

С.П. Миронов<sup>1</sup>, Н.А. Еськин<sup>1</sup>, С.В. Евдокимов<sup>3</sup>, В.В. Зайцев<sup>1</sup>,  
Р.С. Есипов<sup>2</sup>, В.Н. Степаненко<sup>2</sup>, А.К. Ярославцева<sup>2</sup>, О.В. Калмин<sup>4</sup>,  
Д.В. Никишин<sup>4</sup>, М.Г. Васильев<sup>1</sup>, Ю.С. Лукина<sup>1</sup>,  
А.А. Венедиктов<sup>5</sup>, Д.В. Смоленцев<sup>3</sup>

## ОСТЕОПЛАСТИЧЕСКИЙ МАТЕРИАЛ НА ОСНОВЕ КСЕНОГЕННОГО ДЕМИНЕРАЛИЗОВАННОГО КОСТНОГО МАТРИКСА И РЕКОМБИНАНТНОГО БЕЛКОВОГО ОСТЕОИНДУКТОРА (rhBMP-2) (ДОКЛИНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА В МОДЕЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЯХ IN VIVO)

<sup>1</sup>ФГБУ «ЦИТО им. Н.Н. Приорова» Минздравразвития; <sup>2</sup>ФГБУ «ИБХ им. М.М. Шемякина и Ю.А.Овчинникова» РАН; <sup>3</sup>ЗАО НПП «МедИнж»; <sup>4</sup>Медицинский институт Пензенского государственного университета; <sup>5</sup> ООО «Кардиоплант», Пенза

Согласно современным исследованиям, наиболее перспективным направлением повышения osteoinductivity костных имплантатов и усиления регенерации соединительной ткани является создание биокомпозиционных материалов, содержащих основные компоненты биологической ткани и рекомбинантные костные морфогенетические белки (rhBMP) [1].

В настоящее время биокомпозиционные, остеопластические имплантаты, содержащие rhBMP, занимают 44% мирового рынка остеозамещающих материалов, 30% – синтетические кальцийфосфатные материалы и 26% – деминерализованный костный матрикс, в основном аллогенного происхождения [2, 3].

В 2011–2012 годах наибольший темп роста коммерческой реализации, равный 16,5%, отмечался в сегменте рынка остеопластических материалов, содержащих рекомбинантные белковые факторы роста (rhBMP), в то время как объемы реализации синтетических костных имплантатов и деминерализованного костного матрикса увеличивались ежегодно на 7,75% и 7,8% соответственно [3].

С учетом выраженного мирового тренда на интенсификацию исследований, направленных на возможность по-

вышения osteoinductivity свойств костных имплантатов с помощью применения рекомбинантных белковых osteoinductors, представляется оправданным и актуальным с экономической и научной точки зрения разработка отечественных остеопластических материалов, содержащих рекомбинантные костные морфогенетические белки (rhBMP).

В ЦИТО им. Н.Н. Приорова совместно с научно-исследовательскими центрами Российской Федерации проводятся исследования по созданию линии высокоosteoinductivity материалов на основе биологических и синтетических матриксов, содержащих рекомбинантные белковые osteoinductors (rhBMP).

Разрабатываемая технология изготовления остеопластических материалов нового поколения подразумевает использование rhBMP, фиксированных на аллогенном или ксеногенном костном матриксе, биокомпозиционных кальцийфосфатных носителях.

**Цель исследования:** оценка osteoinductivity рекомбинантного костного морфогенетического белка rhBMP-2 при совместном использовании с ксеногенным деминерализованным костным матриксом в модельных исследованиях in vivo.

## Материал и методы

## Получение rhBMP-2

Синтетический ген *bmp2* получали химико-ферментативным способом с помощью реакции ПЦР, с последующим клонированием в плазмидный вектор, который использовали для получения штамм-продуцента rhBMP-2 на основе *E.coli* ER2566.

Выделение и очистку костного морфогенетического белка 2 проводили по модифицированному протоколу, на гепарин-сефарозной колонке. Используемая модификация метода значительно увеличила выход целевого димера BMP-2 (рис. 1).

Анализ полученных фракций белка проводили на аналитической колонке YMC-Pack Octyl 150×2,1 мм S-5 μм 30 нм. Вторая фракция содержала целевой белок с чистотой не менее 98% (рис. 2).

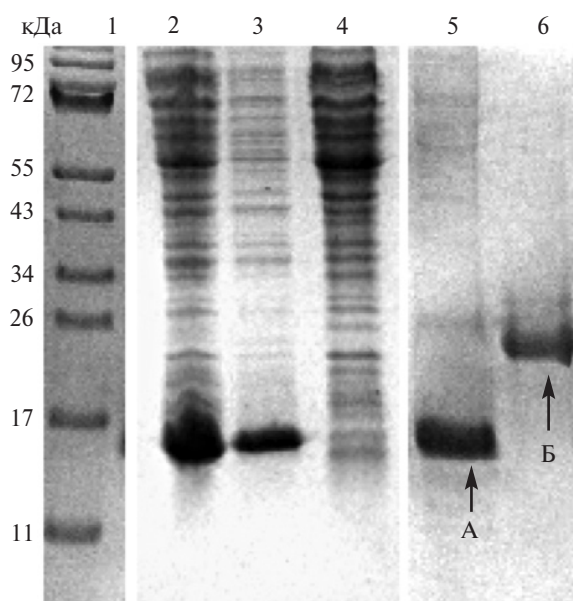


Рис. 1. Электрофоретический анализ стадий выделения rhBMP-2, 15 % ПААГ в денатурирующих условиях. Колонки: 1 – стандарты молекулярных масс; 2 – тотальный клеточный лизат продуцента ER2566/pER-bmp2; 3 – тела включения после ультразвуковой дезинтеграции клеток продуцента ER2566/pER-bmp2; 4 – супернатант после ультразвуковой дезинтеграции клеток продуцента ER2566/pER-bmp2; 5 – ренатурат rhBMP-2 («А» – в образце присутствует ДТТ); 6 – ренатурат rhBMP-2 («Б» – в образце отсутствует ДТТ)

