

- России». Казань — СПб, 2008; Вып. IV: 196–200 [Voloshin V.P., Lekishvili M.V., Onoprienko G.A., Lekishvili M.V., Vasil'ev M.G. In: Collected scientific articles «Arthroplasty in Russia». Kazan' – St. Petersburg, 2008, 4: 196–200 (in Russian)].
5. Волошин В.П., Мартыненко Д.В., Лекишвили М.В. Костная аллопластика дефектов вертлужной впадины при ревизионном эндопротезировании тазобедренного сустава. В кн.: Материалы IV Всероссийского симпозиума с международным участием: «Актуальные вопросы тканевой и клеточной трансплантологии». СПб.; 2010: 221–2 [Voloshin V.P., Martynenko D.V., Lekishvili M.V. Bone plasty of the acetabulum in revision total hip arthroplasty. In: Actual issues of tissue and cell transplantation: Proc. 4th All-Rus. Symp. with Int. Participation. St. Petersburg; 2010: 221–2 (in Russian)].
 6. Волошин В.П., Еремич А.В., Оноприенко Г.А., Лекишвили М.В., Васильев М.Г. Двухэтапное тотальное замещение тазобедренных суставов в условиях глубокой перипротезной инфекции. Вестник травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова. 2012; 4: 3–9 [Voloshin V.P., Eryomina A.V., Onoprienko G.A., Lekishvili M.V., Vasil'ev M.G. Two-step total hip arthroplasty in deep periprosthetic infection. Vestnik travmatologii i ortopedii im. N.N. Priorova. 2012; 4: 3–9 (in Russian)].
 7. Voloshin V., Martynenko D., Zubikov V. et al. Acetabulum defects bone alloplasty at inspection hip replacement. Mat. 19th International Congress of the European Association of Tissue Banks. Berlin; 2010: 107.
 8. Лекишвили М.В. Технологии изготовления костного пластического материала для применения в восстановительной хирургии (экспериментальное исследование): Дис. ... д-ра мед. наук. М.; 2005 [Lekishvili M.V. Technology of bone plastic material production for application in restorative surgery (experimental study). Dr. med. sci. Diss. Moscow; 2005 (in Russian)].
 9. Привес М.Г., Лысенков Н.К., Бушкович В.И. Анатомия человека. М.: Медицина; 1985: 90–8 [Prives M.G., Lysenkov N.K., Bushkov V.I. Human anatomy. Moscow: Meditsina; 1985 90–8 (in Russian)].
 10. Лекишвили М.В., Васильев М.Г., Баракина О.Ю., Гаврюшенко Н.С., Юрасова О.Б., Панкратов А.С. Механические свойства аллогенной костной ткани свода черепа после деминерализации, лиофилизации и радиационной стерилизации. Технологии живых систем. 2009; 6 (3): 38–43 [Lekishvili M.V., Vasil'ev M.G., Barakina O.Yu., Gavryushenko N.S., Yurasova O.B., Pankratov A.S. Mechanical properties of allogenic bone tissue of the calvarium after demineralization, lyophilization and radiation sterilization. Tekhnologii zhivyykh system. 2009; 6 (3): 38–43 (in Russian)].

Сведения об авторах: Чеканов А.С. — младший науч. сотр. отделения травматологии и ортопедии МОНКИ им. М.Ф. Владимирского; Волошин В.П. — доктор мед. наук, профессор, рук. отделения травматологии и ортопедии МОНКИ им. М.Ф. Владимирского; Лекишвили М.В. — доктор мед. наук, зав. лабораторией «Тканевой банк» ЦИТО им. Н.Н. Приорова; Очкуренко А.А. — доктор мед. наук, профессор, рук. организационно-методического отдела ЦИТО им. Н.Н. Приорова; Мартыненко Д.В. — доцент каф. травматологии и ортопедии МОНКИ им. М.Ф. Владимирского. Для контактов: Чеканов Андрей Сергеевич. 129110, Москва, ул. Щепкина 61/2, корп. 11. Тел.: +7 (916) 725–76–56. E-mail: and-chekanov@yandex.ru.

