

© Коллектив авторов, 2013

ИССЛЕДОВАНИЕ МАТРИКСНЫХ СВОЙСТВ, БИОСОВМЕСТИМОСТИ И ОСТЕОПЛАСТИЧЕСКИХ ПОТЕНЦИЙ КОМПОЗИЦИОННЫХ МАТЕРИАЛОВ НА ОСНОВЕ ПОЛИЛАКТОГЛИКОЛИДА И ГРАНУЛ СКЕЛЕТА НАТУРАЛЬНЫХ КОРАЛЛОВ РАЗЛИЧНОЙ ДИСПЕРСНОСТИ

Н.С. Сергеева, И.К. Свиридова, Г.А. Франк, В.А. Кирсанова, С.А. Ахмедова,
Я.Д. Шанский, Л.И. Кротова, В.К. Попов

ФГБУ «Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена» Минздрава России,
ФГУН «Институт проблем лазерных и информационных технологий» РАН, Москва, РФ

Представлены результаты *in vitro* и *in vivo* медико-биологических исследований минерал-полимерных композитов (МПК) на основе высокомолекулярного полилактогликолида и частиц скелета натуральных кораллов *A. cervicornes* различной дисперсности (<200 мкм, 200–600 мкм и >600 мкм) как материалов для замещения костных дефектов. На модели культуры фибробластов человека *in vitro* показано, что МПК не токсичны и обладают удовлетворительными матричными (для клеток) свойствами. Оптимальным для композита оказался размер гранул скелета натурального коралла 200–600 мкм. Показана биосовместимость МПК в подкожном тесте на мышах. Однако отмечено сравнительно медленное замещение соединительной тканью как полилактогликолида, так и МПК на его основе под кожей. При исследовании остеопластических потенций МПК и его составляющих установлено, что в зоне окончатого костного дефекта бедренной кости крыс полилактогликолид замещается собственно соединительной тканью; вокруг частиц скелета натуральных кораллов наблюдается периостальный остеогенез, который в МПК дополняется энхондральным остеогенезом.

Ключевые слова: полилактогликолид, минералполимерный композит, костный дефект, остеогенез.

Study of Matrix Properties, Biocompatibility and Osteoplastic Potentialities of Composite Materials Based on Polylactoglycolide and Natural Coral Skeleton Granules of Various Dispersity

N.S. Sergeeva, I.K. Sviridova, G.A. Frank, V.A. Kirsanova, S.A. Akhmedova,
Ya.D. Shanskiy, L.I. Krotova, V.K. Popov

Results of *in vitro* and *in vivo* medico-biological study of mineral-polymer composites (MPC) based on high molecular polylactoglycolide and natural *A. cervicornis* coral skeleton with various dispersity (<200 μm , 200–600 μm and >600 μm) as materials for bone defects substitution are presented. On the model of human fibroblasts *in vitro* it was shown that MPC were not toxic and possessed satisfactory matrix (for cells) properties. The optimum for composite size of natural coral granules made up 200–600 μm . MPC biocompatibility was shown in subcutaneous test in mice. However comparatively slow subcutaneous substitution of both polylactoglycolide and MPC on its basis by connective tissue. Study of MPC and its components' osteoplastic potential showed that in the zone of fenestral tibia defect in rats polylactoglycolide was substituted by connective tissue. Periosteal osteogenesis that in MPC was supplemented by enchondral osteogenesis was observed around the particles of natural coral skeleton.

Key words: polylactoglycolide, mineral-polymer composite, bone defect, osteogenesis.

Поиск и разработка новых биоматериалов, способных обеспечить органотипическое восстановление костной ткани в зоне дефектов различной этиологии, остается одной из актуальных задач регенеративной медицины. Современная стратегия регенерации требует разработки технологий стимуляции репаративных процессов. Эти технологии должны, с одной стороны, предусматривать использование материалов со свойствами индукторов репарации, а с другой — обеспечивать наличие в зоне необходимых химических компонентов

для репаративного остеосинтеза. Базовые требования к таким биорезорбируемым материалам систематизированы в ряде публикаций [1, 2]. В этом аспекте перспективным следует признать так называемый биомиметический подход, основанный на использовании двух- или многокомпонентных композиционных материалов на базе биосовместимых биорезорбируемых полимеров и неорганического матрикса, в частности минералполимерных композитов (МПК) [3, 4]. В ряде работ было показано, что синтетические полимерные материалы на ос-

нове полимолочной и полигликолевой кислот биосовместимы, достаточно эластичны (что необходимо для качественного заполнения дефектов сложной конфигурации и поддержания их объема) и обладают способностью к биорезорбции в составе композитов с кальцийфосфатными соединениями (такими, например, как гидрок시아патит и β -трикальцийфосфат) [5, 6]. С другой стороны, среди известных искусственных и природных минеральных биоматериалов с остеозамещающими потенциальными скелет натуральных кораллов (СНК; химический состав — кальцит, кристаллическая структура — арагонит) обладает спектром характеристик, обеспечивающих качественную репарацию костных дефектов: биосовместимостью; биоактивностью; скоростью биорезорбции, близкой к скорости неоостеогенеза; топографией и микрорельефом поверхности, способствующими эффективной колонизации клетками биоматериала; остеокондуктивными потенциальными и механическими характеристиками [7–10]. С этих позиций МПК на основе полилактогликолида и СНК являются перспективными для решения некоторых из вышеперечисленных проблем.