## Получение ДКМ

Ксеногенный деминерализованный костный матрикс (ДКМ) изготавливали из губчатого слоя большеберцовой кости крупного рогатого скота. После механической фрагментации до необходимых размеров производили биохимическую очистку от белковых и жировых компонентов с использованием протеолитических ферментов, поверхностно-активных веществ и окислителей в условиях вакуума и воздействия ультразвука.

Деминерализацию химически очищенного костного матрикса проводили с помощью соляной кислоты, с последующим погашением кислотной активности путем щелочного титрования.

Для исключения фоновых значений остеоиндуктивности перед имплантацией деминерализованный костный матрикс обрабатывали 4М солянокислым гуанидином.

Для оценки возможности регулирования скорости ферментативной резорбции ксеногенный ДКМ химически стабилизировали путем обработки 0,6% глутаровым альдегидом на фосфатном буфере.

rhBMP-2 растворяли из лиофилизированного состояния в фосфатном буфере pH 5,5 и в концентрации 0,25 мг на грамм костного матрикса однократно инъецировали в ДКМ, фиксированный в диастазе большеберцовой кости экспериментального животного.

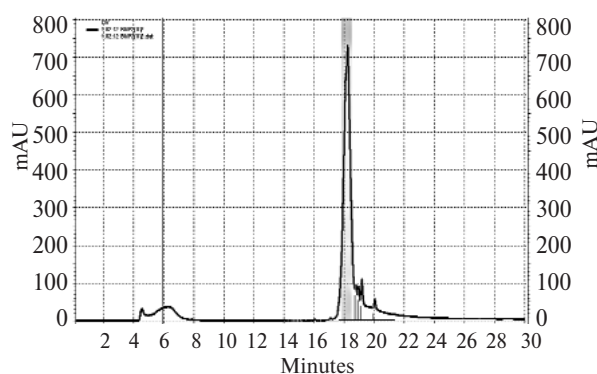


Рис. 2. Препаративная ОФ ВЭЖХ rhBMP-2 человека на колонке Диасорб-130-С16Т 16×250 в градиенте ацетонитрила 30-80 % со скоростью 5 мл/мин. Серым выделены фракции, содержащие целевой продукт с хроматографической чистотой более 98%

**Экспериментальная модель.****Техника оперативного вмешательства**

Оценку остеоиндуктивности синтезированного rhBMP-2 и скорости биодеградации ксеногенного ДКМ производили на модели интрамедуллярного остеосинтеза большеберцовой кости мелких лабораторных животных.

Эксперименты проводились на половозрелых самцах крысы линии «Wistar» весом 180 г. Резекцию большеберцовой кости производили в асептических условиях, после эфирного наркоза. Диастаз формировали путем иссечения 5 мм костного сегмента с последующей имплантацией исследуемого ксеногенного ДКМ, содержащего rhBMP-2. Проксимальный и дистальный концы резецированной большеберцовой кости стабилизировали на одной оси с помощью титанового штифта, закрепленного в костно-мозговом канале. Оперативное вмешательство у одного животного производили одновременно на левой и правой большеберцовой кости.

**Серия № 1.****Контрольное наблюдение**

Остеосинтез большеберцовой кости левой задней лапы экспериментального животного выполняли в положении «на спине». В костный диастаз имплантировали ксеногенный ДКМ, обработанный 1% солянокислым гуанидином.

**Серия № 1.****Опытное наблюдение**

Остеосинтез большеберцовой кости правой задней лапы экспериментального животного выполняли в положении «на спине». В костном диастазе фиксировали ксеногенный ДКМ, обработанный 1% солянокислым гуанидином, с однократным инъектированием 0,25 мг rhBMP-2 в имплантированный носитель.

Срок имплантации исследуемых материалов составил 26 суток (одно животное) и 47 суток (3 животных).

**Серия № 2.****Контрольное наблюдение**

Остеосинтез большеберцовой кости левой задней лапы экспериментального животного выполняли в положении «на спи-

не». В костный диастаз имплантировали ксеногенный ДКМ, обработанный 1% солянокислым гуанидином.

**Серия № 2.****Опытное наблюдение**

Остеосинтез большеберцовой кости правой задней лапы экспериментального животного выполняли в положении «на спине». В костном диастазе фиксировали ксеногенный ДКМ, обработанный 1% солянокислым гуанидином и стабилизированный 0,6% глутаровым альдегидом, с однократным инъектированием 0,25 мг rhBMP-2 в имплантированный ДКМ.

Срок имплантации исследуемых материалов составил 60 суток (5 экспериментальных животных).

Оценку остеоиндуктивности остеопластического материала на основе ксеногенного ДКМ, содержащего rhBMP-2, производили путем оценки выраженности регенераторного процесса в области костной резекции с помощью рентгеномографической денситометрии, томографического и гистологического исследований на 26 и 47 сутки после оперативного вмешательства в первой серии, на 60 сутки во второй серии экспериментов.

