

РЕПАРАТИВНАЯ РЕГЕНЕРАЦИЯ ПРИ ЗАМЕЩЕНИИ КОСТНОГО ДЕФЕКТА СИНТЕТИЧЕСКИМ ГРАНУЛИРОВАННЫМ ИМПЛАНТАТОМ НА ОСНОВЕ РАЗЛИЧНЫХ КОМБИНАЦИЙ ФОСФАТА И СИЛИКАТА КАЛЬЦИЯ

REPARTIVE REGENERATION WHEN REPLACING A BONE DEFECT WITH A SYNTHETIC GRANULATE IMPLANT BASED ON VARIOUS COMBINATIONS OF PHOSPHATE AND CALCIUM SILICATE

Рождественский А.А. Rozhdestvenskiy A.A.
Дзюба Г.Г. Dzyuba G.G.
Ерофеев С.А. Erofeev S.A.
Маркелова М.В. Markelova M.V.
Горбач Е.Н. Gorbach E.N.
Гирш А.О. Girsh A.O.
Черненко С.В. Chernenko S.V.

ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
г. Омск, Россия

Omsk State Medical University,
Omsk, Russia

Цель – изучить влияние нового остеопластического материала, включающего различные комбинации фосфата и силиката кальция, на репаративную регенерацию при замещении метаэпифизарного костного дефекта.

Материалы и методы. Исследование выполнялось с использованием 96 3-месячных кроликов-самцов породы белый великан массой 4000 ± 200 г. Животные были разделены на 4 группы. В 1-й (n = 24), 2-й (n = 24) и 3-й (n = 24) опытных группах в сформированный костный дефект имплантировали оригинальный остеопластический материал на основе фосфата и силиката в соотношении 60/40, 50/50 и 40/60 масс% соответственно. В контрольной группе (n = 24) замещение дефекта не выполнялось.

Для оценки влияния имплантатов на процессы остеогенеза проводилось гистологическое изучение фрагментов костной ткани, забранной после выведения животных из эксперимента на 30-е и 90-е сутки. Полученный гистологический материал окрашивался гематоксилином и эозином, а также по Массону и подвергался исследованию.

Результаты. В 1-й опытной группе к окончанию первых 30 суток наблюдения определялось сращение резецированного участка кортикальной пластинки и стенок костного ложа в средних отделах за счет формирования в диастазе между ними губчатой кости мелко- и среднеячеистого строения, к окончанию 90-х суток в диастазе имело место формирование губчатой кости мелко- и среднеячеистого строения, костное ложе было заполнено новообразованной костью, площадь которой составила 23,06 [19,5; 26,0].

Заключение. Использование разработанного оригинального композиционного материала, состоящего из комбинации гидроксиапатита ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) и волластонита (CaSiO_3) в соотношении 60/40 масс% и связующего полимера – желатина, можно считать одним из перспективных направлений для возмещения костных дефектов.

Objective – to study the effect of a new osteoplastic material, including various combinations of phosphate and calcium silicate, on reparative regeneration when replacing a metaepiphyseal bone defect.

Materials and methods. The study was carried out using 96 three-month-old male rabbits of the white giant breed weighing 4,000 ± 200 g. The animals were divided into 4 groups. In the 1st (n = 24), 2nd (n = 24) and 3rd (n = 24) experimental groups, the original osteoplastic material based on phosphate and silicate was implanted into the formed bone defect in a ratio of 60/40, 50/50 and 40/60 weight percentage, respectively. In the control group (n = 24), the defect was not replaced.

To assess the effect of implants on the processes of osteogenesis, a histological study of bone tissue fragments taken after the animals removed from the experiment on the 30th and 90th days was carried out. The resulting histological material was stained with hemotoxylin and eosin, as well as Masson, and was examined.

Results. In the 1st experimental group, by the end of the first 30 days of observation, fusion of the resected section of the cortical plate and the walls of the bone bed in the middle sections was determined due to the formation of cancellous bone of a fine- and medium-cellular structure in the diastasis between them. By the end of the 90th day, in the diastasis there was the formation of spongy bone of a fine- and medium-cellular structure, and the bone bed was filled with newly formed bone, the area of which was 23.06 [19.5; 26.0].

Conclusion. The use of the developed original composite material, consisting of a combination of hydroxyapatite ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) and wollastonite (CaSiO_3) in a ratio of 60/40 weight percentage and a binding polymer – gelatin, can be considered one of the promising directions for compensating bone defects.

Для цитирования: Рождественский А.А., Дзюба Г.Г., Ерофеев С.А., Маркелова М.В., Горбач Е.Н., Гирш А.О., Черненко С.В. РЕПАРАТИВНАЯ РЕГЕНЕРАЦИЯ ПРИ ЗАМЕЩЕНИИ КОСТНОГО ДЕФЕКТА СИНТЕТИЧЕСКИМ ГРАНУЛИРОВАННЫМ ИМПЛАНТАТОМ НА ОСНОВЕ РАЗЛИЧНЫХ КОМБИНАЦИЙ ФОСФАТА И СИЛИКАТА КАЛЬЦИЯ //ПОЛИТРАВМА / POLYTRAUMA. 2023. № 4, С. 63-71.

Режим доступа: <http://poly-trauma.ru/index.php/pt/article/view/493>

DOI: 10.24412/1819-1495-2023-4-63-71

В процессе своего развития имплантируемые материалы постепенно эволюционировали из биоинертных и биотолерантных в вещества, способные оказывать стимулирующее влияние на окружающие их структуры как на клеточном, так и на молекулярном уровне [1, 2]. Идеальный материал для имплантации должен быть остеоиндуктивным и остеокондуктивным, то есть не только формировать матрицу для постепенного роста новой костной ткани, но и обладать эффектом стимуляции и оптимизации процессов остео- и ангиогенеза [1].

В современных условиях достаточно много внимания уделяется разработке и применению биоактивных имплантов, обладающих этими свойствами. Применение различных соединений гидроксипатита в экспериментальных исследованиях позволило оценить их потенциал не только в виде матрицы для формирования новой костной ткани, но и как остеоиндуктор, который способствует активизации процессов остеогенеза [3]. Особенностью соединений на основе фосфата кальция является способность как к поддержанию роста новой кости вокруг имплантированного материала [4, 5], так и отсутствие различных воспалительных реакций во время процессов биоинтеграции. Однако, к сожалению, оказалось, что данные материалы не лишены недостатков, к которым можно отнести неконтролируемые процессы биодеградации [6].