© А.В. Волков, 2015

К ВОПРОСУ О БЕЗОПАСНОСТИ ОСТЕОПЛАСТИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

А.В. Волков

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт морфологии человека», Москва, РФ

В работе представлены материалы экспериментальных и клинических исследований, в которых использовались остеопластические материалы различных групп. Выявлено, что имплантация остеопластических материалов обуславливает развитие хронического продуктивного воспаления по типу реакции на инородное тело. В свою очередь процесс образования кости в регенерате, содержащем остеопластический материал, сопряжен с резорбцией вновь образованной костной ткани, лежащей на его поверхности. Проведен анализ причин низкой биологической совместимости материалов и предложена схема планирования исследований безопасности и эффективности остеопластических материалов.

Ключевые слова: регенерация костной ткани, остеопластические материалы.

On the Safety of Osteoplastic Materials

A.V. Volkov

Research Institute of Human Morphology, Moscow, Russia

Experimental and clinical studies of osteoplastic materials of various groups were performed. It was shown that implantation of osteoplastic materials stipulated the development of chronic productive inflammation by the type of foreign body response while the process of bone formation in the regenerate containing osteoplastic material entailed resorption of newly formed bone tissue on its surface. Analysis of the reasons of low biocompatibility of the materials was performed and scheme for osteoplastic material safety and efficacy study planning was proposed.

Key words: tissue regeneration, osteoplastic materials.

В последние десятилетия активное развитие получила регенеративная медицина костной тка-

ни. Одним из ее направлений следует считать использование остеопластических материалов, при-

званных обеспечить оптимальные условия течения регенеративного процесса в костной ране. На сегодняшний день как в нашей стране, так и за рубежом сложился рынок коммерческих материалов, эффективность которых обусловлена их остеокондуктивными свойствами. Подобные материалы можно разделить на синтетические и натуральные, а также, с учетом их химического состава, — на минеральные, органические, композитные.

Синтетические остеопластические материалы в основном содержат соли кальция фосфорной или угольной кислот, поскольку они, как считают производители, способны к быстрой резорбции *in vivo*. К ним же относят и полимеры короткоцепочных органических кислот, например молочной. Натуральные материалы прежде всего характеризуются природным происхождением, — это, например кораллы, гидроксипатит кости, полученный отжигом, деминерализованные и частично деминерализованные костные материалы человека и костей крупного рогатого скота и др. [1–3].

Путь остеопластического материала от разработки до клинического применения в нашей стране намного короче, чем у фармакологических средств, поскольку указанные материалы отнесены к изделиям медицинского назначения, а их безопасность и эффективность исследуется по упрощенной схеме. Доклинические и клинические исследования остеопластических материалов выполняются в основном в рамках научно-квалификационных трудов, причем заинтересованность сторон в положительном результате становится очевидной. Патоморфологическая экспертиза образцов ткани, содержащих материал, выполняется подчас не совсем качественно, расставляются неверные акценты, не проводится количественная оценка. Так, в ряде научных публикаций описания гистологических препаратов довольно скудны и не всегда характеризуют те явления, которые отображены в иллюстративном материале, в коллективе авторов отсутствует патоморфолог [4]. Таким образом, проблему формирования доказательной базы эффективности и безопасности остеопластических материалов следует считать достаточно актуальной.

В настоящей работе проведен анализ гистоморфологических результатов экспериментальных и клинических исследований эффективности и безопасности остеопластических материалов за период с 2005 по 2015 г., выполненных в различных научно-исследовательских учреждениях нашей страны (ФГБУ «ЦНИИС и ЧЛХ», ФГБУ ВПО «МГМСУ им. А.И. Евдокимова», ФГБУ «НИИ морфологии человека РАМН», частных стоматологических учреждений и др.).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Гистологическое исследование образцов ткани проводили непосредственно после биопсии. Материал помещали в 10% раствор формалина на фосфатном буфере на 72 ч, после чего в течение 24 ч

образцы ткани промывали в проточной воде. После стандартной гистологической проводки образцы тканей заливали в парафин («Гистомикс», Бювитрум), используя гистологические заливочные кольца (Бювитрум). Серийные срезы толщиной 7 мкм получали на микротоме Microm. Для изучения срезов тканей применяли: обзорные окраски — гематоксилином и эозином по Бокку, Майеру; для выявления специфических процессов образования костной ткани и ее резорбции препараты окрашивали по Массону и по Массону — Голднеру («BioOptica», Italy). После окраски препараты заключали в монтирующую среду и высушивали в течение 2 нед при комнатной температуре. Фотодокументирование проводилось на микроскопе Leica DM 2500 с фотокамерой Leica DTC 295. В качестве метода рандомизации использовали следующую схему: если не было необходимости в прицельном изучении объекта, то с помощью генератора случайных чисел Random определяли 5–7 номеров стекол (например, 12, 18, 22, 25, 38 из 50 стекол в серии), изучению и документированию подвергался каждый 3-й срез, если качество было неудовлетворительным, то исследовался последующий и так далее.