**Рентгеномографическая денситометрия**

Сравнительную оценку плотности вновь образованного костно-хрящевого регенерата производили с помощью рентген-томографической денситометрии, на микротомографе «SkyScan 1176» с построением графика распределения плотности по шкале Хаусфильда для опытного и контрольного образцов аутопсийного материала.

**Томографическое исследование**

Томографическое исследование аутопсийного материала, полученного в различные сроки после имплантации, проводили с помощью микротомографа «SkyScan 1176» с последующим построением 3D-моделей с использованием компьютерной программы «Avisio 7».

**Гистологическое исследование**

Аутопсийный материал, полученный в различные сроки наблюдения, фиксировали в 10% формалине на фосфатном буфере рН 7,2–7,4. Декальцинацию проводили в 7% азотной кислоте. Полученный декальцинированный материал обезвоживали в спиртах возрастающей концентрации и заливали парафином. Из полученных парафиновых блоков изготавливались срезы толщиной 7–8 мкм, с последующей окраской гематоксилином и эозином. Полученные гистологические препараты исследовали на световом микроскопе Nikon E200.

**Результаты**

*Серия № 1.*

**Томографическое исследование**

**Контрольное наблюдение имплантации ДКМ**

У всех экспериментальных животных на 26 или 47 сутки после операции не от-

мечалось образования регенерата и костного сращения (рис. 3).

**Опытное наблюдение имплантации ДКМ+ rhBMP-2**

У всех животных было отмечено образование костного регенерата, при сроке наблюдения 47 суток после операции костный регенерат был более выражен, чем в срок 26 суток. У двух животных отмечалось хорошо различимое костное сращение между проксимальным и дистальным концом резецированной большеберцовой кости. У одного животного отмечалась выраженная кальцификация имплантированного деминерализованного костного матрикса (рис. 4).

При извлечении титанового фиксирующего штифта из костно-мозгового канала большеберцовой кости во всех опытных образцах требовалось значительное физическое усилие. В противоположность

**Контрольное наблюдение**





Животное № 166	Животное № 164	Животное № 165	Животное № 162
Срок наблюдения 26 сутки п/о	Срок наблюдения 47 сутки п/о		
			

Рис. 3. Интрамедуллярный остеосинтез большеберцовой кости, ДКМ в зоне дефекта

Исследование имплантатов и материалов





Опытное наблюдение			
Животное № 166	Животное № 164	Животное № 165	Животное № 162
Срок наблюдения 26 сутки п/о	Срок наблюдения 47 сутки п/о		
			

Рис. 4. Интрамедуллярный остеосинтез большеберцовой кости, фиксация «Опытное наблюдение». Имплантация в диастаз большеберцовой кости ДКМ+rhBMP-2

опытным образцам в контрольных образцах, у одного и того же животного, удаление титанового штифта не требовало значительных физических усилий.

*Серия № 1. Рентген-томографическая денситометрия.*

**Контрольное наблюдение имплантации ДКМ**

Рентгенографическая плотность ткани в области костного дефекта с имплантированным ДКМ была менее 400 HU. В зоне костного диастаза отсутствуют ткани с усредненной плотностью более 500 HU, характерной для костно-хрящевой регенерата, кроме наблюдений у двух животных, когда отмечаются незначительные фрагменты костной ткани, являющиеся техническими артефактами, которые визуализировались в зоне диастаза как естественные неровности

резецированной кости со стороны дистального и проксимального концов.

**Опытное наблюдение имплантации ДКМ+rhBMP-2**

Во всех исследуемых образцах отмечена усредненная максимальная плотность ткани от 600 до 1200 HU, что указывает на присутствие регенерата с характеристиками, соответствующими хрящевой и вновь образованной костной тканям, которые по плотности все же меньше, чем пластинчатая костная ткань неоперированного животного (до 2600 HU), но соответствуют ей по объему (рис. 5).

*Серия № 1. Гистологическое исследование.*

**Контрольное наблюдение имплантации ДКМ**

На 26 и 47 сутки в области дефекта развивается первичная костная мозоль,

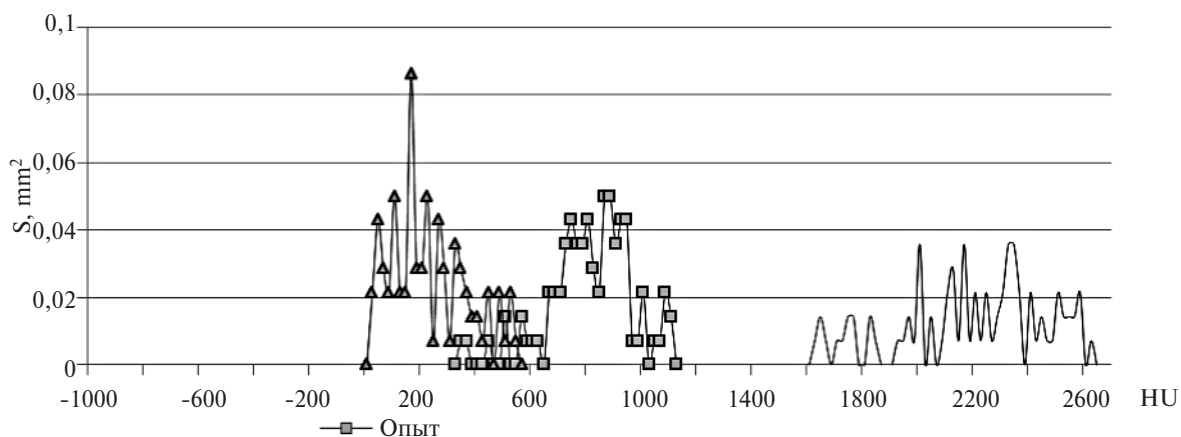


Рис. 5. Рентген-томографическая денситометрия. Распределение плотности костно-хрящевого регенерата по шкале Хаусфильда