Применение различных комбинаций силикат-содержащих имплантов способствует активации процессов репаративного остеогенеза: они являются своеобразным скаффолдом для формирования новых костных структур, поскольку обладают лучшей абсорбцией различных молекул на поверхности имплантируемого материала [7-10]. Особенностью влияния силикатов на процессы формирования костной ткани является непосредственное воздействие не только на экспрессию остеогенного гена, но и на другие маркеры остеогенеза

[11]. При изучении процессов формирования костных структур при использовании биостекл было установлено, что силикат-содержащие имплантаты также, как и материалы на основе фосфатов кальция, обладают хорошим потенцирующим действием на процессы формирования костной ткани, но из-за достаточно быстрых процессов биодеградации использование их в роли остеокондуктора не представляется возможным [12].

При замещении костных дефектов получены хорошие результаты комбинированного применения имплантов на основе гидроксипатита и волластонита, которые превышали результаты их разрозненного использования [13]. Экспериментальное исследование на крысах, проведенное в 2019 году К. Dashnyam и соавт., определило, что использование имплантов, покрытых силикатной оболочкой, стимулировало процессы формирования гидроксипатита, что проявлялось усилением выраженности влияния остеогенных генов (Col1a1, ALP и OCN) [11]. В доступных источниках научной литературы выявлены единичные работы [14], в которых использовался разный состав масс% CaSiO_3 и $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$. Авторами был получен остеогенный эффект при соотношении стеклокерамических биоматериалов в пропорциях 40/60 и 30/70 масс%.

Цель исследования — изучить влияние оригинального остеопластического материала, сочетающего в своем составе вариативное соотношение гидроксипатита и волластонита, при замещении метаэпифизарного костного дефекта в условиях эксперимента.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Экспериментальное исследование проводилось на 96 3-месячных кроликах-самцах породы белый великан массой 4000 ± 200 г с соблюдением принципов гуманности, которые изложены в директивах Европейского сообщества (86/609//ЕЕС), на основании разрешения

этического комитета ФГБОУ ВО ОмГМУ Минздрава России (протокол № 128 от 03.02.2021 г.). Всем животным выполняли стандартизированный дефект дистального метаэпифизарного отдела бедренной кости (патент РФ № 2802431). При помощи фрезерной пилы формировали окончательный прямоугольный дефект кортикальной кости размером 10×5 мм. Эктомированный фрагмент кортикальной пластинки при помощи инструментария погружали внутрь на глубину до 8 мм (в результате формировали полость объемом 400 ± 4 мм³), после этого фрагмент поднимали и в дефект помещали фосфат-силикатный материал либо оставляли его незаполненным.

Животные были разделены на 4 группы. В 1-й ($n = 24$), 2-й ($n = 24$) и 3-й ($n = 24$) опытных группах в сформированный метаэпифизарный дефект имплантировали оригинальный остеопластический материал на основе комбинации гидроксипатита и волластонита в соотношении 60/40, 50/50 и 40/60 масс% соответственно. В контрольной группе ($n = 24$) замещение дефекта не выполнялось.

В лаборатории стоматологического факультета ФГБОУ ВО ОмГМУ Минздрава России был разработан и синтезирован оригинальный синтетический гранулированный материал с варьируемым содержанием фосфата и силиката кальция (60/40, 50/50, 40/60 масс%), а именно гидроксипатита ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) и волластонита (CaSiO_3) и связующего полимера — желатина в количестве не более 20 масс% (патент РФ № 278143). Макроскопически гранулы представляли из себя сферы диаметром от 0,2 до 1 мм, при этом открытая пористость до и после прокалывания составляла примерно 50 %, плотность полученных гранул была 17 HV, что позволило использовать их при замещении дефектов костной ткани. Перед использованием материалы стерилизовали в автоклаве при температуре 120 °C в течение 30 минут [15].

Для выполнения гистологического исследования животных выводили из эксперимента на 30, 60 и 90-е сутки. Фрагменты дистального метаэпифиза бедренной кости, включающие области сформированных дефектов, выпиливали. Полученный материал фиксировали в 10%-ном нейтральном растворе формалина, после чего декальцинировали в 5%-ном растворе азотной кислоты и обезживали в спиртах возрастающей крепости (от 60° до 96°), а также в смеси этилового спирта с диэтиловым эфиром (в соотношении 1:1). В последующем образцы заливали в целлоидин, уплотняли под парами хлороформа, после чего из полученных блоков изготавливали срезы толщиной 7-10 мкм, которые окрашивали гематоксилином и эозином и исследовали под микроскопом XSZ 158T и подвергали морфометрическому анализу при помощи программы ImageJ. В каждой из исследуемых групп выполнялось по 23 измерения с оценкой количества новообразованных костных трабекул и площади новообразованной костной ткани. Для количественной оценки доли основных структурных компонентов регенерата (сое-

динительной, костной ткани и гранул имплантационного материала) нами был проведен анализ гистограмм распределения пикселей изображения (рис. 1).

Статистическую обработку результатов проводили на персональном компьютере с использованием статистических функций в Microsoft Excel 2020 и пакета прикладных программ STATISTICA 10.0. Для проверки нормальности распределения данных использовали кривую Гаусса. Для сравнения двух независимых групп использовали критерий Манна–Уитни (U-test). Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принимался равным 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В контрольной группе через 30 суток после операции на гистологических препаратах между резецированным фрагментом кортикальной пластинки и костным ложем непрерывного костного сращения не наблюдали, их объединяла волокнистая соединительная ткань с участками ретикулофиброзной слабоминерализованной незрелой костной ткани, формирующей трабекулярный рисунок. В области

метафизарного дефекта определялась рыхлая волокнистая соединительная ткань.

В 1-й опытной группе при заполнении дефекта имплантатом на основе гидроксиапатита и волластонита в соотношении 60/40 масс% через 30 суток после операции наблюдали сращение резецированного участка кортикальной пластинки и стенок костного ложа в средних отделах за счет формирования в диастазе между ними губчатой кости мелко- и среднеячеистого строения. По периферии (краям) определялась рыхлая волокнистая ткань. В метафизарном дефекте обнаруживались фрагменты имплантационного материала, вокруг которых в основном определялась новообразованная ретикулофиброзная, в отдельных участках имеющая пластинчатое строение костная ткань в виде ореола (рис. 2а) толщиной 10-50 мкм, объединяющихся мостиками в более протяженную костную сеть. В ряде участков вокруг гранул формировалась рыхлая волокнистая соединительная ткань с врастающими в нее микрососудами. Встречались немногочисленные клетки инородных тел с признаками фагоцитоза.

