



ИЗУЧЕНИЕ СТРУКТУРНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК ПЕРСПЕКТИВНОГО ДЛЯ ХИРУРГИЧЕСКОЙ ВЕРТЕБРОЛОГИИ КОМПОЗИЦИОННОГО КОСТНО-КЕРАМИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА

И.А. Кирилова¹, М.А. Садовой¹, В.Т. Подорожная¹, О.С. Таранов², С.В. Клинков³, В.Ф. Косарев³, С.С. Шацкая⁴

¹Новосибирский НИИ травматологии и ортопедии им. Я.Л. Цивьяна

²ГНЦ вирусологии и биотехнологии «Вектор»

³Институт теоретической и прикладной механики СО РАН

⁴Институт химии твердого тела и механохимии СО РАН, Новосибирск

Представлены результаты испытаний *in vitro* и *in vivo* композиционных костно-керамических имплантатов и способы модификации их поверхности с целью усиления остеогенеза.

Ключевые слова: имплантат, биокерамика, гидроксиапатит, остеогенез, биодеградация, материалы для трансплантации.

Для цитирования: Кирилова И.А., Садовой М.А., Подорожная В.Т., Таранов О.С., Клинков С.В., Косарев В.Ф., Шацкая С.С. Изучение структурных характеристик перспективного для хирургической вертебрыологии композиционного костно-керамического материала // Хирургия позвоночника. 2014. № 1. С. 100–110.

STRUCTURAL PROPERTIES OF THE BONE-CERAMIC COMPOSITE AS A PROMISING MATERIAL IN SPINAL SURGERY

I.A. Kirilova, V.T. Podorozhnaya, O.S. Taranov, S.V. Klinkov, V.F. Kosarev, S.S. Shatskaya

The paper presents results of *in vitro* and *in vivo* tests of bone-ceramic composite implants and methods for their surface modification for the purpose of osteogenesis enhancement.

Key Words: implant, bioceramics, hydroxyapatite, osteogenesis, biodegradation, grafting materials.

Hir. Pozvonoc. 2014;(1):100–110.

Проблема восстановления анатомической целостности и функции костной ткани до сих пор остается актуальной. Костные дефекты, образовавшиеся после травм, оперативных вмешательств, опухолей, требуют применения полноценных пластических материалов. В последние десятилетия практическая медицина все больше ощущает дефицит биопластического материала. Это обусловлено как увеличением потребности в результате растущего количества и тяжести травм, усложнения техники и объема реконструктивно-восстановительных вмешательств на костной системе, так и непрерывно повышающимися требованиями к материалам для имплантации, их качеству и свойствам, влияющим на приживаемость в организме. В настоящее время длительность лечения и последующая нетрудоспособность пациентов, которым проведены различные виды

протезирования (реконструктивных вмешательств), колеблется от 6–8 мес. до 2–3 лет, а 6–8 % случаев заканчиваются стойкой инвалидностью. Очевидно, что это влечет за собой существенные экономические затраты, следовательно, данная проблема имеет не только важную медицинскую, но и социальную значимость [1–4, 7, 9, 15–18, 20, 22–24, 26, 30, 36, 38].

Изыскание возможности управления репаративными процессами, изучение закономерностей новообразования костной ткани при пластике дефектов костно-пластическими материалами, сокращение сроков перестройки за счет адекватного выбора материалов или создания и использования материалов с заданным набором свойств являются актуальными вопросами как анатомии, так и травматологии, ортопедии и костной онкологии.

Характер регенераторных процессов в значительной мере определяется свойствами материалов, используемых для заполнения дефектов кости. Современный уровень медицины трудно представить без биологических имплантатов, с помощью которых выполняются реконструктивные хирургические вмешательства в травматологии и ортопедии [10, 11, 19, 25, 28, 31, 32, 36, 43, 46, 48–50], челюстно-лицевой хирургии [1, 6, 27, 29, 35], костной онкологии [8, 12, 13, 21, 37, 42]. Необходимость проведения операций по восстановлению строения и функции кости в различных областях медицины определяет приоритетными поиск и создание материалов на основе кости аллогенного происхождения [15, 16, 19, 20, 28, 30, 33, 45, 47]. Перед использованием костные аллофрагменты подвергаются предварительной технологической

обработке, которая может изменять их свойства и характеристики: морфологию поверхности, физико-химические свойства, микроэлементный состав, способность к биодеградации, скорость перестройки, взаимодействие с окружающей костной тканью ложа.

В этой связи разработка новых видов костно-пластических материалов на основе заранее определенных факторов, оказывающих стимулирующее влияние на репаративный остеогенез и сочетающих биологические свойства аллотрансплантатов и механические свойства неорганических материалов, кажется одним из наиболее перспективных направлений современной травматологии и ортопедии.

Увеличивается объем исследований о роли различных веществ или субстанций, инициирующих формирование костных структур. Одной из таких субстанций является аутогенный тромбоцитарно-фибриновый сгусток или обогащенная тромбоцитами плазма. Аутогенный тромбоцитарно-фибриновый сгусток включает в себя семь основных аутогенных факторов роста: тромбоцитарный фактор роста, трансформирующий фактор роста- $\beta 1$ и $-\beta 2$, фактор роста эндотелия сосудов и фактор роста эпителия в биологически предопределенных соотношениях, в связи с чем основными направлениями исследований в настоящее время являются вопросы использования аутогенных факторов роста в сочетании с остеопластикой [5, 12, 34, 39–41, 44, 51, 52]. Это лишнее подтверждает, что поиск новых способов воздействия на остеогенез с помощью костно-пластических материалов и факторов роста с целью формирования органотипического регенерата является актуальным для современной медицины.

Модификация поверхности циркониевой керамики с помощью биоактивного напыления гидроксиапатита (ГАП) и/или трикальцийфосфата (ТКФ) – еще одно направление для создания комплексных материалов, обладающих не только свойства-

ми пассивного матрикса для вновь образующейся кости, но и определенными прочностными характеристиками. ГАП получают из аллогенной костной ткани, то есть ткани того биологического вида живых существ, для лечения которого разрабатываются новые виды имплантатов. Аллогенная костная ткань по своей микроархитектонике соответствует костной ткани человека в норме. Для исключения иммунных реакций аллокость подвергается предварительной технологической обработке, а именно измельчению и депротеинизации, заключающейся в экстрагировании органической составляющей костной ткани [14–16]. Микроархитектоника и микроэлементный состав такого материала присущи костной ткани человека. Использование ГАП из аллокости в качестве покрытия может придать поверхностную биоактивность той части имплантата из биоинертной керамики, которая непосредственно контактирует с костной тканью, что будет способствовать остеointegrации фиксируемой части имплантата и его прочной фиксации.

Выбор направления исследования обоснован отсутствием универсальных материалов для восстановления структуры и функции опорно-двигательного аппарата в целом и костной ткани в частности. Существующие в настоящее время металлы и сплавы, биодеградируемая и биоинертная керамика, ауто-, алло- и ксенокость, биостекла закрывают только отдельные потребности в материалах и конструкциях для регенеративной медицины, травматологии и ортопедии.

Широкий ассортимент свидетельствует о том, что необходима разработка материалов, позволяющих формироваться регенерату органотипического строения на их основе, если имплантат биодеградируемый, или по периферии имплантата, если имплантат биоинертный. Разработанный материал должен при имплантации в костное ложе компактного строения приводить к формированию кости остеонного строения, а при имплантации в губчатую кость

– балочного [15]. Таким образом, материал должен обладать определенным набором характеристик. Для восстановления структурно-функциональных характеристик на опорных сегментах скелета дифференциальным критерием при выборе используемого имплантата является опороспособность [15, 16].