Экспериментальные модели. Исследуемый остеопластический материал помещали под кожу (совокупно по всем экспериментальным исследованиям $n=60$) и в область сформированного дефекта теменных костей крыс линии Вистар (совокупно по всем исследованиям $n=30$), новозеландских кроликов (совокупно по всем исследованиям $n=60$), на срок, требуемый задачей исследования. В среднем сроки для имплантации под кожу составляли 3, 7, 14, 30 и 120 дней, для имплантаций в дефект теменных костей — 14, 30, 120 дней. В данной работе представлены результаты, полученные на 30-е сутки экспериментов.

Клинические исследования. Образцы костной ткани (трепанобиоптаты) были получены от пациентов, которым выполнялись операции по увеличению объема костной ткани верхней и нижней челюстей (открытый синус-лифтинг $n=30$, имплантация в лунку удаленного зуба $n=60$) перед установкой дентальных имплантатов. Забор образцов костной ткани осуществляли через 120 дней после имплантации. Разрешения этических комитетов для проведения исследований получались в учреждениях согласно действующему порядку.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Экспериментальные исследования

При сравнительном гистоморфологическом анализе результатов имплантации различных коллагеновых материалов под кожу крысам были выявлены типичные изменения через 30 сут после операции вне зависимости от производителя и насыщения материала различными агентами (костный морфогенетический белок, фактор роста сосудов, гликозаминогликаны и пр.). Обращало на себя вни-

Клинические исследования

мание, что основой реакции макроорганизма на подкожное введение было развитие гранулематозного воспаления: инфильтрация лимфо- и плазмочитами (рис. 1, д, е), с инфильтрацией области введения макрофагами, образованием гигантских клеток инородных тел иногда огромного размера (рис. 1, з, е) и, как следствие, образование фиброзной капсулы вокруг материала (рис. 1, а, б).

В свою очередь подобный материал, введенный в костный дефект, при рентгеновских исследованиях виден как рентгеноконтрастный участок, по плотности напоминающий костную ткань. На обзорном гистологическом препарате (рис. 2, а) теменных костей крыс область костного дефекта выглядит как будто заполненной костным матриксом, однако при детальном рассмотрении можно выявить все то же гранулематозное воспаление вокруг материалов, инфильтрацию лимфо- и плазмочитами, гигантскими клетками инородных тел на поверхности гранул материала, образование фиброзной капсулы (рис. 2, б).

Изучение трепанобиоптатов, полученных от пациентов, которым проводилась направленная регенерация костной ткани с использованием остеопластических материалов, выявило ряд особенностей образования регенератов. Так, при имплантации в лунку удаленного зуба материалов, содержащих лишь минеральный компонент ксеногенной кости, фронт костной регенерации распространяется как свободно, так и по поверхности остеопластического материала, пространство между гранулами заполнено и рыхлой волокнистой соединительной, и фиброзной тканью, причем некоторые гранулы вовсе не имеют контакта с костью (рис. 3, в). На поверхности гранул материала большое количество остеоида (рис. 3, г). Иная картина наблюдается при введении коллагенсодержащего препарата. На рис. 3, а наглядно видно, что среди гранул остеопластического материала преобладают волокна фиброзной ткани, инфильтрированной лимфоцитами. Доля вновь об-

