

О роли ПРОТЕОМА ТКАНЕ-ИНЖЕНЕРНОЙ КОНСТРУКЦИИ при возмещении костных дефектов синтетическими остеопластическими материалами

■ К.С. Десятниченко,

д.м.н., проф., рук. отдела
ЗАО «НПО «ПОЛИСТОМ», Москва, Россия

■ С.Г. Курдюмов

к.т.н., Лауреат Государственной премии по науке
и технике, ген. директор
ЗАО «НПО «ПОЛИСТОМ», Москва, Россия

■ С.М. Киченко,

д.м.н., проф., в.н.с. ЦНИИС и ЧЛХ,
Москва, Россия

В травматологии и ортопедии для возмещения костных дефектов все более широко используются технологии имплантации остеопластических материалов, представляющих собой дериваты алло- и ксенокости. Прслеживается также тенденция в увеличении доли синтетических тканеинженерных конструкций (СТИК) при вмешательствах такого рода. Распространено мнение, что роль имплантированного в костный дефект материала сводится к созданию инертной матрицы, каркаса, «строительных лесов» для остеогенных клеток и/или их предшественников. Целью настоящей статьи являются доказательства активного участия остеопластических материалов в инициации регенерации костной ткани и ее поддержания – процессинга неоостеогенеза.

На основании референтных и собственных данных нами предложена [1] концепция, приведенная на схеме (рис.1). Материал, помещенный в костный дефект, при условии его аффинности к неколлагеновым белкам крови и тканевой жидкости, сорбирует последние, образуя функциональный комплекс – протеом тканеинженерной конструкции, который запускает каскад: привлечение полипотентных стромальных клеток, их удержание, пролиферацию, остеогенную дифференцировку, экспрессию костных тканеспецифических белков, внеклеточного матрикса, способного к минерализации.

Изучая неколлагеновые белки костной ткани (НБК) – минорной фракции внеклеточного матрикса кости, – мы установили, что около 20 из них обладают биологическим действием местных факторов роста (МФР). Они дозозависимо влияют на пролиферативную активность предшественников остеогенных, кровяных и иммунокомпетентных клеток, их дифференцировку и экспрессию дифференцированными клетками тканеспецифических белков [2, 3]. Введение композиции нескольких НБК со свойствами МФР оказывает более энергичное влия-



Рис. 1. Процессинг неоостеогенеза при имплантации остеопластического материала в костный дефект

ние на репаративный остеогенез вследствие кооперативности их действия. Выявлены также различия аффинности НБК с различным физиологическим эффектом к трем основным ингредиентам костной ткани: гидроксиапатиту, β-трикальцийфосфату и коллагену типа I, что способствует депонированию в ней белков с регуляторной функцией. Из сыворотки крови при использовании той же последовательности приемов препаративной химии белков получена композиция с идентичными НБК физико-химическими и биологическими свойствами [3, 4].

Далее, композиция неколлагеновых белков костной ткани, включающая 10-12 фракций с молекулярной массой от 10 до 100 кД в диапазоне изоэлектрической точки от 3 до 9,

мигрирующих при электрофорезе в области α1- и α2-глобулинов, в культуре эмбриональных фибробластов дозозависимо влияет на их физиологическую активность: при низких концентрациях стимулирует пролиферацию (синтез ДНК, увеличение числа жизнеспособных клеток), при высоких – остеодифференцировку и экспрессию дифференцированных клеток (синтез НБК, активность щелочной фосфатазы, образование кальцифицированных узелков) – рис. 2-3.

Кроме того, костные НБК, обеспечивающие хемотаксис и адгезию клеток-предшественников остеогенеза, поддерживающие скелетный гомеостаз, участвующие в акте минерализации, могут быть обнаружены в циркулирующей крови. При возмещении костных де-

фектов при пародонтите средней и тяжелой степени с использованием остеопластического материала¹ мы в десневой жидкости – гомологе тканевой – посредством иммуноферментного анализа выявили наличие остеопонтина (OPN) – костного фосфосиалопротеида, осуществляющего связь между минеральной фазой костной ткани и ее коллагеновым матриксом, а также адгезию остеогенных клеток на нем, и цитокинами семейства фактора некроза опухоли – остеопрогеретина (ORG) и его растворимого лиганда (sRANKL), отвечающих за динамическое равновесие в системе резорбция-остеогенез (скелетном гомеостазе), рис. 5, что подтверждает референтные данные [5, 6].

