDC/NHS. Затем композитный материал гидроксиапатит-коллаген инкубируют в растворе с рекомбинантным костным морфогенетическим белком 2 (rhBMP-2) [20]. Белок адсорбируется на поверхности носителя за счет образования нековалентных взаимодействий [11, 20]. Схема реакции для модификации поверхности гидроксиапатита и иммобилизации на ней rhBMP-2 показана на рис. 2.

Трикальцийфосфат

Другим классом ортофосфатных материалов, нашедших применение в остеопластике, являются трикальцийфосфаты. Материалы на основе трикальцийфосфата характеризуются большей скоростью резорбции по сравнению с материалами на основе ГАП [21]. Также они могут использоваться в

составе композитных материалов вместе с гидроксиапатитом, что позволяет контролировать скорость резорбции материала [22].

Значительное внимание в научных клинических исследованиях получил остеопластический матрикс на основе β -трикальцийфосфата (β -ТСР). β -ТСР с химическим составом $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, в отличие от других полиморфных модификаций трикальцийфосфатов, стабилен при температурах ниже 1100°C и имеет меньшее, по сравнению с ГАП, соотношение Ca/P , и, как следствие, повышенную биоразлагаемость и биосовместимость [23].

Для получения остеопластического материала на основе β -ТСР суспензию кристаллогидрата $\text{CaHPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ и карбоната кальция CaCO_3 смешивают в присутствии диоксида циркония ZrO_2 , высушивают, после чего путем прокаливании при $750\text{--}900^\circ\text{C}$ ГАП переходит в β -ТСР. После спекания предварительно отформованного β -ТСР при 1050°C в течение часа образуется блок β -ТСР с пористостью 75% [24, 25]. Химические реакции описаны уравнениями 1 и 2.

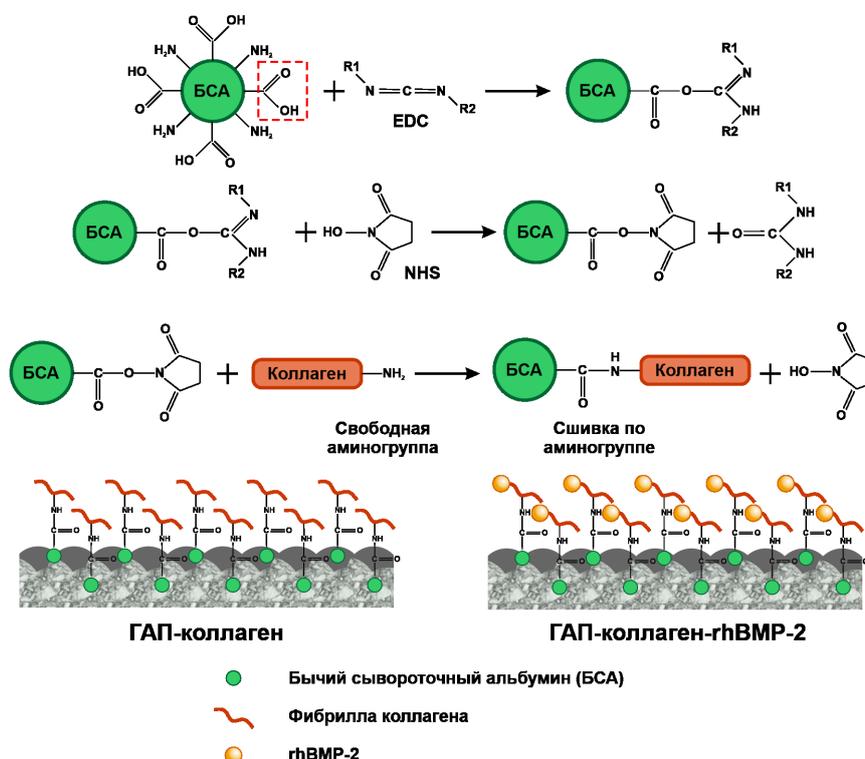
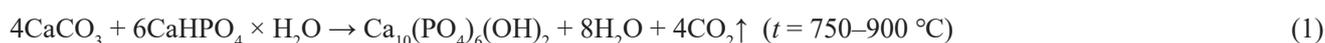


Рис. 2. Схематичное изображение механизма реакции химической сшивки БСА и коллагена, для последующей иммобилизации на матриксе гидроксиапатита остеоиндуктора rhBMP-2;

EDC: гидрохлорид(*N*-этил-*N'*-(3-диметиламинопропил)карбодиимид, NHS: *N*-гидроксисукцинимид.
Fig. 2. Illustration of the reaction mechanism of BSA and collagen chemical crosslinking for the subsequent immobilization of the rhBMP-2 osteoinducer on a hydroxyapatite matrix;

EDC: 1-ethyl-3(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide hydrochloride, NHS: *N*-hydroxysuccinimide.

Другой распространенный способ получения матрикса из β -ТСР это прокаливание химически синтезированного кальций-дефицитного гидроксиапатита. При температурах 700–800 °С он теряет воду и переходит в низкотемпературный полиморф β -ТСР, применяемый в остеопластике (уравнение 3). Дальнейшее нагревание до температуры около 1150 °С приводит к переходу β -ТСР в высокотемпературную полиморфную α - $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ модификацию, растворимость которой в воде значительно выше [26].



Структура β -ТСР позволяет проводить изоморфные замещения ионов кальция на ионы одновалентных и двухвалентных металлов или силикат-ионов. Силикат-ионы в структуре β -ТСР ускоряют дифференцировку МСК на матриксе в месте его имплантации [27]. Металлы Zn, Cu и Ag придают материалу на основе β -ТСР антибактериальные свойства. Кроме того, замещенный ионами цинка матрикс из β -ТСР замедляет процесс образования на его поверхности остеокластов (клеток, разрушающих костную ткань), и ускоряет работу остеобластов, способствуя формированию костного матрикса [28].

Клиническое применение β -ТСР уже продемонстрировало полную регенерацию костных дефектов в течение нескольких лет и замену остеопластического матрикса новообразованной тканью. Частичная резорбция имплантата β -ТСР в клинических условиях наблюдается через 2–3 недели после операции, а полная деградация происходит от 1.5 до 5 лет в зависимости от возраста пациента. Отмечалось, что при дефектах губчатых костей резорбция β -ТСР и образование костной ткани происходит быстрее, чем при дефектах кортикальных костей [24].

Стоит отметить, что материалы на основе кальцийфосфатов имеют низкую прочность на растяжение, а модуль Юнга таких материалов в среднем в 10 раз больше, чем у костной ткани [3]. Однако механические характеристики кальцийфосфатных материалов можно варьировать на стадии изготовления. При снижении пористости материала увеличивается предел прочности на сжатие, таким образом, β -ТСР с пористостью 60% имеет прочность на сжатие 22 Мпа, что почти в семь раз больше, чем для β -ТСР с 75% пористостью. Однако, для резорбции β -ТСР с 60% пористостью потребуется больше времени, чем для β -ТСР с пористостью 75% [29].

Биоактивные стекла

Биологически активные стекла (БС) обрели большой интерес в областях инженерии твердых и мягких тканей благодаря их способности индуцировать экспрессию генов, которые регулируют процессы остео- и ангиогенеза, тем самым усиливая продукцию соответствующих ростовых факторов [30].

Первый тип этих биологически активных неорганических материалов, известный как Bioglass-1 45S5 (BG-1), был открыт Ларри Хенчем в конце 1960-х годов во Флоридском университете. BG-1 с составом $45\text{SiO}_2-24.5\text{CaO}-24.5\text{Na}_2\text{O}-6\text{P}_2\text{O}_5$ (масс. %) связывается с живыми тканями, образуя стабильную и плотно структурированную поверхность, благодаря чему успешно используется в качестве наполнителя при костных переломах [31].

Термин «биологическая активность» в контексте этих специальных стекол указывает на способность поверхности биостекла направлять кристаллизацию солей фосфата кальция в сторону образования ГАП, тем самым способствуя соединению между искусственным материалом и тканями организма [32]. Процесс минерализации биосиликатов проходит в несколько этапов и представлен на рис. 3. Сначала поверхность биостекла превращается в силикагель с открытой структурой, обменивающим ионы с биологическими жидкостями организма (стадии 1–3, рис. 3). После чего ионы кальция и фосфата образуют аморфный слой фосфата кальция (стадия 4, рис. 3). Затем слой Ca–P присоединяет гидроксильные и карбонатные ионы, определяющие кристаллизацию гидросикарбонат-апатита (стадия 5, рис. 3) [33].

Биостекла определяются тремя различными типами неорганических оксидов, включая структурообразующие (SiO_2 , B_2O_3 и P_2O_5), модифицирующие (Na_2O , CaO , MgO , K_2O) и промежуточные соединения (Al_2O_3 , ZnO , ZrO_2 и TiO_2) [34]. По принципу главного структурообразующего оксида биостекла разделяются на семейства стекол на основе силикатов, боросиликатов, боратов и фосфатов [35]. В дополнение к этому разработаны биоактивные стекла, легированные небольшим количеством биологически активных ионов металлов с различными терапевтическими эффектами (стимулирующие остео- и ангиогенез, противовоспалительные и антисептические) (табл. 1) [36]. Мезопористые БС, получаемые золь-гель процессами, обладают пористостью (2–50 нм) подходящей для иммобилизации в нано-порах различных терапевтических агентов с их последующим локальным высвобождением контролируемым образом [37]. Легированные и мезопористые биоактивные стекла рассматриваются как отдельные классы семейства биостекол.

Исследования *in vitro* и *in vivo* показали, что такие терапевтические функции БС, как улучшение роста и пролиферации клеток, биоминерализация, стимуляция ангиогенеза, противовоспалительная и антибактериальная активность, связаны с высвобождением ионов металлов и ростовых факторов из структуры стекла, после чего само биостекло подвергается резорбции [36].

