

Б. Е. Тулеубаев¹, Д. М. Дарыбаев^{1*}, А. А. Кошанова¹, И. К. Авромиди¹

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ОСТЕОРЕГЕНЕРАЦИИ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ rhBMP-2 И КОСТНОГО АЛЛОГРАФТА НА МОДЕЛИ ДЕФЕКТА БЕДРЕННОЙ КОСТИ У КРОЛИКОВ

¹НАО «Медицинский университет Караганды» (100008, Республика Казахстан, г. Караганда, ул. Гоголя 40; e-mail: info@qmu.kz)

***Дарын Маратұлы Дарыбаев** – докторант 3 курса специальности 8D10100 – Медицина, НАО «Карагандинский медицинский университет»; 100008, Республика Казахстан, г. Караганда, ул. Гоголя 40; e-mail: Darybaev@qmu.kz

Цель. Гистологическая и гистоморфометрическая оценка процессов регенерации костной ткани, при использовании костного аллогraftа заготовленного по Марбургской системе костного банка в сочетании с rhBMP-2 на модели бедренного дефекта у кролика.

Материалы и методы. В 2 группах экспериментальных животных, по 24 испытуемых (кроликов) в каждой, в дистальном метафизе бедренной кости формировали дефект диаметром 5 мм. В группе 1 (AG+rhBMP-2) дефект заполняли костным аллогraftом в сочетании с rhBMP-2, во группе 2 (AG) дефект заполняли костным аллогraftом без дополнительных препаратов. Далее проводилась гистологическая и статистическая обработка полученных данных.

Результаты. На 14 сут в группе AG+rhBMP-2 новообразованная костная ткань составила $34.75 \pm 5.67\%$ от общей площади дефекта кортикальной пластинки. На 30 сут в группе AG+rhBMP-2 закрытие дефекта кортикальной пластинки составило $79.12 \pm 14.32\%$, новообразованная костная ткань закрывала 80.75% длины и 71.37% толщины кортикальной пластинки. На 60 сут в группе AG+rhBMP-2 новообразованная костная ткань закрывала общую площадь дефекта кортикальной пластинки на $64.50 \pm 27.73\%$, длину – на 62%, толщину – на 65.25%.

Обсуждение. Результаты свидетельствуют об ускорении остеорегенерации на ранних этапах восстановления костной пластинки в группе AG+rhBMP-2, однако результаты, полученные к 60 сут, были крайне неоднородными, что указывало на диссинергичное влияние rhBMP-2 на мезенхимальные клетки-предшественники и связанный с этим избыточный резорбтивный эффект rhBMP-2 в некоторых случаях.

Заключение. Применение костного аллогraftа в сочетании с rhBMP-2 на поздних этапах регенерации костной ткани приводит к неудовлетворительным результатам, что проявляется в виде высокой неоднородности получаемых данных, среди которых в значительной части случаев не происходит достаточного закрытия дефекта новообразованной костной тканью.

Ключевые слова: костный аллогraft; rhBMP-2; регенерация костной ткани; костный дефект

ВВЕДЕНИЕ

Развитие хирургии ортопедического и травматологического профиля, а также других хирургических областей связанных с заполнением костных дефектов приводит к значительному увеличению числа костнопластических операций [1, 2]. Более того, в ортопедической хирургии, при наличии больших костных дефектов полученных из-за травм, инфекционных или опухолевых процессов, может возникнуть потребность в заполнителе, который бы обеспечивал оптимальный процесс регенерации костной ткани [3, 4]. Заполнителем золотого стандарта на данный момент является аутологичная донорская кость, однако сложности с забором такого материала, болезненность донорского участка, а также ограниченность материала и описанные случаи осложнений после таких операций не исчерпывают проблему заполнения костных дефектов [5, 6, 7, 8]. Также имеется обилие синтетических и натуральных биоматериалов на основе гидроксиапатита кальция, коллагена,

β -трикальцийфосфата, кальций-фосфатных цементов и стеклокерамики, все же исследования в данной области еще проводятся, а вопрос ремоделирования такого рода заполнителей остается дискуссионным [9, 10, 11]. На наш взгляд, наиболее перспективным заполнителем является костный аллотрансплантат, так как доступность его в большом количестве, наличие остеокондуктивных и остеоиндуктивных свойств уже на данный момент позволяют добиваться больших успехов при заполнении костных дефектов [12, 13]. Однако проблема девитализации аллогенной кости в ходе её изготовления приводит к потере остеогенного и снижению остеоиндуктивного потенциалов, что в некоторых случаях может приводить к нежелательным последствиям [14, 15]. Решение подобных проблем позволило бы в значительной степени разрешить вопрос о выборе заполнителя костных дефектов, а также улучшить прогноз у пациентов, которым необходима данная процедура в процессе лечения. Так сегодня известно множество веществ которые могут улучшать процесс

регенерации костной ткани теми или иными путями, среди них можно выделить, тромбоцитарный фактор роста, трансформирующий фактор роста- β , инсулиноподобный фактор роста-1, сосудистый эндотелиальный фактор роста и фактор роста фибробластов, а также костные морфогенетические белки [16, 17, 18, 19, 20]. Среди перечисленных веществ крайне интересно, что rhBMP может вызывать дифференциацию мезенхимальных клеток костного мозга в клетки образующие костную и хрящевую ткань [21, 22]. Реализуется данный эффект посредством того, что BMP передавая сигнал через рецепторы Ser-Thr киназы типа I и типа II вызывает активацию внутриклеточных сигнальных киназ SMAD-1/5/8, посредством их фосфорилирования. Эти активированные SMAD образуя гетеродимерный комплекс с co-SMAD-4 транслоцируются в ядро, чтобы включать и выключать наборы генов, ответственных за морфогенез, восстановление и регенерацию тканей [23, 24]. Все же часть исследователей сообщают о эффективности применения rhBMP, сокращении сроков лечения и получении положительных результатов, в то же время другая часть исследователей в своих экспериментальных работах свидетельствуют о высокой гетерогенности получаемых результатов, а также в некоторых случаях о таких нежелательных эффектах как появление персистирующих остеокластов и эктопического остеогенеза [25, 26, 27, 28, 29]. Учитывая высокую перспективность подобных методов лечения, вышеуказанные результаты указывают на необходимость уточнения процессов которые происходят в кортикальной пластинке на ранних и поздних этапах остеорегенерации при использовании костного аллогraftа вместе с rhBMP-2.

Цель работы – гистологическая и гистоморфометрическая оценка процессов регенерации костной ткани при использовании костного аллогraftа, заготовленного по Марбургской системе костного банка в сочетании с rhBMP-2 на модели бедренного дефекта у кроликов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Подготовка костных аллотрансплантатов. В исследовании использовался костный аллотрансплантат головки бедренной кости от живого донора (после артропластики) в соответствии с национальным законодательством Республики Казахстан [30, 31].

Костный трансплантат, а именно головка бедренной кости, был получен от пациентов, перенесших артропластическую операцию (эндопротезирование тазобедренного сустава). Головку бедренной кости извлекали в операционной и подвергали механической очистке мягких тканей, хрящей и связок в стерильных условиях. После этого головку бедра помещали в одноразовый стерильный дезинфекционный контейнер и заливали раствором NaCl 0,9% (300 мл). Затем контейнер закрывали и помещали в устройство термообработки Lobator. Цикл обработки составлял 94 минуты [32]. По окончании цикла через специальное отверстие в емкости делался забор для стерильности, затем жид-

кость (бульон) полностью сливалась. Затем костный аллотрансплантат хранили в морозильной камере при температуре -80°C в соответствии с протоколом. За два часа до эксперимента головку бедра размораживали при комнатной температуре и разрезали на кусочки.