состоящая из грубоволокнистой соединительной ткани, представляющей беспорядочно переплетенные коллагеновые волокна и большое количество фибробластов. В толще соединительнотканной мозоли различимы островки хрящевых клеток хондроцитов, формирующие на ограниченных участках слабовыраженную, по сравнению с опытным наблюдением. Деминерализованный костный матрикс окружен волокнистой соединительной тканью, указывающей на инкапсуляцию имплантата. Отмечаются признаки хронического воспаления и слабовыраженного ангиогенеза в толще имплантата. В образцах, взятых на 47 сутки, в пространствах между трабекулами отмечалось присутствие гемопоэтического компонента (рис. 6).

Опытное наблюдение имплантации ДКМ+rhBMP-2

На 26 и 47 сутки после остеосинтеза на периферии исследуемого остеопластического материала, содержащего rhBMP-2, располагается хрящевая ткань с крупными пузырьчатыми хондробластами. Количество хрящевой ткани больше, чем в контрольной группе (имплантация ДКМ, не содержащего белкового остеиндуктора). Имплантированный деминерализованный губчатый костный матрикс подвергся активной ферментативной биодеградации. Отмечается прорастание новообразованных кровеносных сосудов между трабекулами имплантата.

Центральная часть деминерализованного костного матрикса на 26 сутки заполнена трабекулами грубоволокнистой костной ткани и рыхлой волокнистой соединительной тканью. На 47 сутки образующиеся костные пластинки имеют незрелый характер: беспорядочно ориентированы, на их поверхности находится большое количество фибробластов. В толще новообразованных костных трабекул содержится много остеобластов и некоторое количество остецитов. Между костными трабекулами в ячейках ретикулярной ткани располагаются крове-

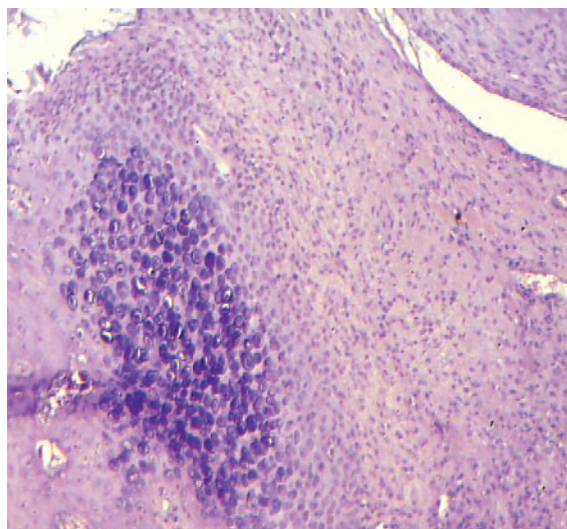


Рис. 6. Новообразованная хрящевая ткань в периферических к костному имплантату участках. Контрольная группа. 47 сутки после операции.

Окр. гематоксилином и эозином,  $\times 100$

творные островки. Часть трабекул представляет собой участки незавершенного остеогенеза – виден переход от хрящевой структуры к костной.

В опытных наблюдениях по сравнению с контрольными наблюдениями отмечено более интенсивное и направленное вдоль длинной оси бедренной кости образование хрящевой мозоли, которая по своему строению напоминает метафизарную ростовую платинку кости. Хрящевая ткань располагается непосредственно на поверхности имплантированного деминерализованного губчатого костного матрикса, возможно, используя его как трехмерную матричную структуру. Гистологическая картина была характерной для регенерации костной ткани при массивных повреждениях, развивающейся по механизму непрямого энхондрального остеогенеза.

Данные изменения в совокупности являются характерными для выраженного процесса регенерации в зоне имплантации остеопластического материала с признаками биодеградации и начальной минерализации костного матрикса. В области имплантации рыхлая волокнистая со-

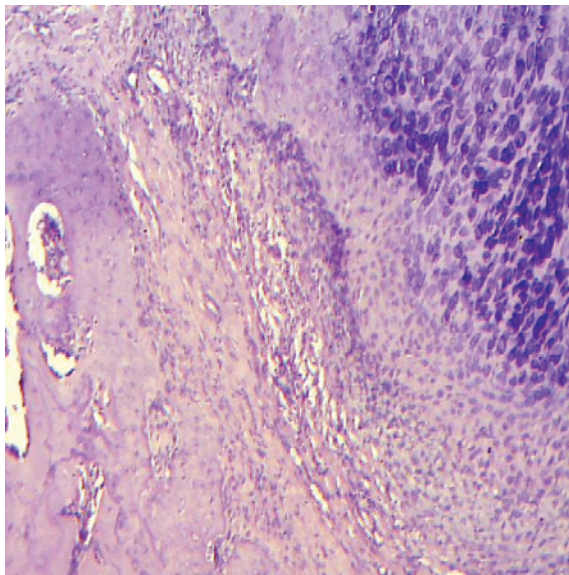


Рис. 7. Формирование участков хрящевой ткани со стороны костного имплантата, разрастание клеточной соединительной ткани. Опытная группа. 47 сутки после операции. Окр. гематоксилином и эозином,  $\times 100$

единительная ткань с признаками воспалительной реакции, что связано с реакцией организма на инородное тело, с развитием процесса инкапсуляции, и, вероятно, наличием остаточной иммуногенности ксеногенного ДКМ – носителя rhBMP-2 (рис. 7).