Цель данной работы — доклинические испытания новых пористых минералполимерных биорезорбируемых материалов на основе полилактогликолида и частиц СНК семейства *Acroporidae* различной дисперсности.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперименты *in vitro* и *in vivo* выполнены на образцах композиционных МПК на основе мелкодисперсного порошка полилактогликолида PDLG75-07 (75% полилактида и 25% полигликолида) марки Purasorb (производство «Puras», Германия) молекулярной массой ~100000 кД с микрочастицами СНК *A.cervicornis* различной дисперсности: крупнодисперсными (размер частиц ~0,7–1 мм), мелкодисперсными — размер частиц 200–600 мкм и ультрадисперсными — размер частиц 20–100 мкм. Образцы МПК получали по технологии сверхкритического флюидного синтеза с использованием диоксида углерода [11]. Для исследований *in vitro* и оценки биосовместимости материалов *in vivo* были изготовлены диски диаметром 5 мм, высотой 2 мм, для изучения остеопластических потенциалов — брусочки размером 7,0x1,5x2,5 мм (в соответствии с размером костного дефекта у животных). Стерилизацию образцов производили γ -облучением в дозе 24 кГр.

Эксперименты *in vitro* по исследованию цитосовместимости образцов МПК (наличие/отсутствие цитотоксичности и оценка матричных свойств поверхности) проводили на модели культуры иммортализованных фибробластов человека (ФЧ; ФГБУН «Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН») с помощью МТТ-теста [12]. За 3–5 сут до начала опыта диски из МПК, чистого полилактогликолида и частицы СНК разной сте-

пени дисперсности помещали в 96-луночные культуральные планшеты (Corning Inc., США) и заливали полной ростовой средой следующего состава: среда ДМЕМ («ПанЭко», Россия), 10% эмбриональная телячья сыворотка («HyClone», США), глутамин (600 мг/л), гентамицин (50 мкг/мл), Хепес-буфер (20 мМ) до их полного насыщения средой. Каждый образец материала в культуральных планшетах в каждый срок исследования был представлен в триплетах.

В день постановки опыта после удаления среды из лунок с опытными образцами в них вносили культуру ФЧ (20 тыс. клеток на лунку) и инкубировали: для определения острой цитотоксичности — в течение 24 ч, для оценки матричных свойств поверхности кораллов — 3, 7, 10 и 14 сут. Контролями служили фибробласты на культуральном пластике — полистирене, полная ростовая среда и материалы без клеток. Все эксперименты *in vitro* осуществляли в стерильных условиях (ламинарный бокс II класса защиты Heraeus, Германия), культивирование — в атмосфере влажного воздуха, содержащего 5% CO_2 при 37°C (CO_2 -инкубатор Sanyo, Япония).

На этапах эксперимента оценивали величину пула жизнеспособных клеток (ПЖК) как отношение оптической плотности раствора формазана (продукт МТТ-реакции) в конкретный срок эксперимента в опыте к оптической плотности раствора формазана в контроле. Образцы кораллов считали цитосовместимыми при отсутствии цитотоксичности (величина ПЖК на этапах культивирования $\geq 70\%$) и наличии удовлетворительных матричных свойств поверхности (величина ПЖК в каждый конкретный срок наблюдения $>100\%$).

Для исследования биосовместимости образцов МПК в экспериментах *in vivo* использовали модель подкожной имплантации [13]. Эксперименты выполнены на половозрелых мышах-самцах линии BDF₁ массой 18–20 г. (Научный центр биомедицинских технологий РАМН, филиал Андреевка). Было сформировано 7 групп животных по числу исследованных образцов материалов. Животным 1-й группы имплантировали диски из чистого полилактогликолида, 2-й группы — диски из МПК с крупнодисперсным СНК, 3-й группы — диски из МПК с мелкодисперсным СНК, 4-й группы — диски из МПК с ультрадисперсным СНК, 5-й группы — крупнодисперсный СНК, 6-й группы — мелкодисперсный СНК, 7-й группы — ультрадисперсный СНК. Через 2, 6, 4, 9 и 12 нед после операции мышам выводили из эксперимента (по два животных на каждый срок), образцы материалов с окружающими тканями извлекали, проводили их визуальную оценку и фотоархивирование. После фиксации в 10% растворе формалина проводили декальцинацию материалов (0,3М раствор ЭДТА, 37°C, ~30 дней), затем изготавливали из них парафиновые блоки, далее — гистологические препара-

раты. Окраску препаратов осуществляли гематоксилином и эозином.

Остеопластические потенции МПК исследовали на модели краевой резекции бедренной кости половозрелых крыс-самок линии Вистар (Научный центр биомедицинских технологий РАМН, филиал Андреевка) [13]. По результатам исследования цито- и биосовместимости образцов МПК для данного этапа работы были отобраны МПК с мелкодисперсными частицами СНК. Животных выводили из эксперимента через 3, 6, 9, 12 нед (по 2 животных на каждый срок). Костный фрагмент, включающий зону дефекта, фиксировали, декальцинировали и изготавливали гистологические препараты по описанной выше методике.