Получение rhBMP-2. 150 мкг рекомбинантного костного морфогенетического белка-2 человека (rhBMP-2) (Cusabio, Хьюстон, Техас, США) смешивали с 3 мл физиологического раствора с получением раствора rhBMP-2 (концентрация 50 мкг/мл). Затем 100 мкл (5 мкг) вышеупомянутого раствора тщательно вводили в 0,5 г костного трансплантата с помощью микропипетки ровно за 30 минут до нанесения [33].

Животные и хирургические процедуры. Экспериментальных животных (кролики) содержали в клетках и давали им возможность акклиматизироваться в течение 2 недель. На протяжении всего исследования кроликов содержали при комнатной температуре ($22 \pm 2^{\circ}\text{C}$), влажности 40-50% и подвергали 12-часовому циклу света и темноты. Животным давали стандартные кроличьи гранулы и водопроводную воду в качестве пищи.

Следуя биоэтическим принципам замены, сокращения и уточнения Рассела и Берча, размер выборки для экспериментов на животных в этом исследовании был установлен как минимальное количество животных, необходимое для получения статистически значимых результатов [34].

Кролики были случайным образом разделены на две группы ($n=24$ в каждой группе) и подверглись одной и той же хирургической процедуре. За 3 часа до процедуры кроликам внутримышечно вводили гентамицин в дозе 0,1 мл/кг (Marichem, Швейцария). Животных анестезировали внутримышечно инъекцией Золетила 0,1 мг/кг («Вирбак», США) и Рометара 5 мг/кг («Биовета», Чехия). После дезинфекции кожи бедра делали разрез в дистальном отделе бедренной кости. Затем отделяли надкостницу и с помощью бормашины создавали уникортикальный костный дефект диаметром 5 мм в дистальном метафизе бедренной кости [35].

Дефекты костей в группе 1 лечили с использованием термообработанного костного трансплантата с rhBMP-2. В группе 2 дефекты лечили с помощью термообработанного костного трансплантата без дополнительных остеоиндуктивных препаратов.

Операционную рану ушивали рассасывающимися нитями (5-0 Vicryl, Ethicon, Johnson & Johnson, США). После операции каждое животное получало внутримышечно инъекции гентамицина 0,1 мл/кг («Мапихем», Швейцария) и кетонала 0,04 мл/кг («Сандоз», Словения) в течение 3 дней. Ежедневные послеоперационные наблюдения осуществлялись для мониторинга прогресса заживления в соответствии с заранее установленным графиком в течение последовательных дней. Осложнений и летальных исходов в послеоперационный период не было. Через 14, 30 и 60 сут по 8 животных из каждой группы (по 16 кроликов за каждый период времени) умерщвляли в соответствии с этическими стандартами путем внутривенного введения летальных доз золетила 50 мг/мл и собирали дистальную часть бедренной кости.

Гистопатологическое исследование. Перед гистологическим анализом образцы фиксировали в 10% нейтральном забуференном формалине в течение 24 ч с последующей декальцинацией в растворе Biodec R (Bio-Optica Milano SPA) еще в течение 24 ч. Затем образцы промывали в фосфатном буфере (pH=7,4). После достижения оптимального размягчения костной ткани (декальцинации) выполняли разрез кости. Затем ткань фиксировали в 10% формалине при температуре 4 °С в течение 24 ч, промывали водопроводной водой и обезживали, используя серию спиртов возрастающей концентрации (70, 90, 95 и 100%). Затем образцы погружали в ксилол и заключали в парафиновые блоки. Срезы тканей толщиной 5 мкм готовили с использованием скользящего микротомы Leica SM 2000R. После подготовки срезы тканей обрабатывали гематоксилином и эозином для общего морфологического анализа тканей, выявления воспалительного инфильтрата и некроза, а также трихромом Массона для оценки ремоделирования костного трансплантата и образования новой кости [36].

Процесс окрашивания гематоксилином и эозином. Срезы ткани погружали в гематоксин Майера на четверть часа, а затем промывали водой в течение 5 минут. После этого срезы подвергали минутному окрашиванию эозином.

Процедура окраски трихромом по Массону. Для окраски трихромом по Массону использовали коммерческий набор (Трихром Краситель (Массон) Биовитрим ТУ 9398-001-89079081-2012). После депарафинизации и регидратации образцы предметного стекла помещали в раствор Буэна при температуре 56 °С на 15 мин. Затем следовало 5-минутное полоскание водопроводной водой. Нанесение гематоксилина Вейгерта продолжалось 5 минут, после чего осуществлялась 5-минутная промывка водопроводной водой и быстрое полоскание в дистиллированной воде. Затем предметные стекла окрашивали фуксином алой кислоты Бибриха в течение 5 минут, промывали дистиллированной водой и погружали в фосфорно-вольфрамово-фосфомолибденовую кислоту на 5 минут. Следующим шагом было нанесение анилинового синего на 5 минут, и, наконец, предметные стекла фиксировали в 1% уксусной кислоте на 2 минуты.

Микроскопическое исследование препаратов проводили на микроскопе Zeiss AxioLab 4.0 при увеличении $\times 400$. Программное обеспечение AxioVision 7.2 для Windows использовалось для анализа и фотографирования изображений.

Окрашивание гематоксилином и эозином использовали для визуализации общей морфологии клеток и структуры ткани. Трихромное окрашивание по Массону использовали для выявления новообразованной костной ткани на разных стадиях репарации костных дефектов и оценки ремоделирования кости.

Два независимых исследователя, имеющих опыт работы с животными моделями, провели морфометрическое исследование, не зная, к какой группе принадлежало каждое животное. Терминология, используемая в гистоморфометрическом анализе, соответствовала ре-

комендациям Номенклатурного комитета гистоморфометрии Американского общества исследований костей и минералов [37].

Определяли следующие параметры: закрытие дефекта кортикальной пластинки новообразованной костной ткани по длине и толщине (в %), состав тканей кортикальной пластинки в зоне дефекта (%).

Морфометрическую оценку ткани кортикальной пластинки проводили в пределах зоны, ограниченной радиально краями дефекта и латерально собственной бедренной костью, а также внешней границей костного трансплантата и/или новообразованной костной ткани. Эта оценка была представлена в процентах от общей площади дефекта. Для каждого костного дефекта анализировали три гистологических среза и рассчитывали их среднее значение. Ткани, указывающие на неспецифический репаративный процесс, такие как сосуды или гаверсовы каналы, не включались в количественную оценку и составляли наименьший процент в области костной мозоли [38,39].

Статистический анализ. Все экспериментальные значения отображали как средние и стандартные отклонения. Сравнения между двумя группами проводили с использованием критерия χ^2 с коррекцией непрерывности Йейтса и критерия Манна – Уитни, множественные сравнения – с использованием критерия χ^2 Пирсона. Статистический анализ результатов исследования осуществляли с использованием IBM SPSS Статистика 20.0 и STATISTICA 10. Значение $p < 0,05$ считалось указывающим на статистическую значимость.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Гистологический и морфометрический анализ в области дефекта кортикальной пластинки на 14 сут показали, что в группе 1 новообразованная костная ткань составила $34.75 \pm 5.67\%$ от общей площади дефекта кортикальной пластинки с заполнением длины 37.25% и ширины 39.0% кортикальной пластинки. Новообразованная костная ткань состояла из лакун содержащих остециты и сосудистые каналы, костные балки были тонкими и неоднородными. Прочие ткани были представлены на 15.87% хрящевой тканью и на 49.37% фиброзной тканью.

В группе 2 площадь новообразованной костной ткани составила $23.12 \pm 5.02\%$, с закрытием длины на 26.25% и 23.37% толщины кортикальной пластинки. Хрящевая ткань составила 22.37%, фиброзная – 54.5% (табл. 1).

