

© Коллектив авторов, 2019

УДК 616-092.9

Иванов А.Н.¹, Куртукова М.О.², Козадаев М.Н.¹, Суровцева К.А.², Савельева М.С.³, Бугаева И.О.²,
Парахонский Б.В.³, Блинникова В.В.¹, Гладкова Е.В.¹, Бабушкина И.В.¹, Чибрикова Ю.А.¹, Норкин И.А.¹

Влияние на регенерацию костной ткани локальных изменений ионного и ферментативного гомеостаза скаффолдами из поликапролактона минерализованными ватеритом

¹Научно-исследовательский институт травматологии, ортопедии и нейрохирургии ФГБОУ ВО

«Саратовский ГМУ имени В.И. Разумовского» Минздрава России,

410002, г. Саратов, Россия, ул. Чернышевского, д. 148;

²ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ имени В.И. Разумовского» Минздрава России,

410012, г. Саратов, Россия, ул. Большая Казачья, д. 112;

³ФГБОУ ВО «Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского»,

Образовательно-научный институт наноструктур и биосистем

Цель исследования – оценка влияния на регенерацию костной ткани локальных изменений ферментативного и ионного гомеостаза минерализованными ватеритом скаффолдами из поликапролактона. **Методика.** Эксперимент выполнен на 47 нелинейных крысах-самцах. Животные были разделены на 4 экспериментальные группы: контроль (интактные животные), группа сравнения (ложнооперированные крысы), группа отрицательного контроля (крысы с имплантацией матрицы, на которой сорбирован нативный овальбумин) и экспериментальная группа – крысы, которым имплантировали поликапролактоновый скаффолд, минерализованный ватеритом (ПКЛ/СаСО₃-скаффолд) с адсорбированной щелочной фосфатазой в дефект бедренной кости. На 7-е и 28-е сут в крови определяли содержание щелочной фосфатазы, а также концентрацию остеокальцина. Количественное определение остеокальцина производили методом иммуноферментного анализа с использованием набора реактивов фирмы «Immunodiagnostic systems» (Франция) и полуавтоматического ИФА-анализатора «Anthos Reader 2020» («Biochrom», Великобритания). Для выявления изменений ферментативной активности в сыворотке крови определяли кинетическим методом активность щелочной фосфатазы на биохимическом анализаторе «Сапфир-400» («Hirose Electronic System», Япония) с использованием набора реактивов фирмы «ДиаС» (Россия). Морфологическую верификацию процессов остеогенеза осуществляли при изучении гистологических препаратов на 28-е сут эксперимента. Поперечные срезы диафиза бедренной кости изучали при помощи микроскопа Axiolmager Z2 («Carl Zeiss», Германия) и микровизора проходящего света серии μVizo-103 (ООО «ЛОМО ФОТОНИКА», Россия). Оценивали интеграцию матриц с краями пропела, изменения кости в области имплантации матриц, преобладающий тип клеточных элементов матриц, наличие в них костных балок и сосудов. **Результаты.** Установлено, что изменение локального ионного гомеостаза (СаСО₃) и ферментативного гомеостаза щелочной фосфатазы, вызывает в матрице имплантированной в область дефекта формирование костных балок и биохимические изменения в крови, характеризующиеся повышением активности щелочной фосфатазы и увеличением концентрации остеокальцина. **Заключение.** При имплантации ПКЛ/СаСО₃-матриц с щелочной фосфатазой локальные изменения ферментативного и ионного гомеостаза, вызванные введением в состав кальцийсодержащих скаффолдов щелочной фосфатазы, в значительной степени стимулируют остеогенез. Биосовместимость и остеоиндуктивные свойства ПКЛ/СаСО₃-матриц с щелочной фосфатазой позволяют говорить о перспективности их клинической апробации для стимуляции процессов регенерации костной ткани.

Ключевые слова: скаффолд; поликапролактон; щелочная фосфатаза; остеогенез.

Для цитирования: Иванов А.Н., Куртукова М.О., Козадаев М.Н., Суровцева К.А., Савельева М.С., Бугаева И.О., Парахонский Б.В., Блинникова В.В., Гладкова Е.В., Бабушкина И.В., Чибрикова Ю.А., Норкин И.А. Влияние на регенерацию костной ткани локальных изменений ионного и ферментативного гомеостаза скаффолдами из поликапролактона минерализованными ватеритом. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2019; 63(3): 81-87.