Анализ существующих композиционных костно-пластических материалов на основе наполнителей биологического и синтетического происхождения позволил выявить закономерности свойств материалов в зависимости от их состава [23, 38]. Материалы моносостава могут представлять собой фрагменты различной формы (монолитные или пористые) или крошку (от крупной до мелкодисперсной).

Композиционные материалы в дополнение к вышеперечисленным формам могут быть представлены гелевой формой в виде пасты или замазки, которые могут затвердевать и сохранять форму. Однако ни один из вышеперечисленных материалов не обладает остеогенными свойствами при условии, что они не содержат клеточных элементов и/или факторов роста, цитокинов.

Биологические материалы, изготовленные из алло- или ксенокости, обладают следующим набором характеристик: остеокондуктивностью, резорбируемостью остеокластами в сроки от 4 до 12 мес., замещаемостью костной тканью, остеоиндуктивностью для материалов на основе органического матрикса аллокости – деминерализованного костного трансплантата.

Для синтетических материалов основной характеристикой является остеокондуктивность. Монолитным образцам биоинертных материалов свойственны стабильность химического состава и геометрической формы, кроме того, они способствуют образованию вокруг себя соединительнотканной капсулы, то есть инкапсулируются. Монолитные образцы биодеградируемых материалов часто имеют неконтролируемые сроки биодеграда-

ции либо опережают процессы репаративной регенерации, что приводит к формированию ложных суставов или пустот, либо отстают от регенеративных процессов, что приводит к замуровыванию недеградировавших гранул материала во вновь сформированной кости. Пористые биоинертные материалы или пористые покрытия в случае биоинертных и биодеградируемых материалов способствуют формированию биологической фиксации имплантатов с окружающей костью. Пористые биодеградируемые материалы часто имеют неконтролируемые сроки рассасывания путем гидролиза от 5–6 недель до 3 лет, причем рассасывание материала часто не сопровождается формированием кости.

В качестве альтернативы металлоконструкциям перспективным считаем разработку материалов с высокими прочностными свойствами, способных выдерживать значительные биомеханические нагрузки и имеющих биодеградируемое покрытие, позволяющее формироваться биологической фиксации (сцепление с костью). В идеале поверхность таких материалов должна быть модифицирована клеточными элементами или факторами роста для стимуляции остеоинтеграции в зоне контакта с костью.

Цель работы – исследование остеоиндуктивной и остеоиндуктивной активности нового композиционного материала и возможности создания на его основе имплантатов нового поколения, комплексное исследование структурно-функциональных характеристик керамики с модифицированной поверхностью как основы композиционных костно-пластических биоматериалов.

В соответствии с целью исследования были поставлены следующие задачи:

- 1) обоснование выбора направления исследований, методов и средств изучения структуры и свойств экспериментальных образцов композиционных материалов;
- 2) разработка научных и технологических основ получения композиционных материалов;

- 3) изготовление экспериментальных образцов композиционных материалов;
- 4) изучение физико-химических свойств экспериментальных образцов композиционных материалов;
- 5) обобщение и оценка полученных результатов.

Материал и методы

Для изучения структуры и свойств экспериментальных образцов (ЭО) композиционных костно-керамических имплантатов (КККИ) были выбраны следующие методы.

1. Метод световой микроскопии, позволяющий провести структурный анализ морфологии поверхности ЭО КККИ. Аппаратное обеспечение метода: световой микроскоп «AxioImager Z1» («ZEISS», Германия), оснащенный цифровой камерой высокого разрешения HRC и системой анализа изображения «AxioVisionRel. 4.8.2», и бинокулярный микроскоп «Stemi 2000 C» («ZEISS», Германия), оснащенный цифровой камерой MRC-3 и системой анализа изображения «AxioVisionRel. 4.8.2». При необходимости возможна дополнительная окраска препаратов гематоксилином и эозином по стандартной методике для срезов.

2. Метод сканирующей электронной микроскопии, с помощью растрового электронного микроскопа «MIRA 3» («TESCAN», Чехия) при ускоряющем напряжении 3, 5, 10 и 30 кВ. Детекторы вторичных электронов (детектор Эверхарта-Торнли, SE), отраженных электронов (режим фазового контраста, BSE), InBeam, LVSTD, характеристического рентгеновского излучения (рентгеноспектральный микроанализ). Пробоподготовка для выполнения сканирующей электронной микроскопии ЭО проводится путем высушивания в вакууме.

3. Метод стереоскопической светооптической микроскопии. Оптические исследования проводили на автоматизированном стереомикроскопе «Zeiss SteREO Discovery.V12» (Германия), оснащенном апохрома-

тическим объективом «PlanApo S 2.3x FWD 10 mm» (увеличение от 18,4 до 230, предметное поле 12–1 мм), цветной цифровой камерой высокого разрешения «AxioCam MRC 5» (диагональ высокочувствительного CCD-сенсора 2/3, динамический диапазон 1:2200, оцифровка 3×12 бит, живое изображение до 31 кадра/с) и программным пакетом «Zeiss AxioVision 3.6», позволяющим с высокой точностью проводить геометрические измерения исследуемых объектов. Использование такого микроскопа позволяет в широком диапазоне увеличений с хорошим качеством получать фотографии поверхности исследуемых образцов.

4. Порометрия. Топографию образцов исследовали с помощью оптического микроскопа «Zeiss SteREO Discovery.V12» (Германия) и оптического интерференционного профилометра «Zygo NewView6300». Анализ геометрических параметров пор проводили с помощью программного пакета «Zeiss AxioVision 4.8». По 30 измерениям для каждого образца рассчитаны средние значения продольного (наибольшего) и поперечного размеров пор, а также их характерного среднего размера. В процессе измерения выбирали примерно каждую четвертую пору.

5. Профилометрия. Исследования проводили на автоматизированном бесконтактном оптическом профилометре «Zygo NewView 6300» (США) с использованием объектива 50-кратного увеличения и программного пакета «MetroPro». Прибор позволяет снимать 3D-профили поверхности белым светом, осуществлять панорамирование 3D-поверхности и шивку в автоматическом режиме и проводить измерения различных параметров шероховатости. Вертикальное разрешение профилометра до 0,1 нм, горизонтальное разрешение от 0,43 до 11,6 мкм, в зависимости от объектива, глубина сканирования до 150 мкм, скорость сканирования поверхности до 14 мкм/с, максимальный размер образца 89 × 203 × 203 мм (высота × ширина × глубина).