На 30 сут в группе 1 закрытие дефекта кортикальной пластинки составило $79.12 \pm 14.32\%$, новообразованная костная ткань закрывала 80.75% длины и 71.37% толщины кортикальной пластинки. Репаративный процесс проявлялся активным процессом образования костной ткани, при этом костные балки имели высокую степень минерализации. Среди прочих тканей регистрировалась 8.5% хрящевой и 12.37% фиброзной ткани.

В группе 2 костная ткань составила $53.12 \pm 6.42\%$, закрытие длины – 59.62%, толщины – 53.75% от пло-

Таблица 1 – Сравнительная гистопатологическая оценка регенерации костного дефекта в проекции хирургического вмешательства через 14 сут

Регенерация костного дефекта	AG+rhBMP-2	AG	p
Закрытие дефекта кортикальной пластинки новообразованной костной тканью в длину и толщину (%)			
Костная ткань	34.75±5.67	23.12±5.02	<0.002762
Длина	37.25±4.09	26.25±3.28	<0.001629
Толщина	39.0±3.54	23.37±3.81	<0.000939
Закрытие дефекта другими тканями (%)			
Хрящевая ткань	15.87±4.01	22.37±4.40	<0.008652
Фиброзная ткань	49.37±4.10	54.50±3.66	<0.020863

Таблица 2 – Сравнительная гистопатологическая оценка регенерации костного дефекта в проекции хирургического вмешательства через 30 сут

Регенерация костного дефекта	AG+rhBMP-2	AG	p
Закрытие дефекта кортикальной пластинки новообразованной костной тканью в длину и толщину (%)			
Костная ткань	79.12±14.32	53.12±6.42	<0.003876
Длина	80.75±19.83	59.62±3.62	>0.103563
Толщина	71.37±20.46	53.75±4.62	<0.040570
Закрытие дефекта другими тканями (%)			
Хрящевая ткань	8.50±4.62	22.12±5.71	<0.001360
Фиброзная ткань	12.37±10.82	24.75±4.55	<0.023949

Таблица 3 – Сравнительная гистопатологическая оценка регенерации костного дефекта в проекции хирургического вмешательства через 60 сут

Регенерация костного дефекта	AG+rhBMP-2	AG	p
Закрытие дефекта кортикальной пластинки новообразованной костной тканью в длину и толщину (%)			
Костная ткань	64.50±27.73	84.12±3.52	>0.227148
Длина	62.0±25.65	79.75±7.30	>0.127809
Толщина	65.25±28.64	83.75±6.79	>0.400815
Закрытие дефекта другими тканями (%)			
Хрящевая ткань	11.87±9.23	9.0±2.92	>0.833635
Фиброзная ткань	23.62±19.03	6.87±2.90	>0.172168

щади кортикальной пластинки. Хрящевая ткань составляла 22.12%, фиброзная ткань закрывала 24.75% дефекта (табл. 2).

На 60 сутки в группе 1 новообразованная костная ткань закрывала общую площадь дефекта кортикальной пластинки на 64.50±27.73%, длину на 62%, толщину – на 65.25%. Новообразованная костная ткань имела меньшую толщину нежели кортикальная пластинка за пределами костного дефекта, а также меньшую толщину чем на 30 сут, что было ассоциировано с появлением атипичных многоядерных гигантских остеокластов. Также хрящевая ткань составляла 11.87%, фиброзная ткань – 23.62%.

В группе AG новообразованная костная ткань закрывала значимую часть дефекта и занимала 84.12±3.52% площади дефекта кортикальной пластинки, костная ткань заполняла 79.75% длины и 83.75% толщины кортикальной пластинки. Прочие ткани были представлены хрящевой тканью (9%) и фиброзной тканью (6.87%) (табл. 3).

ОБСУЖДЕНИЕ

В работе исследовано влияние rhBMP-2 в сочетании с костным аллогraftом заготовленным по Марбургской системе костного банка, на процесс остеорегенерации в модели дефекта бедренной кости у кроликов.

По результатам исследования видно, что использование костного аллогraftа в сочетании с rhBMP-2 (группа 1) на ранних сроках продемонстрировало более высокую эффективность остеорегенерации и больший процент новообразованной костной ткани ($p=0.002762$) (рис. 1а). Такая тенденция сохранялась до 30 сут ($p=0.003876$), однако уже на данном этапе можно было наблюдать явное увеличение показателя стандартного отклонения, что свидетельствует о повышении гетерогенности получаемых показателей (рис. 1б). Так, к 60 сут достоверных различий между группой 1 и группой 2 не было ни по одному из показателей

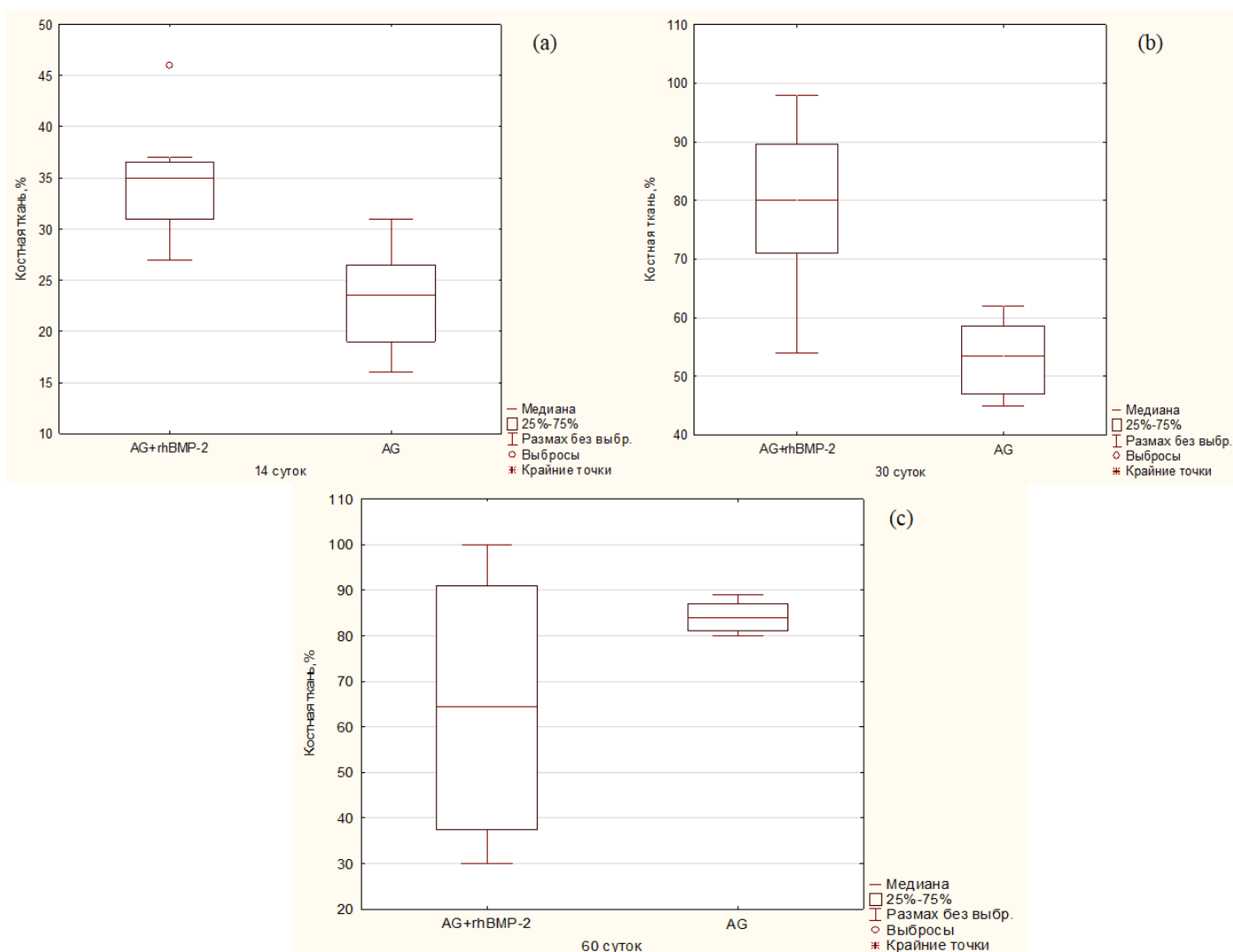


Рисунок 1 – Сравнительная гистопатологическая оценка % костной ткани в кортикальной пластинке на 14 (а), 30 (б) и 60 (с) сут

($p=0.227148$). более важно, что показатели в группе 1 достигали максимальной гетерогенности и в половине случаев данной выборки закрытие костного дефекта костной тканью составило менее 65%, в то время как в группе 2 процент новообразованной костной ткани в области кортикального дефекта был стабильно около 84% (рис. 1с).