Все исследования на животных были выполнены с соблюдением международных правил биоэтики в соответствии с требованиями Хельсинкской декларации и правил гуманного отношения к лабораторным животным.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Исследование цитотоксичности и матриксных для клеток свойств *in vitro* на модели иммортализованной культуры ФЧ осуществлено для всей линейки материалов, включающей полилактогликолид, СНК и композиты на их основе с разным размером коралловых частиц. Через 24 ч культивирования к поверхности исследованных материалов приклеилось и распласталось от 35 до 74,2% от инициального пула клеток (см. таблицу). Далее ПЖК во всех образцах (кроме ультрадисперсного СНК) начал постепенно нарастать и к 14-м суткам во всех пробах оказался близким

или несколько превосходящим контроль. Низкий (10,7–53,9%) пул жизнеспособных ФЧ во все сроки был выявлен в лунках с ультрадисперсным СНК. При микроскопическом исследовании установлено, что гранулы СНК размером менее 200 мкм слипаются между собой, что, вероятно, затрудняет как адгезию, так и распластывание на них клеток. Следует также отметить, что на композите полилактогликолида со СНК мелкой (200–600 мкм) или крупной (>600 мкм) дисперсности прирост числа ФЧ во все сроки культивирования был ниже, чем просто на частицах СНК соответствующих размеров. В целом полученные результаты свидетельствуют о том, что все материалы (за исключением ультрадисперсного СНК) не токсичны в отношении культуры ФЧ и характеризуются удовлетворительными матриксными качествами поверхности, что обеспечивает пролиферацию клеток на их поверхности (см. таблицу).

На следующем этапе исследовали биосовместимость всех образцов в подкожном тесте у мышей. При визуальном осмотре всех макропрепаратов через 2 нед после операции оказалось, что имплантаты окружены тонкой соединительнотканной капсулой, интимно прилегающей к материалу, с выраженным капиллярным рисунком по ее поверхности (рис. 1). В динамике наблюдения толщина капсулы незначительно увеличилась, интенсивность неоваскуляризации несколько возрастала. Принципиальных различий в макропрепаратах из разных материалов отмечено не было.

Далее осуществили анализ микропрепаратов со СНК различной дисперсности, полилактогликолидом и МПК на их основе. На рис. 2 представлена

Показатели оптической плотности (в усл. ед.) раствора формазана и ПЖК (в %) при культивировании ФЧ на образцах полилактогликолида с гранулами СНК разных размеров

Образцы	Сроки инкубации, сутки				
	1-е	3-и	7-е	10-е	14-е
Полистирен (контроль клеток)	$0,391 \pm 0,001$ 100	$0,574 \pm 0,007$ 100	$0,895 \pm 0,014$ 100	$1,183 \pm 0,045$ 100	$1,438 \pm 0,023$ 100
1-я группа	$0,290 \pm 0,005^*$ 74,2	$0,458 \pm 0,017^*$ 79,8	$0,903 \pm 0,043$ 100,9	$1,170 \pm 0,031$ 98,9	$1,302 \pm 0,033^*$ 90,5
2-я группа	$0,159 \pm 0,004^*$ 40,7	$0,355 \pm 0,035^*$ 61,8	$0,886 \pm 0,019$ 99,0	$1,101 \pm 0,085$ 93,1	$1,526 \pm 0,039$ 106,1
3-я группа	$0,280 \pm 0,017^*$ 71,6	$0,414 \pm 0,026^*$ 72,1	$0,771 \pm 0,072$ 86,1	$1,259 \pm 0,062$ 106,4	$1,457 \pm 0,040$ 101,3
4-я группа	$0,327 \pm 0,026$ 83,6	$0,495 \pm 0,041$ 86,2	$0,666 \pm 0,023^*$ 74,4	$0,982 \pm 0,160$ 83,0	$1,360 \pm 0,021$ 94,6
5-я группа	$0,137 \pm 0,003^*$ 35,0	$0,168 \pm 0,014^*$ 29,3	$0,096 \pm 0,014^*$ 10,7	$0,243 \pm 0,015^*$ 20,5	$0,775 \pm 0,046^*$ 53,9
6-я группа	$0,255 \pm 0,007^*$ 65,2	$0,401 \pm 0,006^*$ 69,9	$0,797 \pm 0,004^*$ 89,1	$1,375 \pm 0,016^*$ 116,2	$1,586 \pm 0,092$ 110,3
7-я группа	$0,268 \pm 0,011^*$ 68,5	$0,380 \pm 0,004^*$ 66,2	$0,907 \pm 0,019$ 101,3	$1,486 \pm 0,099^*$ 125,6	$1,680 \pm 0,041^*$ 116,8

Примечание. В числителе — показатель оптической плотности, в знаменателе — ПЖК. * — достоверность различий с контролем при $p < 0,05$.