Использование биокомпозитных остеопластических каркасов на основе БС и полимерной матрицы

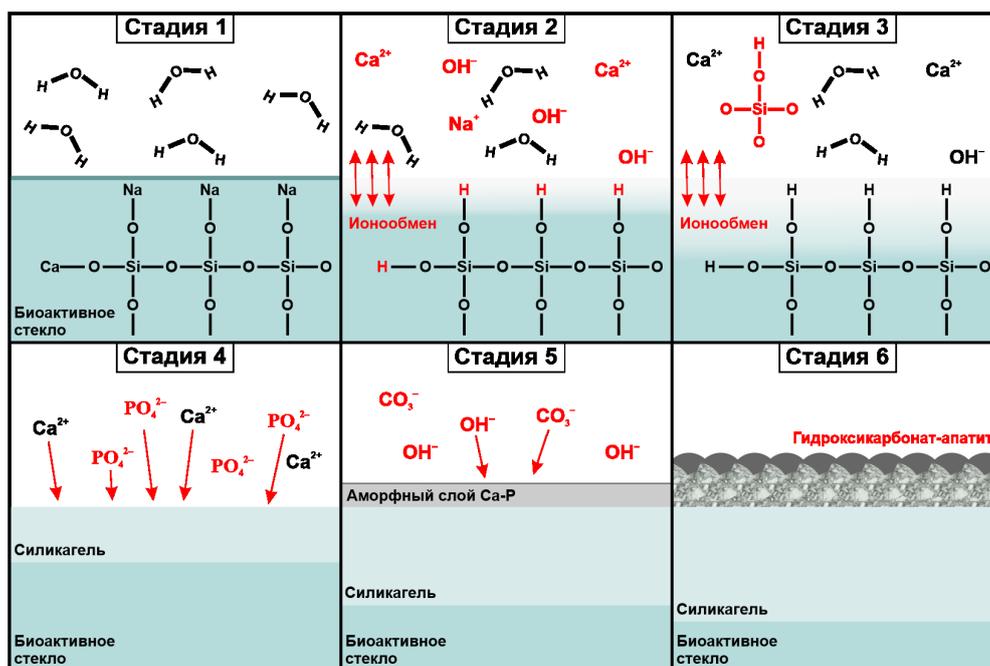


Рис. 3. Иллюстрация механизма образования гидроксикарбонат-апатита на поверхности биоактивного стекла.
 Fig. 3. Formation mechanism of hydroxycarbonate apatite on the surface of bioactive glass.

Таблица 1. Терапевтические эффекты легированных биостекел, определяемые различными биологически активными ионами

Table 1. Therapeutic effects of doped bioglass based on various biologically active ions

Терапевтический эффект Therapeutic effect	Ионы металлов Metal ions
Ангиогенез Angiogenesis	Mg ²⁺ , Mn ²⁺ , Ca ²⁺ , Cu ²⁺ , B ³⁺ , Si ⁴⁺ , P ⁵⁺
Антибактериальный Antibacterial	Ag ⁺ , Cu ²⁺ , Zn ²⁺ , Ga ²⁺ , Mn ²⁺ , Fe ³⁺ , Ce ³⁺
Остеогенез Osteogenesis	F ⁻ , Li ⁺ , Sr ²⁺ , Mg ²⁺ , Mn ²⁺ , Ca ²⁺ , Cu ²⁺ , Ga ²⁺ , Si ⁴⁺ , Nb ⁵⁺
Противовоспалительный Anti-inflammatory	Li ⁺ , Mn ²⁺ , Zn ²⁺ , B ³⁺

дает дополнительные преимущества: 1) запуск био-минерализации которая способствует формированию связи между новообразованной тканью и материалом; 2) улучшение исходных механических свойств полимерной фазы; 3) возможность тонкой настройки скорости резорбции материала [30].

На сегодняшний день опубликованы исследования применения биоактивных стеклянных каркасов [38] и композитных носителей состава полимер/БС [39, 40] в области инженерии костной ткани. Результаты этих исследований показывают, что каркасы PLA/БС являются подходящими кандидатами для достижения оптимальной связи между материалом и тканями, причем последние могут являться как мягкими, так и твердыми [41]. Поэтому активно проводятся исследования, которые предполагают применение этих систем в областях, где устройство должно одно-

временно соединяться как с мягкими, так и с твердыми тканями (например, имплантаты среднего уха или суставные импланты) [36].

МАТРИКСЫ НА ОСНОВЕ СИНТЕТИЧЕСКИХ ПОЛИМЕРОВ

Синтетические биodeградируемые полимеры представляются перспективными материалами для применения в различных ткане-инженерных конструкциях, преимущественно композитного состава [42].

Наиболее часто используемые резорбируемые синтетические полимеры для изготовления остеопластических матриц представляют собой насыщенные поли(α-гидроксиэфиры), включая полимолочную кислоту (PLA) и полигликолиевую кислоту (PGA),

а также сополимер полимолочнокислого гликолида (PLGA) [43].

Химический состав этих полимеров допускает гидролитическое разложение в результате деэтерификации. После резорбции мономерные компоненты каждого полимера выводятся из организма реципиента естественными путями. PGA превращается в метаболиты или удаляется с помощью других механизмов, а PLA может быть очищен через цикл трикарбоновых кислот [44].

PGA представляет собой гидрофильный и высококристаллический полимер с относительно высокой скоростью разложения. И, хотя PLA структурно очень похож на PGA, PLA проявляет отличные от PGA химические, физические и механические свойства за счет присутствия боковой метильной группы на альфа-углероде (рис. 4) [45].

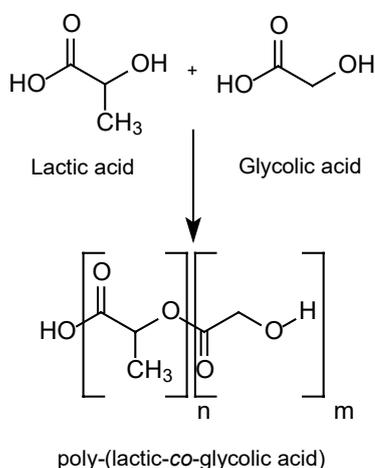


Рис. 4. Химическая структура полилактидгликолида (PLGA) и составляющих его мономеров.

Fig. 4. Chemical structure of PLGA and monomers PLA and PGA.

Сополимерный PLGA является более предпочтительным материалом для изготовления костных имплантатов по сравнению с составляющими его гомополимерами, поскольку физико-химические свойства PLGA позволяют контролировать скорость разложения материала, и формировать PLGA в блоки, волокна, гидрогели и наночастицы [44].

На скорость резорбции синтетических полимерных матриц влияют такие факторы как:

1) молекулярная масса полимера: скорости разложения варьируются от нескольких недель до нескольких месяцев;

2) соотношение LA/GA: PLGA с высоким содержанием LA являются менее гидрофильными, как следствие, поглощают меньше воды и медленнее разлагаются;

3) стереохимия: смеси D- и L- мономеров молочной кислоты чаще всего используются для приготовления PLGA, поскольку скорость проникновения

молекул воды в D- и L- областях выше, что приводит к ускоренной деградации;

4) структура концевых групп: полимеры с остатками сложных эфиров на концах (в отличие от свободной карбоновой кислоты) демонстрируют более длительные периоды полураспада [46, 47].

Также в качестве синтетических полимерных носителей рассматриваются полиэтиленгликоль (PEG) [48, 49], полиангидриды [50], поли-ε-капролактон (PCL) [49, 51], полипропиленфумарат (PPF) [51] и полоксамеры [52]. Преимуществами этих резорбируемых полимерных носителей являются гидролитическая и ферментативная резорбция, отсутствие риска бактериального и вирусного заражения и возможность адаптировать механическую прочность, манипулируя структурой полимера [53].

Благодаря гибкой конструкции и контролируемой скорости деградации, биоразлагаемые синтетические полимеры в форме наночастиц рассматриваются в качестве носителей для доставки рекомбинантных белковых остеоиндукторов и фарм-субстанций. На основе сополимера PLA-PEG продемонстрирована система доставки ростового фактора rhBMP-2, носитель в виде вязкой жидкости или полимерных гранул имплантировали к месту хирургической коррекции костной патологии [54]. По итогам исследования комплекс PLA-PEG был признан эффективным транспортным матриком пролонгированного выпуска рекомбинантного остеоиндуктора rhBMP-2. Показана эффективность rhBMP-2 на различных моделях животных при его иммобилизации на матриксах из PLA [55], PGA [56] и их сополимера PLGA [57].

Несмотря на то, что низкий pH среды, создаваемый продуктами кислотного расщепления, ускоряет деградацию PLGA за счет автокатализа, этот фактор одновременно является недостатком синтетических полимеров [58]. Такое подкисление среды и гидрофобный характер полимеров, оказывает негативное влияние на стабильность белка иммобилизованного на поверхности носителя [59], увеличивает риск возникновения воспалительных реакций и задержки клиренса [60].

В инженерии костной ткани используется комбинированный подход, который заключается в синтезе блок-сополимеров с целью манипулирования характеристиками полимерной системы доставки, например, такими как кинетика выхода фармацевтических соединений, иммобилизованных на остеопластическом полимерном носителе [61, 62].

Синтетические полимерные матрицы на основе PLA и PGA могут комбинироваться в различных соотношениях с кальцийфосфатными материалами (CaPs) для создания композитных материалов с химическими модификациями на поверхности или без

них [63]. Когда CaPs объединяются с полимерами в композитный каркас скорость их резорбции, по сравнению с чистым полимером, замедляется [64].

Park и соавторы показали эффективность использования композитов PCL с добавлением β -TCP в условиях механической нагрузки сопоставимой с модулем сжатия трабекулярной кости человека. В композитах PCL/ β -TCP с содержанием 30% β -TCP отмечалась наиболее ранняя дифференцировка мезенхимальных стволовых клеток и высокая экспрессия остеогенных маркеров [65].

Также высокий уровень остеоинтеграции продемонстрировал композит PLA, содержащий микросферы трикальций-фосфата размером 60–140 мкм (PLA/ β -TCP). Благодаря формированию упорядоченной пористой структуры композитного материала, PLA/ β -TCP через 16 недель после имплантации в бедренную кость кроликов наблюдалась васкуляризация имплантата и прорастание в его поры новообразованной ткани [66].

БИОКОМПОЗИТНЫЕ КАРКАСЫ

Композитные каркасы с мезопористым кремнием

С точки зрения клинической эффективности, биокомпозитные носители различных фармобъектов, созданные на основе нано-технологий, являются наиболее перспективными материалами для тканевой инженерии [67].

Наночастицы мезопористого кремния (MSN) ускоряют формирование костной ткани путем повышения активности остеобластов и уменьшают резорбцию кости благодаря снижению активности остеокластов [68]. Материалы на основе MSN способны доставлять к месту травмы фармацевтические молекулы разной структуры и массы, благодаря размеру пор, морфологии и возможности модификации поверхности MSN [67]. Вариативность и гибкость в конструировании наночастиц кремния позволяет выбирать дозировку фармобъекта и задавать кинетику ее высвобождения в соответствии с функциональными группами молекулы, которая будет адсорбирована на поверхности MSN [69, 70].

На примере доставки ибупрофена, имеющего в составе –COOH группу, отмечается повышенная адсорбция ибупрофена на поверхности MSN, модифицированных полярными молекулами, по сравнению с наночастицами кремния с неполярными модификациями [70]. Как следствие наблюдается более длительный выход фармобъекта и пролонгированный терапевтический эффект [70].