Морфологическая динамика костеобразования на месте имплантации СТИК для возмещения дефекта кости в эксперименте – еще одно свидетельство в пользу вышеприведенной концепции (рис. 6): а – на 3-и сутки после имплантации наблюдается образование воспалительного клеточного вала вокруг имплантата с примерно равной долей клеток воспалительного ряда (деградирующие и нативные лимфоциты), моноцитов-макрофагов (источник поступления в тканевую жидкость ряда цитокинов) и фибробластоподобных клеток (недифференцированные предшественники остеогенных клеток). На границе имплантата и костной ткани реципиентного ложа появляются остеокласты, что к 7-м суткам (б) способствует резорбции СТИК (его дефрагментации), между глыбками которой появляется грануляционная ткань. В составе грануляций отмечаются остеобласты, что обеспечивает появление к 14-м суткам первых костных балок – провизорной костной ткани (в). Васкуляризация новообразованной ткани, метаболические процессы и биомеханика регенерата задают условия для его тканеспецифического ремоделирования с образованием к 75-м суткам зрелой губчатой кости (г).

Таким образом, для реализации вышеприведенной схемы неоостеогенеза в месте имплантации остеопластического материала есть все необходимые и достаточные условия. Остеоиндуктивность

¹ Операции выполнены асп. МГМСУ Родиной Е.С. (рук. проф. Грудянов А.И., ЦНИИС и ЧЛХ)

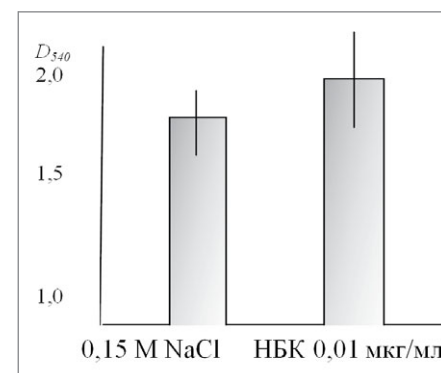


Рис. 2. Исследование на цитотоксичность (МТТ-тест) восстановление желтого метилтетразолиумтетрабромида (МТТ) до пурпурного формазана дегидрогеназами живых клеток

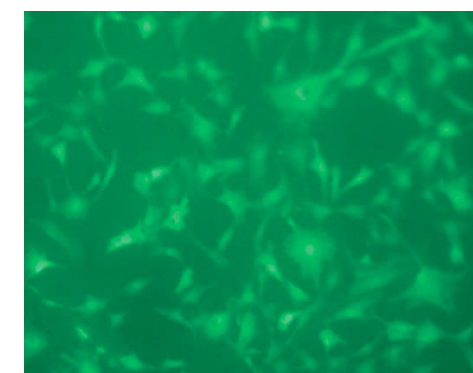


Рис. 3. Распластывание и адгезия фибробластов эмбрионов мыши на материале, содержащем НБК. ИИДОСТ-пластины (пат. РФ №, 2317088), 2 суток, среда ДМЕМ, 10% ЭТС

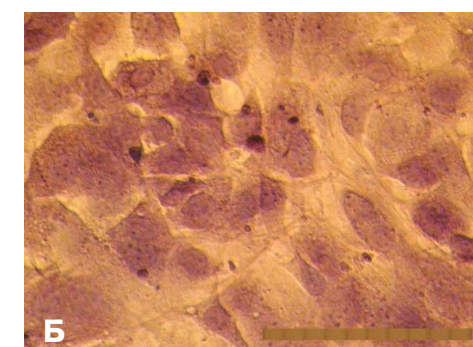
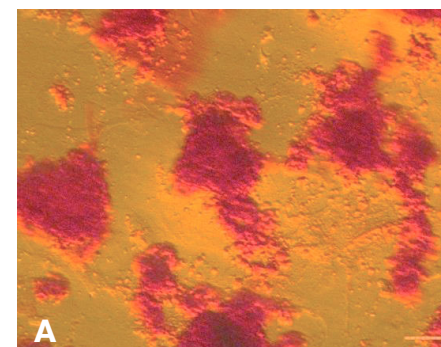


Рис. 4. Влияние НБК (0,1 мкг/мл) на остеодифференцировку фибробластов эмбрионов человека in vitro. А – кальцифицированные узелки, окраска ализариновым красным; Б – выявление активности щелочной фосфатазы в клетках кальцифицированного узелка