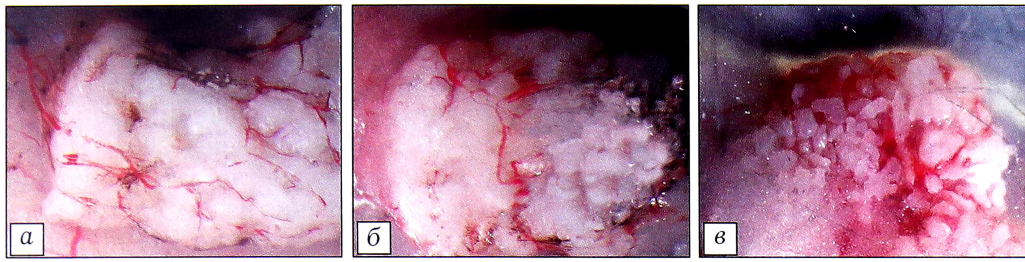


Рис. 1. Формирование васкуляризированной соединительнотканной капсулы вокруг имплантированных подкожно материалов через 2 нед после операции. Ув. 20.

а — полилактогликолид; б — МПК на основе полилактогликолида и крупнодисперсного СНК; в — крупнодисперсный СНК.

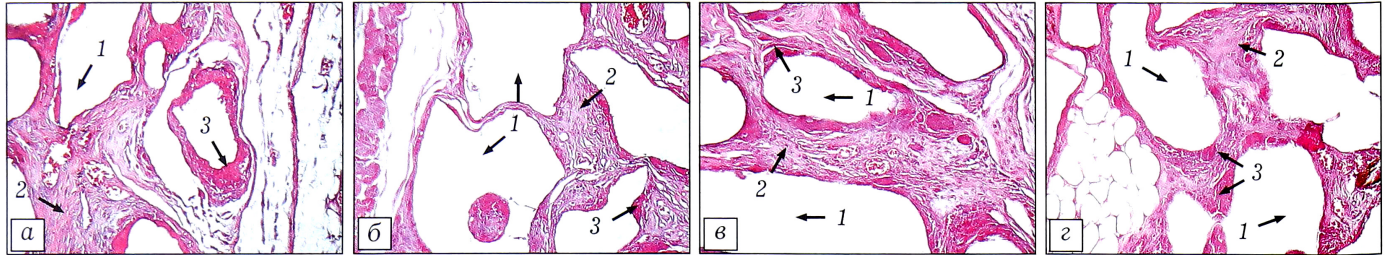


Рис. 2. Микропрепараты зоны имплантации гранул мелкодисперсного СНК подкожно мышам через 4 нед (а), 6 нед (б), 9 нед (в), 12 нед (г) после операции.

1 — зона имплантации после декальцинации, 2 — соединительнотканная капсула вокруг имплантата, 3 — клетки инородных тел. Здесь и на рис. 3–7: окраска гематоксилином и эозином. Ув. 100.

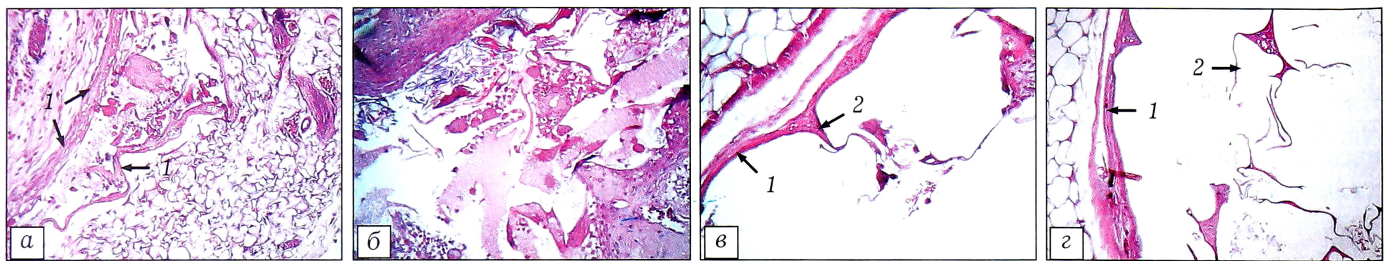


Рис. 3. Микропрепараты зоны имплантации полилактогликолида подкожно мышам через 2 нед (а); 4 нед (б); 9 нед (в); 12 нед (г) после операции.

1 — соединительнотканная капсула вокруг имплантата, 2 — врастание соединительной ткани в пространство имплантата.

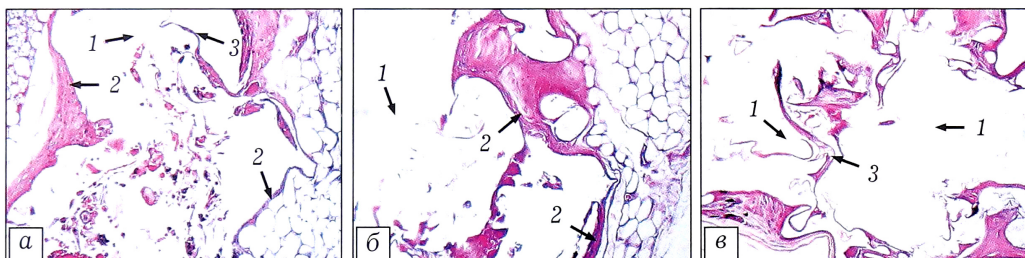


Рис. 4. Микропрепараты зоны имплантации МПК на основе полилактогликолида и мелкодисперсного СНК подкожно мышам через 2 нед (а), 6 нед (б) и 12 нед (в) после операции.