#### Серия № 2.

##### Томографическое исследование. Контрольное наблюдение имплантации ДКМ

У всех экспериментальных животных отмечалась выраженная ферментативная биодеградация имплантированного деминерализованного костного матрикса, а также отсутствие регенерации костной ткани. Во всех наблюдениях данной серии полное смыкание проксимального и дистального концов резецированной большеберцовой кости, отсутствие визуализации имплантированного ДКМ (рис. 8).

##### Опытное наблюдение имплантации ДКМ (0,6% глутаровый альдегид) + rhBMP-2

ДКМ, химически стабилизированный 0,6% глутаровым альдегидом и содержащий rhBMP-2, не был подвержен ферментативному распаду. Костная ткань экспериментального животного, прилежащая к ДКМ, демонстрировала умеренную активность регенераторного процесса, менее выраженного по сравнению с ДКМ, нешитым глутаровым альдегидом. Отмечалось сохранение исходного размера костного диастаза, несмотря на значительную пористость и пластичность имплантированного ДКМ (рис. 8).

#### Серия № 2.

##### Рентген-томографическая денситометрия. Контрольное наблюдение имплантации ДКМ

Вследствие попадания в зону анализа фрагментов костной ткани при сближении проксимального и дистального концов резецированной большеберцовой кости и закрытия диастаза при полной резорбции имплантированного ДКМ. Плотность ткани в области имплантации от

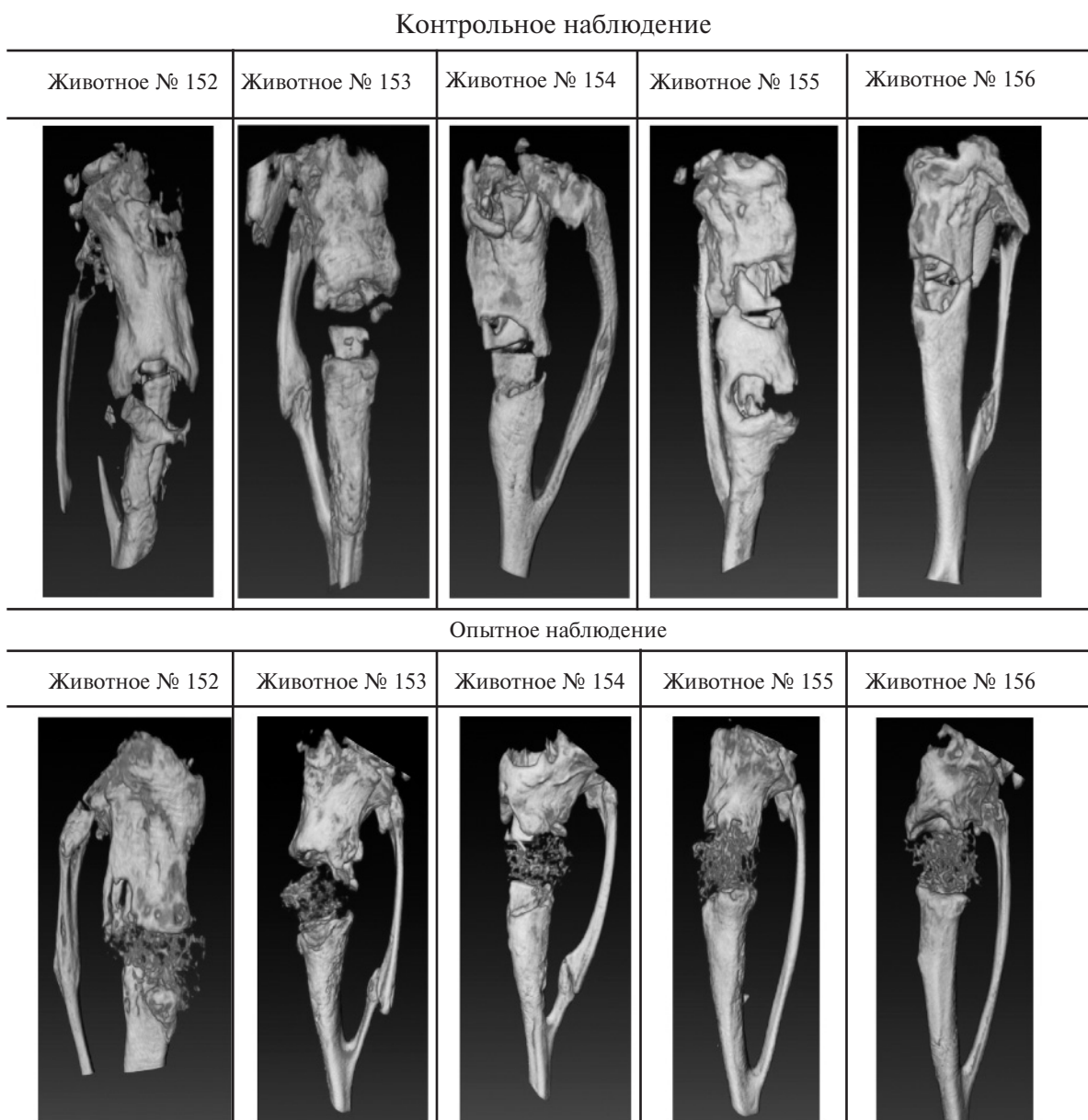


Рис. 8. Интрамедуллярный остеосинтез большеберцовой кости. Контрольное наблюдение: имплантация в диастаз большеберцовой кости ДКМ. Опытное наблюдение: имплантация в диастаз большеберцовой кости ДКМ, стабилизированного 0,6% глутаровым альдегидом, фиксация rhBMP-2. Срок наблюдения 60 суток

-600 до -200 НУ, что указывает на отсутствие регенераторного процесса.