Рисунок 1

А – гистограмма распределения пикселей на месте линии, проходящей через рыхлую соединительную ткань (СТ), трабекулу (Т) и гранулу (G) имплантата; В – сегментирование фрагмента зоны регенерата по степени плотности изображения: вокруг гранул имплантата (*, серый цвет) зрелая костная ткань (трабекулы синего цвета), соединительная ткань (синие сетчатые и точечные образования). Трансформация части рисунка 1 в программе ImageJ 1.53 для наглядной сегментации структур. Шкала – 300 мкм

Figure 1

A – histogram of distribution of pixels at the location of the line passing through the loose connective tissue (CT), trabecula (T) and granule (G) of the implant; B – segmentation of a fragment of the regenerate zone according to the degree of image density: around the implant granules (*, gray color) mature bone tissue (blue trabeculae), connective tissue (blue mesh and point formations). Transformation of part of Figure 1 in Image J 1.53 for visual segmentation of structures. Scale – 300 μm

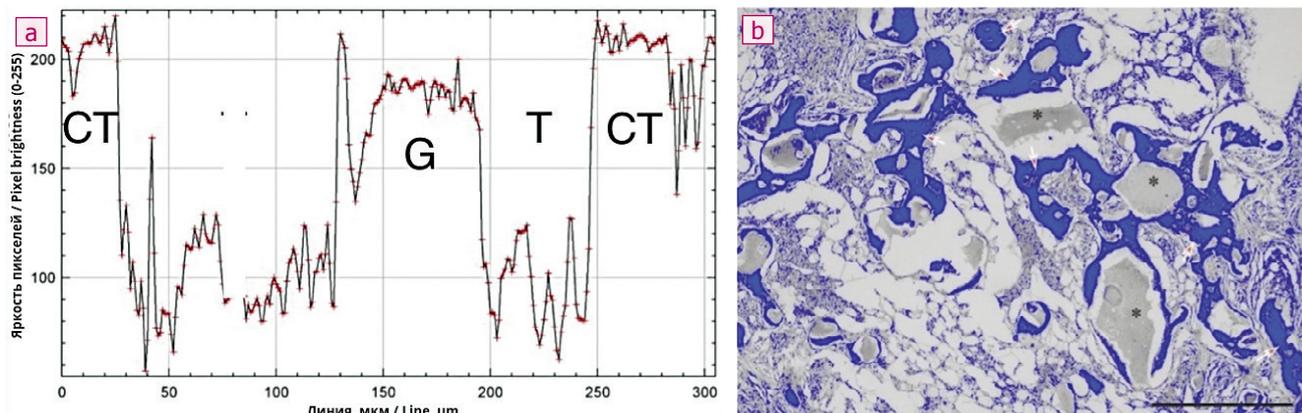
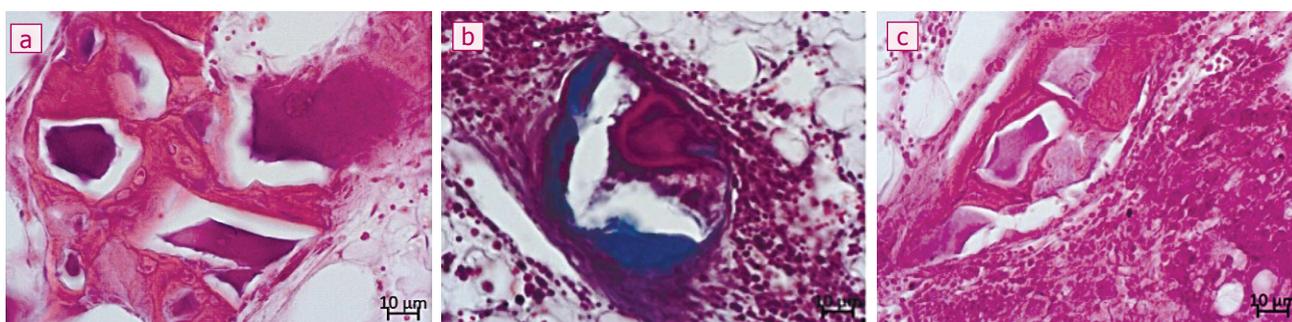


Рисунок 2

А – 1-я опытная группа (60/40 масс%): фрагменты имплантационного материала в составе костной трабекулы. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. $\times 400$. **В** – 2-я опытная группа (50/50 масс%): формирование ореола костной ткани и грануляционной ткани вокруг имплантационного фрагмента. Окраска по Массону. Ув. $\times 400$. **С** – 3-я опытная группа (40/60 масс%): фрагменты имплантационного материала в структуре костной ткани. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. $\times 400$

Figure 2

A – 1st experimental group (60/40 weight percentage): fragments of implantation material in the bone trabecula. Hematoxylin and eosin staining. Magnification $\times 400$. **B** – 2nd experimental group (50/50 weight percentage): formation of a halo of bone tissue and granulation tissue around the implantation fragment. Masson staining. Magnification $\times 400$. **C** – 3rd experimental group (40/60 weight percentage): fragments of implantation material in the bone tissue structure. Hematoxylin and eosin staining. Magnification $\times 400$



Во 2-й опытной группе при заполнении дефекта биоматериалом в соотношении 50/50 масс% к этому сроку между ложем материнской кости метаэпифиза и внедренным костным фрагментом также наблюдали преимущественно костное сращение. Оно было представлено участками среднеячеистой губчатой кости пластинчатого строения, ретикулофиброзной костной тканью с незначительными включениями грануляционной и волокнистой соединительной тканей. В проекции метаэпифизарного дефекта гранулированный имплантационный материал, как правило, был окружен ореолом костной ткани или тонковолокнистой соединительной и грануляционной ткани (рис. 2b). Фрагменты имплантационного материала встраивались в структуры костной ткани компактной пластинки, некоторые постепенно лизировались (обнаруживались фагоцитирующие гигантские клетки инородных тел).