Согласно ГОСТ 25142-82 (СТ СЭВ 1156-78) «Шероховатость поверхности. Термины и определения», определены следующие величины:

- высота неровностей профиля Rz: сумма средних абсолютных значений высот пяти наибольших выступов профиля и глубин пяти наи-



Рис. 1

Экспериментальные образцы композиционных костно-керамических имплантатов: светлые прозрачные кристаллы гидроксиапатита разнообразной формы и различных размеров расположены неравномерно

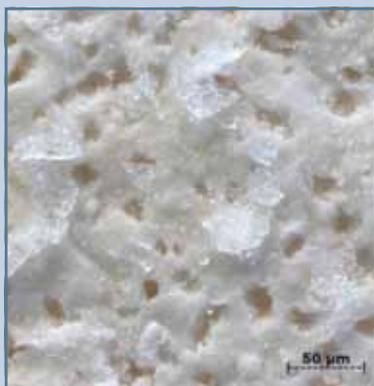


Рис. 2

Участок экспериментального образца композиционного костно-керамического имплантата: кристаллы гидроксиапатита крупные и расположены плотно

больших впадин профиля в пределах базовой длины;

- среднее арифметическое отклонение профиля Ra:

$$Ra = \frac{1}{l} \int_0^l |y(x)| dx;$$

- среднее квадратическое отклонение профиля Rq обозначается как rms:

$$Rq = \sqrt{\frac{1}{l} \int_0^l y^2(x) dx}.$$

Вводится максимальное отклонение профиля, обозначаемое Rmax или PV. Отметим, что величина Rz всегда будет несколько меньше, чем PV. Таким образом, если образцы имеют значение PV меньше допустимого значения Rz, то заведомо значение Rz будет в допуске. Исследование параметров шероховатости Ra и Rq проводилось по двум измерениям для каждого образца с последующим усреднением значений.

В рамках изучения физико-химических свойств экспериментальных образцов композиционных материалов важным параметром является

определение pH их вытяжек. Вытяжки готовят согласно ГОСТ ISO 10993 «Оценка биологического действия медицинских изделий»: часть 12 «Приготовление проб и стандартные образцы».

Полученные вытяжки используют и для изучения продуктов биодеградации экспериментальных образцов, их микроэлементного состава и количества путем выполнения химического анализа. В качестве образцов используют водные вытяжки из образцов в физиологическом растворе с содержанием 0,9 % NaCl.

Многослойный анализ микропримесей проводился на масс-спектрометре «Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometer Agilent 7500a» (Япония). Перед анализом пробы разбавляли в 101 раз 0,3 % раствором HNO₃ ос.ч. в воде деионизованной сопротивлением 18,2 МОм·см, полученной в аппарате «Direct Q 3 UV Millipore».

Результаты и их обсуждение

Проведены структурные исследования поверхности, поперечных срезов и сколов экспериментальных образ-

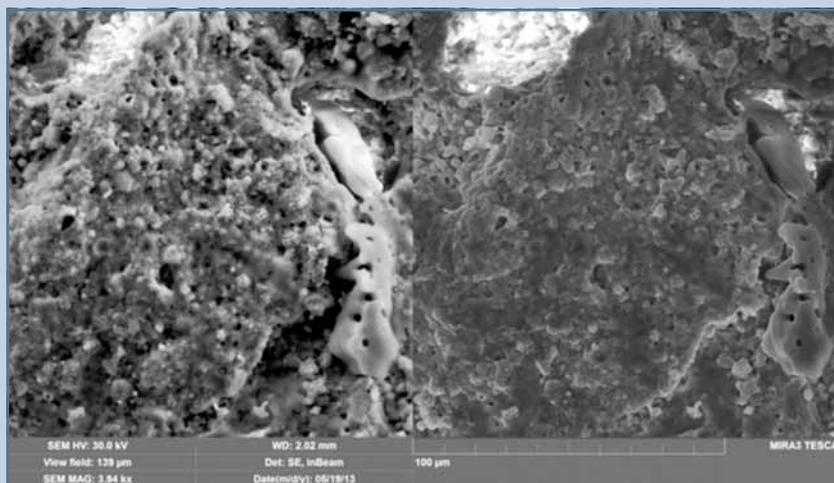
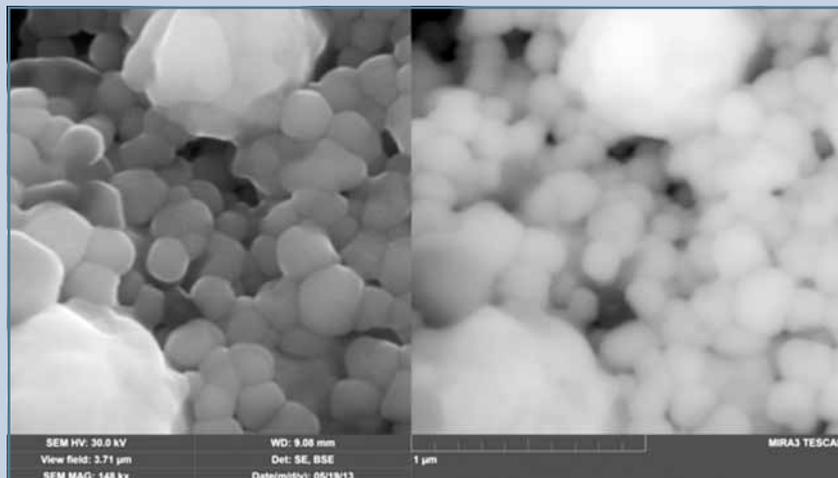
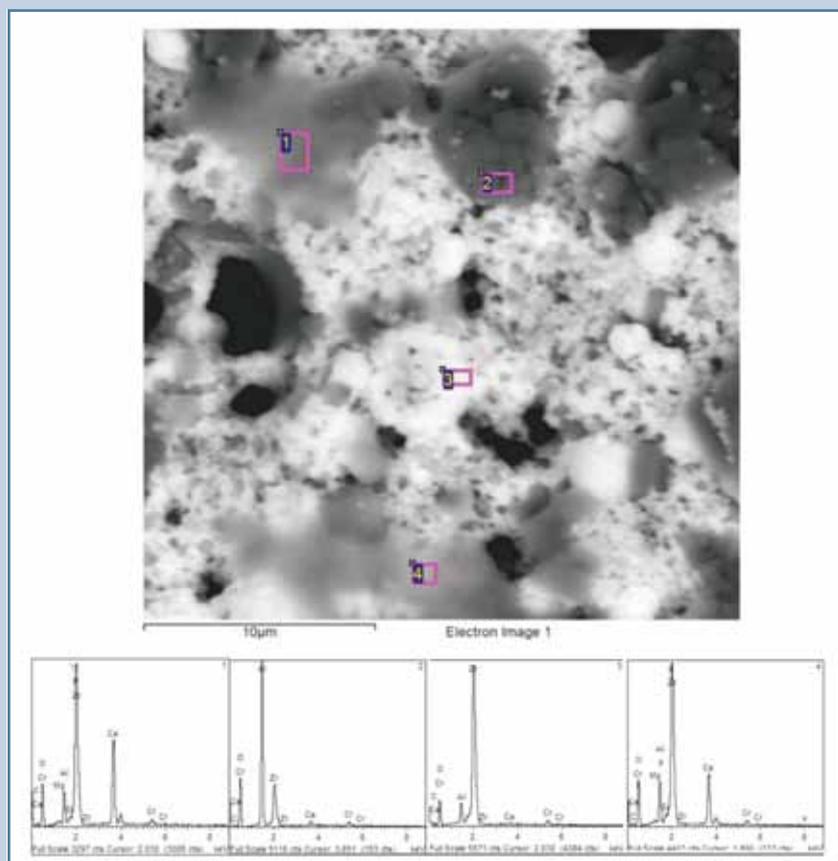


Рис. 3

Шероховатая поверхность экспериментального образца композиционного костно-керамического имплантата представляет собой единый комплекс: сканирующая электронная микроскопия, ув. 4000

**Рис. 4**

Структура поверхности образца мелкозернистая с величиной зерна преимущественно 0,1 мкм (100 нм): сканирующая электронная микроскопия, ув. 150 000

**Рис. 5**

Рентгеноспектральный элементный анализ экспериментального образца композиционного костно-керамического имплантата

цов КККИ методами световой, сканирующей электронной и стереоскопической светооптической микроскопии.