На модели злокачественной опухоли у мышей продемонстрирована эффективность доставки доксорубина при помощи MSN модифицированных полиэтиленгликолем (PEG) на поверхности [71]. На 12-ый день животных выводили из эксперимента и оценивали сравнимые скорости роста объемов опухоли. Эффект

доксорубина, выраженный в степени ингибирования скорости роста опухоли, составил 68.7% для нагруженных MSN-PEG частиц по сравнению с 42.5% для чистых наночастиц кремния [71]. Такой результат обусловлен улучшенной стабильностью молекулы доксорубина на поверхности MSN-PEG и более длительным циркулированием наночастиц с фармобъектом в крови.

В последних научных исследованиях большое внимание получили композитные каркасы на основе наночастиц MSN сшитых с метакрилатным желатином в составе гидрогелевых мембран [72]. На поверхность мезопористого биостекла через амидную связь иммобилизуют рекомбинантный остеоиндуктор rhBMP-2. *In vitro* было показано, что выход rhBMP-2 из состава матрикса в течение первых 4 недель эксперимента значительно стимулировал остеогенную дифференцировку клеток, а резорбция композитного носителя на ионы кальция и кремния способствовала клеточной адгезии и остеогенной дифференцировке в течение длительного периода [73]. *In vivo* гидрогелевые мембраны на основе мезопористого биостекла сшитого желатином продемонстрировали высокие показатели остеогенеза костной ткани при дефекте критического размера черепа крысы [72, 73].

Композитные каркасы с углеродными нанотрубками

Биоразлагаемые композитные каркасы на основе полимеров PLA, PGA в комбинации с углеродными нанотрубками (УНТ) являются перспективной разработкой для широкого спектра применений в инженерии костной ткани в тех случаях, когда неизбежны высокие нагрузки на имплантируемый материал [74]. Такая комбинация композитов особо эффективна, поскольку позволяет добиться самоорганизации волокон УНТ и создания сетевой структуры в составе полимерной матрицы, придает материалу улучшенную механическую прочность, термостойкость и электропроводность при низких концентрациях УНТ [75].

Mikael и соавторы представили эффективный способ получения композитных каркасов из микросфер PLGA и многостенных углеродных нанотрубок (МУНТ) с различными модификациями на поверхности [76]. Такие каркасы демонстрировали высокую клеточную адгезию *in vitro*, пролиферацию и минерализацию клеток, а также признаки наличия связи с мягкими тканями.

Аналогичный подход был опробован на композитных каркасах с одностенными углеродными нанотрубками (ОУНТ). Показано, что комбинация PLGA/ОУНТ приводила к еще более высокой экспрессии генов и пролиферации клеток для формирования новой мышечной ткани, по сравнению с композитным носителем из PLGA и МУНТ [77]. Предполагается, что такая клеточная активность является следствием повышенной экспрессии трансмембранных клеточных

рецепторов – интегринов, что может быть вызвано топографическими особенностями ОУНТ. Такая активность является ключевым элементом для лучшего взаимодействия полимерного каркаса с биологическими компонентами [77].

Еще одним качеством УНТ в составе композитных материалов является возможность изменения термических и электрических свойств PLA [76, 78]. Данный подход может быть использован для повышения реакционной способности стволовых клеток, высеянных на полимер, посредством электростимуляции, тем самым улучшая регенерацию ткани в долгосрочной перспективе [79].

Композитный материал на основе комплекса УНТ/гиалуронат натрия демонстрирует высокий потенциал при восстановлении дефектов костной ткани у крыс [80, 81]. Данный композит индуцирует экспрессию генов, принимающих участие в регенерации костной ткани, таких как остеокальцин и BMP-2 [80]. Так же наблюдалась повышенная экспрессия коллагена I типа и фактора роста эндотелия сосудов (VEGF). При использовании композита УНТ-гиалуронат натрия в дефектах большеберцовых костей гисто-морфометрический анализ показал увеличение числа и организованности костных трабекул в сравнении с контрольной группой [81].

Однако, наноструктуры углерода вызывают серьезные опасения для использования в качестве компонентов биомедицинских устройств из-за отсутствия данных об их канцерогенности и накопления продуктов распада в организме человека [78].

Композитные каркасы с оксидами металлов

Интересными и перспективными для применения в хирургической остеологии характеристиками обладают композитные системы состава PLA/оксид металла, среди которых оксид цинка ZnO, оксид магния MgO и оксиды железа Fe_2O_3 и Fe_3O_4 [82, 83]. Каждый из этих металлов обладает свойствами, подходящими для различных применений в тканевой инженерии. В сравнении с используемыми в клинике материалами из PLGA, композитные конструкции с оксидами металлов могут уменьшать воспаление и в то же время стимулировать остеогенез и остеоинтеграцию [84].

Оксид цинка в составе остеопластического матрикса ингибирует прикрепление бактерий и стимулирует дифференцировку клеток в направлении фенотипа миоцитов [85]. При интеграции оксида в композитную систему PLLA/ZnO (ZnO в виде наностержней ~40 нм), композит медленно выделяет ионы цинка в окружающую среду [86]. Наностержни действуют как каталитические ядра, слегка ускоряя деградацию полимера. Это наблюдение имеет ключевое значение поскольку улучшает связь между дифференцированными миоцитами и имплантатом [85].

Оксид магния применяется в составе композитных материалов в качестве альтернативы биоактивным стеклам для улучшения биоминерализации и замедления деградации PLA [87]. Частицы MgO, внедренные в полимерную матрицу, буферизуют окружающий pH, тем самым снижая скорость гидролиза PLA, особенно снижая автокаталитический эффект полимера. Характеристики пористого композитного каркаса PLA/MgO изучались в области костной пластики зубов [88]. Авторы сообщают об высокой прочности на сжатие и растяжение, пролонгированном времени резорбции материала, пролиферации МСК костного мозга *in vitro* и регенерации костной ткани *in vivo* на модели собак [89].

Оксиды железа Fe_2O_3 и Fe_3O_4 обладают уникальным свойством, которое может использоваться для улучшения связи ткани с биоматериалом: супермагнетизмом [90]. Использование супермагнитных частиц оксида железа, особенно изученных в лечении рака и ряде других систем доставки лекарств, является новой тенденцией в области регенеративной медицины [91, 92].

В исследованиях сообщается о включении суперпарамагнитных наночастиц оксида железа ($\gamma\text{-}Fe_2O_3$ и $FeO\cdot Fe_2O_3$) в PLGA матрицу с последующим приложением статического магнитного поля к композитной конструкции во время культивирования клеток. Магнитная стимуляция, как и наночастицы взятые отдельно, способствовала дифференцировке остеобластов [93].

Объяснение этого явления заключается в двух аспектах, во-первых, стимуляция приложением статического магнитного поля, благодаря диамагнитным свойствам клеточной мембраны, изменяет поток ионов через мембрану; во-вторых, наночастицы оксида железа уменьшают внутриклеточную продукцию H_2O_2 , тем самым ускоряя прогрессирование клеточного цикла. Два этих стимула действуют синергически, что приводит к значительному усилению пролиферации, дифференцировки и секреции МСК, способствуя образованию связи между тканью и материалом [90, 91, 93].

КОМПОЗИТНЫЕ МАТРИКСЫ ИЗ ПРИРОДНЫХ ПОЛИМЕРОВ

Поскольку имплантат, используемый в инженерии костной ткани, должен в определенной степени имитировать характеристики хрящевой и костной ткани, то природные полимеры представляются интуитивно понятным выбором исходного матрикса [94]. Природные полимеры можно разделить по их происхождению (животное, растительное или микробиологическое) и химической структуре (белки, полисахариды, полинуклеотиды) (рис. 5) [95].

Пористые каркасы из природных полимеров стимулируют остеогенную дифференцировку МСК [94]. Однако, прочностные характеристики и резорбируемость данных матриц в условиях организма реципиента недостаточны, и уступают синтетическим резорбируемым полимерным матрицам [96].

Матрицы на основе хитозана

Хитозан это биodeградируемый природный полимер, полученный в результате дезацетилирования природного полимера хитина [97]. Хитозан обладает выраженными бактерицидными характеристиками и за счет способности усиливать абсорбцию гидрофобных макромолекул используется в качестве носителя для локального пролонгированного выпуска фармацевтических субстанций [98].

Композитные системы состава хитозан/PGA, хитозан/ГАП и хитозан/желатин могут служить в качестве эффективного остеопластического носителя [99, 100]. Биологические мембраны на основе хитозановых наноприбрил с добавлением rhBMP-2 продемонстрировали в экспериментах *in vitro* высокую биологическую активность, выраженную в остеогенной дифференцировке МСК, активности щелочной фосфатазы и кальцификации на протяжении 4 недель с сохранением 50% иммобилизованного rhBMP-2 на мембране [101].

Наночастицы хитозана (NPCS), благодаря их мукоадгезивной катионной природе, используются для снижения токсического эффекта и увеличения активности лекарственного средства, поскольку позволяют доставить терапевтический агент в непосредственную близость от места травмы [102].

NPCS обычно модифицируются для повышения их эффективности. Например, 2N-,6O-сульфатированный хитозан (2,6SCS) образует полисахарид схожий по структуре с гепарином, который может успешно связываться с доменным участком rhBMP-2 (рис. 6А). Модифицированные наночастицы хитозана замедляют высвобождение ростового фактора и увеличивают его биологическую активность [103, 104].

Матрицы на основе желатина

Желатин представляет собой гидролизованную форму коллагена, полученную при тепловой обработке. Использование желатина в качестве единственного материала в составе носителя для фарм-субстанций осложняется его склонностью к быстрой биodeградации в организме реципиента [105]. Пролонгирование времени биodeградации достигается с помощью химической «сшивки» коллагеновых волокон глутаровым альдегидом, однако при этом отмечается цитотоксический эффект, выраженный в замедлении остеогенной дифференцировки МСК в исследованиях *in vitro* [106]. Снижения токсичности удается достичь после четырехсуточной отмывки сшитого матрикса от глутарового альдегида [107].

Биокомпозитный материал на основе желатина и β-TCP продемонстрировал улучшенную биоразлагаемость под воздействием коллагеназы при большем количестве желатина и высокую остеоиндуктивность, выраженную в повышении уровня активности щелочной фосфатазы *in vitro* [108].

Фотохимический процесс с участием трис-(2,2'-бипиридин) хлорида рутения(II) [Ru(bpy)₃]Cl₂ и пер-



Рис. 5. Классификация природных полимеров в зависимости от их происхождения и химической структуры.
 Fig. 5. Classification of natural polymers based on their origin and chemical structure.