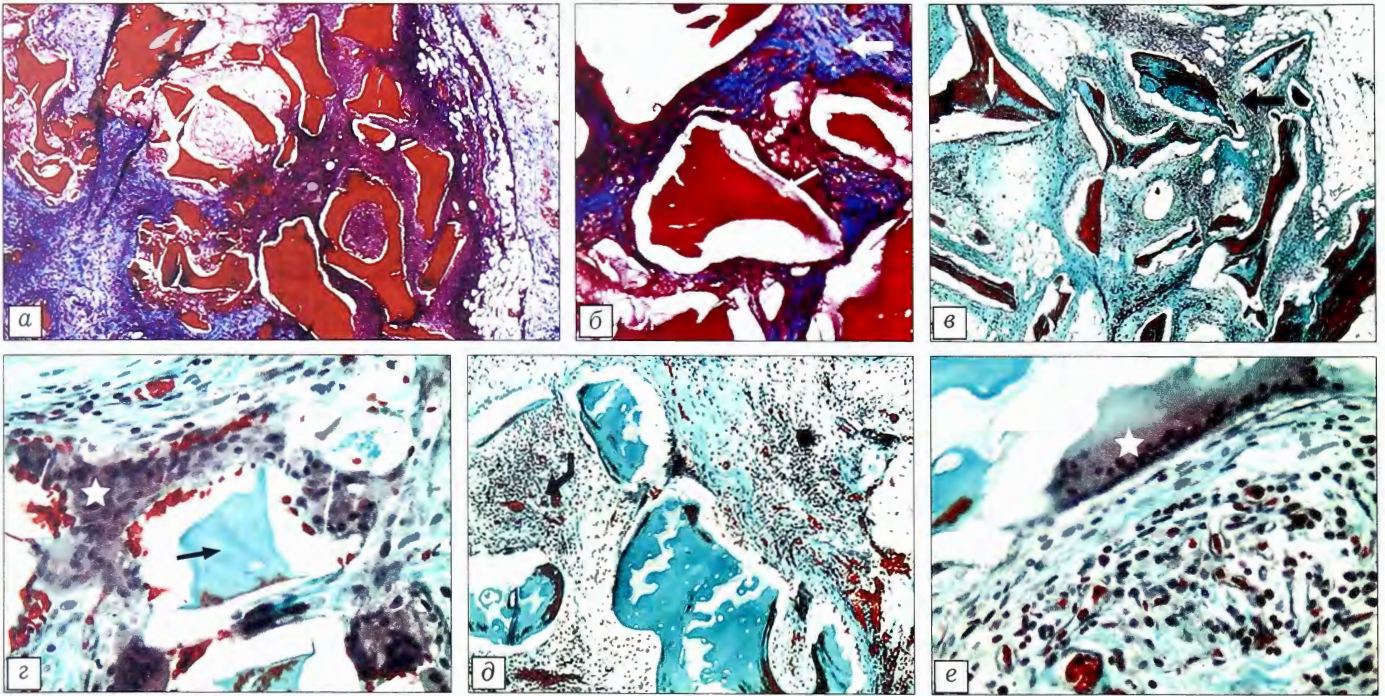


Рис. 1. Результаты имплантации остеопластических материалов под кожу крысам на 30-е сутки. Окраска по Массону (а, б) и по Массону — Голднеру (в-е).

Здесь и на рис. 2, 3: тонкая стрелка — остеопластический материал, толстая стрелка — фиброзная ткань, звездочка — гигантские многоядерные клетки инородных тел, угловая стрелка — воспалительный инфильтрат.

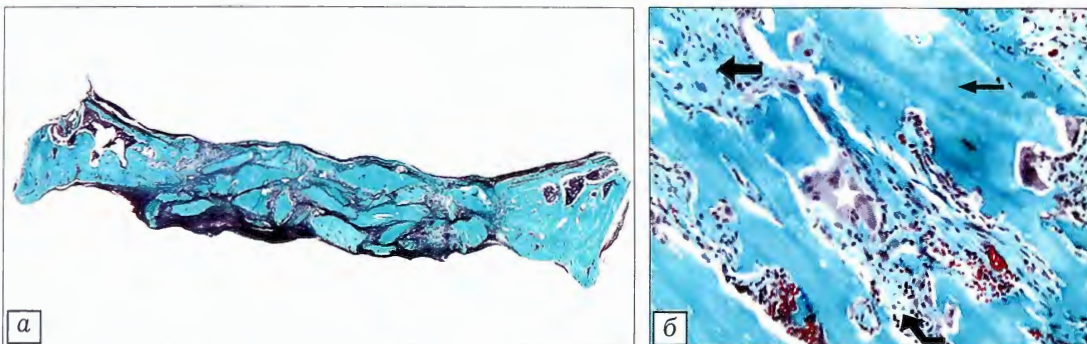


Рис. 2. Гистологический препарат зоны дефекта теменных костей крыс на 30-е сутки после имплантации коллагенсодержащего остеопластического материала. Окраска по Массону — Голднеру.