Морфология поверхности экспериментальных образцов костно-керамических имплантатов выглядит следующим образом: на поверхности образца видны светлые прозрачные кристаллы разнообразной формы и различных размеров. Некоторые крупные кристаллы достигают размеров 300 мкм. На рис. 1 видно, что некоторые поры сливаются, образуя крупные лакуны. Встречаются участки, где на довольно большой площади кристаллов совсем нет, где кристаллов много и лежат они относительно плотно (рис. 2), в отличие от предыдущего поля зрения, где они расположены неравномерно.

Результаты исследования с использованием сканирующей электронной микроскопии показали, что при увеличении в 4000 раз поверхность материала выглядит шероховатой, несколько оплавленной, представляя собой единый комплекс (рис. 3). Отмечается наличие большого количества пор разного размера. При увеличении в 150 тыс. раз в экспериментальном образце имплантата визуализируется мелкозернистая структура с величиной зерна преимущественно 0,1 мкм (100 нм; рис. 4).

Рентгеноспектральный элементный анализ ЭО КККИ проводили для определения состава образца и подтверждения наличия ГАП на его поверхности (рис. 5). Точки 1 и 4 соответствуют прозрачным кристаллам ГАП, наблюдаемым в световой микроскоп при освещении боковым светом, что подтверждается данными элементного анализа с пиками кальция и фосфора. В точке 2 преобладают алюминий, кислород, хром и цирконий. Это образование, по-видимому, представляет собой хлопья оксида алюминия (или гидроксида), входящего в состав материала образца и соответствует графикам. В точке 3 наблюдаются два пика (циркония и кислорода), что соответствует химическому составу основного материала образца – двуокиси циркония.

Химический состав поверхности образца в точках 1, 2, 3 и 4 представлен на рис. 6.

Следует отметить, что кристаллов ГАП на этом участке было значительно меньше, что подтверждено элементным анализом. Только в точке 2 присутствуют кальций, магний и фосфор

наряду с цирконием, иттрием, алюминием, хромом и кислородом. В точках 1, 3 и 4 преобладают алюминий, кислород, хром, цирконий и иттрий, что соответствует химическому составу основного материала образца – двуокиси циркония. В точке 4 пик алюминия значительно превышает пик цир-

кония, возможно, это хлопья оксида алюминия (или гидроксида), входящего в состав материала образца.

Для изучения гидрофильности и связанности пор керамического образца друг с другом образец поместили в раствор красителя (эозина). Затем образец извлекли из раствора, высушили на фильтровальной бумаге и разломали. При анализе поверхности скола отметили следующее: проникновение красителя в поры ограничивается краевой (периферической) зоной, в которой поры действительно являются сквозными (рис. 7). Вглубь образца краситель не проник, что позволяет предположить, что поры внутри керамического образца не связаны с внешними пора-

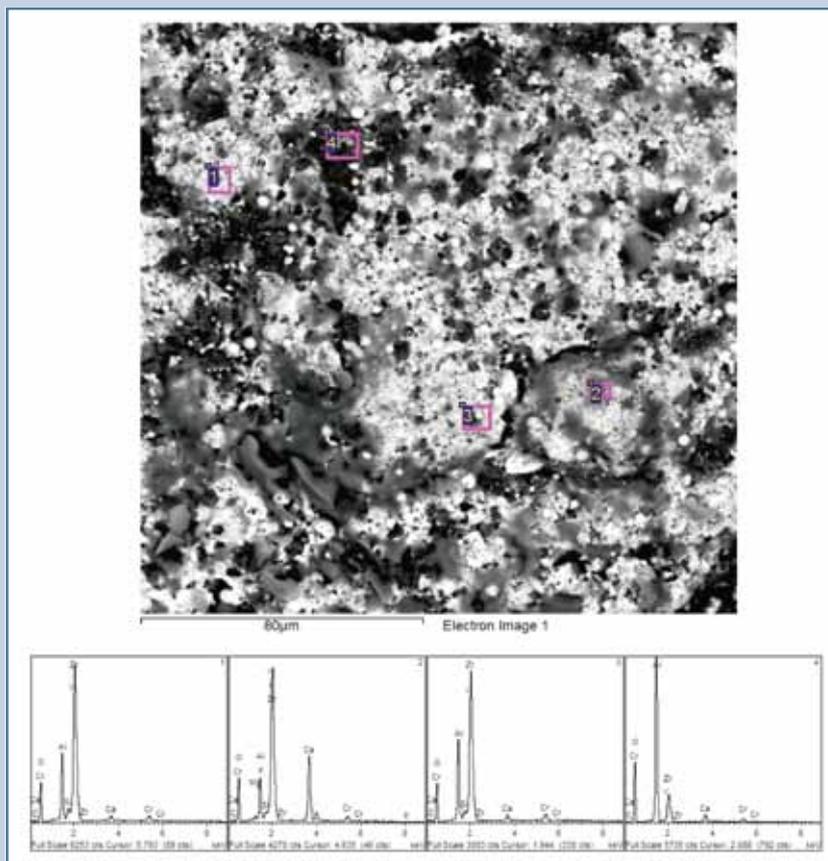


Рис. 6

Элементный анализ экспериментального образца композиционного костно-керамического имплантата

Таблица 1

Результаты порометрии экспериментальных образцов композиционных костно-керамических имплантатов

Параметры	Значения
Средний продольный (наибольший) размер поры, мкм	$73 \pm 4^*$
Средний поперечный размер поры, мкм	$46 \pm 3^*$
Характерный диаметр поры, мкм	$60 \pm 4^*$
Оценочный объем поры, 10–11, л	8,1

*Стандартная ошибка среднего.



Рис. 7

Поверхность излома экспериментального образца композиционного костно-керамического имплантата, ув. 40



Рис. 8

Пример пор на поверхности экспериментального образца композиционного костно-керамического имплантата

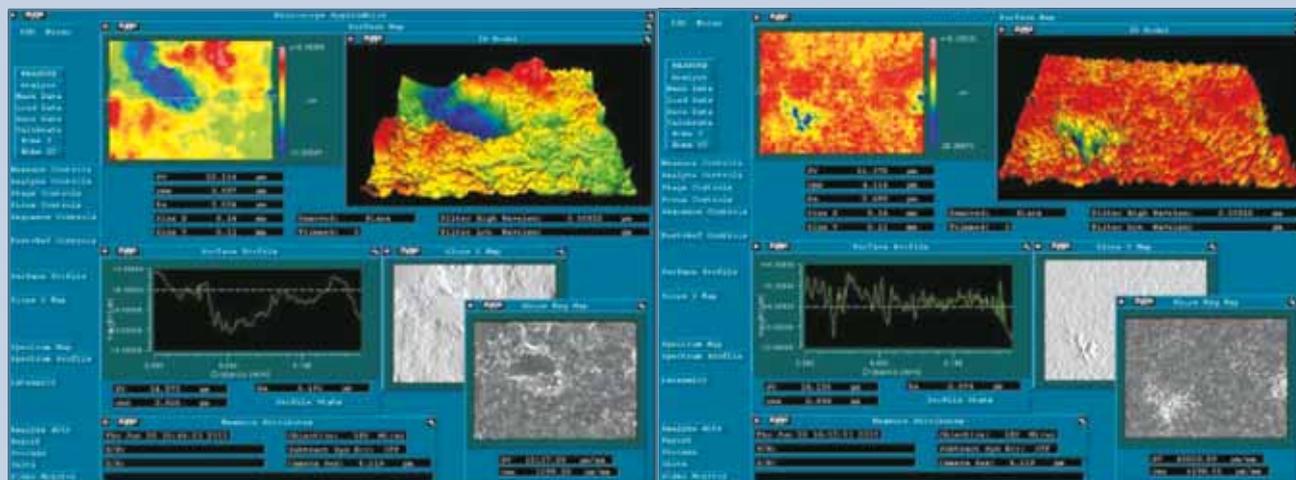


Рис. 9

Результаты исследования морфологии поверхности в центральной части (PV около 15 мкм) и на периферии (PV около 16 мкм) экспериментального образца композиционного костно-керамического имплантата

ми, что не позволит межтканевой жидкости, клеткам и сосудам в них проникнуть.