DOI: 10.25557/0031-2991.2019.03.81-87

Для корреспонденции: Козадаев Максим Николаевич, канд. мед. наук, мл. науч. сотр. лаб. отдела фундаментальных и клинико-экспериментальных исследований, e-mail: m_kozadaev_ortoped@mail.ru

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 15.11.2018

Ivanov A.N.¹, Kurtukova M.O.², Kozadaev M.N.¹, Surovtseva K.A.², Savel'eva M.S.³, Bugaeva I.O.², Parakhonskiy B.V.³, Blinnikova V.V.¹, Gladkova E.V.¹, Babushkina I.V.¹, Chibrikova U.A.¹, Norkin I.A.¹

The effect of local changes in ionic and enzymatic homeostasis induced by polycaprolactone scaffolds mineralized with vaterite on bone tissue regeneration

¹Research Institute of Traumatology, Orthopedics and Neurosurgery of the V.I. Razumovsky Saratov State Medical University, Chernyshevskogo Str. 148, Saratov 410002, Russia;

²Department of Histology, V.I. Razumovsky Saratov State Medical University, Bolshaya Kazachiya Str. 112, Saratov 410012;

³N.G. Chernyshevsky Saratov State National Research University, Education and Research Institute of Nanostructures and Biosystems, Astrakhanskaya Str. 83, Saratov 410012, Russia

Aim. To study the effect of local changes in enzymatic and ionic homeostasis induced by vaterite-mineralized polycaprolactone scaffolds with adsorbed alkaline phosphatase on bone tissue regeneration. The experiment was conducted on 47 mongrel male rats divided into four experimental groups: control (intact animals), comparison group (sham-operated rats), negative control (rats implanted with a matrix with adsorbed native ovabumin), and experimental group (rats implanted with PLC-CaCO₃-scaffold with adsorbed alkaline phosphatase into the femoral bone defect). Alkaline phosphatase and osteocalcin contents were measured in blood of all animals on days 7 and 28. Osteocalcin was measured using the immune enzyme assay with an Immunodiagnostic Systems (France) kit and semi-automatic immune Anthos Reader 2020 (Biochrom, Great Britain) enzyme analyzer. Changes in serum alkaline phosphatase activity were detected using the kinetic method with a Sapphire-400 biochemical analyzer (Hirose Electronic Systems, Japan) and a DiaC (Russia) kit. Osteogenesis processes were verified morphologically on day 28 of the experiment by a histological assay. Transversal sections of the femoral diaphysis were examined with an Axiomager Z2 (Carl Zeiss, Germany) microscope and a μVizo-103 transmitted-light microvisor (OOO LOMO FOTONIKA, Russia). The evaluated indexes included matrix integration with saw-cut edges; bone changes in the area of matrix implantation; predominating type of matrix cell elements and the presence there of bone trabecula and blood vessels. **Results.** Changes in the local ionic homeostasis and homeostatic changes of alkaline phosphatase induced formation of bone trabecula in the matrix implanted into the defect area and biochemical changes in blood evident as upregulation of serum alkaline phosphatase associated with increased osteocalcin. **Conclusion.** In implantation of PLC-CaCO₃ matrices with alkaline phosphatase, local changes in the enzymatic and ionic homeostasis induced by supplementation of calcium-containing scaffolds with alkaline phosphatase considerably stimulate osteogenesis. The biocompatibility and osteoinductive properties of PLC-CaCO₃ matrices with alkaline phosphatase suggested that clinical testing of the use of the matrices for stimulation of bone tissue regeneration would be promising.

Keywords: scaffold, polycaprolactone, alkaline phosphatase, osteogenesis.

For citation: Ivanov A.N., Kurtukova M.O., Kozadaev M.N., Surovtseva K.A., Savel'eva M.S., Bugaeva I.O., Parakhonskiy B.V., Blinnikova V.V., Gladkova E.V., Babushkina I.V., Chibrikova U.A., Norkin I.A. The effect of local changes in ionic and enzymatic homeostasis induced by polycaprolactone scaffolds mineralized with vaterite on bone tissue regeneration. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2019; 63(3): 81-87. (in Russian).

