

DOI: <https://doi.org/10.17816/vto624522>

Оценка элементного состава и рентгенологической плотности костной ткани при замещении метафизарного дефекта биокерамическими фосфат-силикатными гранулами (экспериментальное исследование)

А.А. Рождественский¹, Г.Г. Дзюба¹, Д.А. Полонянкин²¹ Омский государственный медицинский университет, Омск, Россия;² Омский государственный технический университет, Омск, Россия

АННОТАЦИЯ

Обоснование. Известно, что биокерамические имплантаты, изолированно содержащие различные соединения кальция или кремния, демонстрируют остеокондуктивный эффект при замещении посттравматических дефектов костной ткани. Совместное использование этих элементов в едином материале должно потенцировать органотипическое заполнение костной полости путём создания благоприятного ионного микроокружения и стадийной биодеградации.

Цель. Выявить корреляцию рентгенологических показателей плотности новообразованной ткани и содержания микро- и макроэлементов в костном дефекте при его замещении биокерамикой с различным массовым соотношением фосфата и силиката кальция.

Материалы и методы. Исследование выполнялось на кроликах-самцах породы белый великан, у которых после получения стандартизированного отграниченного метафизарного костного дефекта для его замещения использовали имплантаты с варьируемым соотношением фосфата кальция и силиката кальция (в пропорциях 40/60, 50/50 и 60/40 масс.%). Оценка результатов проводилась методами мультиспиральной компьютерной томографии и растровой электронной микроскопии и энергодисперсионного анализа с выявлением методом корреляционного анализа возможных связей между полученными данными.

Результаты. Количественные показатели содержания кальция и фосфора в костном регенерате во всех группах нарастали преимущественно в сроки от 30 до 60 суток, а показатели кремния, достигая максимума к 30-м суткам эксперимента, в дальнейшем монотонно снижались, что свидетельствовало об участии этого микроэлемента в пусковых регенераторных процессах, а его снижение служило маркером органотипической перестройки. В ходе элементного анализа новообразованной костной ткани при имплантации биокерамики, содержащей фосфат и силикат кальция в пропорции 60/40 масс.%, были отмечены наибольшее количество кальция, фосфора и кремния и наибольшая плотность новообразованной костной ткани, что имело прямую корреляционную связь, причём эта закономерность наблюдалась как в ранние сроки (30 суток), так и на протяжении всего экспериментального исследования.

Заключение. Анализируя полученные данные, можно сделать вывод о целесообразности изучения особенностей течения репаративного остеогенеза в зависимости от ионного окружения, а также высоком потенциале использования синтетической биокерамики в целом и перспективности применения имплантатов на основе фосфатно-силикатных композитов для замещения костных дефектов.

Ключевые слова: остеогенез; эксперимент; имплантат; фосфат кальция; силикат кальция; мультиспиральная компьютерная томография; растровая электронная микроскопия; энергодисперсионный анализ.

Как цитировать:

Рождественский А.А., Дзюба Г.Г., Полонянкин Д.А. Оценка элементного состава и рентгенологической плотности костной ткани при замещении метафизарного дефекта биокерамическими фосфатно-силикатными гранулами (экспериментальное исследование) // Вестник травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова. 2024. Т. 31, № 3. С. 351–366. DOI: <https://doi.org/10.17816/vto624522>

DOI: <https://doi.org/10.17816/vto624522>

Evaluation of the elemental composition and radiological density of bone tissue when replacing a metaphyseal defect with bioceramic phosphate-silicate granules (experimental study)

Andrey A. Rozhdestvenskiy¹, German G. Dzuba¹, Denis A. Polonyankin²

¹ Omsk State Medical University, Omsk, Russia;

² Omsk State Technical University, Omsk, Russia

ABSTRACT

BACKGROUND: It is known that bioceramic implants containing various calcium or silicon compounds in isolation demonstrate osteoconductive effect in the replacement of post-traumatic bone defects. The combined use of these elements in single material should potentiate the organotypic filling of the bone cavity by creating favorable ion microenvironment and staged biodegradation.

AIM: To identify the correlation of radiological indicators of the density of newly formed bone tissue and content of micro- and macronutrients in a bone defect when it is replaced by bioceramics with various mass ratio of calcium phosphate and silicate.

MATERIALS AND METHODS: The study was performed on male rabbits of the "white giant" breed, which, after receiving a standardized delimited metaphyseal bone defect, implants with variable ratio of calcium phosphate and calcium silicate (in proportions of 40/60, 50/50 and 60/40 wt. %) were used to replace it. The results were evaluated using multispiral computed tomography and scanning electron microscopy energy dispersive analysis with detection by the method of correlation analysis of possible connections between the obtained data.

RESULTS: Quantitative indicators of calcium and phosphorus content in bone regenerate in all groups increased mainly in the period from 30 to 60 days, and silicon content, reaching maximum amounts by the 30th day of the experiment, subsequently decreased monotonously, which showed participation of this element in the starting regenerative processes, and its decrease served as a marker of organotypic restructuring. In the elemental analysis of newly formed bone tissue during implantation of bioceramics containing phosphate and calcium silicate in the proportion of 60/40 wt. %. The highest amounts of calcium, phosphorus and silicon and the highest density of newly formed bone tissue were noted, which had direct correlation, and this pattern was observed both in the early stages (30 days) and throughout the experimental study.