а — x 32, б — x 400.

разованной кости невелика, но эти немногочисленные участки костного вещества все же имеют контакт с материалом. На поверхности материала обнаруживается множество клеток инородных тел (рис. 3, б).

В свою очередь костный регенерат, образовавшийся к 120-м суткам после имплантации остеопластических материалов в область дна верхнечелюстной пазухи, мало отличается от регенератов в лунке удаленного зуба (рис. 4, а). Однако особенностью на данный срок наблюдения явилось обнаружение феномена попутной резорбции вновь образованной костной ткани и имплантированного материала гигантскими клетками инородных тел (если материал коллагенсодержащий) и клетками остеокластического ряда (если материал минералсодержащий) (рис. 4, б-г). Процессы резорбции как материала, так и кости сопровождаются бурным процессом остеогенеза (рис. 4, б).

Аналогичная картина наблюдается и при трансплантации тканеинженерных конструкций, содержащих аутогенные стромальные клетки жировой ткани, подвергнутые остеогенной дифференцировке, и частично деминерализованный ксеногенный костный материал. Процессы резорбции, как материала, так и кости, сопровождаются бурным процессом остеогенеза (рис. 5).

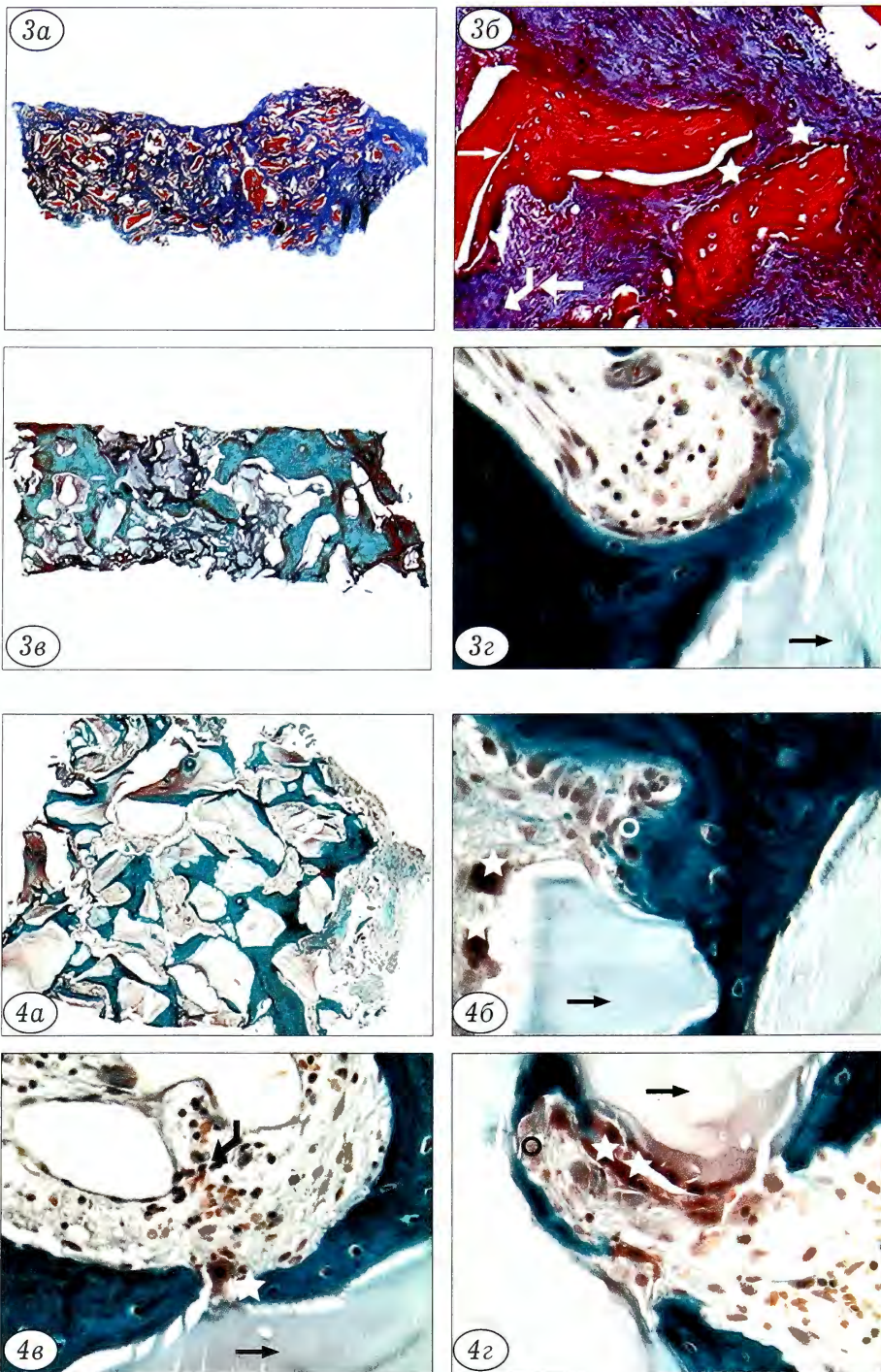


Рис. 3. Гистологическая картина регенератов, содержащих коллагенсодержащие (а, б) и деминерализованные (в, г) остеопластические материалы, помещенные в лунку удаленного зуба. Окраска по Массону (а, б) и по Массону — Голднеру (в, г).

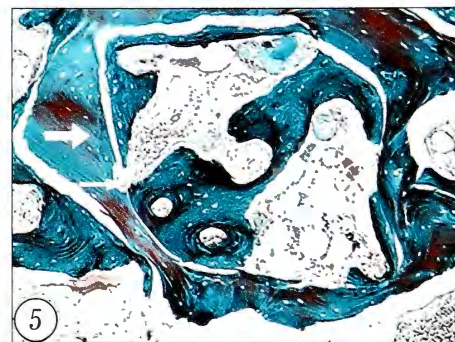
Рис. 4. Гистологические препараты костных регенератов, полученных из области дна верхнечелюстной пазухи через 120 дней после имплантации материала на основе натурального гидроксиапатита. Окраска по Массону — Голднеру.

а — х 32, б, г — х 400, в — 200.

Тонкая стрелка — остеопластический материал, толстая — фиброзная ткань, звездочка — остеокласты, угловая стрелка — воспалительный инфильтрат, кружок — образующаяся костная ткань.