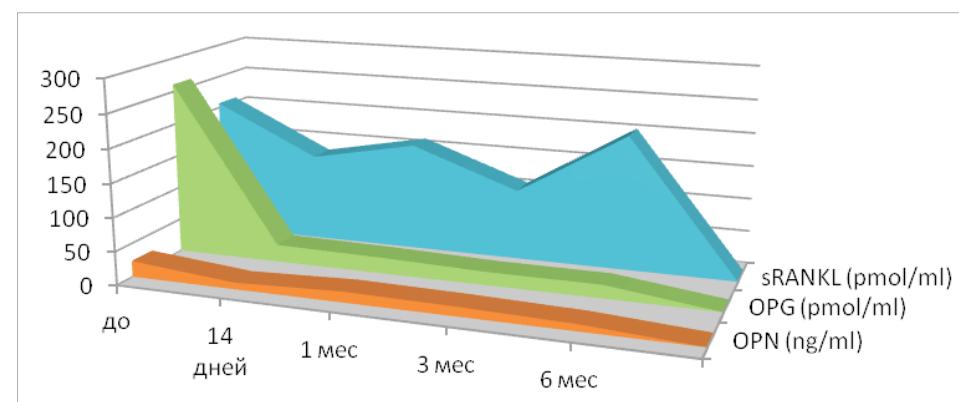


Рис. 5. Динамика содержания маркеров костного ремоделирования в десневой жидкости при возмещении костного дефекта остеопластическим материалом Стимул-Осс (Белкозин, Россия)

имплантата, как и хемотаксис, адгезию и пролиферацию остеогенных клеток-предшественников, обеспечивает комплекс неколлагеновых белков, аффинных к минеральным и органическим ингредиентам имплантата. Этот комплекс – протеом тканеинженерной конструкции – формируется посредством диффузии в имплантированный материал из циркуляторного русла, продуцируется клетками воспалительного вала,

окружающего имплантат, освобождается из резорбируемой костной ткани реципиентного ложа. В состав этого комплекса входят НБК с функциями: 1) аттрактантов ППСК, 2) имеющих сродство к интегринным этим клеткам, 3) сигнальных молекул, модулирующих их физиологическую активность – в зависимости от дозы стимулирующих пролиферацию или дифференцировку этих клеток. Кооперативное действие составляющих этого комплекса инициирует плейотропный

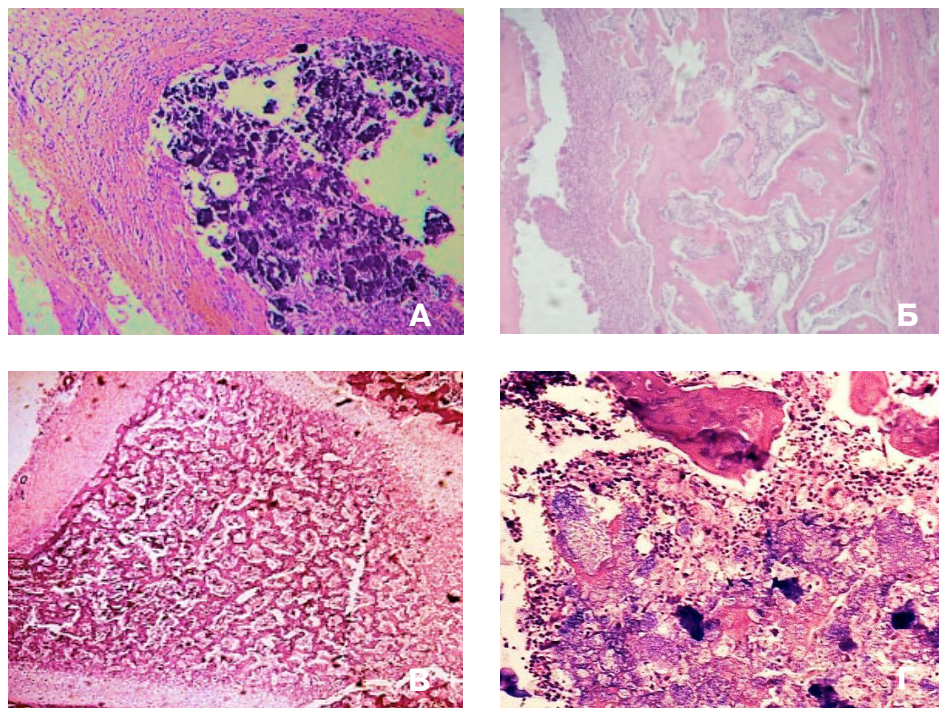


Рис. 6. Динамика возмещения дырчатого дефекта большеберцовой кости имплантацией остеопластическим материалом.