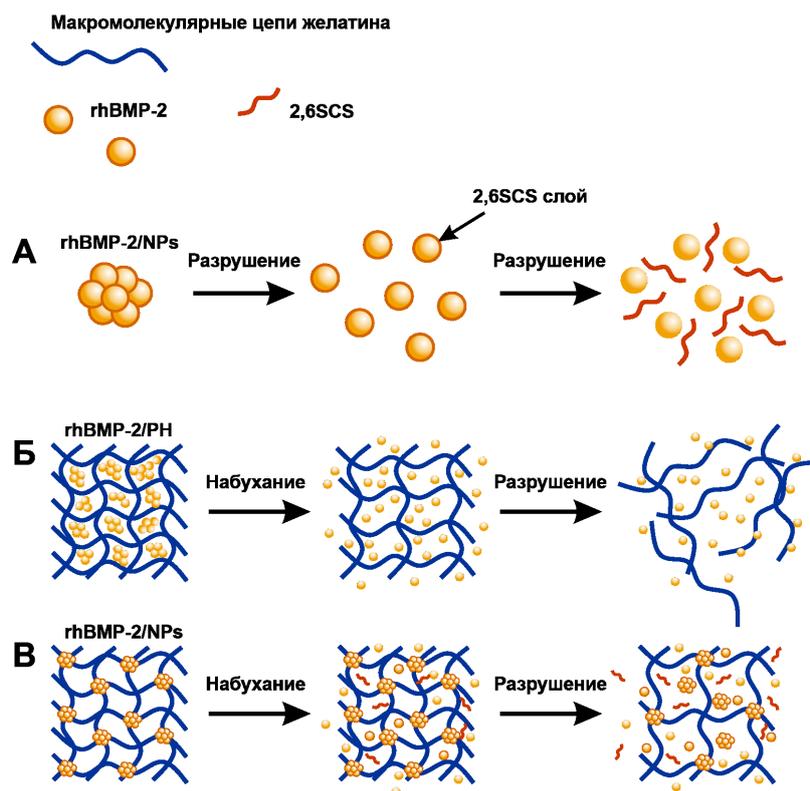


Рис. 6. Схематичное представление механизмов высвобождения белка rhBMP-2 из: наночастиц сульфатированного хитозана (А); фотополимеризуемого желатинового гидрогеля (Б); комплекса гидрогеля с наночастицами хитозана (В).

Fig. 6. Illustration of the mechanisms of rhBMP-2 release from (A) sulfated chitosan nanoparticles (NPCS), (B) photopolymerizable gelatin hydrogel, and (C) a complex of a hydrogel with NPCS.

сульфат-иона позволяет ковалентно сшивать богатые тирозином белки (резин, желатин, фибриноген) за счет образования дитиозиновых связей и получать биополимерные материалы обладающие варьируемыми биомеханическими и тканеадгезионными свойствами, задаваемыми на этапе создания материала [109, 110]. Склонность тирозинбогатых белков к самоорганизации полимерных волокон и взаимодействию с белками внеклеточного матрикса, позволяет использовать биополимеры, сшитые таким способом, в качестве хирургических герметиков или систем доставки лекарственных форм [111, 112].

Получаемый таким образом фотополимеризуемый желатиновый гидрогель (PH), обладает пористостью, подходящей для его нагрузки наночастицами модифицированного хитозана (NPCS) [103, 113]. Непосредственное введение ростовых факторов в PH не дает значительного эффекта, поскольку гидрогель быстро набухает и разлагается, при этом полное высвобождение rhBMP-2 наблюдается уже через 7 дней (рис. 6Б) [103]. Однако композитная система PH с входящими в его состав 2,6SCS-наночастицами (PH/rhBMP-2/NPs) показала наилучшие результаты поэтапного высвобождения терапевтических агентов. Первый интенсивный выброс rhBMP-2

фиксируется в течение первых двух недель после имплантации и связан с набуханием гидрогеля. Затем наблюдается постепенное высвобождение на протяжении 42 дней в результате медленной деградации PH (рис. 6В) [103].

Коллагеновые остеопластические матрицы

Коллаген является наиболее распространенным белком человеческого тела и неминеральным биологическим компонентом скелета. Коллаген можно легко выделять и ферментативно очищать из различных видов ксеногенного матрикса для использования в качестве опорного каркаса для клеточной пролиферации в инженерии костной ткани [114, 115].

Коллагеновые остеопластические каркасы изготавливаются в форме порошка, мембранных пленок, водных форм, гелей, нановолокон и адсорбирующих губок [116].

Универсальность, гигроскопичность и простота использования коллагеновых губок привели к их широкому клиническому применению для локализации и доставки целевых фармацевтических субстанций [117, 118]. С 2002 г. Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (FDA) одобрен коммерческий препарат «INFUSE» с рекомбинантным rhBMP-2 на коллагене

новой пластине ACS в концентрации 1.5 мг/мл [119].

В хирургической остеологии «INFUSE» применяется в качестве альтернативы аутологичному гребню подвздошной кости для одноуровневых сращений тел позвонков в поясничном отделе и для ускорения сращения открытых большеберцовых переломов с интрамедуллярной фиксацией [119]. Помимо этого, «INFUSE» широко применяется в качестве альтернативы аутологичным костным имплантатам для ограниченного увеличения альвеолярной пазухи и лечения дефектов, связанных с потерей костной ткани в стоматологии [120, 121].

Несмотря на высокую биосовместимость, коллаген обладает рядом недостатков. Коллаген механически неустойчив, и поэтому при имплантации в среду, где губка сжимается окружающими мышцами и тканями, наблюдается локальный избыточный выпуск остеоиндуктивных белков, иммобилизованных на носителе [114]. Резорбция коллагена непредсказуема и ее трудно контролировать, что также приводит к неопределенной кинетике высвобождения рекомбинантного фактора роста. *In vivo* было показано, что через 2 недели лишь 5% rhBMP-2 остается в коллагеновой губке [122].

Увеличения времени резорбции коллагена можно достичь сшиванием коллагеновых молекулярных цепей химическими агентами: глутаровым альдегидом, карбодимидом и генипином, или с помощью физического воздействия: УФ-излучения или дегидротермической обработки. Однако химические сшивающие агенты вследствие цитотоксичности отрицательно влияют на биосовместимость и регенераторный потенциал материала [116, 123].

Кроме того, коллаген, экстрагированный из ксеногенного матрикса, при недостаточно эффективной химической очистке демонстрирует выраженную иммуногенность. У 20% пациентов, получивших имплантат из коллагеновой губки, обнаруживались антитела к коллагену I типа [114, 124].

Другой недостаток применения коллагеновых каркасов заключается в сложности их стерилизации, поскольку тепловая стерилизация вызывает частичную или полную необратимую денатурацию коллагеновых волокон [125, 126], вследствие чего для стерилизации коллагеновых губок используют газовую стерилизацию этиленоксидом [127]. Однако, при данном способе стерилизации коллагеновой губки с иммобилизованным на ней rhBMP-2 отмечалось непредсказуемое изменение кинетики выпуска ростового фактора и снижение его биологической активности [128, 129].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Несмотря на все преимущества аутологичной кости: наличие клеточных элементов костного мозга, наличие факторов роста и локального кровоснабжения – синтетические и биокомпозиционные остеопластические матрицы могут являться реальной

альтернативой аутологичному костному трансплантату, особенно в вариантах транспортных систем для локального пролонгированного выхода целевых фармацевтических субстанций.

При наличии положительных научно-практических результатов по изучению остеопластических матриц нового поколения остается ряд нерешенных вопросов, главными из которых являются:

- оптимизация времени резорбции костнопластического матрикса;
- выбор эффективной технологии формирования резорбции остеопластического матрикса, синхронизированной по времени с процессом костной регенерации;
- проведение работ по стабилизации матрикса для исключения выраженной макрофагальной реакции организма реципиента;
- решение вопросов, связанных с сертификацией и регистрацией в надзорных медицинских организациях новых вариантов остеопластических хирургических имплантатов.

Экспериментальные и клинические исследования остеопластических матриц в настоящее время проводятся практически во всех странах мира. Участие большого количества ведущих научно-исследовательских центров, а также подключение значительных материально-финансовых ресурсов позволяет надеяться на значительные научно-производственные успехи в данном вопросе регенеративной медицины.

Финансовая поддержка

Данная работа не имела какой-либо финансовой поддержки от сторонних организаций.

Financial support

This study did not have any financial support from outside organizations.

Вклад авторов

Д.Д. Лыкошин – идея работы, подбор публикаций, анализ и описание результатов поиска, подготовка и оформление статьи, написание текста статьи;

В.В. Зайцев – подбор публикаций, анализ и описание результатов поиска;

М.А. Костромина – подготовка и оформление статьи, работа с графическими материалами;

Р.С. Есипов – подготовка и оформление статьи, написание текста статьи.

Authors' contribution

D.D. Lykoshin – work idea, selection of publications, analysis and description of search results, preparation, design of the article, and writing the text of the article;

V.V. Zaitsev – selection of publications and analysis and description of search results;

M.A. Kostromina – preparation and design of the article and work with graphic materials;

R.S. Esipov – preparation and design of the article and writing the text of the article.

*Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
The authors declare no conflicts of interest.*

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Henkel J., Woodruff M.A., Epari D.R., Steck R., Glatt V., Dickinson I.C., Choong P.F., Schuetz M.A., Hutmacher D.W. Bone Regeneration Based on Tissue Engineering Conceptions — A 21st Century Perspective *Bone Res.* 2013;1(3):216–248. <https://doi.org/10.4248/BR201303002>
2. Barabaschi G.D., Manoharan V., Li Q., Bertassoni L.E. Engineering Pre-vascularized Scaffolds for Bone Regeneration. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2015;881:79–94. https://doi.org/10.1007/978-3-319-22345-2_5
3. O'Brien F.J. Biomaterials & scaffolds for tissue engineering. *Mat. Today.* 2011;14(3):88–95. [https://doi.org/10.1016/S1369-7021\(11\)70058-X](https://doi.org/10.1016/S1369-7021(11)70058-X)
4. García-Gareta E., Coathup M.J., Blunn G.W. Osteoinduction of bone grafting materials for bone repair and regeneration. *Bone.* 2015; 81:112–121. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2015.07.007>
5. Воробьев К.А., Божкова С.А., Тихилов Р.М., Черный А.Ж. Современные способы обработки и стерилизации аллогенных костных тканей (обзор литературы). *Травматология и ортопедия России.* 2017;23(3):134–147. <https://doi.org/10.21823/2311-2905-2017-23-3-134-147>
[Vorobyov K.A., Bozhkova S.A., Tikhilov R.M., Cherny A.Zh. Current methods of processing and sterilization of bone allografts (review of literature). *Травматология и ортопедия России = Traumatology and Orthopedics of Russia.* 2017;23(3):134–147 (in Russ.). <https://doi.org/10.21823/2311-2905-2017-23-3-134-147>]
6. Baldwin P., Li D.J., Auston D.A., Mir H.S., Yoon R.S., Koval K.J. Autograft, Allograft, and Bone Graft Substitutes: Clinical Evidence and Indications for Use in the Setting of Orthopaedic Trauma Surgery. *J. Orthop. Trauma.* 2019;33(4):203–213. <https://doi.org/10.1097/bot.0000000000001420>
7. Islam A., Chapin K., Moore E., Ford J., Rinnac C., Akkus O. Gamma Radiation Sterilization Reduces the High-cycle Fatigue Life of Allograft Bone. *Clin. Orthop. Relat. Res.* 2016;474(3):827–835. <https://doi.org/10.1007/s11999-015-4589-y>
8. Zamborsky R., Svec A., Bohac M., Kilian M., Kokavec M. Infection in Bone Allograft Transplants. *Exp. Clin. Transplant.* 2016;14(5):484–490. <https://doi.org/10.6002/ect.2016.0076>
9. Reddi A.H., Iwasa K. Morphogenesis, Bone Morphogenetic Proteins, and Regeneration of Bone and Articular Cartilage. In: *Principles of Regenerative Medicine* (Third Edition). Academic Press; 2019. Chapter 25. P. 405–416. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809880-6.00025-4>
10. Boerckel J.D., Kolambkar Y.M., Dupont K.M., Uhrig B.A., Phelps E.A., Stevens H.Y., García A.J., Guldberg R.E. Effects of protein dose and delivery system on BMP-mediated bone regeneration. *Biomaterials.* 2011;32(22):5241–5251. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2011.03.063>
11. Damlar I., Erdoğan Ö., Tatlı U., Arpağ O.F., Görmez U., Üstün Y. Comparison of osteoconductive properties of three different β -tricalcium phosphate graft materials: a pilot histomorphometric study in a pig model. *J. Craniomaxillofac. Surg.* 2015;43(1):175–180. <https://doi.org/10.1016/j.jcms.2014.11.006>
12. Tite T., Popa A.C., Balescu L.M., Bogdan I.M., Pasuk I., Ferreira J., Stan G.E. Cationic Substitutions in Hydroxyapatite: Current Status of the Derived Biofunctional Effects and Their *In Vitro* Interrogation Methods. *Materials (Basel).* 2018;11(11):2081. <https://doi.org/10.3390/ma11112081>
13. Basirun W.J., Nasiri-Tabrizi B., Baradaran S. Overview of Hydroxyapatite–Graphene Nanoplatelets Composite as Bone Graft Substitute: Mechanical Behavior and *In-vitro* Biofunctionality. *Critical reviews in solid state and material sciences.* 2018;43(3):177–212. <https://doi.org/10.1080/10408436.2017.1333951>
14. Sheikh Z., Abdallah M.N., Hanafi A.A., Misbahuddin S., Rashid H., Glogauer M. Mechanisms of *In Vivo* Degradation and Resorption of Calcium Phosphate Based Biomaterials. *Materials.* 2015;8(11):7913–7925. <https://doi.org/10.3390/ma8115430>
15. Raynaud S., Champion E., Bernache-Assollant D., Thomas P. Calcium phosphate apatites with variable Ca/P atomic ratio I. Synthesis, characterisation and thermal stability of powders. *Biomaterials.* 2002;23(4):1065–1072. [https://doi.org/10.1016/s0142-9612\(01\)00218-6](https://doi.org/10.1016/s0142-9612(01)00218-6)
16. Bose S., Tarafder S. Calcium phosphate ceramic systems in growth factor and drug delivery for bone tissue engineering: A review. *Acta Biomater.* 2012;8(4):1401–1421. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2011.11.017>
17. Parsamehr P.S., Zahed M., Tofighy M.A., Mohammadi T., Rezakazemi M. Preparation of novel cross-linked graphene oxide membrane for desalination applications using (EDC and NHS)-activated graphene oxide and PEI. *Desalination.* 2019;418(15):114079. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2019.114079>
18. Poddar S., Agarwal P.S., Sahi A.K., Vajanthri K.Y., Pallawi Singh K.N., Mahto S.K. Fabrication and Cytocompatibility Evaluation of Psyllium Husk (Isabgol)/Gelatin Composite Scaffolds. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 2019;188(3):750–768. <https://doi.org/10.1007/s12010-019-02958-7>
19. Nam K., Kimura T., Funamoto S., Kishida A. Preparation of a collagen/polymer hybrid gel designed for tissue membranes. Part I: Controlling the polymer-collagen cross-linking process using an ethanol/water co-solvent. *Acta Biomater.* 2010;6(2):403–408. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2009.06.021>
20. Teixeira S., Yang L., Dijkstra P.J., Ferraz M.P., Monteiro F.J. Heparinized hydroxyapatite/collagen three-dimensional scaffolds for tissue engineering. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 2010;21(8):2385–2392. <https://doi.org/10.1007/s10856-010-4097-2>
21. Hernigou P., Dubory A., Pariat J., Potage D., Roubineau F., Jammal S., Flouzat Lachaniette C.H. Beta-tricalcium phosphate for orthopedic reconstructions as an alternative to autogenous bone graft. *Morphologie.* 2017;101(334):173–179. <https://doi.org/10.1016/j.morpho.2017.03.005>
22. Owen G.Rh., Dard M., Larjava H. Hydroxyapatite/beta-tricalcium phosphate biphasic ceramics as regenerative material for the repair of complex bone defects. *J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater.* 2018;106(6):2493–2512. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.34049>
23. Zhang L., Zhang Ch., Zhang R., Jiang D., Zhu Q., Wang S. Extraction and characterization of HA/ β -TCP biphasic calcium phosphate from marine fish. *Mat. Letters.* 2019;236(1):680–682. <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2018.11.014>
24. Tanaka T., Komaki H., Chazono M., Kitasato S., Kakuta A., Akiyama S., Marumo K. Basic research and clinical application of beta-tricalcium phosphate (β -TCP). *Morphologie.* 2017;101(334):164–172. <https://doi.org/10.1016/j.morpho.2017.03.002>

25. Shishido A., Yokogawa Y. TEM Observation of Heat-Treated β -Tricalcium Phosphate Powder and its Precursor Obtained by Mechanochemical Reaction. *Key Eng. Mat.* 2017;758:184–188.
<https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/KEM.758.184>
26. Wen J., Kim I.Y., Kikuta K., Ohtsuki C. Optimization of Sintering Conditions for Improvement of Mechanical Property of α -Tricalcium Phosphate Blocks. *Glob. J. Biotechnol. Biomater. Sci.* 2016;1(1):010–016.
<https://doi.org/10.17352/gjbs.000004>
27. Zhang E., Yang L., Xu J., Chen H. Microstructure, mechanical properties and bio-corrosion properties of Mg–Si(–Ca, Zn) alloy for biomedical application. *Acta Biomater.* 2010;6(5):1756–1762.
<https://doi.org/10.1016/j.actbio.2009.11.024>
28. Chou J., Hao J., Kuroda S., Bishop D., Ben-Nissan B., Milthorpe B., Otsuka M. Bone Regeneration of Rat Tibial Defect by Zinc-Tricalcium Phosphate (Zn-TCP) Synthesized from Porous Foraminifera Carbonate Macrospheres. *Mar. Drugs.* 2013;11(12):5148–5158.
<https://doi.org/10.3390/md11125148>
29. Hirota M., Hayakawa T., Shima T., Ametani A., Tohna I. High porous titanium scaffolds showed higher compatibility than lower porous beta-tricalcium phosphate scaffolds for regulating human osteoblast and osteoclast differentiation. *Mater. Sci. Eng. C: Mater. Biol. Appl.* 2015;49:623–631.
<https://doi.org/10.1016/j.msec.2015.01.006>
30. Kaur G., Pandey O.P., Singh K., Homa D., Scott B., Pickrell G. A review of bioactive glasses: Their structure, properties, fabrication and apatite formation. *J. Biomed. Mater. Res. A.* 2014;102(1):254–274.
<https://doi.org/10.1002/jbm.a.34690>
31. Fiume E., Barberi J., Vernè E., Bairo F. Bioactive Glasses: From Parent 45S5 Composition to Scaffold-Assisted Tissue-Healing Therapies. *J. Funct. Biomater.* 2018;9(1):24.
<https://doi.org/10.3390/jfb9010024>
32. Dittler M.L., Unalan I., Grünwald A., Beltrán A.M., Grillo C.A., Destch R., Gonzalez M.C., Boccaccini A.R. Bioactive glass (45S5)-based 3D scaffolds coated with magnesium and zinc-loaded hydroxyapatite nanoparticles for tissue engineering applications. *Colloids. Surf. B: Biointerfaces.* 2019;182:110346.
<https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2019.110346>
33. Ferraris S., Yamaguchi S., Barbani N., Cazzola M., Cristallini C., Miola M., Vernè E., Spriano S. Bioactive materials: *In vitro* investigation of different mechanisms of hydroxyapatite precipitation. *Acta Biomater.* 2020;102:468–480.
<https://doi.org/10.1016/j.actbio.2019.11.024>
34. O'Donnell M.D. Melt-Derived Bioactive Glass. In: *Bio-glasses: An introduction*. New Jersey, USA: John Wiley & Sons; 2012. P. 13–28.
<https://doi.org/10.1002/9781118346457.ch2>
35. Höland W., Beall G. H. Glass-Ceramics. In: *Handbook of Advanced Ceramics: Materials, Applications, Processing and Properties*. New York, USA: Academic Press; 2013. Chapter 5.1. P. 371–381.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-385469-8.00021-6>
36. Nandi S.K., Mahato A., Kundu B., Mukherjee P. Doped Bioactive Glass Materials in Bone Regeneration. In: *Advanced Techniques in Bone Regeneration*. Norderstedt, Germany: BoD – Books on Demand; 2016. P. 275–328.
<https://doi.org/10.5772/63266>
37. Zhang X., Zeng D., Li N., Wen J., Jiang X., Liu C., Li Y. Functionalized mesoporous bioactive glass scaffolds for enhanced bone tissue regeneration. *Sci Rep.* 2016;6:19361.
<https://doi.org/10.1038/srep19361>
38. El-Rashidy A.A., Roether J.A., Harhaus L., Kneser U., Boccaccini A.R. Regenerating bone with bioactive glass scaffolds: A review of *in vivo* studies in bone defect models. *Acta Biomater.* 2017;62:1–28.
<https://doi.org/10.1016/j.actbio.2017.08.030>
39. Bossard C., Granel H., Wittrant Y., Jallot É., Lao J., Vial C., Tiainen H. Polycaprolactone/bioactive glass hybrid scaffolds for bone regeneration. *Biomed. Glasses.* 2018;4(1):108–122.
<https://doi.org/10.1515/bglass-2018-0010>
40. Ding Y., Souza M.T., Li W., Schubert D.W., Boccaccini A.R., Roether J.A. Bioactive Glass-Biopolymer Composites for Applications in Tissue Engineering. In: *Handbook of Bioceramics and Biocomposites*. Switzerland: Springer International Publishing; 2016. P. 325–356.
https://doi.org/10.1007/978-3-319-12460-5_17
41. Meretoja V.V., Tirri T., Malin M., Seppälä J.V., Närhi T.O. Ectopic bone formation in and soft-tissue response to P(CL/DLLA)/bioactive glass composite scaffolds. *Clin. Oral. Implants Res.* 2014;25(2):159–164.
<https://doi.org/10.1111/clr.12051>
42. Iqbal N., Khan A.S., Asif A., Yar M., Haycock J.W., Rehman I.U. Recent concepts in biodegradable polymers for tissue engineering paradigms: A critical review. *International Materials Reviews.* 2018. 64(2):91–126.
<https://doi.org/10.1080/09506608.2018.1460943>
43. Shen Y., Tu T., Yi B., Wang X., Tang H., Liu W., Zhang Y. Electrospun acid-neutralizing fibers for the amelioration of inflammatory response. *Acta Biomater.* 2019;97:200–215.
<https://doi.org/10.1016/j.actbio.2019.08.014>
44. Luo H., Xiong G., Li Q., Ma C., Zhu Y., Guo R. Preparation and properties of a novel porous poly(lactic acid) composite reinforced with bacterial cellulose nanowhiskers. *Fibers and Polym.* 2014;15(12):2591–2596.
<https://doi.org/10.1007/s12221-014-2591-8>
45. Gentile P., Chiono V., Carmagnola I., Hatton P. V. An Overview of Poly(lactic-co-glycolic) Acid (PLGA)-Based Biomaterials for Bone Tissue Engineering. *Int. J. Mol. Sci.* 2014;15(3):3640–3659.
<https://doi.org/10.3390/ijms15033640>
46. Elmowafy E.M., Tiboni M., Soliman M.E. Biocompatibility, biodegradation and biomedical applications of poly (lactic acid)/poly (lactic-co-glycolic acid) micro and nanoparticles. *J. Pharm. Investig.* 2019;49:347–380.
<https://doi.org/10.1007/s40005-019-00439-x>
47. Anderson J.M., Shive M.S. Biodegradation and biocompatibility of PLA and PLGA microspheres. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2012;64:72–82.
<https://doi.org/10.1016/j.addr.2012.09.004>
48. Yang F., Wang J., Hou J., Guo H., Liu C. Bone regeneration using cell-mediated responsive degradable PEG-based scaffolds incorporating with rhBMP-2. *Biomaterials.* 2013;34(5):1514–1528.
<https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2012.10.058>
49. Ni P., Ding Q., Fan M., Liao J., Qian Z., Luo J. Injectable thermosensitive PEG-PCL-PEG hydrogel/acellular bone matrix composite for bone regeneration in cranial defects. *Biomaterials.* 2014;35(1):236–248.
<https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2013.10.016>
50. Dorati R., DeTrizio A., Modena T., Conti B., Benazzo F., Gastaldi G. Biodegradable Scaffolds for Bone Regeneration Combined with Drug-Delivery Systems in Osteomyelitis Therapy. *Pharmaceuticals (Basel).* 2017;10(4):96.
<https://doi.org/10.3390/ph10040096>