Рис. 5. Гистологический препарат костной ткани через 120 дней после имплантации тканеинженерной конструкции в область дна верхнечелюстной пазухи, содержащей остеопластический материал и аутологичные остеогенные клетки. Окраска по Массону — Голднеру. х 100.

Тонкой стрелкой указан участок одновременной резорбции кости и остеопластического материала, толстой — остеопластический материал.



ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящее время следует признать, что полностью отказаться от использования остеопластических материалов в костной реконструктивной хирургии практически невозможно. Зачастую «проблемы донорских зон» пугают хирурга больше, нежели вероятные осложнения от использования остеопластических материалов, сведения о безопасности и эффективности которых собраны не так скрупулёзно. Так, в одной из публикаций [4] описание гистологической картины представлено следующим образом: «Гистологическая картина участка деминерализованного коллагена через 1 мес после имплантации под конъюнктиву глаза кролика. Вокруг имплантата видна умеренная инфильтрация клетками. Явления воспаления и деструкция имплантата отсутствуют» (рис. 6, а, иллюстрация взята из статьи). Однако при пользовании адекватных окрасок, изучении препаратов на большем увеличении была бы выявлена иная картина (рис. 6, б). Даже на представленной микрофотограмме отчетливо видна воспалительная инфильтрация и контуры гигантских клеток инородных тел в нижнем левом углу картинки.

Хорошо известно, что коллаген имеет невыраженные межвидовые антигенные свойства [5, 6], однако не всегда понятно, по какой причине на доклиническом этапе материалы вызывают хроническое гранулематозное воспаление. В наших наблюдениях мы обнаруживали в частицах остео-

пластического материала лакуны, содержащие остатки хроматина бывших там когда-то остеоцитов (рис. 7). Скептически настроенные исследователи могут заявить, что лакуны заселились клетками реципиента, однако это невозможно вследствие отсутствия подобного механизма образования костной ткани.