В 3-й опытной группе с применением материала в соотношении 40/60 масс% через 30 суток эксперимента не наблюдали полного сращения резецированной кортикальной пластинки. В проекции задней и нижней стенок костного ложа отмечали участки рыхлой волокнистой соединительной ткани. Дефект был частично заполнен новообразованной костной тканью,

имеющей трабекулярное средне- и мелкопетлистое строение. Обнаруженные фрагменты имплантационного материала были встроены в костное вещество компактной пластинки в проксимальной части метадиафиза, в трабекулы костной ткани – в дистальной части (рис. 2c). Некоторые частицы имплантационного материала были окружены участками соединительной и грануляционной ткани. На их поверхности обнаруживались многоядерные клетки инородных тел. Наблюдался фагоцитоз частиц имплантационного материала клетками инородных тел.

Через 90 суток эксперимента в контрольной группе отмечалось неполное сращение резецированной кортикальной пластинки с краями дефекта, которое в проксимальной его части было заполнено рыхлой волокнистой соединительной тканью. Полость дефекта была заполнена новообразованной тканью, представленной немногочисленными мелкими костными трабекулами.

При анализе материала опытных групп гистологические картины в них во многом были похожи. В 1-й группе с применением имплантируемого материала 60/40 масс% через 90 дней эксперимента в диастазе имело место формирование губчатой кости мелко- и среднеячеистого строения (рис. 3a). В семи слу-

чаях резецированная компактная пластинка была сращена с материнским ложем губчатой костью мелко- и среднеячеистого строения. В одном случае компактная пластинка в проксимальной части дефекта прерывалась участками рыхлой волокнистой соединительной ткани. Тем не менее, несмотря на наличие таких участков, отличительной особенностью данной серии являлось образование большего объема костной ткани в области дефекта за счет увеличения толщины костных трабекул (рис. 3a).

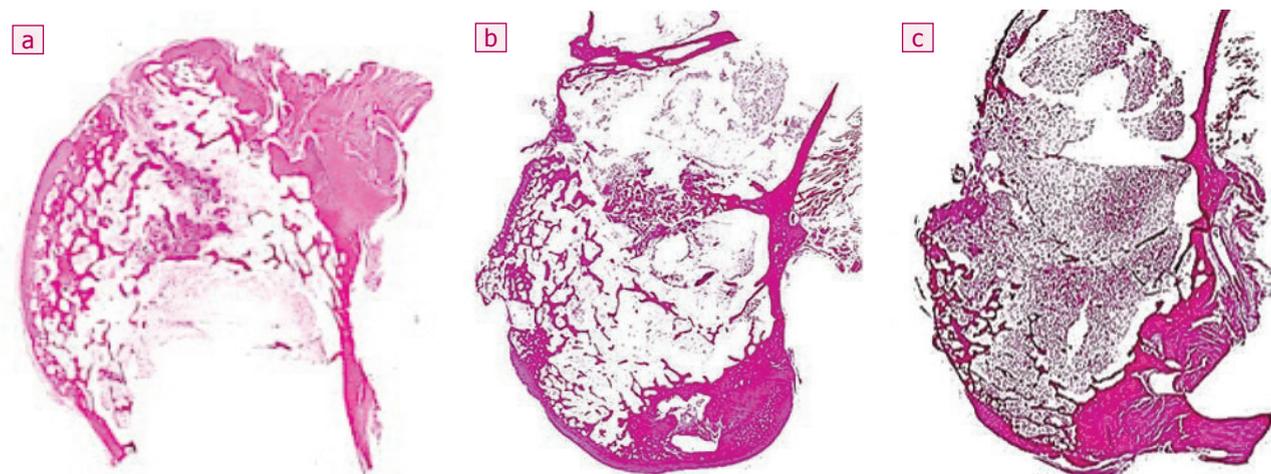
В проекции дефекта по периметру имплантационного ложа обнаруживались единичные фрагменты имплантационного материала, внедренные в состав костных трабекул пластинчатого строения, объединяющихся мостиками ретикулофиброзной костной ткани в более протяженную костную сеть (рис. 4). В отдельных местах вокруг гранул наблюдали гемопоэтически-жировой костный мозг и участки грануляционной ткани. Морфометрически было установлено, что в зоне трабекул их фрактальная размерность в среднем составляла 1,61 [1,21; 2,01], лакуарность – 0,46 [0,41; 0,52], относительная площадь костной ткани в поле зрения – 23,06 [19,51; 26,01] % относительно окружающих тканей, сохранившиеся гранулы – 7,9 [4,9; 11,7] %, а осталь-

Рисунок 3

Замещение дефекта эпиметафиза костной тканью через 90 дней эксперимента в трех опытных группах: а) 60/40 масс%; б) 50/50 масс%; в) 40/60 масс%. Гистотопограммы. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. $\times 1,5$

Figure 3

Replacement of the epimetaphyseal defect with bone tissue after 90 days of experiment in three experimental groups: a) 60/40 weight percentage; b) 50/50 weight percentage; c) 40/60 weight percentage. Histotopograms. Hematoxylin and eosin staining. Magnification $\times 1.5$



ную часть (69,01 [58,01; 73,01] %) занимали структурные компоненты соединительной ткани (рис. 7).

При анализе материала 2-й опытной группы (50/50 масс%) было выявлено непрерывное костное сращение между костным ложем и интегрированным фрагментом эпиметафиза губчатой костной тканью мелко-, среднеячеистого и пластинчатого строения (рис. 3b). В межтрабекулярных промежутках определяли гемопоэтический и гемопоэтически-жировой костный мозг. В структурах новообразованной костной ткани отмечались фрагменты гранул частично деградированного имплантата, немногочисленные остеокласты, небольшие участки грануляционной ткани и гигантские клетки инородных тел (рис. 5). Фрагменты имплантационного материала встраивались в структуры костной ткани компактной пластинки. Внутрикостные сосуды не претерпевали выраженных патологических изменений. При количественной оценке доли основных структурных компонентов регенерата было установлено, что на долю сформированной костной тканью трабекул приходилось 17,5 [15,4; 20,8] %, на сохранившиеся гранулы – 17,4 [18,5; 24,1] %, а остальную часть площади (61,0 [54,0; 65,0] %) выделенной области интереса занимали струк-

турные компоненты соединительной ткани (рис. 7).