51. Buyuksungur S., Endogan Tanir T., Buyuksungur A., Bektas E.I., Torun Kose G., Yucel D. 3D printed poly(ϵ -caprolactone) scaffolds modified with hydroxyapatite and poly(propylene fumarate) and their effects on the healing of rabbit femur defects. *Biomater Sci.* 2017;5(10):2144–2158. <https://doi.org/10.1039/c7bm00514h>
52. Volkmer E., Leicht U., Moritz M., Schwarz C., Wiese H., Milz S. Poxamer-based hydrogels hardening at body core temperature as carriers for cell based therapies: *in vitro* and *in vivo* analysis. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 2013;24(9):2223–2234. <https://doi.org/10.1007/s10856-013-4966-6>
53. Amiryaghoubi N., Fathi M., Pesyan N.N., Samiei M., Barar J., Omidi Y. Bioactive polymeric scaffolds for osteogenic repair and bone regenerative medicine. *Med. Res. Rev.* 2020;40(5):1833–1870. <https://doi.org/10.1002/med.21672>
54. Eđri S., Eczacıođlu N. Sequential VEGF and BMP-2 releasing PLA-PEG-PLA scaffolds for bone tissue engineering: I. Design and *in vitro* tests. *Artif. Cells. Nanomed. Biotechnol.* 2017;45(2):321–329. <https://doi.org/10.3109/21691401.2016.1147454>
55. Schliephake H., Weich H., Dullin C., Gruber R., Frahse S. Mandibular bone repair by implantation of rhBMP-2 in a slow release carrier of polylactic acid—An experimental study in rats. *Biomaterials.* 2008;29(1):103–110. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2007.09.019>
56. Facca S., Ferrand A., Mendoza-Palomares C., Perrin-Schmitt F., Netter P., Mainard D. Bone Formation Induced by Growth Factors Embedded into the Nanostructured Particles. *J. Biomed. Nanotechnol.* 2011;7(3):482–485. <https://doi.org/10.1166/jbn.2011.1311>
57. Wink J.D., Gerety P.A., Sherif R.D., Lim Y., Clarke N.A., Rajapakse C.S. Sustained Delivery of rhBMP-2 by Means of Poly(Lactic-co-Glycolic Acid) Microspheres: Cranial Bone Regeneration without Heterotopic Ossification or Craniosynostosis. *Plast. Reconstr. Surg.* 2014;134(1):51–59. <https://doi.org/10.1097/prs.0000000000000287>
58. Machatschek R., Schulz B., Lendlein A. The influence of pH on the molecular degradation mechanism of PLGA. *MRS Advances.* 2018;3(63):3883–3889. <https://doi.org/10.1557/adv.2018.602>
59. Liu Y., Ghassemi A.H., Hennink W.E., Schwendeman S.P. The microclimate pH in poly(D,L-lactide-co-hydroxymethyl glycolide) microspheres during biodegradation. *Biomaterials.* 2012;33(30):7584–7593. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2012.06.013>
60. Hines D.J., Kaplan D.L. Poly(lactic-co-glycolic) Acid-Controlled-Release Systems: Experimental and Modeling Insights. *Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst.* 2013;30(3):257–276. <https://doi.org/10.1615/critrevtherdrugcarriersyst.2013006475>
61. Kutikov A.B., Song J. Biodegradable PEG-Based Amphiphilic Block Copolymers for Tissue Engineering Applications. *ACS Biomater. Sci. Eng.* 2015;1(7):463–480. <https://doi.org/10.1021/acsbomaterials.5b00122>
62. Pan H., Zheng Q., Guo X., Wu Y., Wu B. Polydopamine-assisted BMP-2-derived peptides immobilization on biomimetic copolymer scaffold for enhanced bone induction *in vitro* and *in vivo*. *Colloids Surf. B Biointerfaces.* 2016;142:1–9. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2016.01.060>
63. Majchrowicz A., Roguska A., Krawczyńska A., Lewandowska M., Martí-Muñoz J., Engel E. *In vitro* evaluation of degradable electrospun polylactic acid/bioactive calcium phosphate ormoglass scaffolds. *Archiv. Civ. Mech. Eng.* 2020;20:1–11. <https://doi.org/10.1007/s43452-020-00052-y>
64. Amini A.R., Laurencin C.T., Nukavarapu S.P. Bone Tissue Engineering: Recent Advances and Challenges. *Crit. Rev. Biomed. Eng.* 2012;40(5):363–408. <https://doi.org/10.1615/critrevbiomedeng.v40.i5.10>
65. Park S.H., Park S.A., Kang Y.G., Shin J.W., Park Y.S., Gu S.R. PCL/ β -TCP Composite Scaffolds Exhibit Positive Osteogenic Differentiation with Mechanical Stimulation. *Tissue Eng. Regen Med.* 2017;14(4):349–358. <https://doi.org/10.1007/s13770-017-0022-9>
66. Shin D.Y., Kang M.H., Kang I.G., Kim H.E., Jeong S.H. *In vitro* and *in vivo* evaluation of polylactic acid-based composite with tricalcium phosphate microsphere for enhanced biodegradability and osseointegration. *J. Biomater. Appl.* 2018;32(10):1360–1370. <https://doi.org/10.1177/0885328218763660>
67. Wang Y., Zhao Q., Han N., Bai L., Li J., Liu J., Che E., Hu L., Zhang Q., Jiang T., Wang S. Mesoporous silica nanoparticles in drug delivery and biomedical applications. *Nanomedicine.* 2015;11(2):313–327. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2014.09.014>
68. Cheng H., Chawla A., Yang Y., Li Y., Zhang J., Jang H.L., Khademhosseini A. Development of nanomaterials for bone-targeted drug delivery. *Drug Discov. Today.* 2017;22(9):1336–1350. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2017.04.021>
69. Zhou Y., Quan G., Wu Q., Zhang X., Niu B., Wu B., Huang Y., Pan X., Wu C. Mesoporous silica nanoparticles for drug and gene delivery. *Acta Pharm. Sin. B.* 2017;8(2):165–177. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2018.01.007>
70. Vallet-Regí M. Ordered Mesoporous Materials in the Context of Drug Delivery Systems and Bone Tissue Engineering. *Chemistry.* 2006;12(23):5934–5943. <https://doi.org/10.1002/chem.200600226>
71. Ma M., Zheng S., Chen H., Yao M., Zhang K., Jia X., Mou J., Xu H., Wu R., Shi J. A combined “RAFT” and “Graft From” polymerization strategy for surface modification of mesoporous silica nanoparticles: towards enhanced tumor accumulation and cancer therapy efficacy. *J. Mater. Chem. B.* 2014;2(35):5828–5836. <https://doi.org/10.1039/C3TB21666G>
72. Motealleh A., Kehr N. S. Nanocomposite Hydrogels and Their Applications in Tissue Engineering. *Adv. Healthc. Mater.* 2017;6(1):10.1002/adhm.201600938. <https://doi.org/10.1002/adhm.201600938>
73. Xin T., Mao J., Liu L., Tang J., Wu L., Yu X., Gu Y., Cui W., Chen L. Programmed Sustained Release of Recombinant Human Bone Morphogenetic Protein-2 and Inorganic Ion Composite Hydrogel as Artificial Periosteum. *ACS Appl. Mater. Interfaces.* 2020;12(6):6840–6851. <https://doi.org/10.1021/acsmi.9b18496>
74. Zhang D., Liu X., Wu G. Forming CNT-guided stereocomplex networks in polylactide-based nanocomposites. *Compos. Sci. Technol.* 2016;128:8–16. <https://doi.org/10.1016/j.compscitech.2016.03.003>
75. Kumar S.K., Jouault N., Benicewicz B., Neely T. Nanocomposites with Polymer Grafted Nanoparticles. *Macromolecules.* 2013;46(9):3199–3214. <https://doi.org/10.1021/ma4001385>
76. Mikael P.E., Amini A.R., Basu J., Josefina Arellano-Jimenez M., Laurencin C.T., Sanders M.M., Barry Carter C., Nukavarapu S.P. Functionalized carbon nanotube reinforced scaffolds for bone regenerative engineering: fabrication, *in vitro* and *in vivo* evaluation. *Biomed. Mater.* 2014;9(3):035001. <https://doi.org/10.1088/1748-6041/9/3/035001>