DOI: 10.25557/0031-2991.2019.03.81-87

For correspondence: *Kozadaev Maxim Nikolaevich*, e-mail: m_kozadaev_ortoped@mail.ru

Acknowledgments. The study had no sponsorship.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Received 15.11.2018

Введение

Замещение дефектов и стимуляция репаративных процессов является одной из наиболее актуальных проблем современной медицины, решением которой занимается тканевая инженерия, изучающая процессы восстановления поврежденных тканей [1]. Важным направлением тканевой инженерии является разработка и изготовление скаффолдов. Скаффолды – трехмерные матрицы с объемной структурой, которые высту-

пают в качестве субстрата для заселения клеточными элементами, а также способны обеспечивать адресную доставку биологически активных веществ для стимуляции репаративных процессов [2]. В зоне имплантации матрица формирует опорный каркас, вокруг которого в дальнейшем будут протекать процессы васкуляризации и регенерации. На сегодняшний день предпочтение отдается синтетическим материалам для

создания скаффолдов, в связи с возможностью модификации их механических свойств и параметров биодеградации [3]. Одним из таких полимеров является поликапролактон (ПКЛ), хорошая адгезия которого и пролиферация клеток была доказана в условиях как *in vitro*, так и *in vivo* [4, 5]. Также одним из требований к веществам, используемым для создания скаффолдов, является наличие особых механических характеристик и волокнистая структура, которая должна быть схожа с структурой внеклеточного матрикса [6].

Учитывая высокую степень минерализации межклеточного вещества костной ткани, для стимуляции регенерации в состав матриц включают неорганические компоненты, позволяющие повышать остеоиндуктивные и остеокондуктивные свойства. В качестве неорганических веществ, способных изменять локальный ионный гомеостаз, применяется карбонат кальция в форме кальцита и ватерита (CaCO_3) [7]. Ватерит стимулирует пролиферацию остеобластов, а его пористая структура обеспечивает адсорбцию биологически активных веществ, необходимых для процесса регенерации и их высвобождения при перекристаллизации [8]. В качестве доставляемых скаффолдами веществ могут выступать ферменты, в частности, щелочная фосфатаза (ЩФ), участвующая в минеральном обмене посредством отщепления остатков фосфорной кислоты (ФК) от органических соединений и фосфатных групп (Р) в организме [9]. Присутствие ЩФ в имплантируемых скаффолдах способно изменить локальный ферментативный гомеостаз, что открывает новые перспективы стимуляции остеогенеза для оптимизации репаративных процессов.

Цель исследования — оценка остеоиндуктивных свойств матриц из ПКЛ/ CaCO_3 с ЩФ, обеспечивающих модуляцию ионного и ферментативного гомеостаза для стимуляции регенерации костной ткани.

Методика

Экспериментальная работа была проведена в соответствии с принципами биоэтики, Конвенцией по защите животных, используемых в эксперименте и других научных целях (принятой Советом Европы в 1986 г.), и Хельсинской Декларации по вопросам медицинской этики и Международным рекомендациям по проведению медико-биологических исследований с использованием лабораторных животных (1989). Исследование одобрено этическим комитетом института.

Эксперименты выполнены на 47 нелинейных белых крысах-самцах массой 200–260 г. Животные были разделены на 4 группы: 1-я — контроль, 2-я — группа сравнения (ложнооперированные крысы), 3-я (груп-

па отрицательного контроля) — животные, которым имплантировали ПКЛ-матрицы с адсорбированным на них овальбумином и 4-я (опытная группа) — животные с имплантированным ПКЛ/ CaCO_3 с ЩФ.

Эксперименты проводили под наркозом: комбинации золетила (0,1 мг/кг, Virbac Sante Animale, Франция) и ксилазина (1 мг/кг, Interchemie, Нидерланды). После обработки операционного поля на депилированном участке кожи в области бедренной кости выполнялся разрез длиной 3,5 см. Затем рассеклись мышцы бедра, и выполнялся продольный пропил в бедренной кости размерами: длина — 1,6 см, глубина — 3 мм. В сформированный дефект помещался скаффолд. Далее режущей иглой рана ушивалась нитью «Мед Капрон» полиамид (3-0). Область наложения швов обрабатывалась 70% спиртом. Крысам группы сравнения проводилось оперативное вмешательство соответствующего объема без имплантации матрицы.