1 — зона имплантации после декальцинации, 2 — соединительнотканная капсула вокруг имплантата, 3 — врастание соединительной ткани в пространство имплантата.

зона имплантации мелкодисперсного СНК. Места нерезорбированных гранул здесь и далее выглядели (вследствие декальцинации) в виде пустот. Видно, что гранулы окружены правильно организованной васкуляризированной соединительной тканью; на границе гранул и соединительной ткани определялись многоядерные клетки инородных тел. Количество соединительной ткани с увеличением сроков наблюдения нарастало (см. рис. 2). Сходная картина была получена для ультрадисперсных (<200 мкм) и крупных (>600 мкм) гранул. Особенностью ультрадисперсного СНК являлось то, что гранулы «слиплись» в единый имплантат, который был окружен единой соединительной тка-

нью капсулы. Этот имплантат медленно резорбировался, на что косвенно указывали его не изменяющиеся со временем размеры и слабое прорастание в его пространство соединительной ткани. Крупнодисперсный СНК также слабо резорбировался и слабо замещался соединительной тканью в сроки наблюдения до 12 нед. Таким образом, СНК подтвердил свою биосовместимость, а размер гранул 200–600 мкм признан оптимальным для исследования процессов биорезорбции.

Иную гистологическую картину наблюдали после помещения под кожу мышей полилактогликолида (рис. 3): вокруг имплантата сформировалась общая соединительнотканная капсула, которая за

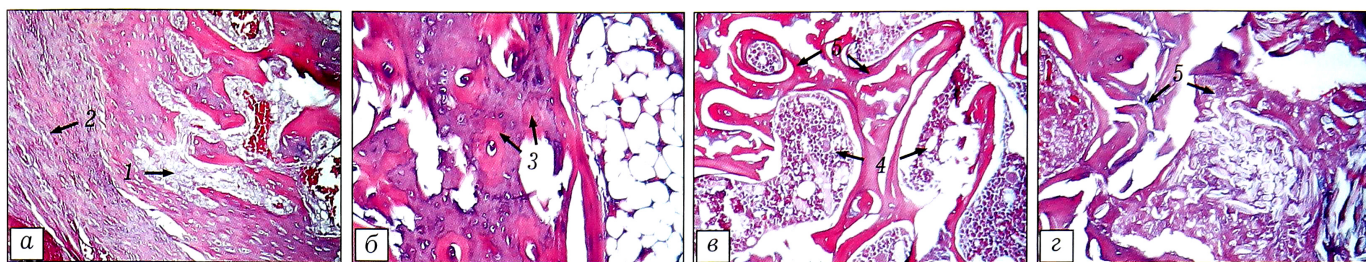


Рис. 5. Репаративные процессы в дефекте бедренной кости крысы, замещенном гранулами мелкодисперсного СНК, через 3 нед (а), 9 нед (б), 12 нед (в), 16 нед (г) после операции.

1 — формирующийся костно-мозговой матрикс, 2 — надкостница, 3 — компактная костная ткань в зоне имплантации, 4 — очаги гемопоэза, 5 — губчатая костная ткань.

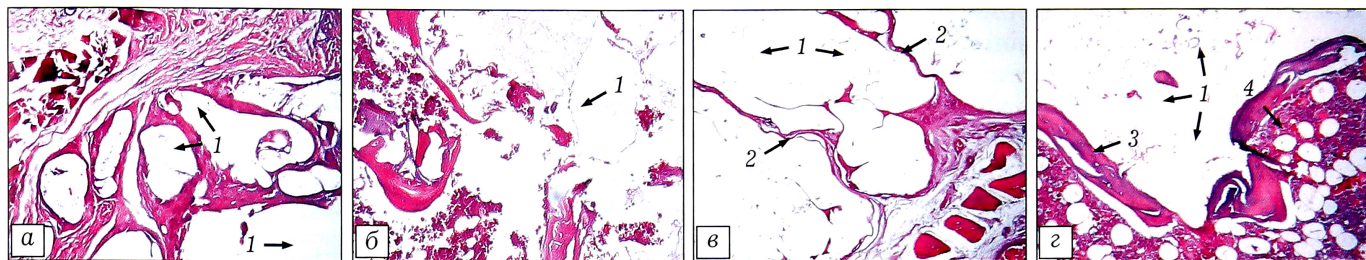


Рис. 6. Репаративные процессы в дефекте бедренной кости крысы, замещенном гранулами полилактогликолида через 3 нед (а), 9 нед (б), 12 нед (в), 16 нед (г) после операции.

1 — зона имплантации после декальцинации, 2 — соединительнотканная капсула вокруг имплантата, 3 — губчатая костная ткань, 4 — костный мозг с явлениями отека.