Такая нестабильность показателей в данном временном интервале была сопряжена с появлением многоядерных остеокластов. Таким образом, применение костного аллогraftа в сочетании с rhBMP-2 может приводить на поздних этапах остеорегенерации к высокой гетерогенности получаемых результатов, в части из которых наблюдается недостаточное образование костной ткани, которое можно считать неудовлетворительным. Предположительно, что подобного рода неудовлетворительные результаты связаны с тем, что воздействие на мезенхимальные клетки-предшественники посредством rhBMP-2 вызывает, помимо активации остеогенеза, активную остеорезорбцию посредством остеокластов, кото-

рая больше всего выражена к 60 сут. Так, помимо канонического пути активации посредством rhBMP-2 через Smad 1/5/8, существует множество «неканонических» путей активации в том числе MAPK/ERK/JNK/p38/PI3K/Akt/RANK/RANKL пути [40, 41]. Обращая на это внимание, в доступной литературе обнаружены данные с описанием механизма действия rhBMP на клеточную линию моноцитов/макрофагов в сторону остеокластогенеза посредством активации через белки Smad2 и Smad3, которые направляют макрофаги на стадию преостеокласта в присутствии RANKL [42]. Более того, в работе Н. Канеко и др. описывается, что на зрелых остеокластах экспрессируются рецепторы BMP, BMPR-IA и BMPR-II, а в самих остеокластах были обнаружены их нисходящие сигнальные молекулы, Smad1 и Smad5. Так, ожидаемо, в данном эксперименте, при добавлении к культуре зрелых остеокластов, BMP-2, значительно повышался уровень мРНК катепсина К и карбоангидразы II, ключевых ферментов для остеокластической костной резорбции [43]. Исходя из этого был сделан вы-

вод о том, что BMP также может оказывать прямое активирующее действие на остеокласты. Что, в свою очередь, может наиболее рационально объяснить причины недостаточного восстановления костной пластинки, ассоциированной с персистенцией остеокластов, на поздних этапах остеорегенерации, вызывая тем самым избыточную резорбцию костной ткани. Так, в эксперименте Miao Xiong и др. rhBMP-2, воздействуя на культуру макрофагов, выделенных из костного мозга мышей, усилил остеокласт-опосредованную резорбцию кости посредством индукции дифференциации остеокластов [44]. Интересен тот факт, что Jeffrey M. Toth и др. в своей работе на дефектах дистального конца бедренной кости у овец, напротив, до 4 нед. наблюдали дозозависимую резорбцию костной ткани, но в период с 4 по 8 нед. наблюдали организацию костных дефектов и нормальное заживление. Мы же в своем эксперименте наблюдали противоположную картину, что, возможно, было связано с тем, что у Jeffrey M. Toth и др. дозировки rhBMP-2 были минимум в 8 раз выше, чем в нашем исследовании [45].

При использовании костного аллогraftа без дополнительных веществ, усиливающих остеорегенерацию, в исходе эксперимента были получены довольно стабильные результаты, которые можно считать относительно удовлетворительными, однако невысокая активность остеогенеза на 14 и 30 сут свидетельствует об ограниченном остеоиндуктивном потенциале данного заполнителя и подкрепляет данные о необходимости применения дополнительных остеоиндуктивных препаратов.

Сильные стороны проведенного исследования заключаются в том, что в эксперименте использовалась стандартизированная модель дефекта бедренной кости у кролика, что позволило получать более достоверные результаты. Гистологический и морфометрический анализы были проведены как на раннем, так и на позднем этапе остеорегенерации, что позволило с большей вероятностью исключить ложноположительные выводы. Также преимуществом данного исследования было наличие группы контроля, в которой использовался костный аллогraft без дополнительных остеоиндуктивных веществ, за счет чего можно было более наглядно оценить остеорегенерацию при использовании rhBMP-2.

К ограничениям проведенного исследования можно отнести отсутствие дополнительных методов диагностики, таких как микро-КТ и иммуногистохимический анализ, что позволило бы получить более обширные данные о репаративном процессе. Также к недостаткам относится отсутствие полноценной морфометрической оценки интрамедуллярного пространства и относительная лимитированность времени исследования, из-за чего не были проанализированы отдаленные эффекты применения rhBMP-2. Однако, результаты исследования представляют ценную информацию о применении костного аллогraftа в сочетании с таким веществом, как rhBMP-2, и позволяют более достоверно прогнозировать исходы лечения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Применение костного аллогraftа в сочетании с rhBMP-2 на поздних этапах регенерации костной ткани приводит к неудовлетворительным результатам, что проявляется высокой неоднородностью получаемых данных, среди которых в значительной части случаев не происходит достаточного закрытия дефекта новообразованной костной тканью. Такие результаты свидетельствуют о необходимости воздействия на побочные негативные эффекты rhBMP-2 с целью снижения гетерогенности получаемых результатов, что в дальнейшем позволит получать более прогнозируемые и однородные исходы такого лечения.

Вклад авторов:

Б. Е. Тулеубаев, А. А. Кошанова, Д. М. Дарыбаев – концепция и дизайн исследования.

Д. М. Дарыбаев, И. К. Авромиди – сбор и обработка материалов.

Д. М. Дарыбаев, И. К. Авромиди – статистическая обработка.

А. А. Кошанова, Д. М. Дарыбаев, И. К. Авромиди – написание текста.

Б. Е. Тулеубаев, А. А. Кошанова – редактирование.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование:

Исследование является инициативой и не имеет внешних источников финансирования.

ЛИТЕРАТУРА

1. Molina C.S., Stinner D.J., Obremskey W.T. Treatment of traumatic segmental long-bone defects: A critical analysis review. JBJS Rev. 2014; 2: e1.
2. Cha H.S., Kim J.W., Hwang J.H. и др. Frequency of bone graft in implant surgery. Maxillofac. Plast. Reconstr. Surg. 2016; 38: 19. <https://doi.org/10.1186/s40902-016-0064-2>
3. Dimitriou R., Jones E., McGonagle D., Giannoudis P.V. Bone regeneration: current concepts and future directions. BMC Med. 2011; 9: 66. doi: 10.1186/1741-7015-9-66.
4. Engh G.A., Ammeen D.J. Bone loss with revision total knee arthroplasty: defect classification and alternatives for reconstruction. Instr. Course Lect. 1999; 48: 167-75.
5. Myeroff C, Archdeacon M. Autogenous bone graft: donor sites and techniques. J. Bone Joint Surg. Am. 2011; 93 (23): 2227-2236. doi: 10.2106/JBJS.J.01513
6. Jensen A.T., Jensen S.S, Worsaae N. Complications related to bone augmentation procedures of localized defects in the alveolar ridge. A retrospective clinical study. Oral Maxillofac. Surg. 2016; 20: 115-122. <https://doi.org/10.1007/s10006-016-0551-8>
7. Ahlmann E., Patzakis M., Roidis N., Shepherd L., Holtom P. Comparison of anterior and posterior iliac crest bone graft in terms of harvest-site morbidity

and functional outcomes. *J. Bone. Joint Surg. Am.* 2002; 84 (5): 716-720. <https://doi.org/10.1302/0301-620X.84B5.12571>

8. St. John T.A., Vaccaro A.R., Sah A.P., Schaefer M., Berta S.C., Albert T., Hilibrand A. Physical and monetary costs associated with autogenous bone graft harvesting. *Am. J. Orthop.* 2003; 32 (1): 18-23.