В 3-й опытной группе (40/60 масс%) также наблюдали органическое объединение области дефекта и резецированного интегрированного в имплантационное ложе дефекта кости. Однако костное объединение прерывалось участками рыхлой волокнистой соединительной ткани, а костные трабекулы визуальны были меньше, чем в описанных ранее группах (рис. 3c). Костные трабекулы также включали имплантацион-

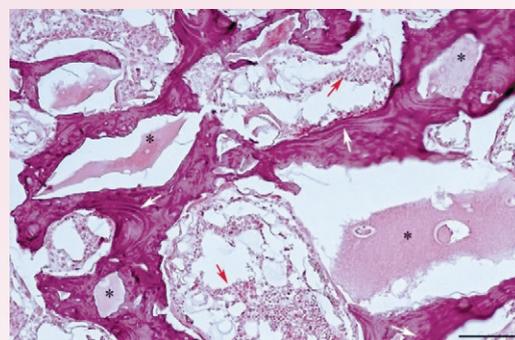
ный материал в виде гранул, и эти структуры были окружены участками соединительной ткани (рис. 6). Костный мозг вокруг области дефекта был гемопоэтически-жировым и жировым. Однако в данной серии сформированная костная ткань трабекул занимала 7,6 [4,5; 9,3] %, сохранившиеся гранулы – 17,3 [15,4; 20,1] %, а остальную часть площади (75,1 [72,1; 77,3] %) выделенной области интереса – структурные компоненты соединительной ткани (рис. 7).

Рисунок 4

Пластинчатое строение новообразованной грубоволокнистой костной ткани (отмечено белыми стрелками), гемопоэтически-жировой костный мозг (красные стрелки) в межтрабекулярных промежутках, фрагменты частично растворенных гранул имплантационного материала (*) неправильной формы и размера. Окраска гематоксилином и эозином. Объектив $\times 10$, шкала – 200 мкм

Figure 4

Lamellar structure of newly formed coarse-fiber bone tissue (marked by white arrows), hematopoietic-fatty bone marrow (red arrows) in the intertrabecular spaces, fragments of partially dissolved granules of implantation material (*) of irregular shape and size. Hematoxylin and eosin staining. Magnification $\times 10$, scale – 200 μm



ОБСУЖДЕНИЕ

Золотым стандартом для пластики костных дефектов является аутологичная костная ткань. Применение аутотрансплантата при замещении костных дефектов позволяет избежать иммунологических и инфекционных осложнений. Кроме того, отмечается, что такие имплантаты обладают хорошим остеоиндуктивным и остеокондуктивным эффектом и в процессе остеointеграции не формируют по периферии отграничивающей капсулы [16]. Одним из негативных аспектов использования аутологичной костной ткани, ограничивающим ее применение в повседневной практике, является проблема донорской зоны, что в послеоперационном периоде может привести к ряду осложнений [17-22].

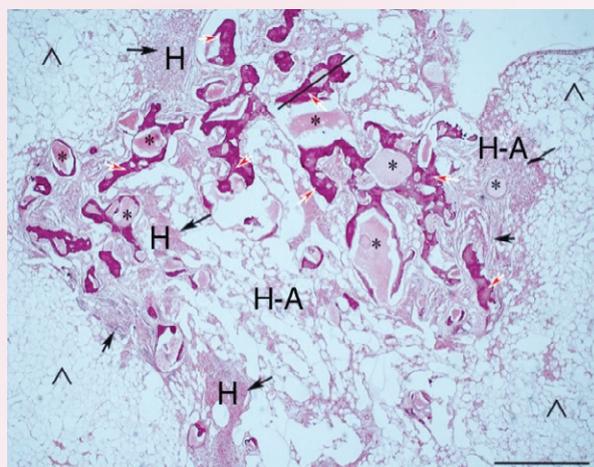
В процессе развития новых технологий в травматологии и ортопедии имплантируемые материалы постепенно эволюционировали из биоинертных и биотолерантных в вещества, обладающие адекватными свойствами, химическим составом и способностью к биологической резорбции, при этом не имеющие токсических свойств. Кроме того, они должны эффективно влиять на органотипическую перестройку окружающих их структур [1, 2]. Идеальный искусственный материал для имплантации должен обладать свойствами, соответствующими аутотрансплантатам, то есть не только формировать матрицу для постепенного роста новой костной ткани, но и стимулировать оптимизацию процессов остеогенеза [1]. Но при этом быть воспроизводимым в любых количествах, необходимых для применения в практической деятельности. Поэтому цель нашей работы состояла в оценке остеогенных свойств оригинального остеопластического материала, состоящего из гидроксиапатита и волластонита на репаративную регенерацию при замещении метаэпифизарного костного дефекта.

Результаты проведенного исследования показали, что во всех опытных группах отмечена биосовместимость имплантационного материала, отсутствие признаков инфекционного и хронического

Рисунок 5

Зона регенерата поврежденного участка метаэпифиза (опытная группа – 50/50 масс%): вокруг гранул частично деградированного имплантата (*) большое количество зрелой костной ткани (в виде трабекул – красные стрелки), окруженной плотной оформленной и неоформленной соединительной тканью (черные стрелки), большое содержание жировой ткани (^); Н – гемопоэтический, Н-А – гемопоэтически-жировой костный мозг. Черная прямая линия пересекает основные структурные компоненты регенерата (соединительная, костная ткани и гранула имплантационного материала). Окраска гематоксилином и эозином. Объектив ×4, шкала – 300 мкм

Figure 5
Regeneration
zone of the
damaged area of
the metaepiphysis
(experimental group
– 50/50 weight
percentage): around
the granules of the
partially degraded
implant (*) there
is a large amount
of mature bone
tissue (in the form
of trabeculae – red



arrows), surrounded by dense formed and unformed connective tissue (black arrows), high content of adipose tissue (^); H – hematopoietic, H-A – hematopoietic-adipose bone marrow. The black straight line crosses the main structural components of the regenerate (connective tissue, bone tissue and implant material granule). Hematoxylin and eosin staining. Magnification ×4, scale – 300 μm

воспаления в очагах имплантации, которые возможны из-за повреждения тканей, кровотечения из костной ткани и присутствия материала в естественной зоне посттравматического воспаления [23, 24].

На 30-е сутки проведенного экспериментального исследования гранулированный имплантационный материал был окружен ореолом из костной ткани или тонковолокнистой соединительной ткани. Его фрагменты встраивались в структуры костной ткани компактной пластинки. В проведенном исследовании во всех сериях наблюдали присутствие в области дефекта грануляционной ткани. Это свидетельствовало об остеокондуктивных и остеоиндуктивных свойствах используемых композитов [3, 4].