CONCLUSION: Analyzing the data obtained, it can be concluded that it is advisable to study the features of the course of reparative osteogenesis depending on the ionic environment, as well as the high potential of using synthetic bioceramics in general and the prospects of using implants on the basis of phosphate-silicate composites for bone defects replacement.

Keywords: osteogenesis; experiment; implant; calcium phosphate; calcium silicate; multispiral computed tomography; scanning electron microscopy; energy dispersive analysis.

To cite this article:

Rozhdestvenskiy AA, Dzuba GG, Polonyankin DA. Evaluation of the elemental composition and radiological density of bone tissue when replacing a metaphyseal defect with bioceramic phosphate-silicate granules (experimental study). *N.N. Priorov Journal of Traumatology and Orthopedics*. 2024;31(3):351–366. DOI: <https://doi.org/10.17816/vto624522>

ОБОСНОВАНИЕ

Дефицит костной ткани, формирующийся в результате различных остеодеструктивных процессов, нуждается в органотипическом восполнении. Если исключить феномен посттравматического остеогистогенеза [1] или варианты костного транспорта по Илизарову [2], то идеальным способом восстановления костной ткани, общепризнанным в последние десятилетия развития ортопедии, является имплантация свободного костного аутотрансплантата [3]. С развитием медицинских технологий и детальным изучением закономерностей репаративных процессов костной ткани в оптимальный спектр применяемых материалов всё шире входят биокерамические имплантаты, претерпевшие закономерную трансформацию от биоинертных и биотолерантных до оптимизирующих и даже потенцирующих репаративную регенерацию как на клеточном, так и на молекулярном уровне [4]. Идеально, если имплантат за счёт своего биохимического состава индуцирует благоприятное микроокружение, влияя на элементный состав кости, что оказывает активизирующее влияние на остеогенную дифференцировку клеток, а его стадийная деградация способствует органотипическому замещению костного дефекта [5]. В связи с этим особый интерес исследователей связан с изучением эссенциальных (магний, медь, цинк, марганец, железо) и условно-эссенциальных (бор, кремний) микроэлементов костной ткани, которые имеют различный механизм воздействия на процесс репаративной регенерации, а следовательно, могут дифференцированно использоваться в имплантируемых материалах. К примеру, выяснено, что медь, марганец и цинк являются кофакторами ферментов, ответственных за синтез коллагена и гликозаминогликанов, в свою очередь, служащих основой восстановления костного матрикса [6], а их сочетанная недостаточность приводит к значительному снижению содержания кальция в скелетных тканях [7]. Бор дозозависимо влияет на процессы дифференцировки стромальных клеток костного мозга: в концентрации до 100 нг/мл — положительно, что подтверждается повышением показателей остеокальцина, коллагена I типа, белков морфогенеза костей 4, 6 и 7, остеопонтина, сиалопротеина кости, Runx2 и др., а при уровне более 1000 нг/мл — ингибирует гистогенез [8, 9]. Кремний играет важнейшую роль в синтезе сиалопротеинов и коллагена I типа [10], активизирует дифференцировку остеобластов, увеличивая тем самым остеогенный клеточный потенциал [11]. В ряде работ представлено, что на начальных стадиях репарации в межклеточной жидкости происходит незначительное повышение содержания фосфора, кальция, а концентрация кремния возрастает наиболее существенно, увеличиваясь в 150–200 раз [12]. В дальнейшем, по мере созревания костного регенерата, предполагается обратная тенденция, заключающаяся в снижении содержания кремния и повышении количеств фосфора и кальция [13]. Подтверждение подобной закономерности

может служить маркером адекватного течения репаративного процесса.

Таким образом, приведённые данные об активном участии кремния в процессе остеогенеза указывают на перспективность разработки искусственных имплантируемых материалов, используемых для замещения костных дефектов, содержащих кремний наряду с кальцием и фосфором. Актуальны апробация подобных композитов и изучение динамики изменения содержания указанных элементов в процессе репаративной регенерации костной ткани.

Цель исследования — выявить корреляцию рентгенологических показателей плотности новообразованной костной ткани и содержания микро- и макроэлементов в костном дефекте при его замещении биокерамикой с различным массовым соотношением фосфата и силиката кальция.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Дизайн исследования

Данное исследование было экспериментальным, одноцентровым, проспективным, слепым, сплошным, контролируемым.

Критерии соответствия

Для выполнения исследования использовались кролики-самцы породы белый великан массой 4000±200 граммов, возраст животных составлял 3 месяца.

Условия проведения

Исследование проводилось на базе ФГБОУ «Омский государственный медицинский университет» (ОмГМУ) Минздрава России.

Способ медицинского вмешательства

Для проведения оперативного вмешательства на базе ОмГМУ был разработан и изготовлен имплантат с варьируемым соотношением фосфата кальция (гидроксиапатита, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) и силиката кальция (воластонита, CaSiO_3), содержащий желатин в качестве связующего компонента (патент РФ № 2785143 от 05.12.2022 г.). Макроскопически имплантат представлял собой набор сферических гранул размерами от 0,2 до 1,0 мм в диаметре, содержащий ГА/ВТ в пропорции 60/40, 50/50, 40/60 масс.%. Применение именно таких соотношений объяснялось выбором отправной точки исследования, которая определялась при равновесных количествах компонентов, и задачей выявления потенциала улучшения регенерации при увеличении доли фосфата или силиката кальция.