Забор крови у животных производили непосредственно перед выводом из эксперимента на 7-е и 28-е сут пункцией правых отделов сердца. Получение сыворотки для биохимических исследований проводилось 15-минутным центрифугированием при 3000 g.

Количественное определение остеокальцина (ОК) проводили методом иммуноферментного анализа с использованием набора реактивов фирмы «Immunodiagnostic systems» (Франция) и полуавтоматического ИФА-анализатора «Anthos Reader 2020» («Biochrom», Великобритания).

Для выявления изменений ферментативной активности в сыворотке крови определяли кинетическим методом активность щелочной фосфатазы (ЩФ) на биохимическом анализаторе «Сапфир-400» («Hirose Electronic System», Япония) с использованием набора реактивов фирмы «ДиаС» (Россия).

Животных выводили из эксперимента на 7-е и 28-е сут передозировкой наркоза. Для проведения гистоморфологического исследования производили взятие фрагмента бедренной кости с имплантированной матрицей на 28-е сут эксперимента. Материал обрабатывали общепринятыми в гистологии методами.

Поперечные срезы диафиза бедренной кости изучали в микроскопе AxioImager Z2 («Carl Zeiss», Германия) и микровизоре проходящего света серии μ Vizo-103 (ООО «ЛОМО ФОТОНИКА», Россия). Оценивали интеграцию матриц с краями пропила, изменения кости в области имплантации матриц, преобладающий тип клеточных элементов матриц, наличие в них костных балок и сосудов.

При статистической обработке данных использован пакет программ Statistica 10.0. Проверяли гипотезы о виде распределений (критерий Шапиро–Уилкса).

При несоответствии нормальному распределению использовали U-критерий Манна – Уитни. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

У животных всех экспериментальных групп на 7-е и 28-е сут эксперимента был статистически значимо повышен уровень ОК по сравнению с контролем (табл.). При имплантации ПКЛ-матриц с адсорбированным овалбумином (3-я группа) концентрации ОК в сыворотке крови на 7-е и на 21-е сут не имели статистически значимых отличий от показателей 2-й группы – ложнопериованные животные (табл.).

У крыс 4-й опытной группы при имплантации ПКЛ/СаСО₃-скаффолдов с ЩФ концентрация в сыворотке крови ОК как на 7-е, так и на 28-е сут эксперимента, была статистически значимо выше, чем у животных группы сравнения (2-я гр.) и отрицательного контроля (3-я гр.).

Динамика активности биохимических показателей в сыворотке крови животных экспериментальных групп

Группы	ОК	ЩФ
1-я, контроль (n=12)	75,6 (47,7;91,0)	191,0 (139,0;221,5)
2-я, ложнопериованные 7 сут (n=9)	136,5 (129;163,1) p ₁ =0,008114	191,0 (155,0;202,0) p ₁ =0,915106
Ложнопериованные 28 сут (n=28)	185,5 (163;207) p ₁ =0,014215 p ₂ =0,177911	218,0 (184,0;267,0) p ₁ =0,117928 p ₂ =0,266381
3-я, отрицательный контроль 7 сут (n=22)	186,6 (160,1; 195,34) p ₁ =0,014215 p ₃ =0,327188	185,0 (166,0;220,0) p ₁ =0,492492 p ₃ =0,978501
Отрицательный контроль 28 сут (n=11)	158 (105,182) p ₁ =0,026810 p ₂ =0,298618 p ₃ =0,296180	218,5 (140,5;258,5) p ₁ =0,511960 p ₂ =0,662174 p ₃ =0,562834
4-я, ПКЛ+ Ватерит+ Щелочная фосфатаза 7 сут (n=15)	271,1 (233,8;521,0) p ₁ =0,008114 p ₃ =0,019965 p ₄ =0,019965	211,5 (184,0;228,5) p ₁ =0,214495 p ₃ =0,270664 p ₄ =0,206949
ПКЛ+ Ватерит+ Щелочная Фосфатаза 28 сут (n=23)	306,1 (219,0;393,28) p ₁ =0,003405 p ₂ =0,870991 p ₃ =0,029759 p ₄ =0,003295	322 (285;365) p ₁ =0,000019 p ₂ =0,000091 p ₃ =0,003509 p ₄ =0,001316

Примечание. Приведены медиана, нижний и верхний квартили. p₁ – по сравнению с контролем; p₂ – по сравнению с животными той же группы на 7-е сутки эксперимента; p_{3,4} – по сравнению с ложнопериованными животными и группой отрицательного контроля в тот же срок наблюдения. ОК – остеокальцин, ЩФ – щелочная фосфатаза.