9. Lee O.S., Lee K.J., Lee Y.S. Comparison of bone healing and outcomes between allogeneous bone chip and hydroxyapatite chip grafts in open wedge high tibial osteotomy. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 2017; 28 (12): 189. <https://doi.org/10.1007/s10856-017-5998-0>

10. Lee S.S., So S.Y., Jung E.Y., Seo M., Lee B.H., Shin H., Wang J.H. The efficacy of porous hydroxyapatite chips as gap filling in open-wedge high tibial osteotomy in terms of clinical, radiological, and histological criteria. *Knee.* 2020; 27 (2): 436-443. <https://doi.org/10.1016/j.knee.2019.12.008>

11. Giannoudis P.V., Dinopoulos H., Tsiridis E. Bone substitutes: an update. *Injury.* 2005; 36 (Suppl. 3): 20-27.

12. Saginova D., Tashmetov E., Tuleubaev B., Kamyschanskiy Y., Davanov Sh. Effect of Platelet-rich Plasma Combined with Marburg Bone Bank-prepared Bone Graft in Rabbit Bone Defect Model. *Shiraz E-Medical Journal.* 2023; 24 (9): e136960. <https://doi.org/10.5812/semj-136960>

13. Gianulis E., Wetzell B., Scheunemann D., Gazzolo P., Sohoni P., Moore M.A., Chen J. Characterization of an advanced viable bone allograft with preserved native bone-forming cells. *Cell Tissue Bank.* 2023; 24 (2): 417-434. <https://doi.org/10.1007/s10561-022-10044-2>

14. Brydone A.S., Meek D., MacLaine S. Bone grafting, orthopaedic biomaterials, and the clinical need for bone engineering. *Proc. Inst. Mech. Eng. H.* 2010; 224 (12): 1329-1343. <https://doi.org/10.1243/09544119JEIM770>

15. Finkemeier C.G. Bone-grafting and bone-graft substitutes. *J. Bone Joint Surg. Am.* 2002; 84 (3): 454-464.

16. 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>

17. Giannoudis P.V., Einhorn T.A. Bone morphogenetic proteins in musculoskeletal medicine. *Injury.* 2009; 40 (Suppl. 3): 1-3.

18. Dimitriou R., Tsiridis E., Giannoudis P.V. Current concepts of molecular aspects of bone healing. *Injury.* 2005; 36 (12): 1392-1404. <https://doi.org/10.1016/j.injury.2005.07.019>

19. Saab M., Hildebrand F., Martel B., Blanchemain N. Osteoinductive Bone Morphogenetic Protein, Collagen Scaffold, Calcium Phosphate Cement, and Magnesium-Based Fixation Enhance Anterior Cruciate Ligament Tendon Graft to Bone Healing In Animal Models: A Systematic Review. *Arthroscopy.* 2023; 39 (2): 529-548. <https://doi.org/10.1016/j.arthro.2022.05.011>

20. Afewerki S., Bassous N., Harb S., Palo-Nieto C., Ruiz-Esparza G.U., Marciano F.R., Webster T.J., Furtado A.S.A., Lobo A.O. Advances in dual functional

antimicrobial and osteoinductive biomaterials for orthopaedic applications. *Nanomedicine.* 2020; 24: 102143. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2019.102143>

21. Jara Uribe F., Cantín M., Alister J.P., Vilos C., Fariña R., Olate S. Bone morphogenetic protein and its option as an alveolar cleft treatment. *International Journal of Morphology.* 2017; 35 (1): 310-318. <https://doi.org/10.4067/S0717-95022017000100049>

22. Dimitriou R., Jones E., McGonagle D., Giannoudis P.V. Bone regeneration: current concepts and future directions. *BMC Med.* 2011; (9): 66. <https://doi.org/10.1186/1741-7015-9-66>

23. Katagiri T., Watabe T. Bone Morphogenetic Proteins. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 2016; 8 (6): a021899. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a021899>

24. Chen G., Deng C., Li Y.P. TGF- β and BMP signaling in osteoblast differentiation and bone formation. *Int. J. Biol. Sci.* 2012; 8 (2): 272-88. <https://doi.org/10.7150/ijbs.2929>

25. Kim S.H., Choi H.J., Yoon D.S., Son C.N. Serial administration of rhBMP-2 and alendronate enhances the differentiation of osteoblasts. *Int. J. Rheum. Dis.* 2021; 24 (10): 1266-1272. <https://doi.org/10.1111/1756-185X.14189>

26. Zhou L., Wang J., Mu W. BMP-2 promotes fracture healing by facilitating osteoblast differentiation and bone defect osteogenesis. *Am. J. Transl. Res.* 2023; 15 (12): 6751-6759

27. Sales P.H.D.H., Oliveira-Neto O.B., de Lima F.J.C., Carvalho A.A.T., Leão J.C. Effectiveness of rhBMP-2 versus iliac autogenous bone graft in reconstructive surgery of cleft patients: an umbrella review. *Br. J. Oral. Maxillofac. Surg.* 2022; 60 (6): 723-730. <https://doi.org/10.1016/j.bjoms.2021.12.001>

28. Gonzaga M.G., Dos Santos Kotake B.G., de Figueiredo F.A.T., Feldman S., Ervolino E., Dos Santos M.C.G., Issa J.P.M. Effectiveness of rhBMP-2 association to autogenous, allogeneic, and heterologous bone grafts. *Microsc. Res. Tech.* 2019; 82 (6): 689-695. <https://doi.org/10.1002/jemt.23215>

29. Fuchs T., Stolberg-Stolberg J., Michel P.A., Garcia P., Amler S., Wähnert D., Raschke M.J. Effect of Bone Morphogenetic Protein-2 in the Treatment of Long Bone Non-Unions. *J. Clin. Med.* 2021; 10 (19): 4597. <https://doi.org/10.3390/jcm10194597>

30. Saginova D., Tashmetov E., Kamyschanskiy Y., Tuleubayev B., Rimashchanskiy D. Evaluation of Bone Regenerative Capacity in Rabbit Femoral Defect Using Thermally Disinfected Bone Human Femoral Head Combined with Platelet-Rich Plasma, Recombinant Human Bone Morphogenetic Protein 2, and Zoledronic Acid. *Biomedicines.* 2023. 16; 11 (6): 1729. <https://doi.org/10.3390/biomedicines11061729>

31. The Code of the Republic of Kazakhstan on the health of the people and the healthcare system. Chapter 24. Donation and Transplantation. <https://adilet.zan.kz/eng/docs/K2000000360>

32. Order of the Minister of Health and Social Development of the Republic of Kazakhstan «On the approval of the rules for the formation and maintenance

of registers of tissue recipients (part of the tissue) and (or) organs (part of the organs), as well as tissue donors (part of the tissue) and (or) organs (part of organs), hematopoietic stem cells». <https://adilet.zan.kz/rus/docs/V1500011477>

33. Pruss A., Seibold M., Benedix F., Frommelt L. Validation of the Marburg bone bank system for thermoisinfection of allogenic femoral head transplants using selected bacteria, fungi, and spores. *Biologicals*. 2003; 31 (4): 287-294. <https://doi.org/10.1016/j.biologicals.2003.08.002>.