Биодеградация имплантационного материала сопровождалась активацией клеток макрофагального ряда, появлением гигантских клеток инородных тел. Их количество

и активность, вероятно, связаны с химическим составом, размером и числом гранул имплантационного материала. В 1990-х годах М. Grégoire и соавт. [25] определили размер частиц биоматериала как важный фактор в процессе фагоцитоза и, следовательно, способствующий большей биоактивности и лучшей адгезии костных клеток. После фагоцитоза частиц происходит увеличение транскрипции генов и биосинтеза белка, что характеризуется большей метаболической активностью.

При сравнительной оценке результатов эксперимента через 90 дней нами было определено два типа исходов:

1. Полноценное непрерывное костное сращение между костным фрагментом и костным ложем в группе, где применялись гранулы 60/40 масс% (репаративная регенерация была более интенсивной и отличалась большим содержанием

трабекулярной кости в области замещенного дефекта эпиметафиза).

2. В опытах с применением биоматериала в пропорциях 50/50 и 40/60 масс% наблюдалось костное сращение, прерывающееся участками рыхлой волокнистой соединительной ткани, а костные трабекулы были меньше, чем в описанной ранее группе.

Следует отметить, что участки полноценного костного сращения практически не отличались во всех опытных группах. Некоторые различия в интенсивности репаративной регенерации в разных опытных группах показали результаты морфометрии. В группе с применением гранул 60/40 масс% фрактальная размерность новообразованных костных трабекул была в среднем 1,61 [1,21; 2,01], что статистически значимо не различалось с аналогичным показателем серии 50/50 масс% (1,71 [1,31; 1,82]), но было больше, чем в серии 40/60 масс% (1,41 [1,11; 1,56], $p = 0,04$). При этом лакуарность в серии 60/40 масс% составила 0,47 [0,41; 0,52], что было меньше, чем в других сравниваемых сериях – 0,61 [0,51; 0,71] ($p = 0,04$) и 1,12 [1,05; 1,23] ($p = 0,01$). Это свидетельствовало о том, что в группе с гранулами 60/40 масс% новообразованные трабекулы, очевидно, более полно заполняли фрактальное пространство и между ними было меньше пустот (низкий уровень лакуарности), чем в других опытах. Кроме того, относительная площадь костной ткани в поле зрения этой серии (23,06 [19,51; 26,01] %) статистически значимо больше, чем в серии 50/50 масс%, где также наблюдалось полное сращение кортикальной пластинки (17,5 [15,4; 20,8] %), и неполным – в опытной группе 40/60 масс% (7,6 [4,5; 9,3] %, $p = 0,03$). Между сериями 60/40 масс% и 50/50 масс% различия были на грани достоверности ($p = 0,045$). Это все свидетельствует, что применяемые композиты обладали необходимыми остеокондуктивными и остеоиндуктивными свойствами, обеспечивающими определенное течение репаративной регенерации костной ткани для замещения моделируемого дефекта. Учитывая, что ионы кремния

Рисунок 6

Зона регенерата повреждаемого участка метаэпифиза (опытная группа – 40/60 масс%): вокруг крупных гранул частично деградированного имплантата (*) небольшое количество зрелой костной ткани (в виде трабекул – красные стрелки), окруженной соединительной тканью (черные стрелки), большое содержание жировой ткани (^); Н – гемопоэтический, Н-А – гемопоэтически-жировой костный мозг. Окраска гематоксилином и эозином. Объектив $\times 4$, шкала – 300 мкм

Figure 6
Regeneration zone of the damaged area of the metaepiphysis (experimental group – 40/60 weight percentage): (*) a small amount of mature bone tissue (in the form of trabeculae – red arrows) around large granules of a partially degraded implant, surrounded by connective tissue (black arrows), high fat content fabrics (^); Н – hematopoietic, Н-А – hematopoietic-adipose bone marrow. Hematoxylin and eosin staining. Magnification $\times 4$, scale – 300 μm

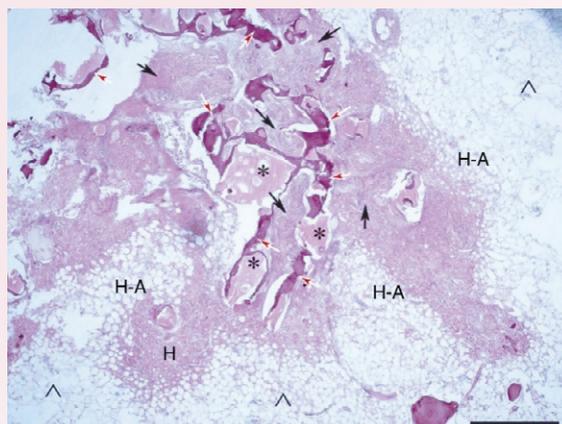
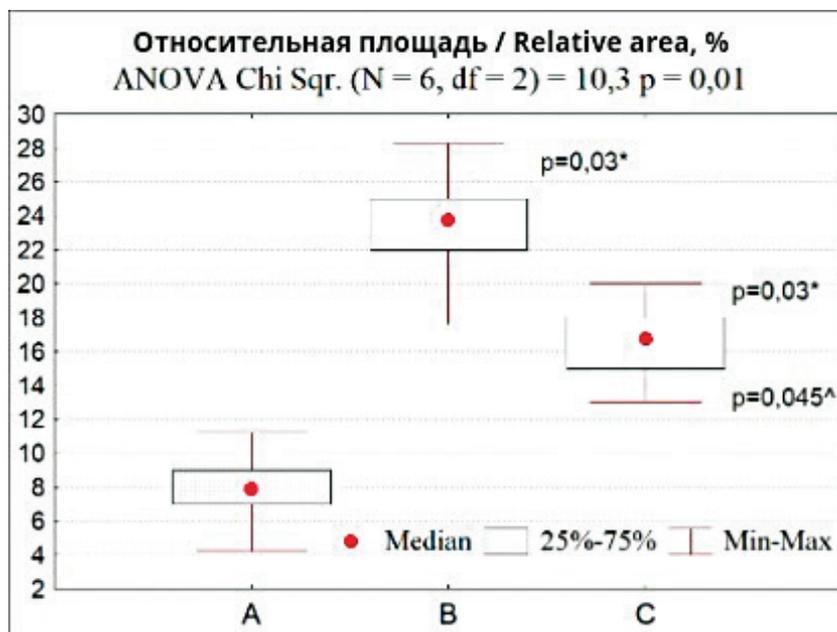


Рисунок 7

Относительная площадь костной ткани в сравниваемых сериях: а) серия 40/60 масс.%; б) серия 60/40 масс.%; в) серия 50/50 масс.%; * – различия в сравнении с (а) статистически значимы, ^ – различия в сравнении с (б) значимы при критическом $p = 0,045$ (критерий Вилкоксона)

Figure 7

Relative bone tissue area in the compared series: a) series 40/60 weight percentage; b) series 60/40 weight percentage; c) series 50/50 weight percentage: * – differences in comparison with (a) are statistically significant, ^ – differences in comparison with (b) are significant at critical $p = 0.045$ (Wilcoxon test)



влияют на неоогниогенез, мы можем предположить, что именно за счет стимуляции процессов развития и формирования новых сосудов во 2-й группе остеогенез протекал активнее, чем в других исследуемых группах.