Элементный состав исходных порошков, из которых изготавливались имплантируемые гранулы, представлен в табл. 1.

Из данных таблицы следует, что в исходных порошках массовые доли кальция и желатина не имели

статистически значимых различий во всех группах. Наибольшее количество фосфора было отмечено в группе 60/40, что имело статистически значимую разницу только с группой 40/60, а кремния — в группе 40/60, что, в свою очередь, значимо отличалось от группы 60/40.

Некоторые физические характеристики имплантируемых гранул приведены в табл. 2.

Физические свойства гранул при любых соотношениях исходных элементов не имели различий, соответственно, указанные параметры предлагаемого имплантируемого материала представлялись сравнимыми и оптимальными по физико-химическим характеристикам для его использования при замещении костных дефектов.

Экспериментальные животные случайным образом были разделены на четыре группы (по 24 животных в каждой группе): контрольную (группа 1), в которой дефект не заполнялся, и три основные группы исследования, животным которых в сформированный костный дефект имплантировался материал с различным соотношением фосфатов и силикатов кальция (группа 2 — соотношение ГА/ВТ 60/40 масс.%, группа 3 — соотношение ГА/ВТ 50/50 масс.%, группа 4 — соотношение ГА/ВТ 40/60 масс.%). В дальнейшем в сроки 30, 60 и 90 суток в каждой из групп выводилось по 8 животных для изучения результатов экспериментального исследования.

Всем животным под внутримышечной седацией раствором тилетамина гидрохлорида и золазепам гидрохлорида (с расчётом дозировки на массу тела) выполнялся стандартизированный компрессионный дефект метаэпифизарного отдела бедренной кости, который в опытных группах заполнялся исследуемым материалом, в контрольной же группе пластического замещения дефекта

не производилось. Технология выполнения операции заключалась в формировании по передне-наружной поверхности дистального метаэпифиза при помощи фрезерной пилы полнослойного фрагмента кортикальной пластинки размером 10×5 мм с последующей его импрессией на глубину 8 мм. При этом объём сформированной полости дефекта был тождественным во всех сериях эксперимента и составил 400±20 мм³ (патент РФ № 20802431 от 28.08.2023 г.). После элевации остеотомированного фрагмента сформированная посткомпрессионная костная полость оставалась интактна (рис. 1а), либо в зону дефекта помещался синтетический материал в объёме 0,4 см³ (рис. 1б). Кортикальная пластинка фиксировалась в мате-ринское ложе, мягкие ткани послойно ушивались.

Методы регистрации исходов

Реакцию костной ткани на имплантацию и динамику репаративных процессов отслеживали путём выполнения рентгенологического исследования (цифровой рентгеновский диагностический комплекс Toshiba Radrex) и мульти-спиральной компьютерной томографии (МСКТ, томограф рентгеновский компьютерный Toshiba Aquilion CXL 128) на начальных этапах наблюдения (на 7-е сутки после операции), а затем на 30, 60 и 90-е сутки после имплантации. Измерение плотности новообразованной костной ткани выполнялось по МСКТ-сканам в сагиттальной проекции в стандартизированных показателях — единицах Хаунсфилда (НУ) в 5 выбранных идентичных точках, находящихся в области проксимального, дистального отделов и геометрическом центре костной полости, субкортикаль-ных зонах под резецированной частью и контралатераль-ной, кортикальной пластинках. При сравнении в группах

Таблица 1. Состав композитных порошков, использованных для получения гранул, и доля желатина в гранулах, масс.%

Table 1. The composition of composite powders used to produce granules and the proportion of gelatin in granules, wt. %

ГА/ВТ	Массовые доли элементов в порошках			Доля желатина
	кальций	фосфор	кремний	
60/40	35,3±0,2	9,9±0,1*	8,8±0,2*	18,7±0,5
50/50	33,9±0,6	8,5±0,2	10,7±0,7	18,4±0,7
40/60	33,6±0,7	6,8±0,1*	12,7±0,4*	20,4±0,3

Примечание. * — различия между группами статистически значимы, ГА — гидроксиапатит, ВТ — волластонит.

Note. * — differences between groups are statistically significant, ГА — hydroxyapatite, ВТ — wollastonite.

Таблица 2. Физические характеристики гранул

Table 2. Physical characteristics of granules

ГА/ВТ, масс. %	HV _{0,02} , Мпа	ρ _{ср} , г/см ³	ρ _{ист} , г/см ³	П, %
60/40	22,2±0,4	1,09±0,03	2,35±0,07	52,2±2,1
50/50	26,7±0,4	1,07±0,03	2,61±0,12	59,6±2,2
40/60	24,1±0,3	1,01±0,04	2,27±0,14	55,4±3,0

Примечание. HV_{0,02} — микротвёрдость по Виккерсу, ρ_{ср}, ρ_{ист} — средняя и истинная плотность гранул, П — пористость гранул, ГА — гидроксиапатит, ВТ — волластонит.