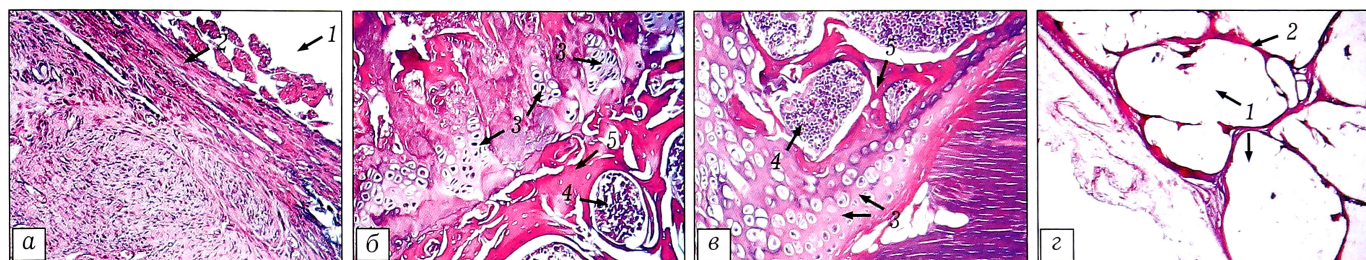


Рис. 7. Репаративные процессы в дефекте бедренной кости крысы, замещенном гранулами полилактогликолида и мелкодисперсного СНК через 3 нед (а), 9 нед (б), 12 нед (в), 16 нед (г) после имплантации.

1 — зона имплантации после декальцинации, 2 — соединительнотканная капсула вокруг имплантата, 3 — очаги энхондрального остеогенеза, 4 — очаги гемопоэза, 5 — губчатая костная ткань.

12 нед наблюдения прорастала в имплантат лишь отдельными тонкими спикулами (см. рис. 3, в, г). Элементов воспаления в окружающих тканях не выявлено. На основании полученных данных формально полилактогликоид следует отнести к биосовместимым материалам, но с той оговоркой, что он слишком медленно замещается тканями реципиента.

Сходная (с полилактогликоидом) картина отмечена при исследовании в подкожном тесте МПК на основе полилактогликолида и мелкодисперсного СНК: как и в случае «чистого» полилактогликолида, имплантат уже через 2 нед был окружен тонкой соединительнотканной капсулой, которая в более поздние сроки прорастала тонкими спикулами в пространство имплантата (рис. 4). Таким образом, реакцию на этот композиционный материал определял полилактогликоид, который замедлял (в сравнении с мелкодисперсным СНК) замещение имплантата тканями реципиента.

На заключительном этапе доклинических испытаний исследовали остеопластические свойства композита «полилактогликоид — мелкодисперсный СНК» на модели дефекта бедренной кости крысы в линейке материалов: «мелкодисперсный СНК» — «полилактогликоид — мелкодисперсный СНК» — «полилактогликоид». При использовании в качестве остеозамещающего материала мелкодисперсного СНК в зоне имплантации наблюдали процессы, описанные нами ранее [2]: активный периостальный остеогенез спустя 3 нед после имплантации (рис. 5, а) с органотипическим закрытием зоны дефекта уже через 9 нед после операции: восстановление компактной костной ткани в кортикальной зоне (рис. 5, б) и губчатой костной ткани с очагами гемопоэза в центральной части окончательного дефекта (рис. 5, в, г).

Иная картина наблюдалась при замещении костного дефекта полилактогликоидом (рис. 6): репаративный остеогенез во все сроки наблюдения в

зоне дефекта выявлен не был. Гранулы вещества оказались окруженными ободками не костной, а собственно соединительной ткани. В костном мозге (в прилежащей к зоне дефекта губчатой костной ткани) наблюдались явления отека (см. рис. 6).

При исследовании репаративных процессов в костном дефекте, заполненном микрочастицами композита «полилактогликолид — мелкодисперсный СНК», через 3 нед в отдельных зонах вокруг имплантата сформировался вал из соединительной ткани (рис. 7, а); через 9–12 нед в зоне имплантации отмечено органотипическое замещение дефекта путем как периостального, так и энхондрального остеогенеза с формированием по периферии компактной костной ткани, а в центре дефекта — губчатой костной ткани с очагами гемопоэза (рис. 7, б, в). В то же время через 16 нед фрагменты полилактогликолида оказались отнесенными к периферии дефекта, и вокруг них сформировались ободки собственно соединительной ткани (рис. 7, г).

ВЫВОДЫ.

1. В испытаниях *in vitro* показано, что композиционный материал на основе высокомолекулярного полилактогликолида и СНК различной дисперсности: (ультра-, мелко- и крупнодисперсный) не токсичен и обладает удовлетворительными матриксными (для клеток) свойствами. Оптимальным для композита оказался размер микрочастиц СНК 200–600 мкм. Это подтверждено и в испытаниях композитов *in vivo* в подкожном тесте у мышей.

2. Как полилактогликолид, так и композит на его основе со СНК могут быть отнесены к биосовместимым материалам. Однако обращает внимание низкая скорость замещения полилактогликолида соединительной тканью под кожей мышей. Реакция на имплантацию под кожу мышей композита «полилактогликолид — мелкодисперсный СНК» в большей мере определяется не СНК, а полилактогликолидом, что выражается в сравнительно медленном замещении имплантата соединительной тканью.