77. Shrestha B., DeLuna F., Anastasio M.A., Yong Ye J., Brey E.M. Photoacoustic Imaging in Tissue Engineering and Regenerative Medicine. *Tissue Eng. Part B Rev.* 2020;26(1):79–102.
<https://doi.org/10.1089/ten.TEB.2019.0296>
78. Lorite G.S., Pitkänen O., Mohl M., Kordas K., Koivisto J.T., Kellomäki M., Monique Mendonça C.P., Jesus M.B. Carbon nanotube-based matrices for tissue engineering. In: *Materials for Biomedical Engineering. Bioactive Materials, Properties, and Applications.* Elsevier; 2019. Chapter 10. P. 323–353.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818431-8.00003-9>
79. Zhu S., Jing W., Hu X., Huang Z., Cai Q., Ao Y., Yang X. Time-dependent effect of electrical stimulation on osteogenic differentiation of bone mesenchymal stromal cells cultured on conductive nanofibers. *J. Biomed. Mater. Res. A.* 2017;105(12):3369–3383.
<https://doi.org/10.1002/jbm.a.36181>
80. Andrade V.B., Sá M.A., Mendes R.M., Martins-Júnior P.A., Silva G., Sousa B.R. Enhancement of Bone Healing by Local Administration of Carbon Nanotubes Functionalized with Sodium Hyaluronate in Rat Tibiae. *Cells Tissues Organs.* 2017;204(3–4):137–149.
<https://doi.org/10.1159/000453030>
81. Sá M.A., Andrade V.B., Mendes R.M., Caliarri M.V., Ladeira L.O., Silva E.E., Silva G.A., Corrêa-Júnior J.D., Ferreira A.J. Carbon nanotubes functionalized with sodium hyaluronate restore bone repair in diabetic rat sockets. *Oral Dis.* 2013;19(5):484–493.
<https://doi.org/10.1111/odi.12030>
82. Wang X., Huang Z., Wei M., Lu T., Nong D., Zhao J., Gao X., Teng L. Catalytic effect of nanosized ZnO and TiO₂ on thermal degradation of poly(lactic acid) and isoconversional kinetic analysis. *Thermochimica Acta.* 2019;672:14–24.
<https://doi.org/10.1016/j.tca.2018.12.008>
83. Lebedev S.M. Manufacturing poly(lactic acid)/metal composites and their characterization. *Int. J. Adv. Manuf. Technol.* 2019;102:3213–3216.
<https://doi.org/10.1007/s00170-019-03420-y>
84. Glenske K., Donkiewicz P., Köwitsch A., Milosevic-Oljaca N., Rider P., Rofall S., Franke J., Jung O., Smeets R., Schnettler R., Wensch S., Barbeck M. Applications of Metals for Bone Regeneration. *Int. J. Mol. Sci.* 2018;19(3):826.
<https://doi.org/10.3390/ijms19030826>
85. Trujillo S., Lizundia E., Vilas J.L., Salmeron-Sanchez M. PLLA/ZnO nanocomposites: Dynamic surfaces to harness cell differentiation. *Colloids Surf. B Biointerfaces.* 2016;144:152–160.
<https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2016.04.007>
86. Pérez-Álvarez L., Lizundia E., Ruiz-Rubio L., Benito V., Moreno I., Luis J., Vilas-Vilela J.S. Hydrolysis of poly(L-lactide)/ZnO nanocomposites with antimicrobial activity. *J. Appl. Polym. Sci.* 2019;136(28):47786.
<https://doi.org/10.1002/app.47786>
87. Zhao Y., Liang H., Zhang S., Qu S., Jiang Y., Chen M. Effects of Magnesium Oxide (MgO) Shapes on *In Vitro* and *In Vivo* Degradation Behaviors of PLA/MgO Composites in Long Term. *Polymers.* 2020;12(5):E1074.
<https://doi.org/10.3390/polym12051074>
88. Brown A., Zaky S., Ray H. J., Sfeir C. Porous magnesium/PLGA composite scaffolds for enhanced bone regeneration following tooth extraction. *Acta Biomater.* 2015;11:543–553.
<https://doi.org/10.1016/j.actbio.2014.09.008>
89. Urdzíkova L., Jendelová P., Glogarová K., Burian M., Hájek M., Syková E. Transplantation of Bone Marrow Stem Cells as well as Mobilization by Granulocyte-Colony Stimulating Factor Promotes Recovery after Spinal Cord Injury in Rats. *J. Neurotrauma.* 2016;24(9):1379–1391.
<https://doi.org/10.1089/neu.2006.23.1379>
90. Li Y., Ye D., Li M., Ma M., Gu N. Adaptive Materials Based on Iron Oxide Nanoparticles for Bone Regeneration. *ChemPhysChem.* 2018;19(16):1965–1979.
<https://doi.org/10.1002/cphc.201701294>
91. Sharifi S., Seyednejad H., Laurent S., Atyabi F., Saei A.A., Mahmoudi M. Superparamagnetic iron oxide nanoparticles for *in vivo* molecular and cellular imaging. *Contrast Media Mol. Imaging.* 2015;10(5):329–355.
<https://doi.org/10.1002/cmmi.1638>
92. Kremen T. J., Bez M., Sheyn D., Ben-David S., Da X., Tawackoli W., Wagner S., Gazit D., Pelled G. *In Vivo* Imaging of Exogenous Progenitor Cells in Tendon Regeneration via Superparamagnetic Iron Oxide Particles. *Am. J. Sports Med.* 2019;47(11):2737–2744.
<https://doi.org/10.1177/02F0363546519861080>
93. Meng J., Xiao B., Zhang Y., Liu J., Xue H., Lei J., Kong H., Huang Y., Jin Z., Gu N., Xu H. Super-paramagnetic responsive nanofibrous scaffolds under static magnetic field enhance osteogenesis for bone repair *in vivo.* *Sci. Rep.* 2013;3:2655.
<https://doi.org/10.1038/srep02655>
94. Ghassemi T., Shahroodi A., Ebrahimzadeh M.H., Mousavian A., Movaffagh J., Moradi A. Current Concepts in Scaffolding for Bone Tissue Engineering. *Arch. Bone Jt. Surg.* 2018;6(2):90–99.
<https://dx.doi.org/10.22038/abjs.2018.26340.1713>
95. Akilbekova D., Shaimerdenova M., Adilov S., Berillo D. Biocompatible scaffolds based on natural polymers for regenerative medicine. *Int. J. Biol. Macromol.* 2018;114:324–333.
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.03.116>
96. Sofi H.S., Ashraf R., Beigh M.A., Sheikh F.A. Scaffolds Fabricated from Natural Polymers/Composites by Electrospinning for Bone Tissue Regeneration. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2018;1078:49–78.
https://doi.org/10.1007/978-981-13-0950-2_4
97. Islam S., Rahman Bhuiyan M.A., Islam M.N. Chitin and Chitosan: Structure, Properties and Applications in Biomedical Engineering. *J. Polym. Environ.* 2017;25:854–866.
<https://doi.org/10.1007/s10924-016-0865-5>
98. Ahsan S.M., Thomas M., Reddy K.K., Sooraparaju S.G., Asthana A., Bhatnagar I. Chitosan as biomaterial in drug delivery and tissue engineering. *Int. J. Biol. Macromol.* 2018;110:97–109.
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.08.140>
99. Lei B., Guo B., Rambhia K.J., Ma P.X. Hybrid polymer biomaterials for bone tissue regeneration. *Front. Med.* 2019;13(2):189–201.
<https://doi.org/10.1007/s11684-018-0664-6>
100. Shen R., Xu W., Xue Y., Chen L., Ye H., Zhong E., Ye Z., Gao J., Yan Y. The use of chitosan/PLA nano-fibers by emulsion eletrospinning for periodontal tissue engineering. *Artif. Cells Nanomed. Biotechnol.* 2018;46(sup2):419–430.
<https://doi.org/10.1080/21691401.2018.1458233>
101. Yun Y.P., Lee S.Y., Kim H.J., Song J.J., Kim S.E. Improvement of osteoblast functions by sustained release of bone morphogenetic protein-2 (BMP-2) from heparin-coated chitosan scaffold. *Tissue Eng. Regen. Med.* 2013;10:183–191.
<https://doi.org/10.1007/s13770-013-0389-1>