Порометрия: визуально более 50 % пор по границе на поверхности образца имеют эллипсоидную форму, поэтому для оценки объема пор по полученным изображениям поры аппроксимировали эллипсоидом вращения. Значения геометрических параметров пор представлены в табл. 1.

Пример изображения поверхности с измерениями пор представлен на рис. 8. В процессе измерения выбирали примерно каждую четвертую пору.

Профилometрия поверхности ЭО КККИ была проведена в центральной части образца и на периферии (рис. 9).

Исследование параметров шероховатости Ra и Rq проводили по двум измерениям для каждого образца с последующим усреднением значений. Получены следующие средние значения параметров шероховатости: Ra – 2,65 мкм, Rrms – 3,40 мкм.

Профилoграмма ЭО КККИ в центральной и периферической части ЭО представлена небольшими выступами и углублениями. Кроме того, на поверхности присутствуют и более выраженные углубления, характеризующие максимальное отклонение профиля, которое в центральной части ЭО КККИ составляет 15 мкм, а на периферии – 16 мкм. Такая поверхность способствует формированию стабильного костно-керамического блока на границе «кость – имплантат» [20].

Результаты определения pH вытяжек имплантатов: КККИ – 5,8, физиологический раствор (0,9 % NaCl) – 5,5. Величина изменения pH вытяжки из образцов имплантатов и контрольного раствора составила 0,2–0,5, что не превышает максимально допустимых значений.

Таблица 2

Масс-спектральное определение микропримесей в водных вытяжках (фон 0,009 % NaCl в 0,3 % HNO₃), мг/л

Определяемые элементы, масса	Проба 1: физический раствор	Проба 3: композиционные костно-керамические имплантаты
As, 75	0,009	0,0081
Pb, 208	0,0093	<0,000074
Cd, 111	0,00093	0,0012
Ag, 107	<0,00015	<0,00015
Sn, 118	0,006	0,0045
Hg, 202	0,00048	0,00073
B, 11	<0,0028	<0,0028
Al, 27	<0,00048	0,0028
Zn, 66	0,070	0,010
Ti, 47	0,0045	0,0025
Cr, 53	<0,0017	0,0017
Cu, 63	0,17	0,16
Mn, 55	0,0037	0,047
Co, 59	0,00065	<0,00016
Fe, 57	0,021	0,11
Ni, 60	0,0041	0,0036

Использован полуколичественный анализ Semi-Quant в режиме «Spectrum»; погрешность анализа характеризуется стандартным квадратичным отклонением единичного результата не более $\pm 30\%$; эталонный раствор 10 ppb Li, Y, Co, Ce, Tl в 2 % растворе HNO₃ производства «Agilent Technologies» (США).

В результате изучения продуктов биодegradации КККИ, их микроэлементного состава и их количества проводили полуколичественный химический анализ. В качестве образцов использовали водные вытяжки из образцов КККИ в физрастворе с содержанием 0,9 % NaCl. В качестве контроля использовали раствор 0,9 % NaCl. Результаты анализа приведены в табл. 2.

Проведенные исследования ЭО КККИ показали, что они имеют пористую структуру со средним продольным размером поры 70 мкм, средним поперечным размером поры 46 мкм; поверхностные поры являются открытыми, внутренние – замкнутыми. Элементный анализ поверхности КККИ показывает, что они состоят из оксидов алюминия и циркония, содержат включения из ГАП. Профилометрия поверхности ЭО КККИ выявила следующие отклонения: в центре образца максимальное отклонение профиля 15 мкм, а на периферии 16 мкм, а среднее арифметическое и среднее квадратическое отклонения профиля составили 2,65 и 3,4 мкм соответственно.

Кроме того, предварительно изучены продукты биодegradации КККИ, в качестве группы сравнения использовали раствор 0,9 % NaCl. Потенциально токсичные и способные к накоплению в тканях макроорганизма элементы, такие, как кадмий, кобальт, ртуть, свинец, присутствуют лишь

в следовых количествах и не имеют статистически значимых различий с группой сравнения, что исключает их возможные токсические эффекты на макроорганизм.

КККИ на основе керамического материала может быть эффективен и пригоден в медицине для восстановления анатомической целостности и функций костной ткани.

Оценивая возможность продолжения исследований, необходимо отметить, что для аргументированной оценки перспективности КККИ необходимо завершение этапа экспериментальных исследований *in vitro* и *in vivo* с целью изучения свойств материала в системе *in vivo*. Проведение исследований по острой, подострой и хронической токсичности позволит сформулировать перспективность дальнейших исследований с выполнением научно-исследовательских и опытно-конструкторских разработок. Кроме того, необходимы разработка опытного образца имплантата с обработкой технологии изготовления, составление технической документации и технологического регламента, последующее осуществление приемочно-технических и токсикологических испытаний.

Заключение

Перспективным направлением для научных исследований с целью

реализации в реальном секторе экономики считаем направление протезирования костной ткани, например позвоночника, с помощью КККИ с целью восстановления опорной функции позвоночного столба. Изготовление и изучение экспериментальных образцов КККИ позволяет предположить, что данный материал может быть востребован и использован для изготовления опытного образца изделия медицинского назначения. В качестве такого изделия может выступать костно-керамический кейдж для нужд хирургической вертебрологии. При патологии позвоночного столба различного генеза, когда пациенту требуется оперативное лечение, связанное с заменой пораженного участка тела позвонка, разработанный и изученный в данном поисковом исследовании ЭО КККИ может стать основой при разработке модельного ряда имплантатов для различных отделов позвоночника. Исследование продолжается.

Работа выполнена при финансовой поддержке ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технического комплекса России на 2007–2013 гг.» ГК № 14.512.11.0007.

Литература

1. Актуальные вопросы тканевой и клеточной трансплантологии: М-лы III Всерос. симп. с международным участием. М., 2007.
2. Актуальные вопросы тканевой и клеточной трансплантологии: М-лы V Всерос. симп. с международным участием. Уфа, 2012.
3. **Ардашев И.П., Черников С.В., Подорожная В.Т. и др.** Биоконструкционный и костно-пластический материалы при формировании межпозвоночного костного блока // Гений ортопедии. 2010. № 1. С. 12–17.
4. **Берченко Г.Н., Кесян Г.А., Уразгильдеев Р.З. и др.** Сравнительное экспериментально-морфологическое исследование влияния некоторых используемых в травматолого-ортопедической практике кальцийфосфатных материалов на активизацию репаративного остеогенеза // Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра СО РАМН. 2006. № 4. С. 327–332.
5. **Брехов В.Л.** Хирургическое лечение больных с дефектами костной и хрящевой тканей с применением богатой тромбоцитами аутоплазмы: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Курск, 2007.
6. **Грудянов А.И., Ерохин А.И.** Остеопластические материалы, используемые при хирургическом лечении заболеваний пародонта // Пародонтология. 1998. № 1. С. 13–23.
7. **Демичев Н.П., Горбатенко А.И.** Криохирургия опухолей костей нижних конечностей. Ростов н/Д, 2006.
8. **Демичев Н.П., Дианов С.В.** Профилактика рецидивирования доброкачественных опухолей костей методом криодеструкции // Вопросы онкологии. 2008. № 5. С. 592–595.
9. **Денисов-Никольский Ю.И., Матвейчук И.В., Розанов В.В.** Инновационные подходы к структурно-функциональному анализу костной ткани для решения фундаментальных и прикладных задач в биоматериалологии и биоматериаловедении // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2012. № 1. С. 223–228.