Установлено, что на 7-е сут после имплантации или имитации имплантации матриц активность ЩФ в крови у всех групп животных не имели статистически значимых различий по сравнению с контролем. У крыс 4-й группы (матрица на основе ПКЛ/СаСО₃ с ЩФ) на 28-е сут эксперимента активность ЩФ в крови статистически значимо возросла относительно остальных групп животных.

Морфологически у крыс сравнения (2-я гр.) на 28-е сут, определялся дефект кортикальной пластинки в виде пропила, глубиной до костномозговой полости. В области пропила у всех животных наблюдалась локальная периостальная реакция. Регенерат у всех животных не закрывал полностью сформированный дефект. У 50% животных регенерат был представлен только соединительной тканью. У 50% крыс в состав регенерата вместе с соединительной тканью входили остеоидная ткань и небольшие островки гиалиновой хрящевой ткани.

У животных 3-й группы (отрицательный контроль) на 28-е сут отмечалась выраженная периостальная реакция, в 70% случаев захватывающая весь периметр диафиза, в 30% – локализованная в зоне дефекта. У 50% животных была выявлена эндостальная реакция, приводящая к формированию остеоидной ткани внутри полости диафиза. Матрица располагалась в области дефекта, была спаяна с его краями соединительной тканью. У 70% животных отмечалось разрастание соединительной ткани вокруг матрицы. В соединительной ткани вокруг скаффолда обнаруживалось множество тонкостенных сосудов, кровоизлияния и диapedез эритроцитов. При этом по периферии скаффолда наблюдалось формирование костных балок. Большую часть объема скаффолда заполняла оксифильная бесструктурная гомогенная масса. Клеточный состав матрицы был представлен гигантскими многоядерными клетками, обнаруживались элементы костного мозга, единичные фибробласты. Признаки формирования сосудов в матрице отсутствовали, в отдельных участках встречались неизменённые эритроциты. Признаки формирования костных балок отсутствовали.

На 28-е сут экспериментального исследования у животных 4-й опытной группы в области сформированного дефекта кортикальной кости и костномозговой полости матрица была плотно сращена с краями кортикальной пластинки слоем костной ткани. Периостальных и эндостальных реакций у животных данной группы не отмечалось. В скаффолде и по его периферии визуализировались многочисленные костные балки, анастомозирующие между собой. В межбалочных пространствах присутствовали фибробластические элементы и единичные гигантские многоядерные

клетки. Отмечалась выраженная васкуляризация матриц у животных данной группы — сосуды располагались как в костных балках, так и в межбалочных пространствах скаффолда.

Учитывая, что ОК высвобождается остеобластами в процессе остеогенеза и частично поступает в кровоток, увеличение его концентрации в сыворотке крови отражает повышение метаболической активности этих клеток [9]. Обнаруженное в группе ложнопериорированных крыс увеличение концентрации ОК на 7-е и 28-е сут, вероятно обусловлено периостальными реакциями, обнаруженными при морфологическом исследовании препаратов данной группы животных. Вместе с тем активность ЩФ у животных группы сравнения не имела отличий от контрольных значений, что отражало низкую интенсивность процессов минерализации [10]. Низкая интенсивность минерализации морфологически проявляется тем, что до 28-х сут эксперимента регенерат не закрывал область дефекта и был представлен преимущественно соединительной, а не костной тканью.