Note. HV_{0,02} — Vickers microhardness, ρ_{ср}, ρ_{ист} — average and true density of granules, П — granule porosity, ГА — hydroxyapatite, ВТ — wollastonite.

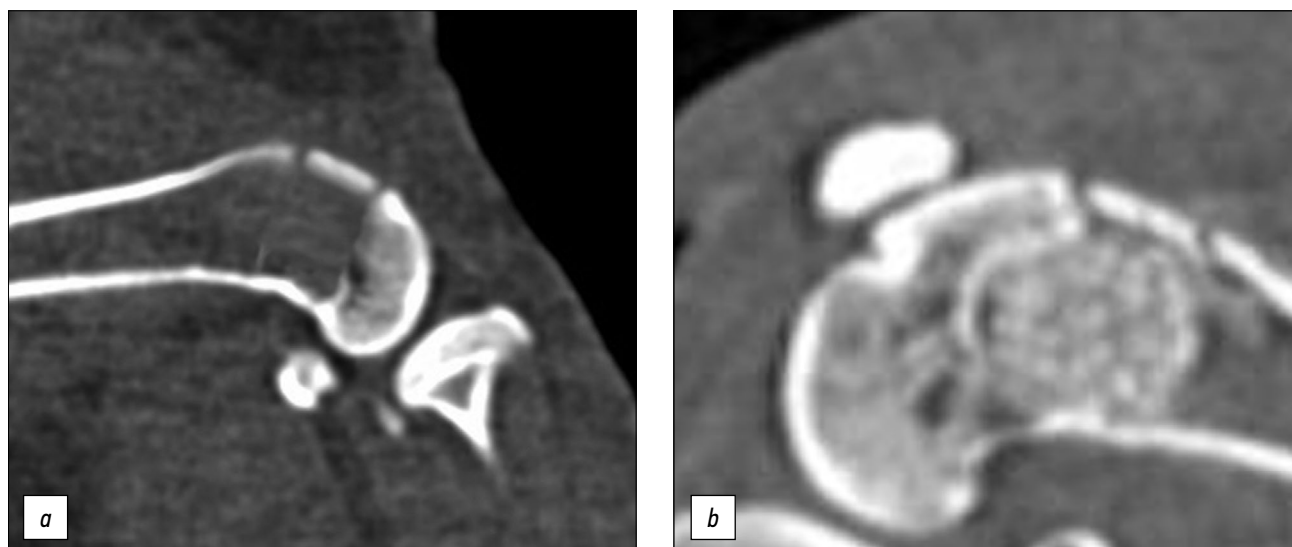


Рис. 1. Мультиспиральная компьютерная томография зоны метафизарного дефекта: *a* — зона компрессионного дефекта дистального метафиза бедренной кости лабораторного животного в группе 1 (МСКТ-скан), *b* — зона компрессионного дефекта дистального метафиза бедренной кости лабораторного животного в группе 3 (МСКТ-скан).

Fig. 1. CT of the metaphyseal defect area: *a* — the zone of compression defect of the distal metaphysis of the femur of a laboratory animal, group 1 (CT-scan), *b* — the zone of compression defect of the distal metaphysis of the femur of a laboratory animal, group 3 (CT-scan).

показатели суммировались и подвергались статистическому анализу в соответствии со шкалой С. Misch [14], предложенной для оценки новообразованной костной ткани с выделением в зависимости от результатов измерения четырёх вариантов показателей плотности регенерата. При первом варианте плотность, превышающая 1250 HU, соответствовала изолированному исходному слою компактной кости, от 850 до 1250 HU — кости с равномерной выраженностью компактного и губчатого вещества, от 350 до 850 HU — кости с пористой компактной пластинкой и рыхлым губчатым веществом и менее 350 HU — практически полному отсутствию компактного слоя и несформированной трабекулярной губчатой кости.

Анализ элементного состава ткани области замещаемого костного дефекта выполнялся методом растровой электронной микроскопии и энергодисперсионного анализа (РЭМ-ЭДА) на растровом электронном микроскопе «JCM-5700», оснащённом рентгеновским энергодисперсионным спектрометром «JED-2300» (JEOL). Исследовали средний продольный спил толщиной 2 мм метафизарного отдела бедренной кости в области дефекта у животных, выведенных из эксперимента на 30, 60 и 90-е сутки. Перед анализом с поверхности костного фрагмента тщательно удалялись мягкие ткани, включая надкостницу, далее кость высушивали при температуре 38 °С в течение четырёх недель. Для ориентирования в структуре дефекта на макропрепарат наносились фрезерные борозды, ограничивающие зону дефекта. От центра резецированной кортикальной пластинки поле исследования опускалось на 4 мм, при этом попадая в центр дефекта. В результате с помощью метода РЭМ-ЭДА получали микрофотографии, данные о содержании кальция, фосфора, кремния

в образцах и карты их распределения в структуре приповерхностного слоя исследуемого фрагмента костной ткани.