102. Russo E., Gaglianone N., Baldassari S., Parodi B., Cafaggi S., Zibana C., Donalizio M., Cagno V., Lembo D., Caviglioli G. Preparation, characterization and *in vitro* antiviral activity evaluation of choscarnet-chitosan nanoparticles. *Colloids Surf. B: Biointerfaces*. 2014;118:117–125. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2014.03.037>
103. Cao L., Werkmeister J.A., Wang J., Glattauer V., McLean K.M., Liu C. Bone regeneration using photocrosslinked hydrogel incorporating rhBMP-2 loaded 2-N, 6-O-sulfated chitosan nanoparticles. *Biomaterials*. 2014;35(9):2730–2742. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2013.12.028>
104. Cao L., Wang J., Hou J., Xing W., Liu C. Vascularization and bone regeneration in a critical sized defect using 2-N,6-O-sulfated chitosan nanoparticles incorporating BMP-2. *Biomaterials*. 2014;35(2):684–698. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2013.10.005>
105. Echave M.C., Saenz del Burgo L., Pedraz J.L., Orive G. Gelatin as Biomaterial for Tissue Engineering. *Curr. Pharm. Des.* 2017;23(24):3567–3584. <https://doi.org/10.2174/092986732466617051123101>
106. Poursamar S.A., Hatami J., Lehner A.N., da Silva C.L., Ferreira F.C., Antunes A.P. Gelatin porous scaffolds fabricated using a modified gas foaming technique: Characterisation and cytotoxicity assessment. *Mater. Sci. Eng. C Mater. Biol. Appl.* 2015;48:63–70. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2014.10.074>
107. Peng Y.Y., Glattauer V., Ramshaw J.A. Stabilisation of Collagen Sponges by Glutaraldehyde Vapour Crosslinking. *Int. J. Biomater.* 2017;2017:8947823. <https://doi.org/10.1155/2017/8947823>
108. Yokota K., Matsuno T., Tabata Y., Mataga I. Evaluation of a Porous Hydroxyapatite Granule and Gelatin Hydrogel Microsphere Composite in Bone Regeneration. *J. Hard Tissue Biol.* 2017;26(2):203–214. <https://doi.org/10.2485/jhtb.26.203>
109. Elvin C.M., Brownlee A.G., Huson M.G., Tebb T.A., Kim M., Lyons R.E., Vuocolo T., Liyou N.E., Hughes T.C., Ramshaw J.A., Werkmeister J.A. The development of photochemically crosslinked native fibrinogen as a rapidly formed and mechanically strong surgical tissue sealant. *Biomaterials*. 2009;30(11):2059–2065. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2008.12.059>
110. Monteiro N., Thirivikraman G., Athirasala A., Tahayeri A., França C.M., Ferracane J.L., Bertassoni L.E. Photopolymerization of cell-laden gelatin methacryloyl hydrogels using a dental curing light for regenerative dentistry. *Dent. Mater.* 2018;34(3):389–399. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2017.11.020>
111. Lin C.H., Su J.J., Lee S.Y., Lin Y.M. Stiffness modification of photopolymerizable gelatin-methacrylate hydrogels influences endothelial differentiation of human mesenchymal stem cells. *J. Tissue Eng. Regen. Med.* 2018;12(10):2099–2111. <https://doi.org/10.1002/term.2745>
112. Kilic Bektas C., Hasirci V. Mimicking corneal stroma using keratocyte-loaded photopolymerizable methacrylated gelatin hydrogels. *J. Tissue Eng. Regen. Med.* 2018;12(4):e1899–e1910. <https://doi.org/10.1002/term.2621>
113. Gan Y., Li P., Wang L., Mo X., Song L., Xu Y., Zhao C., Ouyang B., Tu B., Luo L., Zhu L., Dong S., Li F., Zhou Q. An interpenetrating network-strengthened and toughened hydrogel that supports cell-based nucleus pulposus regeneration. *Biomaterials*. 2017;136:12–28. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2017.05.017>
114. Dong C., Lv Y. Application of Collagen Scaffold in Tissue Engineering: Recent Advances and New Perspectives. *Polymers*. 2016;8(2):42. <https://doi.org/10.3390/polym8020042>
115. Zhang D., Wu X., Chen J., Lin K. The development of collagen based composite scaffolds for bone regeneration. *Bioact. Mater.* 2017;3(1):129–138. <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2017.08.004>
116. Gu L., Shan T., Ma Y.X., Tay F.R., Niu L. Novel Biomedical Applications of Crosslinked Collagen. *Trends Biotechnol.* 2019;37(5):464–491. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2018.10.007>
117. Badieyan Z.S., Berezhusky T., Utzinger M., Aneja M.K., Emrich D., Erben R., Schüller C., Altpeter P., Ferizi M., Hasenpusch G., Rudolph C., Plank C. Transcript-activated collagen matrix as sustained mRNA delivery system for bone regeneration. *J. Control Release*. 2016;239:137–148. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2016.08.037>
118. Hettiaratchi M.H., Krishnan L., Rouse T., Chou C., McDevitt T.C., Guldberg R.E. Heparin-mediated delivery of bone morphogenetic protein-2 improves spatial localization of bone regeneration. *Sci. Adv.* 2020;6(1):eaay1240. <https://doi.org/10.1126/sciadv.aay1240>
119. Peckman S., Zanella J.M., McKay W.F. Infuse® Bone Graft. In: *Drug-Device Combinatins for Chronic Diseases*. New Jersey, USA: John Wiley & Sons; 2015;241–260. <https://doi.org/10.1002/9781119002956.ch09>
120. Scalzone A., Flores-Mir C., Carozza D., d'Apuzzo F., Grassia V., Perillo L. Secondary alveolar bone grafting using autologous versus alloplastic material in the treatment of cleft lip and palate patients: systematic review and meta-analysis. *Prog. Orthod.* 2019;20(1):6. <https://doi.org/10.1186/s40510-018-0252-y>
121. Bowler D., Dym H. Bone Morphogenic Protein: Application in Implant Dentistry. *Dent. Clin. North. Am.* 2015;59(2):493–503. <https://doi.org/10.1016/j.cden.2014.10.006>
122. Geiger M., Li R.H., Friess W. Collagen sponges for bone regeneration with rhBMP-2. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2003;55(12):1613–1629. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2003.08.010>
123. Oryan A., Kamali A., Moshiri A., Baharvand H., Daemi H. Chemical crosslinking of biopolymeric scaffolds: Current knowledge and future directions of crosslinked engineered bone scaffolds. *Int. J. Biol. Macromol.* 2018;107(Pt A):678–688. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.08.184>
124. Dai M., Liu X., Wang N., Sun J. Squid type II collagen as a novel biomaterial: Isolation, characterization, immunogenicity and relieving effect on degenerative osteoarthritis via inhibiting STAT1 signaling in pro-inflammatory macrophages. *Mater. Sci. Eng. C Mater. Biol. Appl.* 2018;89:283–294. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2018.04.021>
125. Monaco G., Cholas R., Salvatore L., Madaghiale M., Sannino A. Sterilization of collagen scaffolds designed for peripheral nerve regeneration: Effect on microstructure, degradation and cellular colonization. *Mater. Sci. Eng. C Mater. Biol. Appl.* 2017;71:335–344. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2016.10.030>
126. Delgado L.M., Fuller K., Zeugolis D.I. Influence of Cross-Linking Method and Disinfection/Sterilization Treatment on the Structural, Biophysical, Biochemical, and Biological Properties of Collagen-Based Devices. *ACS Biomater. Sci. Eng.* 2018;4(8):2739–2747. <https://doi.org/10.1021/acsbomaterials.8b00052>

127. Dai Z., Ronholm J., Tian Y., Sethi B., Cao X. Sterilization techniques for biodegradable scaffolds in tissue engineering applications. *J. Tissue Eng.* 2016;7:2041731416648810. <https://doi.org/10.1177/2041731416648810>

128. Nune K.C., Misra R., Bai Y., Li S., Yang R. Interplay of topographical and biochemical cues in regulating osteoblast cellular activity in BMP-2 eluting three-dimensional cellular titanium alloy mesh structures. *J. Biomed. Mater. Res. A.* 2019;107(1):49–60. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.36520>

129. Cha J.K., Song Y.W., Kim S., Thoma D.S., Jung U.W., Jung R.E. Core Ossification of Bone Morphogenetic Protein-2-Loaded Collagenated Bone Mineral in the Sinus. *Tissue Eng. Part A.* 2020;10.1089/ten.TEA.2020.0151. <https://doi.org/10.1089/ten.tea.2020.0151>

Об авторах:

Лыкошин Дмитрий Дмитриевич, инженер лаборатории биофармацевтических технологий Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук (Россия, 117997, Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 16/10, к. 1). E-mail: idd-94@yandex.ru. Scopus Author ID 57219992166, ResearcherID AAB-1166-2021, <https://orcid.org/0000-0003-1612-1643>

Зайцев Владимир Валентинович, кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник, руководитель группы остеопластических материалов, Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии имени Н.Н. Приорова, Министерство здравоохранения Российской Федерации. (Россия, 127299, Москва, ул. Приорова, д. 10). E-mail: zaitsev-cito@mail.ru. Scopus Author ID 56648236900, ResearcherID AAI-4110-2020, <https://orcid.org/0000-0003-1109-5642>

Костромина Мария Андреевна, младший научный сотрудник лаборатории биофармацевтических технологий Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук (Россия, 117997, Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 16/10, к. 1). E-mail: kostromasha@mail.ru. Scopus Author ID 55123242300 ResearcherID R-9418-2016, <https://orcid.org/0000-0001-6768-8995>

Есипов Роман Станиславович, д.х.н., старший научный сотрудник, заведующий лабораторией биофармацевтических технологий Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук (Россия, 117997, Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 16/10, к. 1). E-mail: refolding@mail.ru. Scopus Author ID 6701850033, Researcher ID G-4950-2017, <https://orcid.org/0000-0002-3231-5838>

About the authors:

Dmitry D. Lykoshin, Engineer-Researcher, Laboratory of Biopharmaceutical Technologies, Shemyakin and Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences (16/10, Miklukho-Maklaya ul., Moscow, 117997, Russia). E-mail: idd-94@ya.ru. Scopus Author ID 57219992166, ResearcherID AAB-1166-2021, <https://orcid.org/0000-0003-1612-1643>

Vladimir V. Zaitsev, Cand. Sci. (Med.), Leading Researcher, Team Leader of osteoplastic materials, N.N. Priorov National Medical Research Center of Traumatology and Orthopedics, Ministry of Health of the Russian Federation, (10, Priorova ul., Moscow, 127299, Russia). E-mail: zaitsev-cito@mail.ru. Scopus Author ID 56648236900, ResearcherID AAI-4110-2020, <https://orcid.org/0000-0003-1109-5642>

Maria A. Kostromina, Junior Researcher, Laboratory of Biopharmaceutical Technologies, Shemyakin and Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences (16/10, Miklukho-Maklaya ul., Moscow, 117997, Russia). E-mail: kostromasha@mail.ru. Scopus Author ID 55123242300 ResearcherID R-9418-2016, <https://orcid.org/0000-0001-6768-8995>

Roman S. Esipov, Dr. Sci. (Chem.), Principal Researcher, Head of the Laboratory of Biopharmaceutical Technologies, Shemyakin and Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, (16/10, Miklukho-Maklaya ul., Moscow, 117997, Russia). E-mail: refolding@mail.ru. Scopus Author ID 6701850033, Researcher ID G-4950-2017, <https://orcid.org/0000-0002-3231-5838>

Поступила: 20.11.2020; получена после доработки: 19.12.2020; принята к опубликованию: 30.01.2021.

The article was submitted: November 20, 2020; approved after reviewing: December 19, 2020; accepted for publication: January 30, 2021.