3. В зоне костного дефекта (у крыс), заполненного полилактогликолидом, также формируется соединительнотканная капсула. При имплантации в костный дефект мелкодисперсного СНК имеет место активный периостальный остеогенез с полным замещением коралла органотипически организованной костной тканью. При использовании биокомпозита «полилактогликолид — мелкодисперсный СНК» данный тип полилактогликолида инициирует образование соединительной ткани вокруг имплантата, а частицы СНК обеспечивают остеогенез в зоне дефекта. Кроме того, обнаружено, что полилактогликолид в присутствии частиц СНК стимулирует энхондральный остеогенез в костном дефекте.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № «12-02-00729а»

ЛИТЕРАТУРА [REFERENCES]

1. Dorozhkin S.V. Bioceramics of calcium orthophosphates. *Biomaterials*. 2010; 31: 1465–85.
2. Gardin C., Ferroni L., Favero L., Stellini E., Stomaci D., Sivoletta S., Bressan E., Zavan B. Nanostructured biomaterials for tissue engineered bone tissue reconstruction. *Int. J. Mol. Sci*. 2012; 13 (1): 737–57.
3. Venugopal J., Prabhakaran M.P., Zhang Y., Low S., Choon A.T., Ramakrishna S. Biomimetic hydroxyapatite-containing composite nanofibrous substrates for bone tissue engineering. *Philos. Trans. A Math. Phys. Eng. Sci*. 2010; 368 (1917): 2065–81.
4. Barbieri D., Renard A.J., de Bruijn J.D., Yuan H. Heterotopic bone formation by nano-apatite containing poly(D,L-lactide) composites. *Eur. Cell Mater*. 2010; 19: 252–61.
5. Lam C.X.F., Olkowsky R., Swieszkowski W., Tan K.C., Gibson I., Hutmacher D.W. Mechanical and *in vitro* evaluations of composite PLDLLA/TCP scaffolds for bone engineering. *Virtual and Physical Prototyping*. 2008; 3 (4): 193–7.
6. Haaparanta A.M., Haimi S., Ellä V., Hopper N., Miettinen S., Suuronen R., Kellomäki M. Porous polylactide/ β -tricalcium phosphate composite scaffolds for tissue engineering applications. *J. Tissue Eng. Regen. Med*. 2010; 4 (5): 366–73.
7. Demers C., Hamdy C.R., Corsi K., Chellat F., Tabrizian M., Yahia L. Natural coral exoskeleton as a bone graft substitute: A review. *Biomed. Mater. Eng*. 2002; 12 (1): 15–35.
8. Wu Y.C., Lee T.M., Chiu K.H., Shaw S.Y., Yang C.Y. A comparative study of the physical and mechanical properties of three natural corals based on the criteria for bone-tissue engineering scaffolds. *J. Mater. Sci Mater. Med*. 2009; 20 (6): 1273–80.
9. Сергеева Н.С., Свиридова И.К., Баринов С.М., Комлев В.С., Кирсанова В.А., Ахмедова С.А., Фадеева И.В., Молодцова Т.Н., Петракова Н.В., Антохин А.И., Павлова Г.В., Шанский Я.Д. Комплексное изучение природных кораллов для решения проблем реконструкции/инженерии костной ткани. I. Изучение физико-химических и матриксных (для клеток) свойств природных кораллов. *Технологии живых систем*. 2012; 9 (8): 3–13 [Sergeeva N.S., Sviridova I.K., Barinov S.M., Komlev V.S., Kirsanova V.A., Akhmedova S.A., Fadeeva I.V., Molodtsova T.N., Petrakova N.V., Antokhin A.I., Pavlova G.V., Shansky Ja.D. Complex study of natural corals for bone tissue reconstruction/engineering. I. The study of physicochemical and cell matrix properties of natural corals. *Tekhnologii zhivyykh system*. 2012; 9 (8): 3–13 (in Russian)].
10. Сергеева Н.С., Свиридова И.К., Баринов С.М., Комлев В.С., Кирсанова В.А., Ахмедова С.А., Фадеева И.В., Молодцова Т.Н., Петракова Н.В., Антохин А.И., Павлова Г.В., Шанский Я.Д. Комплексное изучение природных кораллов для решения проблем реконструкции/инженерии костной ткани. II. Изучение биосовместимости и остеокондуктивных потенциалов природных кораллов. *Технологии живых систем*. 2012; 9 (10): 23–30 [Sergeeva N.S., Sviridova I.K., Barinov S.M., Komlev V.S., Kirsanova V.A., Akhmedova S.A., Fadeeva I.V., Molodtsova T.N., Petrakova N.V., Antokhin A.I., Pavlova G.V., Shansky Ja.D. Complex study of natural corals for bone tissue reconstruction/engineering. II. The study of biocompatibility and osteoconductive properties of natural corals. *Tekhnologii zhivyykh system*. 2012; 9 (10): 23–30 (in Russian)].
11. Попов В.К., Краснов А.П., Воложин А.И., Хоудл С.М. Новые биоактивные композиты для регенерации костных тканей. *Перспективные материалы*. 2004; 4: 49–57 [Popov V.K., Krasnov A.P., Volozhin A.I., Houdl S.M. New bioactive composite materials for bone tissues re-

generation. Perspektivnye materialy. 2004; 4: 49–57 (in Russian)].