Опытное наблюдение имплантации ДКМ (0,6% глутаровый альдегид)+rhBMP-2

Плотность тканевого регенерата не превышала 600 НУ, что, возможно, указывает на повышение плотности имплантированного ДКМ при химической сшивке глутаровым альдегидом, а также слабо-

выраженный регенераторный процесс (рис. 9).

Серия № 2.

Гистологическое исследование.  
Контрольное наблюдение имплантации ДКМ

На 60 суток в области дефекта формируется костная мозоль, состоящая из грубоволокнистой соединительной ткани. В толще соединительнотканной мозоли

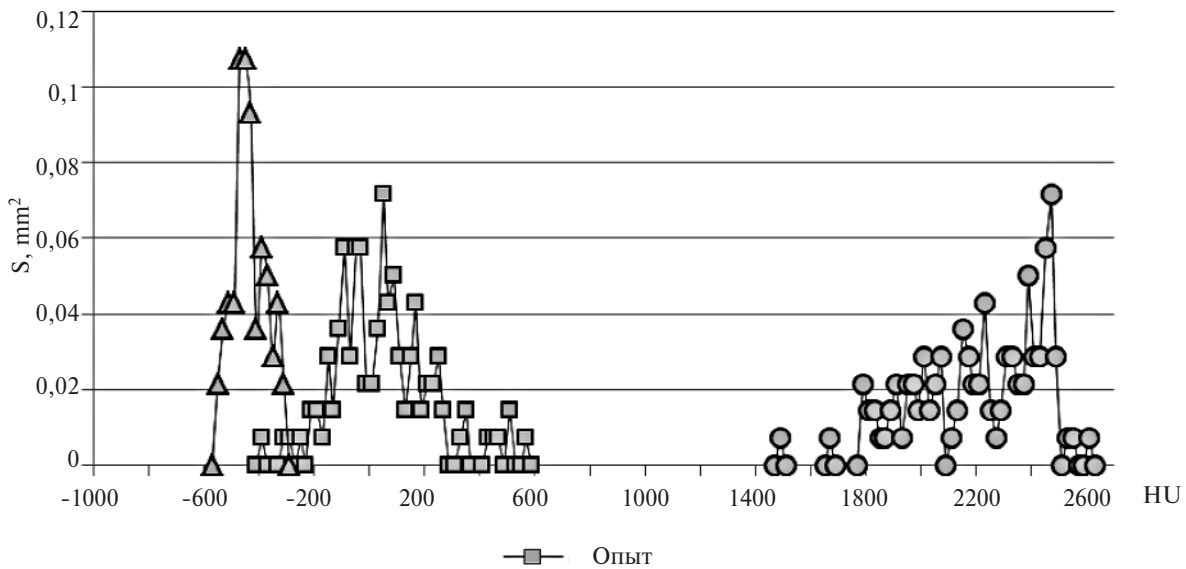


Рис. 9. Рентген-томографическая денситометрия. Распределение плотности костно-хрящевого регенерата по шкале Хаусфильда

можно обнаружить единичные хондроциты. Процессы биodeградации резко снижены. Большая часть новообразованной костной ткани представляет собой участки незавершенного остеогенеза – виден переход от хрящевой структуры к костной. Деминерализованный костный имплантат местами инкапсулирован. Отмечаются признаки хронического воспале-

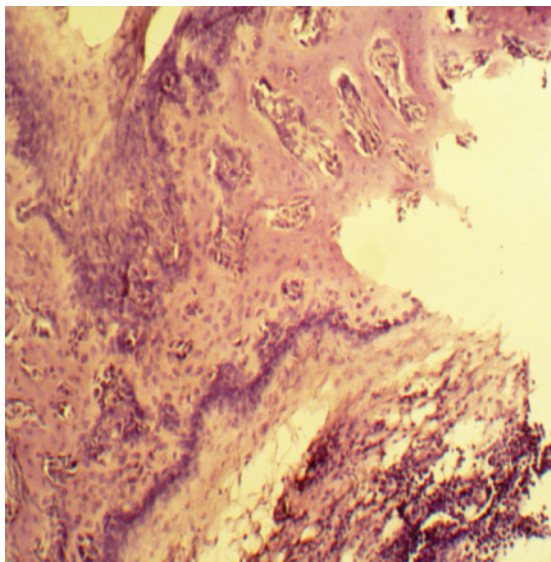


Рис. 10. Новообразованная костная ткань. Энхондральное костеобразование. Контрольная группа. 60 суток после операции. Окр. гематоксилином – эозином,  $\times 100$

ния и слабое прорастание сосудов в толщу имплантата (рис. 10).

Опытное наблюдение  
имплантации ДКМ  
(0,6% глутаровый альдегид) +  
rhBMP-2

На 60 сутки в области дефекта формируется костная ткань, состоящая из грубоволокнистой соединительной ткани и новообразованной костной ткани. По периферии имплантата наблюдаются островки хрящевой ткани. Процессы биodeградации средней степени выраженности. Меньшая часть новообразованной костной ткани представляет собой участки незавершенного остеогенеза – виден переход от хрящевой структуры к костной. Вокруг деминерализованного костного имплантата практически отсутствуют признаки воспаления, отмечается слабое прорастание сосудов в толщу имплантата (рис. 11).