34. Başdelioğlu K., Meriç G., Sargın S., Atik A., Ulusal A.E., Akseki D. The effect of platelet-rich plasma on fracture healing in long-bone pseudoarthrosis. *Eur. J. Orthop. Surg. Traumatol.* 2020; 30 (8): 1481-1486. <https://doi.org/10.1007/s00590-020-02730-2>

35. Cruz-Orive L.M., Weibel E.R. Recent stereological methods for cell biology: a brief survey. *Am. J. Physiol.* 1990; 258 (4): 148-156.

36. Chiu Y.L., Luo Y.L., Chen Y.W., Wu C.T., Periasamy S., Yen K.C. Regenerative Efficacy of supercritical carbon dioxide-derived bone graft putty in rabbit bone defect model. *Biomedicines*. 2022; 10 (11): 2802.

37. Burkitt H.G., Young B., Wheeler J.W. *Wheeler's Functional Histology: A Text and Colour Atlas*. New York: Churchill Livingstone; 2015: 407.

38. Dempster D.W., Compston J.E., Drezner M.K., Glorieux F.H., Kanis J.A., Malluche H. Standardized nomenclature, symbols, and units for bone histomorphometry: a 2012 update of the report of the ASBMR Histomorphometry Nomenclature Committee. *J. Bone Miner. Res.* 2013; 28 (1): 2-17.

39. Parfitt A.M. Bone histomorphometry: proposed system for standardization of nomenclature, symbols, and units. *Calcif. Tissue Int.* 1988; 42 (5): 284-286. <https://doi.org/10.1007/BF02556360>

40. Compston J. Bone histomorphometry. In: Arnett T.R., Henderson B. *Methods in bone biology*. London, England: Chapman & Hall; 1998: 177-199. <https://doi.org/10.1007/978-0-585-38227-2>

41. Zhu L., Liu Y., Wang A., Zhu Z., Li Y., Zhu C., Che Z., Liu T., Liu H., Huang L. Application of BMP in Bone Tissue Engineering. *Front Bioeng Biotechnol.* 2022; 10: 810880. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.810880>

42. Wu M., Chen G., Li Y.P. TGF- β and BMP signaling in osteoblast, skeletal development, and bone formation, homeostasis and disease. *Bone Res.* 2016; 4: 16009. <https://doi.org/10.1038/boneres.2016.9>

43. Koseki T., Gao Y., Okahashi N., Murase Y., Tsujisawa T., Sato T., Nishihara T. Role of TGF- β family in osteoclastogenesis induced by RANKL. *Cellular Signalling*. 2002; 14 (1): 31-36. [https://doi.org/10.1016/S0898-6568\(01\)00221-2](https://doi.org/10.1016/S0898-6568(01)00221-2)

44. Kaneko H., Arakawa T., Mano H., Kaneda T., Ogasawara A., Nakagawa M., Toyama Y., Yabe Y., Kumegawa M., Hakeda Y. Direct stimulation of osteoclastic bone resorption by bone morphogenetic protein (BMP)-2 and expression of BMP receptors in mature osteoclasts. *Bone*. 2000; 27: 479-486.

45. Miao X., Yuan J., Wu J., Zheng J., Zheng W., Wang F., Wang C., Li X., Liu S., Shi Z., Li J. Bone

Morphogenetic Protein-2 Promotes Osteoclasts-mediated Osteolysis via Smad1 and p65 Signaling Pathways. *Spine*. 2021; 46 (4): E234-E242. <https://doi.org/10.1097/BRS.0000000000003770>

46. Toth J.M., Boden S.D., Burkus J.K., Badura J.M., Peckham S.M., McKay W.F. Short-term osteoclastic activity induced by locally high concentrations of recombinant human bone morphogenetic protein-2 in a cancellous bone environment. *Spine*. 2009; 34 (6): 539-550. <https://doi.org/10.1097/BRS.0b013e3181952695>

TRANSLITERATION

1. Molina C.S., Stinner D.J., Obremskey W.T. Treatment of traumatic segmental long-bone defects: A critical analysis review. *JBJS Rev.* 2014; 2: e1.

2. Cha H.S., Kim J.W., Hwang J.H. и др. Frequency of bone graft in implant surgery. *Maxillofac. Plast. Reconstr. Surg.* 2016; 38: 19. <https://doi.org/10.1186/s40902-016-0064-2>

3. Dimitriou R., Jones E., McGonagle D., Giannoudis P.V. Bone regeneration: current concepts and future directions. *BMC Med.* 2011; 9: 66. doi: 10.1186/1741-7015-9-66.

4. Engh G.A., Ammeen D.J. Bone loss with revision total knee arthroplasty: defect classification and alternatives for reconstruction. *Instr. Course Lect.* 1999; 48: 167-75.

5. Myeroff C, Archdeacon M. Autogenous bone graft: donor sites and techniques. *J. Bone Joint Surg. Am.* 2011; 93 (23): 2227-2236. doi: 10.2106/JBJS.J.01513

6. Jensen A.T., Jensen S.S., Worsaae N. Complications related to bone augmentation procedures of localized defects in the alveolar ridge. A retrospective clinical study. *Oral Maxillofac. Surg.* 2016; 20: 115-122. <https://doi.org/10.1007/s10006-016-0551-8>

7. Ahlmann E., Patzakis M., Roidis N., Shepherd L., Holtom P. Comparison of anterior and posterior iliac crest bone graft in terms of harvest-site morbidity and functional outcomes. *J. Bone. Joint Surg. Am.* 2002; 84 (5): 716-720. <https://doi.org/10.1302/0301-620X.84B5.12571>

8. St. John T.A., Vaccaro A.R., Sah A.P., Schaefer M., Berta S.C., Albert T., Hilibrand A. Physical and monetary costs associated with autogenous bone graft harvesting. *Am. J. Orthop.* 2003; 32 (1): 18-23.

9. Lee O.S., Lee K.J., Lee Y.S. Comparison of bone healing and outcomes between allogeneous bone chip and hydroxyapatite chip grafts in open wedge high tibial osteotomy. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 2017; 28 (12): 189. <https://doi.org/10.1007/s10856-017-5998-0>

10. Lee S.S., So S.Y., Jung E.Y., Seo M., Lee B.H., Shin H., Wang J.H. The efficacy of porous hydroxyapatite chips as gap filling in open-wedge high tibial osteotomy in terms of clinical, radiological, and histological criteria. *Knee*. 2020; 27 (2): 436-443. <https://doi.org/10.1016/j.knee.2019.12.008>