При имплантации матриц с овальбумином повышение концентрации ОК на 7-е и 28 сут было выражено в той же степени, что и в группе ложнопериорированных животных, что свидетельствует об отсутствии стимулирующего влияния этого типа матриц на активность остеобластов. Как и в группе сравнения у животных данной группы не отмечалось повышение активности ЩФ в крови, что отражает низкую интенсивность минерализации. Морфологически формирование костной ткани у животных данной группы проявлялось только в виде периостоза и единичных костных балок по периферии матрицы, вероятно выполняющих барьерную функцию. Причина подобных изменений может заключаться в том, что данный тип матриц индуцирует повышение концентрации провоспалительных цитокинов, в частности ФНО и ИЛ-1- β при имплантации крысам, как было продемонстрировано ранее при субкутанных тестах этих матриц [11]. Несмотря на то, что воспалительная реакция является неотъемлемой частью процесса регенерации при травме костей, ее чрезмерная интенсивность препятствует остеогенезу [12], в частности, ФНО обладает ингибирующим влиянием на остеобласты, подавляющим продукцию остеокальцина и щелочной фосфатазы [13].

Полученные данные свидетельствуют, что имплантация ПКЛ/СаСО₃-скаффолда с ЩФ вызывает увеличение концентрации ОК в 4 раза по сравнению с контрольными значениями и в 2,5 раза по сравнению с показателями групп сравнения и отрицательного контроля. Такое повышение активности остеобластов, по-видимому, обусловлено модуляцией ионного гоме-

остаза СаСО₃ так, как в условиях *in vitro* было продемонстрировано стимулирующее влияние карбоната кальция на экспрессию остеокальцина и пролиферацию этих клеток [14]. Рост активности ЩФ в сыворотке крови на 28-е сут указывает на повышение интенсивности процессов минерализации [13]. Вместе с тем, у животных 4-й опытной группы на 7-е сут активность ЩФ не превышает контрольных значений, что свидетельствует об отсутствии поступления фермента, сорбированного на скаффолдах, в кровоток. Следовательно, повышение активности ЩФ к 28-м сут, в большей степени обусловлено его продукцией остеобластами. Результатами локального воздействия ЩФ, находящейся в структуре скаффолда, совместно с эндогенной выработкой её остеобластами посредством сдвига ионного гомеостаза СаСО₃, ведет к активной минерализации матрицы, что морфологически проявляется образованием костных балок и остеоинтеграции матриц.

Таким образом, при имплантации ПКЛ/СаСО₃-матриц с ЩФ локальные изменения ферментативного и ионного гомеостаза, вызванные введением в состав кальцийсодержащих скаффолдов щелочной фосфатазы, в значительной степени стимулируют остеогенез. Биосовместимость и остеоиндуктивные свойства ПКЛ/СаСО₃-матриц с ЩФ позволяют говорить о перспективности их клинической апробации для стимуляции процессов регенерации костной ткани.

Литература

1. Иванов А.Н., Норкин И.А., Пучиньян Д.М. Возможности и перспективы использования скаффолд-технологий для регенерации костной ткани. *Цитология*. 2014; 56(8): 543-8.
2. Şaşmazel H., Gümüşderelioğlu M., Gürpınar A., Onur M. Comparison of Cellular Proliferation on Dense and Porous PCL Scaffolds. *Bio-Medical Materials and Engineering*. 2008; 18(3): 119-28.
3. Козадаев М.Н. Исследование биосовместимости скаффолда на основе поликапролактона в условиях *in vivo* // 3-я Межрегиональная конференция (с международным участием) «Наследственная и приобретенная патология свертывания крови — тромбозы и кровотечения: диагностика, профилактика, лечение, экономика». *Физиология и патофизиология*. 2016.
4. Иванов А.Н., Козадаев М.Н., Богомолова Н.В., Матвеева О.В., Пучиньян Д.М., Норкин И.А. Исследование динамики заселения клеточными элементами и биосовместимости скаффолда на основе поликапролактона в условиях *in vivo*. *Фундаментальные исследования*. 2015; № 1-2.
5. Hou J, Fan D, Zhao L, Yu B, Su J, Wei J, Shin JW. Degradability, cytocompatibility, and osteogenesis of porous scaffolds of nanobredigite and PCL-PEG-PCL composite. *International Journal of Nanomedicine*. 2016; p.3545-55.
7. Кузнецова Д.С., Тимашев П.С., Баграташвили В.Н., Загайнова Е.В. Костные имплантаты на основе скаффолдов и клеточных систем в тканевой инженерии (обзор). *Соврем. технол. мед.* 2014; 6(4).