Статистический анализ

Статистическую обработку результатов проводили на персональном компьютере с использованием статистических функций в Microsoft Excel 2020 и пакета прикладных программ Statistica 10.0. В рамках описательной статистики для получения базовой информации были рассчитаны следующие показатели: медиана (Me), нижний (LQ) и верхний (HQ) квартили. Для проверки гипотезы о нормальном распределении данных использовали кривую Гаусса. Поскольку в большинстве выборок гипотеза о нормальности была отклонена, определение значимости различий было проведено с помощью непараметрической статистики. Для сравнения двух независимых групп использовали критерий Манна–Уитни (U-test). Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принимался равным 0,05. Для выявления возможных связей между признаками был проведён корреляционный анализ методом ранговой корреляции Spearman. В результате был получен ряд корреляционных коэффициентов (r_s) по числу переменных, отобранных для анализа.

Этическая экспертиза

Исследование выполнялось с соблюдением принципов гуманности, которые изложены в директивах Европейского сообщества (86/609/ЕЕС) и Хельсинкской декларации, на основании разрешения этического комитета ФГБОУ ОмГМУ № 128 от 03.02.2021 г.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В послеоперационном периоде экспериментальные животные находились под ежедневным наблюдением с контролем и оценкой витальных и лабораторных показателей. В период с 1-х по 6-е сутки происходили основные изменения в клиническом статусе и поведении кроликов. В первые 24 часа исследуемые животные были апатичны, адинамичны, не опирались на оперированную конечность, отказывались от корма. К окончанию 6-х суток у животных полностью восстанавливались подвижность, аппетит и опороспособность оперированной конечности. В раннем послеоперационном периоде (на 12-е сутки) у одного из кроликов контрольной группы произошёл перелом бедренной кости в области сформированного дефекта, однако незначительное смещение отломков позволило не исключать его из исследования. У остальных животных травматических и бактериальных осложнений выявлено не было, что позволило довести исследование до конечной точки вывода из эксперимента [15].

В контрольном МСКТ-исследовании, выполненном на 7-е сутки после операции, отмечалось, что во всех основных группах животных гранулы полностью заполняли сформированный дефект, признаков их миграции, патологической периостальной или эндостальной реакции обнаружено не было. Медианы плотности на 7-е сутки после имплантации во всех опытных группах животных были очень близки и колебались от 290 до 305 HU ($p > 0,05$). Медиана плотности ткани в области дефекта в контрольной группе без имплантации материала в эти же сроки составила 108 HU, что было значимо ниже, чем в опытных группах.

В дальнейшем МСКТ-картина в контроле и в группах с имплантацией материалов с различным соотношением фосфата и силиката кальция становилась очень разнородной, однако во всех группах показатели плотности костной ткани статистически значимо выросли к 12-й неделе исследования (рис. 2). Так, в группе 1 (рис. 2а) средний показатель плотности ткани в области сформированного дефекта к исходу первых четырёх недель составлял