11. Giannoudis P.V., Dinopoulos H., Tsiridis E. Bone substitutes: an update. *Injury*. 2005; 36 (Suppl. 3): 20-27.

12. Saginova D., Tashmetov E., Tuleubaev B., Kamyshanskiy Y., Davanov Sh. Effect of Platelet-rich Plasma Combined with Marburg Bone Bank-prepared Bone Graft in Rabbit Bone Defect Model. *Shiraz E-Medical Journal*. 2023; 24 (9): e136960. <https://doi.org/10.5812/semj-136960>
13. Gianulis E., Wetzell B., Scheunemann D., Gazzolo P., Sohoni P., Moore M.A., Chen J. Characterization of an advanced viable bone allograft with preserved native bone-forming cells. *Cell Tissue Bank*. 2023; 24 (2): 417-434. <https://doi.org/10.1007/s10561-022-10044-2>
14. Brydone A.S., Meek D., MacLaine S. Bone grafting, orthopaedic biomaterials, and the clinical need for bone engineering. *Proc. Inst. Mech. Eng. H*. 2010; 224 (12): 1329-1343. <https://doi.org/10.1243/09544119JEIM770>
15. Finkemeier C.G. Bone-grafting and bone-graft substitutes. *J. Bone Joint Surg. Am.* 2002; 84 (3): 454-464.
16. 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>
17. Giannoudis P.V., Einhorn T.A. Bone morphogenetic proteins in musculoskeletal medicine. *Injury*. 2009; 40 (Suppl. 3): 1-3.
18. Dimitriou R., Tsiridis E., Giannoudis P.V. Current concepts of molecular aspects of bone healing. *Injury*. 2005; 36 (12): 1392-1404. <https://doi.org/10.1016/j.injury.2005.07.019>
19. Saab M., Hildebrand F., Martel B., Blanchemain N. Osteoinductive Bone Morphogenetic Protein, Collagen Scaffold, Calcium Phosphate Cement, and Magnesium-Based Fixation Enhance Anterior Cruciate Ligament Tendon Graft to Bone Healing In Animal Models: A Systematic Review. *Arthroscopy*. 2023; 39 (2): 529-548. <https://doi.org/10.1016/j.arthro.2022.05.011>
20. Afewerki S., Bassous N., Harb S., Palo-Nieto C., Ruiz-Esparza G.U., Marciano F.R., Webster T.J., Furtado A.S.A., Lobo A.O. Advances in dual functional antimicrobial and osteoinductive biomaterials for orthopaedic applications. *Nanomedicine*. 2020; 24: 102143. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2019.102143>
21. Jara Uribe F., Cantín M., Alister J.P., Vilos C., Fariña R., Olate S. Bone morphogenetic protein and its option as an alveolar cleft treatment. *International Journal of Morphology*. 2017; 35 (1): 310-318. <https://doi.org/10.4067/S0717-95022017000100049>
22. Dimitriou R., Jones E., McGonagle D., Giannoudis P.V. Bone regeneration: current concepts and future directions. *BMC Med*. 2011; (9): 66. <https://doi.org/10.1186/1741-7015-9-66>
23. Katagiri T., Watabe T. Bone Morphogenetic Proteins. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 2016; 8 (6): a021899. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a021899>
24. Chen G., Deng C., Li Y.P. TGF- β and BMP signaling in osteoblast differentiation and bone formation. *Int. J. Biol. Sci.* 2012; 8 (2): 272-88. <https://doi.org/10.7150/ijbs.2929>
25. Kim S.H., Choi H.J., Yoon D.S., Son C.N. Serial administration of rhBMP-2 and alendronate enhances the differentiation of osteoblasts. *Int. J. Rheum. Dis.* 2021; 24 (10): 1266-1272. <https://doi.org/10.1111/1756-185X.14189>
26. Zhou L., Wang J., Mu W. BMP-2 promotes fracture healing by facilitating osteoblast differentiation and bone defect osteogenesis. *Am. J. Transl. Res.* 2023; 15 (12): 6751-6759
27. Sales P.H.D.H., Oliveira-Neto O.B., de Lima F.J.C., Carvalho A.A.T., Leão J.C. Effectiveness of rhBMP-2 versus iliac autogenous bone graft in reconstructive surgery of cleft patients: an umbrella review. *Br. J. Oral. Maxillofac. Surg.* 2022; 60 (6): 723-730. <https://doi.org/10.1016/j.bjoms.2021.12.001>
28. Gonzaga M.G., Dos Santos Kotake B.G., de Figueiredo F.A.T., Feldman S., Ervolino E., Dos Santos M.C.G., Issa J.P.M. Effectiveness of rhBMP-2 association to autogenous, allogeneic, and heterologous bone grafts. *Microsc. Res. Tech.* 2019; 82 (6): 689-695. <https://doi.org/10.1002/jemt.23215>
29. Fuchs T., Stolberg-Stolberg J., Michel P.A., Garcia P., Amler S., Wähnert D., Raschke M.J. Effect of Bone Morphogenetic Protein-2 in the Treatment of Long Bone Non-Unions. *J. Clin. Med.* 2021; 10 (19): 4597. <https://doi.org/10.3390/jcm10194597>
30. Saginova D., Tashmetov E., Kamyshanskiy Y., Tuleubayev B., Rimashevskiy D. Evaluation of Bone Regenerative Capacity in Rabbit Femoral Defect Using Thermally Disinfected Bone Human Femoral Head Combined with Platelet-Rich Plasma, Recombinant Human Bone Morphogenetic Protein 2, and Zoledronic Acid. *Biomedicines*. 2023. 16; 11 (6): 1729. <https://doi.org/10.3390/biomedicines11061729>
31. The Code of the Republic of Kazakhstan on the health of the people and the healthcare system. Chapter 24. Donation and Transplantation. <https://adilet.zan.kz/eng/docs/K2000000360>
32. Order of the Minister of Health and Social Development of the Republic of Kazakhstan «On the approval of the rules for the formation and maintenance of registers of tissue recipients (part of the tissue) and (or) organs (part of the organs), as well as tissue donors (part of the tissue) and (or) organs (part of organs), hematopoietic stem cells». <https://adilet.zan.kz/rus/docs/V1500011477>
33. Pruss A., Seibold M., Benedix F., Frommelt L. Validation of the Marburg bone bank system for thermosinfection of allogenic femoral head transplants using selected bacteria, fungi, and spores. *Biologicals*. 2003; 31 (4): 287-294. <https://doi.org/10.1016/j.biologicals.2003.08.002>
34. Başdelioğlu K., Meriç G., Sargin S., Atik A., Ulusal A.E., Akseki D. The effect of platelet-rich plasma on fracture healing in long-bone pseudoarthrosis. *Eur. J. Orthop. Surg. Traumatol.* 2020; 30 (8): 1481-1486. <https://doi.org/10.1007/s00590-020-02730-2>
35. Cruz-Orive L.M., Weibel E.R. Recent stereological methods for cell biology: a brief survey. *Am. J. Physiol.* 1990; 258 (4): 148-156.
36. Chiu Y.L., Luo Y.L., Chen Y.W., Wu C.T., Periasamy S., Yen K.C. Regenerative Efficacy of

supercritical carbon dioxide-derived bone graft putty in rabbit bone defect model. *Biomedicines*. 2022; 10 (11): 2802.

37. Burkitt H.G., Young B., Wheeler J.W. *Wheeler's Functional Histology: A Text and Colour Atlas*. New York: Churchill Livingstone; 2015: 407.

38. Dempster D.W., Compston J.E., Drezner M.K., Glorieux F.H., Kanis J.A., Malluche H. Standardized nomenclature, symbols, and units for bone histomorphometry: a 2012 update of the report of the ASBMR Histomorphometry Nomenclature Committee. *J. Bone Miner. Res.* 2013; 28 (1): 2-17.