Таким образом, если вернуться к вопросу об эффективности и безопасности остеопластических материалов натурального происхождения, то следует отметить, что доклинические экспериментальные исследования должны включать в себя последовательную цепочку этапов, включающих в себя исследования *in vitro* (МТТ-тест), экспериментальные экстраоссальные (имплантация в мышцу и подкожную клетчатку), интраоссальные (в моделях костных дефектов), а уже после получения убедительных данных следует приступать сначала к ограниченному клиническим исследованиям и только потом – к расширенным. На наш взгляд, обязательно следует проводить гистоморфологическое исследование с морфометрией основных параметров костного регенерата для того, чтобы иметь объективные данные, основываясь на которых материал можно было бы рекомендовать к широкому использованию.

ЛИТЕРАТУРА [REFERENCES]

1. *Островский А.С.* Остеогенные материалы в современной пародонтологии и имплантологии. Dent-Inform. 2001; 8: 22–30 [*Ostrovskiy A.S.* Osteogenic materials in modern periodontology and implant dentistry. Dent-Inform; 8: 22-30 (in Russian)].
2. *Orly J.M., Gregory J.* Manantean Hydroxyapatite implant for augmenting deficient alveolar ridges. J. Biomed. Mater. Res. 1999; 12: 1433–40.
3. *Иванов С.Ю., Мухаметшин Р.Ф., Мураев А.А., Бонарцев А.П., Рябова В.М.* Синтетические материалы, используемые в стоматологии для замещения дефектов костной ткани. Современные проблемы науки и образования. 2013; 1 [*Ivanov S.Yu., Mukhametshin R.F., Muraev A.A., Bonartsev A.P., Ryabova V.M.* Synthetic materials used in dentistry to fill bone defects. *Sovremennyye problemy nauki i obrazovaniya.* 2013; 1: 60 (in Russian)].
4. *Иванов А.Ю., Ларионов Е.В., Панин А.М., Кравец В.М., Анисимов С.И., Володина Д.Н.* Разработка материалов для остеопластики на основе коллагена костной ткани. Клиническая стоматология. 2005; 4: 1–3 [*Ivanov A.Yu., Lariovov E.V., Panin A.M., Kravets V.M., Anisimov S.I., Volodina D.N.* Elaboration of osteoplastic materials based on bone tissue collagen. *Klinicheskaya stomatologiya.* 2005; 4: 1-3 (in Russian)].
5. *Берченко В.В.* Особенности влияния коллагеновых препаратов, по-