12. Mossman T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. J. Immunol. Methods. 1983; 65: 55–63.
13. Чиссов В.И., Свиридова И.К., Сергеева Н.С., Франк Г.А., Кирсанова В.А., Ахмедова С.А., Решетов И.В., Филушин М.М., Баринов С.М., Фадеева И.В., Комлев В.С. Исследование in vivo биосовместимости и динамики

замещения дефекта голени крыс пористыми гранулированными биокерамическими материалами. Клеточные технологии в биологии и медицине. 2008; 3: 151–6 [Chissov V.I., Sviridova M.M., Sergeeva N.S., Frank G.A., Kirsanova V.A., Akhmedova S.A., Reshetov I.V., Filyushin M.M., Barinov S.M., Fadeeva I.V., Komlev V.S. Study of in vivo biocompatibility and dynamics of replacement of rat shin defect with porous granulated bioceramic materials. Kletochnye tekhnologii v biologii i meditsine. 2008; 3: 151–6 (in Russian)].

Сведения об авторах: Сергеева Н.С. — профессор, доктор биол. наук, рук. отделения прогноза эффективности консервативного лечения МНИОИ; Свиридова И.К. — канд. биол. наук, старший науч. сотр. того же отделения; Франк Г.А. — акад. РАМН, профессор, доктор мед. наук, рук. патологоанатомического отделения МНИОИ; Кирсанова В.А., Ахмедова С.А. — кандидаты биол. наук, научные сотрудники отделения прогноза эффективности консервативного лечения МНИОИ; Шанский Я.Д. — младший. науч. сотр. того же отделения; Кротова Л.И. — науч. сотр. лаборатории сверхкритических флюидных технологий ИПЛИТ РАН; Попов В.К. — канд. физ.-мат. наук, зав. лаборатории сверхкритических флюидных технологий ИПЛИТ РАН.

Для контактов: Сергеева Наталья Сергеевна. 125284, Москва, 2-й Боткинский пр., 3, МНИОИ им. П.А. Герцена. Тел.: +7 (495) 945–74–15. E-mail: prognoz.06@mail.ru

© Коллектив авторов, 2013

ВЛИЯНИЕ СТЕПЕНИ ЗАМЕЩЕНИЯ КАЛЬЦИЯ СЕРЕБРОМ В ТРИКАЛЬЦИЙФОСФАТЕ НА ЕГО БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА IN VITRO

В.Э. Хон, Н.В. Загородний, В.С. Комлев, И.В. Фадеева, В.Г. Булгаков,
Н.С. Сергеева, И.К. Свиридова, Э.Р. Толордава, Л.В. Диденко

ФГБУ «Центральный научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова» Минздрава России; ФГБУН «Институт металлургии и материаловедения им. А.А. Байкова» РАН; ФГБУ «НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, РФ

Представлены результаты исследований in vitro серебросодержащего трикальцийфосфата (ТКФ-Ag). Установлено, что биоматериал не проявляет радикалообразующей активности. Серебросодержащие формы ТКФ оказывают бактериостатическое действие на Staphylococcus haemolyticus и Escherichia coli. Доказан дозозависимый эффект ТКФ-Ag в отношении антибактериальных и цитотоксических свойств. Установлено, что ТКФ с расчетным замещением 0,5 характеризуется умеренной цитотоксичностью при сохранении антибактериальных свойств.

Ключевые слова: трикальцийфосфат, ионы серебра, радикалообразующая способность, антибактериальные свойства, цитотоксичность.

Influence of the Degree of Calcium Substitution by Argentum in Tricalcium Phosphate on Its Biological Properties In Vitro

V.E. Khon, N.V. Zagorodniy, V.S. Komlev, I.V. Fadeev, V.G. Bulgakov,
N.S. Sergeeva, I.K. Sviridova, E.R. Tolordava, L.V. Didenko

Results of in vitro study of argentum containing tricalcium phosphate (TCPPh-Ag) are presented. It is shown that biomaterial does not possess radical forming activity. Argentum containing forms of TCPPh render bacteriostatic effect upon Staphylococcus haemolyticus and Escherichia coli. Dose-dependent effect of TCPPh-Ag in relation to antibacterial and cytotoxic properties is demonstrated. It is determined that TCPPh with rated substitution 0.5 is characterized by moderate cytotoxicity with preservation of antibacterial properties.

Key words: tricalcium phosphate, argentum ions, radical forming ability, antibacterial properties, cytotoxicity.

Перипротезная инфекция при эндопротезировании тазобедренного сустава считается одним из наиболее тяжелых осложнений, требующих пристального внимания, больших экономических затрат, продолжительной госпитализации и часто при-

водящих к глубокой инвалидности пациентов [1–6]. Гнойные осложнения после ревизий эндопротезов тазобедренного сустава могут снизить долю положительных результатов на 11% и даже привести к летальному исходу [7].