39. Parfitt A.M. Bone histomorphometry: proposed system for standardization of nomenclature, symbols, and units. *Calcif. Tissue Int.* 1988; 42 (5): 284-286. <https://doi.org/10.1007/BF02556360>

40. Compston J. Bone histomorphometry. In: Arnett T.R., Henderson B. *Methods in bone biology*. London, England: Chapman & Hall; 1998: 177-199. <https://doi.org/10.1007/978-0-585-38227-2>

41. Zhu L., Liu Y., Wang A., Zhu Z., Li Y., Zhu C., Che Z., Liu T., Liu H., Huang L. Application of BMP in Bone Tissue Engineering. *Front Bioeng Biotechnol.* 2022; 10: 810880. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.810880>

42. Wu M., Chen G., Li Y.P. TGF- β and BMP signaling in osteoblast, skeletal development, and bone formation, homeostasis and disease. *Bone Res.* 2016; 4: 16009. <https://doi.org/10.1038/boneres.2016.9>

43. Koseki T., Gao Y., Okahashi N., Murase Y., Tsujisawa T., Sato T., Nishihara T. Role of TGF- β family in osteoclastogenesis induced by RANKL. *Cellular Signalling*. 2002; 14 (1): 31-36. [https://doi.org/10.1016/s0898-6568\(01\)00221-2](https://doi.org/10.1016/s0898-6568(01)00221-2)

44. Kaneko H., Arakawa T., Mano H., Kaneda T., Ogasawara A., Nakagawa M., Toyama Y., Yabe Y., Kumegawa M., Hakeda Y. Direct stimulation of osteoclastic bone resorption by bone morphogenetic protein (BMP)-2 and expression of BMP receptors in mature osteoclasts. *Bone*. 2000; 27: 479-486.

45. Miao X., Yuan J., Wu J., Zheng J., Zheng W., Wang F., Wang C., Li X., Liu S., Shi Z., Li J. Bone Morphogenetic Protein-2 Promotes Osteoclast-mediated Osteolysis via Smad1 and p65 Signaling Pathways. *Spine*. 2021; 46 (4): E234-E242. <https://doi.org/10.1097/BRS.0000000000003770>

46. Toth J.M., Boden S.D., Burkus J.K., Badura J.M., Peckham S.M., McKay W.F. Short-term osteoclastic activity induced by locally high concentrations of recombinant human bone morphogenetic protein-2 in a cancellous bone environment. *Spine*. 2009; 34 (6): 539-550. <https://doi.org/10.1097/BRS.0b013e3181952695>

Поступила 14.04.2024

Направлена на доработку 23.05.2024

Принята 12.06.2024

Опубликована online 31.03.2025

B. E. Tuleubaev¹, D. M. Darybaev^{1}, A. A. Koshanova¹, I. K. Avromidi¹*

EVALUATION OF THE EFFECTIVENESS OF OSTEOREGENERATION USING RHBMP-2 AND BONE ALLOGRAFT ON A MODEL OF FEMORAL DEFECT IN RABBITS

¹Karaganda Medical University NC JSC (100008, Republic of Kazakhstan, Karaganda, Gogolya str., 40; e-mail: info@qmu.kz)

***Daryn Maratuly Darybaev** – the 3rd year doctoral student of the Medicine - 8D10100specialty, Karaganda Medical University NC JSC; 100008, Republic of Kazakhstan, Karaganda, Gogolya str., 40; e-mail: Darybaev@qmu.kz

Aim. To carry out a histological and histomorphometric assessment of bone tissue regeneration processes using a bone allograft prepared according to the Marburg bone bank system in combination with rhBMP-2 on a rabbit femoral defect model.

Materials and methods. In this study, 2 groups were formed, each with 24 subjects (rabbits), who had a defect with a diameter of 5 mm in the distal metaphysis of the femur. In group 1, the defect was filled with bone allograft in combination with rhBMP-2. In group 2, the defect was filled with bone allograft without additional drugs. Further, histological and statistical processing of the obtained data was carried out.

Results. On day 14, in the AG+rhBMP-2 group, newly formed bone tissue amounted to 34.75±5.67% of the total area of the cortical plate defect. On day 30, in the AG+rhBMP-2 group, the closure of the cortical plate defect was 79.12±14.32%, the newly formed bone tissue covered 80.75% of the length and 71.37% of the thickness of the cortical plate. On day 60 in the AG+rhBMP-2 group, newly formed bone tissue covered the total area of the cortical plate defect by 64.50±27.73%, length by 62%, and thickness by 65.25%.

Discussion. The data obtained indicate an acceleration of osteoregeneration in the early stages of bone plate restoration in the AG+rhBMP-2 group, however, the results obtained by 60 days were extremely heterogeneous, indicating the dysenergetic effect of rhBMP-2 on mesenchymal progenitor cells and the associated excessive resorptive effect of rhBMP-2 in some cases.

Conclusion. According to the results of this study, it can be seen that the use of bone allograft in combination with rhBMP-2 at the late stages of bone regeneration leads to unsatisfactory results, which manifests itself in the form of high heterogeneity of the data obtained, among which, in a significant part of cases, there is not sufficient closure of the defect with newly formed bone tissue.

Key words: bone allograft; rhBMP-2; bone tissue regeneration; bone defect

Б. Е. Тулеубаев¹, Д. М. Дарыбаев¹, А. А. Кошанова¹, И. К. Авромиди¹

ҚОЯНДАРДАҒЫ ФЕМОРАЛЬДЫ АҚАУ ҮЛГІСІНДЕ rhBMP-2 ЖӘНЕ СҮЙЕК АЛЛОГРАФЫН ПАЙДАЛАҢҒАН КЕЗДЕ ОСТЕОРЕГЕНЕРАЦИЯНЫҢ ТИІМДІЛІГІН БАҒАЛАУ

¹«Қарағанды медицина университеті» КеАҚ (Қазақстан Республикасы, 100008, Қарағанды қ., Гоголь к-сі, 40; e-mail: info@qmu.kz)

***Дарын Маратұлы Дарыбаев** – Медицина – 8D10100 мамандығының 3 курс докторанты, «Қарағанды медициналық университеті» КеАҚ; 100008, Қазақстан Республикасы, Қарағанды қ., Гоголь к-сі, 40; e-mail: Darybaev@qmu.kz

Зерттеудің мақсаты. Марбург жүйесі бойынша дайындалған сүйек Банкінің сүйек аллографын rhBMP-2-мен бірге қояндағы феморальды ақау моделінде қолданған кезде сүйек тінінің регенерация процестеріне гистологиялық және гистоморфометриялық бағалау жүргізу.

Материалдар мен әдістер. Бұл зерттеуде 2 топ құрылды, олардың әрқайсысында диаметрі 5 мм ақау пайда болған 24 субъект (қоян), фемордың дистальды метафизінде. Бірінші топта ақау rhBMP-2-мен бірге сүйек аллографымен толтырылды, екінші топта ақау қосымша препараттарсыз сүйек аллографымен толтырылды. Өрі қарай алынған деректерді гистологиялық және статистикалық өңдеу жүргізілді.

Нәтижелер. 14 тәулікте AG+rhBMP-2 тобында жаңадан пайда болған сүйек тіндері кортикальды пластинаның жалпы ақау аймағының $34.75 \pm 5.67\%$ құрады. 30 тәулікте AG+rhbmr-2 тобында кортикальды пластинка ақауының жабылуы $79.12 \pm 14.32\%$ құрады, жаңадан пайда болған сүйек ұлпасы кортикальды пластинаның ұзындығының 80.75% және қалыңдығының 71.37% жабылды. 60-шы күні AG+rhBMP-2 тобында жаңадан пайда болған сүйек тіндері кортикальды пластинаның жалпы ақау аймағын $64.50 \pm 27.73\%$, ұзындығы 62% және қалыңдығы 65.25% -ға жауып тастады.

Қорытынды. Осы зерттеудің нәтижелері бойынша сүйек аллографын rhBMP-2-мен бірге сүйек тінінің регенерациясының кеш кезеңдерінде қолдану қанағаттанарлықсыз нәтижелерге әкелетінін көруге болады, бұл алынған мәліметтердің жоғары гетерогенділігі түрінде көрінеді, олардың арасында, көп жағдайда, ақаудың жаңадан пайда болған сүйек тінімен жабылуы жеткіліксіз.

Кілт сөздер: сүйек аллографты; rhBMP-2; сүйек регенерациясы; сүйек ақауы