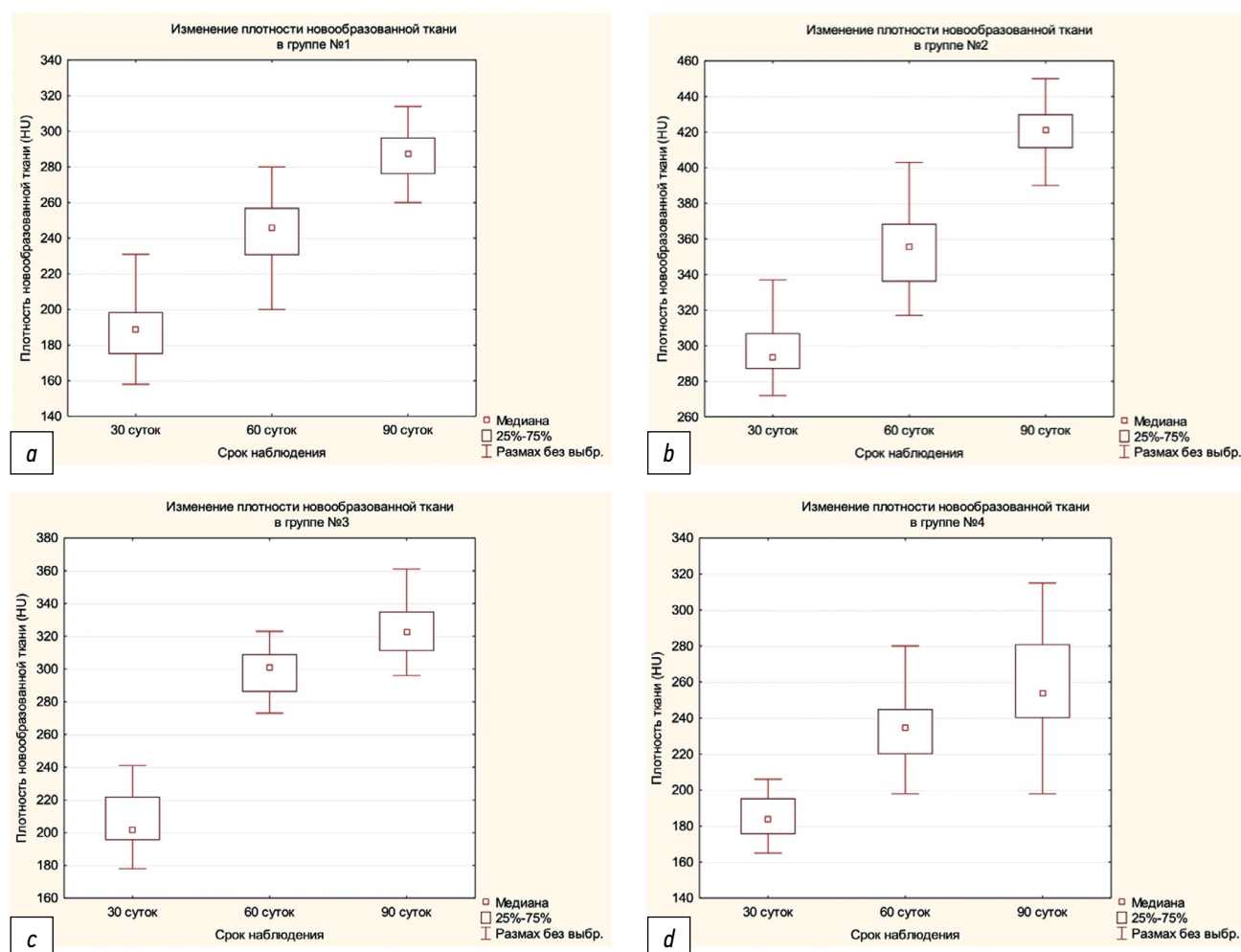


Рис. 2. Показатели плотности новообразованной костной ткани в зоне имплантации материала: *a* — в группе 1, *b* — в группе 2, *c* — в группе 3, *d* — в группе 4.

Fig. 2. Density indicators of newly formed bone tissue in the implantation zone of the material in groups: *a* — group 1, *b* — group 2, *c* — group 3, *d* — group 4.

189,1 [175,0; 198,5] НУ, а к 12 неделям, демонстрируя последовательную положительную динамику, достиг 287,1 [276,0; 296,5] НУ. Такие относительно высокие средние данные не полностью соответствовали МСКТ-картине, на которой убедительные признаки именно костной регенерации обнаруживались только в области остеотомированного кортикального слоя и в прилежащей к ней эндостальной зоне. В центральных отделах метафизарного дефекта параметры заполнившей дефект ткани были значительно ниже показателей плотности, характерной для несформированной губчатой кости, что в целом определило и минимальный уровень интегративного результата, не соответствующего даже 4-му типу по классификации С. Misch.

В группе 2 (рис. 2b), согласно результатам проведённого МСКТ-исследования, уже через 30 суток наблюдения было выявлено, что новообразованная ткань с явным отсутствием гомогенности занимала практически весь объём костного дефекта и по плотности достигала минимальных показателей интактной кости, соответствующих 4-му типу по С. Misch. В дальнейшем в течение всего срока наблюдения отмечалась устойчивая тенденция к уплотнению и перестройке костного регенерата, выразившаяся в достижении среднего показателя плотности 421,0 [411,0; 430,0] НУ к 90-м суткам (3-й тип по классификации С. Misch), а дисперсия показателей в различных изучаемых участках стала минимальной.

В группе 3 (рис. 2c), по данным МСКТ-исследования, на 30-е сутки после оперативного вмешательства среднее значение плотности новообразованной ткани составило 202,0 [195,5; 222,0] НУ, что было существенно ниже стандартизированных показателей плотности, соответствующих костной ткани по С. Misch. Плотность, определяющая несформированную кость, не достигалась и к 90-м суткам исследования — 322,5 [311,0; 335,1] НУ — при некритичном разбросе максимальных и минимальных показателей.

Ещё менее положительная динамика остеогенеза регистрировалась по данным МСКТ в группе 4 (рис. 2d). На 30-е сутки наблюдения среднее значение плотности новообразованной ткани было почти в два раза ниже плотности несформированной губчатой кости и составило 184,0 [175,5; 195,5] НУ. 18% прибавление к 60-м суткам и ещё менее очевидное 7% улучшение к 90-м суткам позволили этому показателю лишь несколько приблизиться, но по-прежнему не соответствовать плотности кости 4-го типа по классификации С. Misch.

Оценивая динамику изучаемых показателей в разных группах, необходимо констатировать, что уже к 30-м суткам эксперимента среднее значение плотности костной ткани в группе 2 статистически значимо превышало аналогичный результат в других группах ($p < 0,01$), однако рост рассматриваемого параметра в сроки от 30 до 60 суток был наиболее выражен в группе 3 ($p = 0,0474$), слабее — в группах 1 и 4 ($p = 0,0481$) и ещё слабее — в группе 2 ($p = 0,0491$).

В сроки от 60-х до 90-х суток наибольший прирост костной плотности был зарегистрирован уже в группе 2 ($p = 0,042$), менее интенсивная и практически тождественная динамика выявлялась в остальных опытных группах ($p = 0,046$). При этом лишь в группе 2 итоговые интегративные показатели в сроки и 60, и 90 суток свидетельствовали о полном замещении дефекта новообразованной костной тканью с явными признаками начинающейся органотипической перестройки ($p < 0,01$). Изучаемые показатели в группах 1 и 4 демонстрировали не только аналогичную динамику, но и очень близкие значения в контрольных точках исследования, подтверждающие замедленное, неполное и неравномерное замещение дефекта несформированной губчатой костью ($p = 0,048$). В группе 3, несмотря на наиболее значимое увеличение костной плотности в сроки от 30-х до 60-х суток наблюдения, достигшее 63,8%, итоговый результат к 90-м суткам (с динамикой увеличения 22,2% от 60-х до 90-х суток) не достигал референтных значений, характерных для несформированной губчатой кости ($p = 0,046$) (рис. 3).