10. **Денисов-Никольский Ю.И., Миронов С.П., Омеляненко Н.П. и др.** Актуальные проблемы теоретической и клинической остеопатологии. М., 2005.
11. **Дианов С.В., Тарасов А.Н.** Аллопластика вертлужной впадины при первичном и ревизионном эндопротезировании тазобедренного сустава // Травматол. и ортопед. России. 2009. № 3. С. 130–132.
12. **Дубок В.А., Проценко В.В., Шинкарук А.В. и др.** Новое поколение биоактивных керамик – особенности свойств и клинические результаты // Ортопед., травматол. и протезир. 2008. № 3. С. 91–95.
13. **Казарезов М.В., Королева А.М., Домников А.В.** Пластическая хирургия. Новосибирск, 2009.
14. **Кирилова И.А., Садовой М.А., Подорожная В.Т. и др.** Керамические и костно-керамические имплантаты перспективные направления // Хирургия позвоночника. 2013. № 4. С. 52–62.
15. **Кирилова И.А.** Анатомо-функциональные свойства кости как основа создания костно-пластических материалов для травматологии и ортопедии (анатомо-экспериментальное исследование): Дис. ... д-ра мед. наук. Новосибирск, 2011.
16. **Кирилова И.А.** Костная ткань как основа остеопластических материалов для восстановления кости // Хирургия позвоночника. 2011. № 1. С. 68–74.
17. **Корж Н.А., Кладченко Л.А., Малышкина С.В. и др.** Имплантационные материалы и остеогенез. Роль биологической фиксации и остеointegrации в реконструкции кости // Ортопед., травматол. и протезир. 2005. № 4. С. 118–127.
18. **Корж Н.А., Радченко В.А., Кладченко Л.А. и др.** Имплантационные материалы и остеогенез. Роль индукции и кондукции в остеогенезе // Ортопед., травматол. и протезир. 2003. № 2. С. 150–157.
19. **Королев С.Б., Абраменков А.Н.** Новая медицинская технология подготовки костных трансплантатов для костной пластики: М-лы II Моск. междунар. конгр. травматологов и ортопедов. М., 2011.
20. **Корочкин С.Б., Симонович А.Е., Кирилова И.А. и др.** Использование имплантата-фиксатора в эксперименте // Хирургия позвоночника. 2007. № 2. С. 71–77.
21. **Куляба Т.А., Корнилов Н.Н., Тихилов Р.М. и др.** Bone alloplasty in revision knee arthroplasty // Травматол. и ортопед. России. 2009. № 3. С. 148–150.
22. **Матвейчук И.В., Розанов В.В., Пантелеев В.И. и др.** Инновационные подходы к совершенствованию процесса стерилизации для решения задач биоимплантологии // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2013. № 11. С. 92–97.
23. **Мусина Л.А.** Функциональная морфология макрофагов при регенерации тканей, индуцированной аллогенными биоматериалами: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. Уфа, 2007.
24. **Муслимов С.А.** Морфологические основы применения аллогенных биоматериалов в регенеративной хирургии: Дис. ... д-ра. мед. наук. Уфа, 2000.
25. **Нигматуллин Р.Т.** Очерки трансплантации тканей. Уфа, 2003.
26. **Омеляненко Н.П., Миронов С.П., Денисов-Никольский Ю.И. и др.** Современные возможности оптимизации репаративной регенерации костной ткани // Вестн. травм. и ортопед. им. Н.Н. Приорова. 2002. № 4. С. 85–88.
27. **Панасюк А.Ф., Иванов С.Ю., Лекишвили М.В. и др.** Новые биокомпозиционные материалы – «Биоматрикс» и «Алломатрикс-Имплант» для замещения костных дефектов // Биоимплантология на пороге XXI века: М-лы симпозиума по проблемам тканевых банков с междунар. участием. М., 2001. С. 96–97.
28. **Панин А.М.** Новое поколение биокомпозиционных остеопластических материалов (разработка, лабораторно-клиническое обоснование, клиническое внедрение): Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. М., 2004.
29. **Папенко Т.М.** Результаты лечения деструктивных форм хронического периодонтита при использовании костно-пластического материала: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Новосибирск, 2005.
30. Пат. № 2372892 Российская Федерация. Биоимплантат для восстановления структуры и объема костной ткани / Волова Л.Т., Власов М.Ю., Подковкин В.Г. и др.; заявл. 16.06.2008; опубл. 20.11.2009, Бюл. № 32.
31. **Паховов И.А., Садовой М.А., Прохоренко В.М. и др.** Опыт хирургического лечения активных кист пяточной кости на фоне сформированного скелета с применением материала «костная алло-соломка» // Травматол. и ортопед. России. 2008. № 1. С. 20–26.
32. **Попков А.В., Осипенко А.В.** Регенерация тканей при удлинении конечностей. М., 2008.
33. **Савельев В.И., Корнилов Н.В., Иванкин Д.Е. и др.** Аллотрансплантация формализированной костной ткани в травматологии и ортопедии. СПб., 2001.
34. **Самодай В.Г., Брехов В.Л., Гайдуков В.Е. и др.** Использование богатой тромбоцитами аутоплазмы (БОТП) в хирургическом лечении дефектов костной ткани с нарушением непрерывности кости // Системный анализ и управление в биомедицинских системах. 2007. № 2. С. 493–497.
35. **Сельский Н.Е.** Применение биоматериалов «Аллоплант» в челюстно-лицевой хирургии. Уфа, 2000.
36. **Тер-Асагутов Г.П., Лекишвили М.В., Бигвава А.Т. и др.** Сравнительное экспериментально-морфологическое исследование эффективности биологических остеопластических материалов в замещении костных дефектов // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. 2012. № 1. С. 81–85.
37. **Швец А.И., Ивченко В.К.** Костные трансплантаты и их заменители в хирургии позвоночника // Ортопед., травматол. и протезир. 2008. № 3. С. 66–69.
38. **Эппле М.** Биоматериалы и биоминерализация. Томск, 2007.
39. **Akeda K, An HS, Okuma M, et al.** Platelet-rich plasma stimulates porcine articular chondrocyte proliferation and matrix biosynthesis. Osteoarthritis Cartilage. 2006;14:1272–1280.
40. **Andrade MG, de Freitas Brandão CJ, Sá CN, et al.** Evaluation of factors that can modify platelet-rich plasma properties. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2008;105:e5–e12.
41. **Archundia TR, Soriano JC, Corona JN.** [Utility of platelet-rich plasma and growth factors bone in the bone defects. Regional Hospital Lic. Adolfo López Mateos, ISSSTE]. Acta Ortop Mex. 2007;21: 256–260. In Spanish.
42. **Boyce T, Edwards J, Scarborough N.** Allograft bone. The influence of processing on safety and performance. Orthop Clin North Am. 1999;30:571–581.
43. **Cammisa FP Jr, Lowery G, Garfin SR, et al.** Two-year fusion rate equivalency between Grafton DBM gel and autograft in posterolateral spine fusion: a prospective controlled trial employing side-by-side comparison in the same patient. Spine. 2004;29:660–666.
44. **Choi BH, Zhu SJ, Kim BY, et al.** Effect of platelet-rich plasma (PRP) concentration on the viability and proliferation of alveolar bone cells: an in vitro study. Int J Oral Maxillofac Surg. 2005;34:420–424.
45. **De Long WG Jr, Einhorn TA, Koval K, et al.** Bone grafts and bone graft substitutes in orthopaedic trauma surgery. J Bone Joint Surg Am. 2007;89:649–658.
46. **Delloye C, Cornu O, Druetz V, et al.** Bone allografts: What they can offer and what they cannot. J Bone Joint Surg Br. 2007;89:574–579.
47. **Finkemeier CG.** Bone-grafting and bone-graft substitutes. J Bone Joint Surg Am. 2002;84:454–464.
48. **Hofer S, Leopold SS, Jacobs J.** Clinical perspectives on the use of bone graft based on allografts. In: Laurencin CT, ed. Bone Graft Substitutes. West Conshohocken, PA: ASTM International, 2003:68–95.
49. **Lieberman JR, Daluiski A, Einhorn TA.** The role of growth factors in the repair of bone. Biolo-