Время после операции: А – 3 суток (об.10хок.5), Б – 7 суток (об.20хок.5), В – 14 суток (об.20хок.5), Г – 75 суток (об.10хок.5). Зозин и гематоксилин

каскад клеточных процессов, в результате которых формируется новообразованная костная ткань. Скорость формирования протеома СТИК зависит от состава и свойств имплантируемого материала. Оптимальной, очевидно, является композиция из гетерофазных ортофосфатов кальция и коллагена типа I. Силикаты и сульфаты, используемые при производстве остеопластических материалов, на аффинность к НБК, насколько нам известно, не исследованы. Напротив, гетерополисахариды фибриллярной природы – гиалуронаты, альгинаты, хитозан и др. – в силу своих физико-химических свойств могут обладать свойствами биохроматографической системы, формирующей протеом СТИК.

Последний может быть модифицирован уже на стадии производства остеопластического материала внесением в его состав композиции НБК, что повышает его остеоиндуктивные свойства и создает перспективы благоприятных исходов остеопластики у больных с пониженным регенерационным потенциалом, в так называемых группах риска, без использования экстракорпорально приготовленных клеточных графтов. Эта возможность реализована нами при создании материалов серии

ИНДОСТ, выпускаемых НПО «ПОЛИСТОМ» с 2006 г. [1].

Авторы благодарят проф. Н.А. Слесаренко (МГАВМ и БТ им. К.И. Скрябина), проф. А.Б. Шехтера (МГА им. М.И. Сеченова) и к.ф.-м.н. И.И. Селезневу (ИТЭБ РАН) за помощь в морфологических и цитологических исследованиях.

Приведены доказательства активного участия остеопластических материалов, имплантированных в костный дефект, в инициации регенерации костной ткани и ее поддержания – процессинга неоостеогенеза. Материал, помещенный в костный дефект, при условии его аффинности к неколлагеновым белкам крови и тканевой жидкости, сорбирует последние, образуя функциональный комплекс – протеом тканеинженерной конструкции, который запускает каскад: привлечение полипотентных стромальных клеток, их удержание, пролиферацию, остеогенную дифференцировку, экспрессию костных тканеспецифических белков, внеклеточного матрикса, способного к минерализации. Может быть модифицирован уже на стадии производства остеопластического материала внесением в его состав композиции НБК, что повышает его остеоиндуктивные свойства и создает перспективы благоприятных исходов остеопластики у больных с пониженным регенерационным потенциалом.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Десятниченко К.С., Курдюмов С.Г. Тенденции в конструировании тканеинженерных систем для остеопластики // Клет. Транспл. Ткан. Инженерия. – 2008. – № 2. – С. 62-69.
2. Shevcov V.I., Desjatnichenko K.S. Development and experimental evaluation of pharmpreparations from mature bone tissue // Skeletal Reconstruction and Bioimplatation (ed. T.S. Lindholm). Ostin (Texas, USA). – Landes Biosciens. - 1997. – P. 78-81.
3. Десятниченко К.С. Дистракционный остеогенез с точки зрения биохимии и патофизиологии // Гений ортопедии. – 1998. – №4. – С.120-126.
4. Шевцов В.И., Десятниченко К.С., Березовская О.П., Кузнецова Л.С. Биохимические аспекты регуляции дистракционного остеогенеза // Вестник РАМН. – 2000. – №1. – С. 30-34.
5. McCormick R. Osteoporosis: Integrating biomarkers and other diagnostic correlates into the management of bone fragility // Alternative Medicine Review. – 2007. – Vol. 12, № 2. – pp. 113 – 145.
6. Сикора В.З., Погорелова М.В., Ткач Г.Ф., Бумейстер В.И. Неколлагеновые белки костной ткани как маркеры ремоделирование кости // Украинский морфологичный альманах. – 2011. – Т.9. – №3 (додаток). – С. 28-35.

OSSTEM WORLD MEETING 2017

深圳
Shenzhen

Конференция Осстем
Китай, г.Шеньчжень

6-8.04.2017