На следующем этапе исследования был выполнен анализ костных образцов методом ЭДА. При оценке количества кальция, фосфора и кремния в костной ткани области восполняемого дефекта была зафиксирована схожая динамика соотношения элементов в зоне исследования во всех группах, и, более того, динамика изменений абсолютных количественных величин также была одинаковой ($p = 0,041$). Однако содержание кальция, фосфора и кремния статистически значимо отличалось между группами в различные сроки исследования (табл. 3). Уровни кальция преимущественно нарастали в течение всего периода наблюдения во всех группах ($p < 0,04$). Однако наибольшей величины они достигли в группе 2 уже к 30-м суткам наблюдения и во все дальнейшие сроки превышали показатели в других группах на 18,3–44,6% ($p = 0,03$) с относительно более равномерным распределением элементов в изучаемых участках (рис. 4).

Итоговые показатели уровня кальция в группе без имплантации биокерамики превышали таковые в группах 3 и 4 ($p = 0,045$). Аналогичная динамика была выявлена и в изменении содержания в образцах фосфора ($p = 0,045$). Однако, в отличие от кальция, итоговые массовые доли фосфора в группах 1, 3 и 4 стали статистически соразмерными, хотя и оставались в среднем на треть меньше, чем в группе 2 ($p = 0,046$). Содержание кремния во всех группах демонстрировало обратную тенденцию: оно изменялось от максимальных количеств на 30-е сутки эксперимента до почти десятикратного уменьшения к 90-м суткам. Наибольшее содержание кремния в области костного дефекта было обнаружено в группе животных, которым имплантировался материал, содержащий наименьшее среди всех исследуемых групп количество силиката кальция (группа 2, ГА/ВТ 60/40 масс.%). При этом содержание кремния в образцах снижалось на всех этапах исследования по мере роста доли кремниевой соли

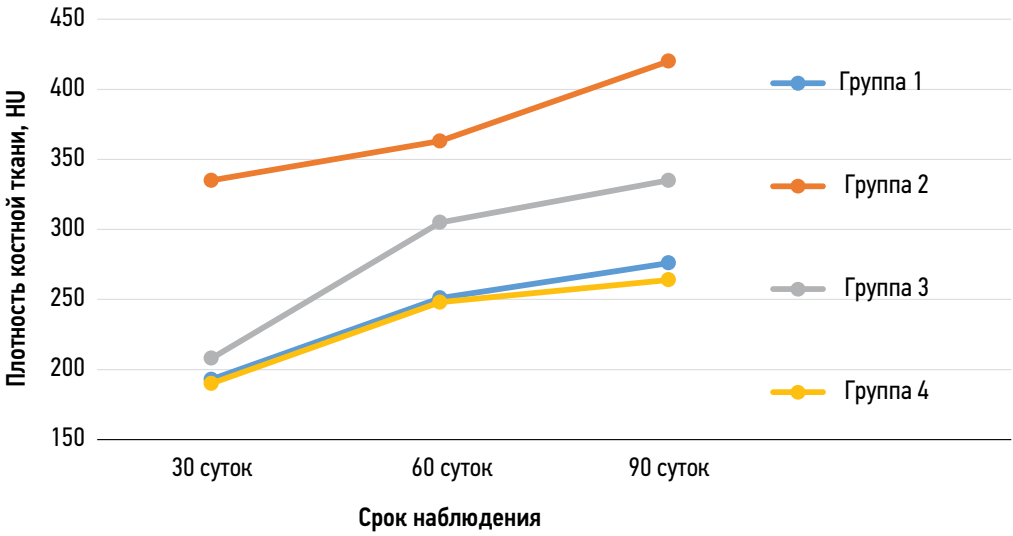


Рис. 3. Диаграмма показателей средней плотности новообразованной костной ткани в группах в течение всего срока наблюдения.
Fig. 3. Diagram of the average density of newly formed bone tissue in the groups during the entire follow-up period.