8. Erisken C., Kalyon D.M., Wang H. Functionally graded electrospun polycaprolactone and beta-tricalcium phosphate nanocomposites for tissue engineering applications. *Biomaterials*. 2008; 29(30): 4065-73.
9. Миханов В.А., Колосова Н.И., Полякова В.С., Денисов Е.Н. Способ количественной оценки динамики заживления переломов трубчатых костей крыс в эксперименте. *Журнал анатомии и гистопатологии*. 2017; 6(1): 58-62.
10. Gulcihan Gulseren, I. Ceren Yasa, Oya Ustahuseyin, E. Deniz Tekin, Ayse B. Tekinay, Mustafa O. Guler. Alkaline Phosphatase-Mimicking Peptide Nanofibers for Osteogenic Differentiation. *Biomacromolecules*. 2015, June.
11. Захаров И.С., Колпинский Г.И., Ушакова Г.А., Вавин Г.В. Биохимические маркеры в диагностике нарушений ремоделирования костной ткани при остеопорозе. *Вестник Авиценны*. 2013; 57(4): 119-23.
12. Норкин И.А., Иванов А.Н., Куртукова М.О., Савельева М.С., Мартюкова А.В., Горин Д.А., Паракхонский Б.В. Особенности микроциркуляторных реакций при субкутанной имплантации поликапролактоновых матриц, минерализованных ватеритом. *Саратовский научно-медицинский журнал*. 2018; 14(1): 35-41.
13. Kovtun A., Messerer DAC., Scharffetter-Kochanek K., Huber-Lang M., Ignatius A. Neutrophils in Tissue Trauma of the Skin, Bone, and Lung: Two Sides of the Same Coin. *Journal of Immunology Research*. 2018.
14. Gilbert LC., Chen H., Lu X., Nanes MS. Chronic low dose tumor necrosis factor- α (TNF) suppresses early bone accrual in young mice by inhibiting osteoblasts without affecting osteoclasts. *Bone*. 2013; 56(1): 174-83.
15. Neunzehn J., Szuwart T., Wiesmann HP. Eggshells as natural calcium carbonate source in combination with hyaluronan as beneficial additives for bone graft materials, an in vitro study. *Head Face Med*. 2015.
16. Treatment, Economy. *Bulleten meditsinskikh Internet-konferentsiy (ISSN 2224-6150)*. 2016; 6(8): 1423-24. (in Russian)
4. Ivanov A.N., Kozadaev M.N., Bogomolova N.V., Matveeva O.V., Puchinian D.M., Norkin I.A. In vivo research of cell elements colonization changes with time and PCL scaffold biocompatibility. *Fundamentalnye issledovaniya*. 2015; 1(2): 275-8. (in Russian)
5. Hou J, Fan D, Zhao L, Yu B, Su J, Wei J, Shin JW. Degradability, cytocompatibility, and osteogenesis of porous scaffolds of nanobredigite and PCL-PEG-PCL composite. *International Journal of Nano-medicine*. 2016; 11: 3545-55.
6. Kuznetsova D.S., Timashev P.S., Bagratashvili V.N., Zagainova E.V. Scaffold- and Cell System-Based Bone Grafts in Tissue Engineering (Review). *Sovremennye tekhnologii v meditsine*. 2014; 6(4): 201-12. (in Russian)
7. Erisken C., Kalyon D.M., Wang H. Functionally graded electrospun polycaprolactone and beta-tricalcium phosphate nanocomposites for tissue engineering applications. *Biomaterials*. 2008; 29(30): 4065-73.
8. Mikhanov V.A., Kolosova N.I., Poliakova V.S., Denisov E.N. The Method to Measure the Evolution Healing Fractures of the Tubular Bones of Rats in the Experiment. *Zhurnal anatomii i gistopatologii*. 2017; 6 (1): 58-62. (in Russian)
9. Gulcihan Gulseren, I. Ceren Yasa, Oya Ustahuseyin, E. Deniz Tekin, Ayse B. Tekinay, Mustafa O. Guler. Alkaline Phosphatase-Mimicking Peptide Nanofibers for Osteogenic Differentiation. *Biomacromolecules*. 2015; 16: 2198-2208.
10. Zakharov I.S., Kolpinskiy G.I., Ushakov G.A., Vavin G.V. Biochemical markers in the diagnosis of bone remodeling in osteoporosis. *Vestnik Avitsenny*. 2013; 57(4): 119-23. (in Russian)
11. Norkin I.A., Ivanov A.N., Kurtukova M.O., Savelyeva M.S., Martyukova A.V., Gorin D.A., Parakhonsky B.V. Peculiarities of micro-circulatory reactions after subcutaneous implantation of polycaprolactone matrices mineralized by vaterite. *Saratovskiy nauchno-meditsinskiy zhurnal*. 2018; 14(1): 35-41. (in Russian)
12. Kovtun A., Messerer DAC., Scharffetter-Kochanek K., Huber-Lang M., Ignatius A. Neutrophils in Tissue Trauma of the Skin, Bone, and Lung: Two Sides of the Same Coin. *Journal of Immunology Research*. 2018. Apr 23; 2018:817398.
13. Gilbert LC., Chen H., Lu X., Nanes MS. Chronic low dose tumor necrosis factor- α (TNF) suppresses early bone accrual in young mice by inhibiting osteoblasts without affecting osteoclasts. *Bone*. 2013; 56(1): 174-83.
14. Neunzehn J., Szuwart T., Wiesmann HP. Eggshells as natural calcium carbonate source in combination with hyaluronan as beneficial additives for bone graft materials, an in vitro study. *Head & Face Medicine*. 2015; 11: 12.