Таким образом, отмечаются процессы регенерации костной ткани, как в нестабилизированном имплантате, так и в стабилизированном, с той лишь разницей, что в стабилизированных имплантатах процессы биodeгенерации и регенерации несколько снижены, причем наилучшие результаты получены в образцах, подвергнутых фиксации rhBMP-2.

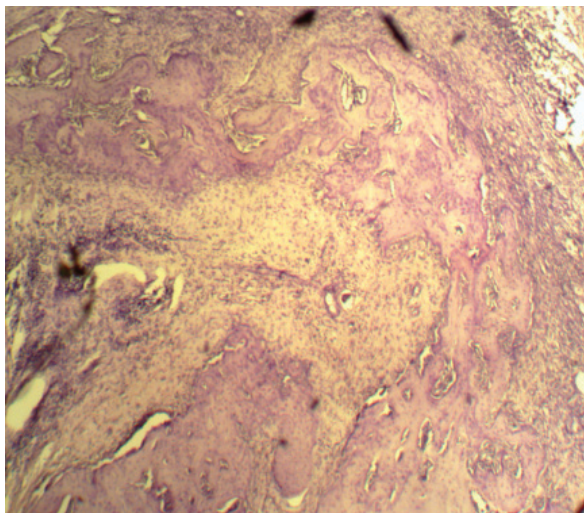


Рис. 11. Вновь образованная костная ткань, грубоволокнистая соединительная ткань. Опытная группа. 60 сутки после операции. Окра. гематоксилином и эозином,  $\times 100$

### Обсуждение

Основные векторы исследований по совершенствованию костных имплантатов и разработки остеопластических материалов нового поколения связаны с поиском возможности химического или физического воздействия на характеристики остеопластического материала, главными из которых являются: остеоиндуктивность, биосовместимость, скорость резорбции в организме реципиента, размер поверхности, пористость, пластичность, механическая прочность [4]. Активизация остеоиндуктивности аллогенных или ксеногенных костных имплантатов может быть достигнута процессом деминерализации с добавлением рекомбинантных белковых остеоиндукторов [5]. Добавление rhBMP к биологическому коллагеновому носителю демонстрировало в экспериментах *in vivo* формирование новой кости, при этом остеоиндуктивность костного имплантата прямо пропорционально зависела от количества фиксированного на ДКМ rhBMP [6]. Проведенные предварительные исследования *in vivo* по оценке отечественного рекомбинантного белкового остеоиндуктора, фиксированного на ксеногенном деминерализованном костном матриксе, демонстрируют выражен-

ные остеоиндуктивные характеристики, по сравнению с ДКМ, изготовленным по стандартной технологии [7].

Деминерализованный костный матрикс, изготовленный на основе губчатого слоя ксеногенной кости и содержащий рекомбинантный белковый остеоиндуктор (rhBMP-2), стимулирует интенсивное образование хрящевой мозоли и служит трехмерной матричной структурой для роста хрящевой ткани, перестраивающейся в процессе регенерации во вновь образованную костную ткань.

Усредненная максимальная плотность (до 1000 HU) костно-хрящевого регенерата, образованного при использовании rhBMP-2, была меньше, чем костная ткань неоперированного животного (до 2600 HU), но соответствовала ей по объему.

Регенерация костной ткани в условиях экспериментального остеосинтеза конец в конец бедренной кости крысы линии «Wistar» при использовании разработанного остеоиндуктивного материала происходила по механизму непрямого остеогенеза.

В отличие от контрольной группы (имплантация ДКМ) в опытной группе (имплантация ДКМ+rhBMP-2) хрящевая мозоль занимала больший объем и напоминала по своему морфологическому строению метафизарную пластинку регенерации костной ткани.

Присутствие воспалительного инфильтрата в опытной и контрольной группах, возможно, связано с наличием остаточной иммуногенности деминерализованного губчатого костного носителя rhBMP-2 или бактериальным инфицированием зоны остеосинтеза в послеоперационном периоде.

Согласно данным научной литературы, непредвиденной проблемой исследования остеоиндуктивных эффектов rhBMP является их роль в активации остеокластов и стимулировании факторов, способствующих неоправданно быстрой резорбции используемого биологического носителя. Возможно, что к остеокластической активности приводит выраженная

остеобластическая активность, стимулированных наличием rhBMP в используемом носителе [8].

Согласно результатам нашего исследования, деминерализованный костный матрикс (ДКМ), изготовленный на основе губчатого слоя кости, содержащий rhBMP-2, и без включения рекомбинантного белкового остеоиндуктора подвержен активной биологической резорбции при воздействии макрофагов или остеокластов при отсутствии или наличии костной регенерации соответственно, в различные сроки имплантации в диастазе большеберцовой кости крысы в условиях остеосинтеза конец в конец.

Оптимизацию скорости резорбции биологических носителей, синхронизированной по времени с процессом образования новой кости, а также снижение иммуногенности ксеногенных матриксов возможно производить путем химической стабилизации с помощью сшивающих реагентов (глутаровый альдегид или формальдегид). Данные реагенты в течение многих лет широко используются в производстве имплантатов на основе тканей биологического происхождения. Однако при этом необходимо решение проблемы токсичности обработанного матрикса, приводящей к торможению остеонной дифференцировки мезенхимальных клеток-предшественников и замедлению процесса регенерации.

Цитотоксический эффект зависит от концентрации используемого для химической стабилизации глутарового альдегида и времени отмывки биологического носителя от сшивающего реагента. Данная проблема была успешно решена фирмой «Medtronic» при изготовлении остеопластического материала на основе химически стабилизированной коллагеновой губки ксеногенного происхождения и rhBMP-2 [2].