gy and clinical applications. *J Bone Joint Surg Am*. 2002;84:1032–1044.

50. **Lieberman JR, Friedlaender GE**, eds. *Bone Regeneration and Repair: Biology and Clinical Applications*. Totowa, NY: Humana Press, 2005.
51. **Marx RE**. Platelet-rich plasma (PRP): what is PRP and what is not PRP? *Implant Dent*. 2001;10:225–228.
52. **Van der Dolder J, Mooren R, Vloon AP, et al**. Platelet-rich plasma: quantification of growth factor levels and the effect on growth and differentiation of rat bone marrow cells. *Tissue Eng*. 2006;12:3067–3073.

References

1. [Topical Problems of Tissue and Cell Transplantation]. Proceedings of the All-Russian Symposium with International Participation, Moscow, 2007. In Russian.
2. [Topical Problems of Tissue and Cell Transplantation]. Proceedings of the All-Russian Symposium with International Participation, Ufa, 2012. In Russian.
3. Ardashev IP, Chernitsov SV, Podorozhnaya VT, et al. [Biocompositional and osteoplastic materials for intervertebral bone block formation]. *Genij Ortopedii*. 2010;(1):12–17. In Russian.
4. Berchenko GN, Kesyana GA, Urazgil'deev RZ, et al. [Comparative experimental-morphologic study of the influence of calcium-phosphate materials on reparative osteogenesis activation in traumatology and orthopaedics]. *Bulletin of Eastern-Siberian Scientific Center*. 2006;(4):327–332. In Russian.
5. Brekhov VL. [Surgical treatment of patients with bone and cartilage defects using platelet-rich autoplasm]. Summary of the Candidate of Medicine Thesis. Kursk, 2007. In Russian.
6. Grudyanov AI, Erohin AI. [Osteoplastic materials used in surgical treatment of periodontal diseases]. *Parodontologiya*. 1998;(1):13–23. In Russian.
7. Demichev NP, Gorbatenko AI. [Cryosurgery of Low Extremity Bone Tumors]. Rostov n/D, 2006. In Russian.
8. Demichev NP, Dianov SV. [Cryodestruction for preventing the recurrence of benign bone tumors]. *Voprosy Onkologii*. 2008;(5):592–595. In Russian.
9. Denisov-Nikolsky YuI, Matveychuk IV, Rozanov VV. [Innovating trends in the science of structural and functional connections of a bone tissue for fundamental and applied solutions in biointegration and biomaterials science]. *Voprosy biologicheskoy, meditsinskoy i farmatsevticheskoy himii*. 2012;(1):223–228. In Russian.
10. Denisov-Nikolsky YuI, Mironov SP, Omel'yanenko NP, et al. [Topical Problems of Theoretical and Clinical Osteoarthrology]. Moscow, 2005. In Russian.
11. Dianov SV, Tarasov AN. [Acetabulum alloplasty at the primary and revision hip replacement]. *Travmatologiya i Ortopedia Rossii*. 2009;(3):130–132. In Russian.
12. Dubok VA, Protsenko VV, Shinkaruk AV, et al. [A new generation of bioactive ceramics: peculiarities of their properties and clinical results]. *Orthopaedics, Traumatology and Prosthetics*. 2008;(3):91–95. In Russian.
13. Kazarezov MV, Koroleva AM, Domnikov AV. [Plastic Surgery]. Novosibirsk, 2009. In Russian.
14. Kirilova IA, Sadovoy MA, Podorozhnaya VT, et al. [Ceramic and osteoceramic implants: upcoming trends]. *Hir Pozvonoc*. 2013;(4):52–62. In Russian.
15. Kirilova IA. [Anatomical and functional properties of the bone as a basis for development of osteoplastic materials for traumatology and orthopaedics (anatomical and experimental study)]. Doctor of Medicine Thesis. Novosibirsk, 2011. In Russian.
16. Kirilova IA. [Bone tissue as a basis of osteoplastic materials for bone structure restoration]. *Hir Pozvonoc*. 2011;(1):68–74. In Russian.
17. Korzh NA, Kladchenko LA, Malyshkina SV, et al. [Implant materials and osteogenesis. Role of biological fixation and osseointegration in bone reconstruction]. *Orthopaedics, Traumatology and Prosthetics*. 2005;(4):118–127. In Russian.
18. Korzh NA, Radchenko VA, Kladchenko LA, et al. [Graft materials and osteogenesis. The role of induction and conduction in osteogenesis]. *Orthopaedics, Traumatology and Prosthetics*. 2003;(2):150–157. In Russian.
19. Korolev SB, Abramovich AN. [New medical technology for preparation of bone grafts for bone plasty]. Proceedings of the 2nd Moscow International Congress of Traumatologists and Orthopedists, Moscow, 2011. In Russian.
20. Korochkin SB, Simonovich AE, Kirilova IA, et al. [Experimental spinal fusion with multipurpose deproteinized bone allograft]. *Hir Pozvonoc*. 2007;(2):71–77. In Russian.
21. Kulyaba TA, Kornilov NN, Tikhilov RM, et al. [Bone alloplasty in revision knee arthroplasty]. *Travmatologiya i Ortopedia Rossii*. 2009;(3):148–150. In Russian.
22. Matveychuk IV, Rozanov VV, Pantelev VI, et al. [Innovative approaches to improvement of process of sterilization for the solution of problems of biointegration]. *Voprosy biologicheskoy, meditsinskoy i farmatsevticheskoy himii*. 2013;(11):92–97. In Russian.
23. Musina LA. [Functional morphology of macrophages in tissue regeneration induced by allogeneic biomaterials]. Summary of the Doctor of Medicine Thesis. Ufa, 2007. In Russian.
24. Muslimov SA. [Morphological bases of allogeneic biomaterial application in regenerative surgery]. Doctor of Medicine Thesis. Ufa, 2000. In Russian.
25. Nigmatullin RT. [Essays on Tissue Transplantation]. Ufa, 2003. In Russian.
26. Omel'yanenko NP, Mironov SP, Denisov-Nikolsky YuI, et al. [Modern facilities for optimization of reparative regeneration of bone tissue]. *Vestnik Travmatologii i Ortopedii im. N.N. Priorova*. 2002;(4):85–88. In Russian.
27. Panasyuk AF, Ivanov SYu, Lekishvili MV, et al. [New biocomposite materials Biomatrix and Allomatrix-Implant for bone defect replacement]. Proceedings of the Biointegration on the Edge of 21st Century, Symposium on Tissue Banks with international participation, Moscow, 2001:96–97. In Russian.
28. Panin AM. [New generation of biocomposite osteoplastic materials: development, laboratory and clinical reasoning, and clinical implementation]. Summary of the Doctor of Medicine Thesis. Moscow, 2004. In Russian.
29. Papanov TM. [Results of the treatment of destructive forms of chronic periodontitis using bone grafting material]. Summary of the Candidate of Medicine Thesis. Novosibirsk, 2005. In Russian.
30. Volova LT, Podkovkin VG, Pisareva EV, et al. [Bioimplant for bone structure and volume restoration]. RU Patent 2372892, filed 16.06.2008, publ. 20.11.2009. In Russian.
31. Pakhomov IA, Sadovoy MA, Prohorenko VM, et al. [The experience of the surgical treatment of heel bone active cysts against the background of formed skeleton using the material "bone allosrow"]. *Travmatologiya i Ortopedia Rossii*. 2008;(1):20–26. In Russian.
32. Popkov AV, Osipenko AV. [Tissue Regeneration in Limb Lengthening]. Moscow, 2008. In Russian.
33. Savelev VI, Kornilov NV, Ivankin DE, et al. [Allografting of Formalinized Bone Tissue in Traumatology and Orthopaedics]. St. Petersburg, 2001. In Russian.
34. Samoday VG, Brekhov VL, Gaydukov VE, et al. [Platelet-rich autoplasm (PRP) application in surgical treatment of bone tissue defects with solution of bone continuity]. *Sistemnyy Analiz i Upravlenie v Biomeditsinskikh Sistemah*. 2007;(2):493–497. In Russian.
35. Selski NE. [Alloplasty Biomaterials Application in Maxillofacial Surgery]. Ufa, 2000. In Russian.
36. Ter-Asaturov GP, Lekishvili MV, Bigvava AT, et al. [Comparative experimental and morphologic study of biological osteoplastic materials in bone defects repair]. *Cell Transplantation and Tissue Engineering*. 2012;(1):81–85. In Russian.
37. Shvets AI, Ivchenko VK. [Bone grafts and their substitutes in the vertebral column surgery]. *Orthopaedics, Traumatology and Prosthetics*. 2008;(3):66–69. In Russian.
38. Epple M. [Biomaterials and Biomaterialization]. Tomsk, 2007. In Russian.
39. Akeda K, An HS, Okuma M, et al. Platelet-rich plasma stimulates porcine articular chondrocyte proliferation and matrix biosynthesis. *Osteoarthritis Cartilage*. 2006;14:1272–1280.
40. Andrade MG, de Freitas Brandão CJ, Sá CN, et al. Evaluation of factors that can modify platelet-rich plasma