Наши данные согласуются с результатами исследования L.Q. Vasconcelos и соавт. [26], которые для замещения костного дефекта в эксперименте применяли стеклокерамические биоматериалы в гранулах, состоящих из псевдоволластонита (p-W) и бета-трикальцийфосфата (β -TCP) в пропорциях: G20/80 (20 % p-W и 80 % β -TCP); G60/40 (60 % p-W и 40 % β -TCP); G80/20 (80 % p-W и 20 % β -TCP). Авторами установлено, что используемый материал был биосовместимым и биоактивным, выявлены сходные скорости новообразования между группами

G20/80 и G80/20 по сравнению с группой G60/40, где репаративная регенерация была более активной из-за физико-химических характеристик композита.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Использование оригинального синтетического материала на основе фосфата и силиката кальция, а именно гидроксиапатита ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) и волластонита (CaSiO_3), и связующего полимера — желатина, можно считать одним из перспективных направлений для возмещения костных дефектов.

В ходе исследования было установлено, что разработанный материал не вызывает воспалительных ответов при имплантации.

По данным гистологических и морфометрических исследований было доказано, что в результате применения фосфат-силикатных

имплантатов в зоне костного дефекта формируется костная ткань, большая по площади, нежели в контрольной группе, при этом обладающая большей фрактальностью и меньшей лакунарностью. Лучшие результаты восполнения костного дефекта были зафиксированы при использовании гранул с соотношением фосфатов и силикатов кальция 60/40 масс% соответственно.

Информация о финансировании и конфликте интересов

Исследование проведено в рамках выполнения государственного задания Минздрава России № 056-00048-22-00 от 10 января 2022 г.

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтных интересов, связанных с публикацией данной статьи.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES:

1. Zhou P, Xia D, Ni Z, Ou T, Wang Y, Zhang H, et al. Calcium silicate bioactive ceramics induce osteogenesis through oncostatin M. *Bioact Mater*. 2020; 6(3): 810-822.
2. Bokov AE, Mlyavykh SG, Shirokova NY, Davydenko DV, Orlynskaia NYu. Current trends in the development of materials for bone grafting and spinal fusion (Review). *Modern Technologies in Medicine*. 2018; 10(4): 203. Russian (Боков А.Е., Млявых С.Г., Широкова Н.Ю., Давыденко Д.В., Орлинская Н.Ю. Современные перспективы разработки материалов для стабилизирующих вмешательств на позвоночнике с применением спондилоза (обзор) //Современные технологии в медицине. 2018. № 4. С. 203.)
3. Yuan D, Chen Z, Xiang X, Deng S, Liu K, Xiao D, et al. The establishment and biological assessment of a whole tissue-engineered intervertebral disc with PBST fibers and a chitosan hydrogel in vitro and in vivo. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2019; 107(7): 2305-2316.
4. Xiao D, Zhang J, Zhang C, Barbieri D, Yuan H, Moroni L, et al. The role of calcium phosphate surface structure in osteogenesis and the mechanisms involved. *Acta Biomater*. 2020; 106: 22-33.
5. Wang J, Chen X, Yang X, Guo B, Li D, Zhu X, et al. Positive role of calcium phosphate ceramics regulated inflammation in the osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells. *J Biomed Mater Res A*. 2020; 108(6): 1305-1320.
6. Mofakhami S, Salahinejad E. Biphasic calcium phosphate microspheres in biomedical applications. *J Control Release*. 2021; 10: 527-536.
7. Sethu SN, Namashivayam S, Devendran S, Nagarajan S, Tsai WB, Narashiman S, et al. Nanoceramics on osteoblast proliferation and differentiation in bone tissue engineering. *Int J Biol Macromol*. 2017; 98: 67-74.
8. Hoppe A, Boccaccini AR. Biological impact of bioactive glasses and their dissolution products. *Front Oral Biol*. 2015; 17: 22-32.
9. Li H, Wang W, Chang J. Calcium silicate enhances immunosuppressive function of MSCs to indirectly modulate the polarization of macrophages. *Regen Biomater*. 2021; 8(6): 056.
10. Lee BN, Hong JU, Kim SM, Jang JH, Chang HS, et al. Anti-inflammatory and osteogenic effects of calcium silicate-based root canal sealers. *J Endod*. 2019; 45(1): 73-78.
11. Dashnyam K, Buitrago J.O., Bold T, Mandakhbayar N, Perez RA, Knowles JC, et al. Angiogenesis-promoted bone repair with silicate-shelled hydrogel fiber scaffolds. *Biomater Sci*. 2019; 7(12): 5221-5231.
12. Lee JH, Ryu HS, Seo JH, Lee DY, Chang BS, Lee CK. Negative effect of rapidly resorbing properties of bioactive glass-ceramics as bone graft substitute in a rabbit lumbar fusion model. *Clin Orthop Surg*. 2014; 6(1): 87-95.
13. Karadjian M, Essers C, Tsitlakidis S, Reible B, Moghaddam A, Boccaccini AR, et al. Biological properties of calcium phosphate bioactive glass composite bone substitutes: current experimental evidence. *Int J Mol Sci*. 2019; 20(2): 305.
14. Ros-Tárraga P, Mazón P, Revilla-Nuin B, Rabadán-Ros R, de Aza PN, Meseguer-Olmo L. High temperature CaSiO_3 - $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ceramic promotes osteogenic differentiation in adult human mesenchymal stem cells. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2020; 107: 110355.
15. Rozhdvestvskiy AA, Dzuba GG, Erofeev SA, Solonenko AA, Shevchenko AE, Kuzovkin AN, et al. The first results of experimental application of synthetic material based on a mixture of calcium phosphate and silicate to replace bone defects. *Modern Problems of Science and Education*. 2022; (3): 137. Russian (Рождественский А.А., Дзюба Г.Г., Ерофеев С.А., Солоненко А.П., Шевченко А.Е., Кузовкин А.Н., и др. Первые результаты экспериментального применения синтетического материала на основе смеси фосфата и силиката кальция с целью замещения костных дефектов //Современные проблемы науки и образования. 2022. № 3. С. 137.)
16. Oryan A, Alidadi S, Moshiri A, Maffulli N. Bone regenerative medicine: classic options, novel strategies, and future directions. *J Orthop Surg Res*. 2014; 9(1): 18.
17. Kosulin AV, Elyakin DV. Donor site morbidity as a problem of spinal surgery: systematic review. *Russian Journal of Spine Surgery*. 2016; 13(2): 45-51. Russian (Косулин А.В., Елякин Д.В. Болезни донор-