Полученные нами предварительные результаты по оценке остеоиндуктивности ДКМ на основе губчатого слоя ксеногенной кости указывают на возможность регулирования скорости резорбции деминерализованного костного носителя

rhBMP. Одновременно с этим мы отмечаем некоторое торможение регенераторного процесса. Возможно, что в противоречие вступают цитотоксический эффект глутарового альдегида и остеоиндуктивный эффект используемого rhBMP-2.

Для повышения остеоиндуктивного воздействия rhBMP при необходимости его совместного применения с сшивающими реагентами актуальной является разработка технологии химической стабилизации биологических матриксов, связанная с поиском оптимальных соотношений между концентрацией rhBMP на биологическом матриксе, степенью деминерализации ДКМ, концентрацией сшивающего реагента.

### Выводы

1. Остеопластический материал на основе ксеногенного деминерализованного костного матрикса, содержащий рекомбинантный костный морфогенетический белок (rhBMP-2), обладает повышенной остеоиндуктивностью, стимулирует развитие остеогенеза по эмбриональному пути с образованием выраженной хрящевой стадии регенерации и способствует образованию костного сращения при остеосинтезе конец в конец.

2. Дальнейшее совершенствование технологии получения остеопластических материалов на основе биологических матриксов, содержащих rhBMP, связано с процессом химической стабилизации биологической ткани-носителя для синхронизации по времени скорости резорбции биологического носителя и времени образования новой кости.

### Литература

1. Reddi A.H. «BMPs: from bone morphogenetic proteins to body morphogenetic proteins» // Cytokine Growth Factor Rev. – 2005. – Vol. 16. – P. 249–250.
2. The evolving role of bone graft substitutes, American Academy of Orthopaedic Surgeons, 77th Annual Meeting – 2010-March 9–13. – New Orleans, Louisiana.
3. Bone Graft Substitutes-Global Pipeline Analysis, Competitive Landscape and Market Forecast to 2017 // GDME0097MAR. – 2011. – Jul. – P. 1–88.

4. *Seeherman H., Wozney J.M.* Delivery of bone morphogenetic proteins for orthopaedic tissue regeneration // *Cytokine Growth Factor Rev.* – 2005. – Vol. 16. – P. 329–345.
5. *Шарапова Н.Е., Котнова А.П., Галушкина З.М.* и др. Получение рекомбинантного костного морфогенетического белка 2 человека в клетках *Escherichia coli* и тестирование его биологической активности *in vitro* и *in vivo* // *Молекулярная биол.* – 2010. – Т. 44, № 6. – С. 1036–1044.
6. *Wulsten D., Glatt V., Ellinghaus A.* Time kinetics of bone defect healing in response to BMP-2 and GDF-5 characterised by *in vivo* biomechanics // *European cells and materials.* – 2011. – Vol. 21. – P. 177–192.
7. *Миронов С.П., Гинцбург А.Л., Еськин Н.А.* и др. Экспериментальная оценка остеоиндуктивности рекомбинантного костного морфогенетического белка (rhBMP-2) отечественного производства, фиксированного на биокомпозиционном или костном матриксе // *Вестник травматологии и ортопедии имени Н.Н. Приорова.* – 2010. – № 4. – С. 38–44.
8. *Smith H., Adaline E., Volkman S.* et al. Mechanical environment alters tissue formation patterns during fracture repair // *J. Orthop. Res.* – 2004. – Vol. 22. – P. 1079–1085.

Я.А. Гатаулин, А.Д. Юхнев, Д.Э. Сеницына

## РАСЧЕТНО-ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ГИДРОДИНАМИКИ ПОЛНОПРОТОЧНОГО ДВУХСТВОРЧАТОГО ИСКУССТВЕННОГО КЛАПАНА СЕРДЦА «МЕДИНЖ-СТ»

Санкт-Петербургский государственный политехнический университет

Когда кровь проходит через искусственные устройства, ее форменные элементы могут быть повреждены, а, следовательно, запущен каскад событий, ведущих к свертыванию и образованию тромбов. Поэтому после имплантации механических клапанов сердца пациент должен пожизненно принимать антикоагулянты. Важнейшей задачей при разработке новых конструкций протезов клапанов сердца остается снижение риска тромбоза [4].

Травма крови может происходить посредством нескольких механизмов, в зависимости от типа поврежденных клеток крови. В последние годы активация тромбоцитов считается главным механизмом запуска процессов формирования тромбоэмболических осложнений при обтекании механических клапанов сердца. Степень повреждения крови зависит, прежде всего, от кумулятивного эффекта величины и продолжительности действия сдвиговых напряжений в жидкости. Критические значения обоих факторов по отдельности могут быть превышены в зависимости от

структуры потока или по иным причинам. Концепция уровня активации форменных элементов предлагает учитывать историю воздействия сдвиговых напряжений на отдельные элементы, суммируя (вдоль траектории движения элемента) произведения локальных значений сдвиговых напряжений на время их действия [10].

К гемодинамическим причинам относят воздействие нефизиологических возмущений кровотока в искусственных клапанах сердца. Могут быть выделены три нефизиологические особенности структуры кровотока. Во-первых, струйные потоки, например утечки через полностью закрытые во время диастолы створки. Некоторые утечки потока рядом с шарнирными механизмами полезны, так как обеспечивают промывание шарниров, предотвращая застой потока и развитие тромбоза. Тем не менее высокие градиенты скорости могут стать слишком большими, что вызывает повышенные напряжения сдвига и активацию тромбоцитов. Во-вторых, области отрыва потока, рециркуляции