- properties. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2008;105:e5–e12.
41. Archundia TR, Soriano JC, Corona JN. [Utility of platelet-rich plasma and growth factors bone in the bone defects. Regional Hospital Lic. Adolfo López Mateos, ISSSTE]. Acta Ortop Mex. 2007;21: 256–260. In Spanish.
 42. Boyce T, Edwards J, Scarborough N. Allograft bone. The influence of processing on safety and performance. Orthop Clin North Am. 1999;30:571–581.
 43. Cammisia FP Jr, Lowery G, Garfin SR, et al. Two-year fusion rate equivalency between Grafton DBM gel and autograft in posterolateral spine fusion: a prospective controlled trial employing side-by-side comparison in the same patient. Spine. 2004;29:660–666.
 44. Choi BH, Zhu SJ, Kim BY, et al. Effect of platelet-rich plasma (PRP) concentration on the viability and proliferation of alveolar bone cells: an in vitro study. Int J Oral Maxillofac Surg. 2005;34:420–424.
 45. De Long WG Jr, Einhorn TA, Koval K, et al. Bone grafts and bone graft substitutes in orthopaedic trauma surgery. J Bone Joint Surg Am. 2007;89:649–658.
 46. Delloye C, Cornu O, Druetz V, et al. Bone allografts: What they can offer and what they cannot. J Bone Joint Surg Br. 2007;89:574–579.
 47. Finkemeier CG. Bone-grafting and bone-graft substitutes. J Bone Joint Surg Am. 2002;84:454–464.
 48. Hofer S, Leopold SS, Jacobs J. Clinical perspectives on the use of bone graft based on allografts. In: Laurencin CT, ed. Bone Graft Substitutes. West Conshohocken, PA: ASTM International, 2003:68–95.
 49. Lieberman JR, Daluiski A, Einhorn TA. The role of growth factors in the repair of bone. Biology and clinical applications. J Bone Joint Surg Am. 2002;84:1032–1044.
 50. Lieberman JR, Friedlaender GE, eds. Bone Regeneration and Repair. Biology and Clinical Applications. Totowa, NY: Humana Press, 2005.
 51. Marx RE. Platelet-rich plasma (PRP): what is PRP and what is not PRP? Implant Dent. 2001;10:225–228.
 52. Van der Dolder J, Mooren R, Vloon AP, et al. Platelet-rich plasma: quantification of growth factor levels and the effect on growth and differentiation of rat bone marrow cells. Tissue Eng. 2006;12:3067–3073.

Адрес для переписки:

Кирилова Ирина Анатольевна
630091, Новосибирск, ул. Фрунзе, 17,
НИИТО,
IKirilova@niito.ru

Статья поступила в редакцию 18.09.2013

Ирина Анатольевна Кирилова, д-р мед. наук; Михаил Анатольевич Садовой, д-р мед. наук, проф.; Валентина Тимофеевна Подорожная, канд. мед. наук, Новосибирский НИИ травматологии и ортопедии им. Я.Л. Цивьяна; Олег Святославович Таранов, рук. отдела микроскопических исследований, ГНЦ вирусологии и биотехнологии «Вектор», Новосибирск; Сергей Владимирович Клинков, д-р физ.-мат. наук; Владимир Федорович Косарев, д-р физ.-мат. наук, Институт теоретической и прикладной механики СО РАН, Новосибирск; Светлана Станиславовна Шацкая, канд. хим. наук, Институт химии твердого тела и механохимии СО РАН, Новосибирск.

Irina Anatolyevna Kirilova, MD, DMSc; Mikhail Anatolyevich Sadovoy, MD, DMSc, Prof.; Valentina Timofeyevna Podorozhnaya, MD, PhD, Novosibirsk Research Institute of Traumatology and Orthopaedics n.a. Ya.L. Tsviyana; Oleg Svyatoslavovich Taranov, Head of department, State Research Center of Virology and Biotechnology VECTOR, Novosibirsk; Sergey Vladimirovich Klinkov, DMSc in Physics/Mathematics; Vladimir Fedorovich Kosarev, DSc in Physics/Mathematics, Christianovich Institute of Theoretical and Applied Mechanics, SB RAS, Novosibirsk; Svetlana Stanislavovna Shatskaya, PhD in Chemistry, Institute of Solid State Chemistry and Mechanochemistry, SB RAS, Novosibirsk.