ской зоны как проблема хирургической вертебрологии: систематический обзор //Хирургия позвоночника. 2016. Т. 13, № 2. С. 45-51.)

18. Wilden JA, Moran SL, Dekutoski MB, Bishop AT, Shin AY. Results of vascularized rib grafts in complex spinal reconstruction. *J Bone Joint Surg Am.* 2006; 88(4): 832-839.
19. Buser Z, Brodke DS, Youssef JA, Meisel HJ, Myhre SL, Hashimoto R, et al. Synthetic bone graft versus autograft or allograft for spinal fusion: a systematic review. *J Neurosurg Spine.* 2016; 25(4): 509-516.
20. Shin SR, Tornetta P 3rd. Donor Site Morbidity After Anterior Iliac Bone Graft Harvesting. *J Orthop Trauma.* 2016; 30(6): 340-343.
21. Armaghani SJ, Even JL, Zern EK, Braly BA, Kang JD, Devin CJ. The evaluation of donor site pain after harvest of tricortical anterior iliac crest bone graft for spinal surgery: a prospective study. *Spine.* 2016; 41(4): 191-196.
22. Todorov A, Kreutz M, Haumer A, Scotti C, Barbero A, Bourguine PE, et al. Fat-derived stromal vascular fraction cells enhance the bone-forming capacity of devitalized engineered hypertrophic cartilage matrix. *Stem Cells Transl Med.* 2016; 5(12): 1684-1694.
23. Miguel FB, Cardoso AK, Barbosa AA Jr, Marcantonio E Jr, Goissis G, Rosa FP. Morphological assessment of the behavior of three-dimensional anionic collagen matrices in bone regeneration in rats. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2006; 78(2): 334-339.
24. Artas G, Gul M, Acikan I, Kirtay M, Bozoglan A, Simsek S, et al. A comparison of different bone graft materials in peri-implant guided bone regeneration. *Braz Oral Res.* 2018; 32: 59.
25. Grégoire M, Orly I, Menanteau J. The influence of calcium phosphate biomaterials on human bone cell activities. An in vitro approach. *J Biomed Mater Res.* 1990; 24(2): 165-177.
26. Vasconcelos LQ, Monção MM, Barbosa Júnior A. de A, Carrodeguas R G, Barreto IC., de Araújo RP. Histomorphological and histomorphometric analysis of wollastonite and tricalcium phosphate composite at different concentrations after in vivo implantation. *Brazilian Journal of Development.* 2023; 9(1):5324-5338. <https://doi.org/10.34117/bjdv9n1-363>

Сведения об авторах:

Рожественский А.А., аспирант кафедры травматологии и ортопедии ФГБОУ ВО ОмГМУ Минздрава России, г. Омск, Россия.

Дзюба Г.Г., д. м. н., доцент, заведующий кафедрой травматологии и ортопедии ФГБОУ ВО ОмГМУ Минздрава России, г. Омск, Россия.

Ерофеев С.А., д. м. н., профессор кафедры травматологии и ортопедии ФГБОУ ВО ОмГМУ Минздрава России, г. Омск, Россия.

Маркелова М.В., к. м. н., доцент кафедры патологической анатомии ФГБОУ ВО ОмГМУ Минздрава России, г. Омск, Россия.

Горбач Е.Н., к. б. н., ведущий научный сотрудник лаборатории морфологии ФГБУ «НМИЦ ТО имени академика Г.А. Илизарова» Минздрава России, г. Курган, Россия.

Гирш А.О., д. м. н., профессор кафедры общей хирургии ФГБОУ ВО ОмГМУ Минздрава России, г. Омск, Россия.

Черненко С.В., к. м. н., доцент, заведующий кафедрой общей хирургии ФГБОУ ВО ОмГМУ Минздрава России, г. Омск, Россия.

Адрес для переписки:

Рожественский Андрей Александрович, ул. Серова, д. 56, г. Омск, Россия, 644020

Тел: +7 (3812) 41-03-85; +7 (999) 470-86-83

E-mail: Rozhdestvensky@bk.ru

Статья поступила в редакцию: 07.11.2023

Рецензирование пройдено: 15.11.2023

Подписано в печать: 01.12.2023

Information about authors:

Rozhdestvenskiy A.A., postgraduate student, department of traumatology and orthopedics, Omsk State Medical University, Omsk, Russia.

Dzyuba G.G., MD, PhD, associate professor, head of department of traumatology and orthopedics, Omsk State Medical University, Omsk, Russia.

Erofeev S.A., MD, PhD, professor of department of traumatology and orthopedics, Omsk State Medical University, Omsk, Russia.

Markelova M.V., candidate of medical sciences, associate professor of department of pathological anatomy, Omsk State Medical University, Omsk, Russia.

Gorbach E.N., candidate of biological sciences, leading researcher, laboratory of morphology, National Ilizarov Medical Research Centre for Traumatology and Ortopaedics, Kurgan, Russia.

Girsh A.O., MD, PhD, professor of department of general surgery, Omsk State Medical University, Omsk, Russia.

Chernenko S.V., candidate of medical sciences, head of department of general surgery, Omsk State Medical University, Omsk, Russia.

Address for correspondence:

Rozhdestvenskiy Andrey Alexandrovich, Serova St., 56, Omsk, Russia, 644020

Tel: +7 (3812) 41-03-85; +7 (999) 470-86-83

E-mail: Rozhdestvensky@bk.ru

Received: 07.11.2023

Review completed: 15.11.2023

Passed for printing: 01.12.2023