References

1. Ivanov A.N., Norkin I.A., Puchinyan D.M. The possibilities and perspectives of using scaffold technology for bone regeneration. *Tsitologiya*. 2014; 56(8): 543-8. (in Russian)
2. Şaşmazel H., Gümüşdereliolu M., Gürpınar A., Onur M.A.. Comparison of Cellular Proliferation on Dense and Porous PCL Scaffolds. *Bio-Medical Materials and Engineering*. 2008; 18(3): 119-28.
3. Kozadaev M.N. Investigation biocompatibility of polycaprolactone scaffold in in vivo. The 3rd Interregional Conference (with overseas participants) On Congenital and Acquired Blood Coagulation Pathology – Thromboses and Hemorrhages: Diagnosis, Prevention,

Сведения об авторах:

Иванов Алексей Николаевич, НИИ травматологии, ортопедии и нейрохирургии, зав. отд-нием лаб. диагностики, гл. науч. сотр. отдела фундаментальных и клинико-экспериментальных исследований; зав. ЦНИЛ ФГБОУ ВО Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского, доктор мед. наук, e-mail: lex558452@gmail.com;

Куртукова Мария Олеговна, ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского» Минздрава России, каф. гистологии, доцент, канд. мед. наук, e-mail: kurtukovamaria@mail.ru;

Козадаев Максим Николаевич, ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского» Минздрава России, НИИ травматологии, ортопедии и нейрохирургии, мл. науч. сотр. отдела фундаментальных и клинико-экспериментальных исследований, канд. мед. наук, e-mail: m_kozadaev_ortoped@mail.ru;

Суrowцева Карина Анатольевна, ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского» Минздрава России студентка, e-mail:surovcevak@gmail.com;

Савельева Мария Сергеевна, ФГБОУ ВО «Саратовский национальный исследовательский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского», Образовательно-научный институт наноструктур и биосистем, аспирант;

Бугаева Ирина Олеговна, ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского» Минздрава России, проректор по учебной работе, зав. каф. гистологии, проф., доктор мед. наук;

Порахонский Богдан Владиславович, ФГБОУ ВО «Саратовский национальный исследовательский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского», Образовательно-научный институт наноструктур и биосистем;

Блиникова Вероника Валерьевна, ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского» Минздрава России, НИИ травматологии, ортопедии и нейрохирургии, врач отд-ния лаб. диагностики;

Гладкова Екатерина Вячеславовна, ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского» Минздрава России, НИИ травматологии, ортопедии и нейрохирургии, начальник отдела фундаментальных и клинико- экспериментальных исследований НИИТОН, канд. биол. наук;

Бабушкина Ирина Владимировна, ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского» Минздрава России, НИИ травматологии, ортопедии и нейрохирургии, ст. науч. сотр. отдела фундаментальных и клинико- экспериментальных исследований НИИТОН, канд. мед. наук;

Норкин Игорь Алексеевич, ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского» Минздрава России, директор НИИ травматологии, ортопедии и нейрохирургии, проф., доктор мед. наук.