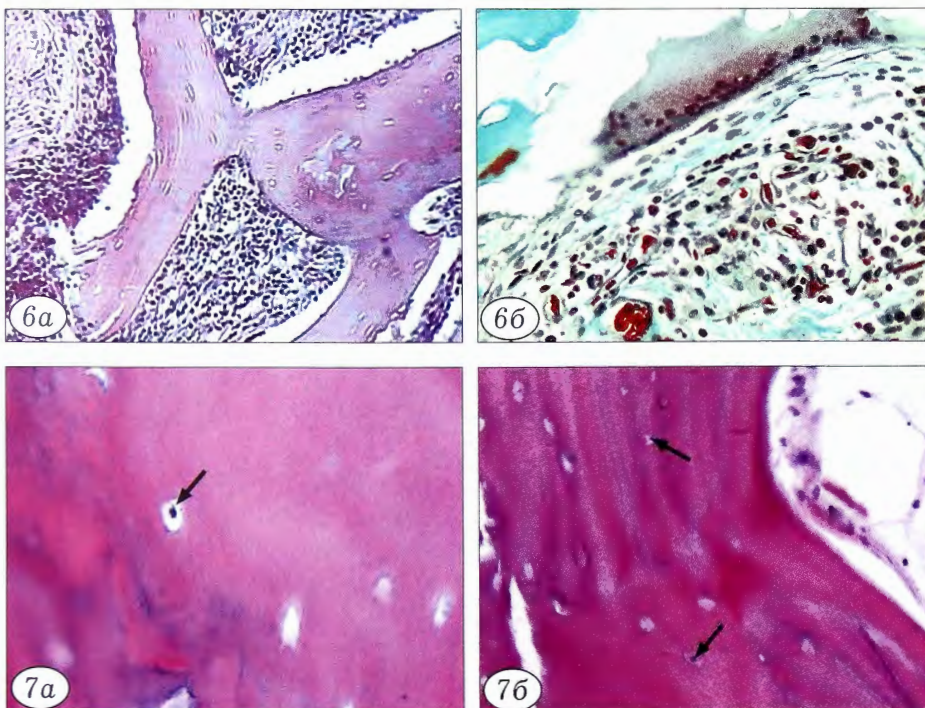


Рис. 6. Остеопластический материал в окружении воспалительного инфильтрата.

Объяснения в тексте.

а — окраска гематоксилином и эозином, б — по Массону — Голднеру. х 400.

Рис. 7. Остатки генетического материала (указаны стрелками) в различных ксеногенных остеопластических материалах.

лученных различными способами, на заживление ран: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М.; 1983 [Verchenko V.V. Peculiarities of the influence of collagen preparations derived by different techniques on wound healing. Cand. med. sci. Diss. Moscow; 1983 (in Russian)].

6. Сыгеников И.А., Абоянц Р.К., Дронов А.Ф. и др. Коллагенопластика в медицине. М.: Медицина; 1978 [Sygenikov I.A., Aboyants R.K., Dronov A.F. et al. Collagen plasty in medicine. Moscow: Meditsina; 1978 (in Russian)].

Сведения об авторе: Волков Алексей Вадимович — канд. мед. наук, старший науч. сотр. лаборатории. роста и развития. Для контактов: 117418, Москва, ул. Цюрупы, д. 3, НИИМЧ. Тел.: +7 (926) 478-87-63. E-mail: alex.volkoff@gmail.com.

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

© Коллектив авторов, 2015

ОРДИНАРНЫЕ И АКТИВИРОВАННЫЕ ОСТЕОПЛАСТИЧЕСКИЕ МАТЕРИАЛЫ

Р.В. Деев, А.Ю. Дробышев, И.Я. Бозо

ОАО «Институт стволовых клеток человека»; ГБОУ ВПО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова»; ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации — Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна» ФМБА России, Москва, РФ



Остеопластические материалы являются высоко востребованными в клинической практике медицинскими изделиями, показанными для замещения костных дефектов и восполнения участков атрофии костной ткани. На основе анализа современных групп остеопластических материалов, особенностей их состава, механизмов биологического действия и показаний к применению предложена прикладная классификация, в соответствии с которой медицинские изделия разделяются на ординарные и активированные. Основным дифференциальным критерием является наличие в составе материала стандартизированных по качественным и количественным параметрам биологически активных компонентов: факторов роста, клеток или генных конструкций, кодирующих факторы роста. Выраженные остеоиндуктивные и (или) остеогенные свойства активированных остеопластических материалов позволяют рассчитывать на их эффективность при замещении протяженных (объемных) костных дефектов.

Ключевые слова: остеопластические материалы, биологически активные компоненты, факторы роста, клетки, генные конструкции.

Ordinary and Activated Osteoplastic Materials

R.V. Deev, A.Yu. Drobyshev, I.Ya. Bozo

Human Stem Cells Institute, Moscow; A.I. Evdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry, Moscow; A.I. Burnazyan Federal Medical and Biophysical Center, Moscow, Russia

Osteoplastic materials are highly required medical devices for bone defects substitution and filling the areas of bone tissue atrophy. Based on analysis of modern groups of osteoplastic materials, features of their composition, mechanisms of biological action, and indications for clinical use, the applied classification which divides the medical items into ordinary and activated categories is proposed. The main differential criterion is the presence of certain biologically active components in the material composition: growth factors, cells or gene constructions encoding growth factors that are standardized by qualitative and quantitative parameters. Pronounced osteoinductive and (or) osteogenic properties of activated osteoplastic materials enable counting on their effectiveness in replacement of large bone defects.

Key words: osteoplastic materials, biologically active components, growth factors, cells, gene constructions.

Костнопластические операции — одна из основных составляющих практики как в травматологии и ортопедии, так и в челюстно-лицевой хирургии.

Высокая частота выполнения таких оперативных вмешательств обусловлена распространенностью и многообразием патологических состояний, приво-