Таблица 3. Изменение содержания кальция, фосфора и кремния на поверхности спила новообразованной костной ткани (по срокам эксперимента), Me [LQ; HQ]

Table 3. Changes in the content of calcium, phosphorus and silicon on the surface of the cut of newly formed bone tissue (according to the terms of the experiment), Me [LQ; HQ]

Элементы	Сроки	Группы			
		Контроль	60/40	50/50	40/60
Кальций, масс. %	30-е сутки	14,61 [13,95; 15,22]	20,61 [19,75; 21,55]*	14,75 [12,1; 16,11]	11,31 [10,29; 12,72]
	60-е сутки	26,11 [23,75; 28,45]	35,51 [32,75; 40,01]*	24,7 [22,45; 27,65]	19,95 [17,26; 21,55]
	90-е сутки	28,41 [26,15; 30,22]	36,02 [30,93; 38,25]*	24,08 [21,95; 26,95]	21,75 [19,55; 23,51]
Фосфор, масс. %	30-е сутки	6,64 [6,39; 7,18]	15,58 [13,67; 17,41]*	12,55 [10,76; 14,65]*	8,69 [7,84; 9,41]*
	60-е сутки	10,10 [9,73; 11,49]	17,71 [16,35; 18,95]*	13,53 [11,41; 16,65]*	12,02 [9,63; 13,11]
	90-е сутки	11,75 [11,23; 12,32]	18,56 [17,94; 19,17]*	14,11 [12,18; 15,35]*	11,61 [10,58; 12,44]
Кремний, масс. %	30-е сутки	0,75 [0,51; 0,81]	1,95 [1,79; 2,15]*	1,45 [1,15; 1,74]*	0,98 [0,91; 1,15]
	60-е сутки	0,23 [0,21; 0,28]	0,51 [0,25; 0,81]*	0,17 [0,11; 0,33]	0,13 [0,03; 0,18]
	90-е сутки	0,04 [0,02; 0,09]	0,17 [0,08; 0,23]*	0,11 [0,05; 0,19]*	0,05 [0,02; 0,07]

Примечание. * — различия между группами статистически значимы ($p < 0,05$).

Note. * — differences between groups are statistically significant ($p < 0.05$).

в гранулах (от 40 до 60 масс.% при переходе от материалов с пропорцией ГА/ВТ 60/40 масс.% к гранулам, включающим фосфат и силикат кальция в соотношении 40/60 масс.%). Неожиданной была не только констатация низкого количества кремния на 30-е сутки в группе 4 при его максимальных величинах в исходных порошках,

но и отчётливая десятикратная разница этого показателя к окончанию эксперимента (90-м суткам) в сравнении с данными группы 2 ($p=0,002$).

В целом, по данным выполненного методом ЭДА анализа областей восполняемого костного дефекта, можно заключить, что в группе 2 на всех сроках наблюдения

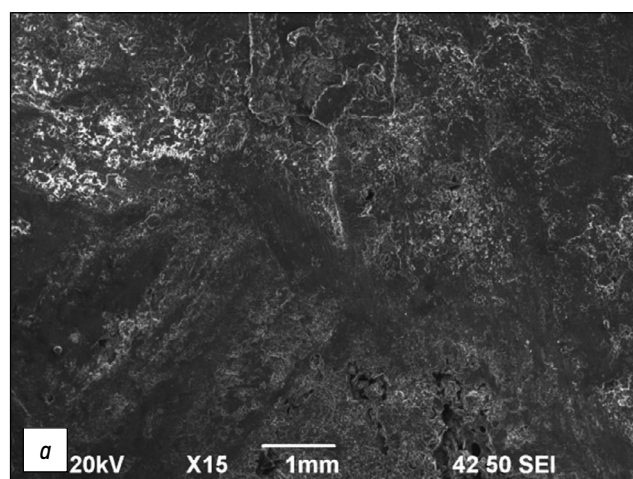
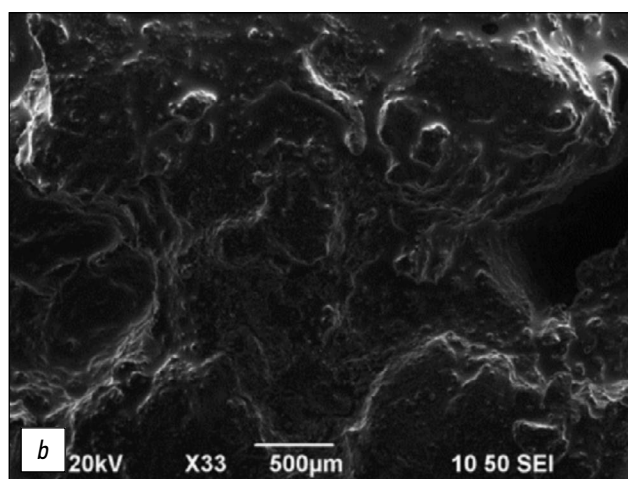
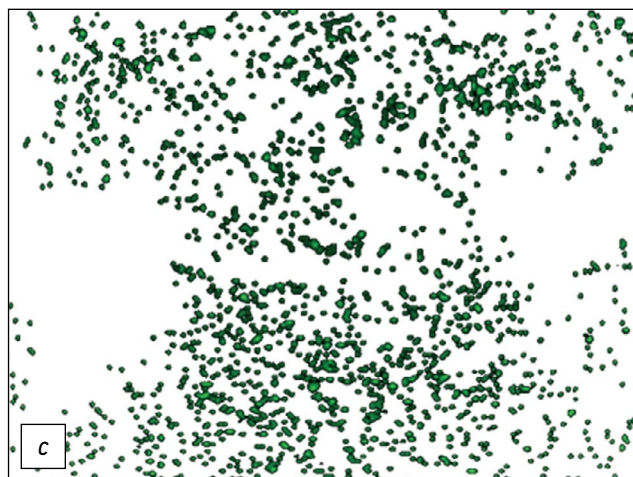
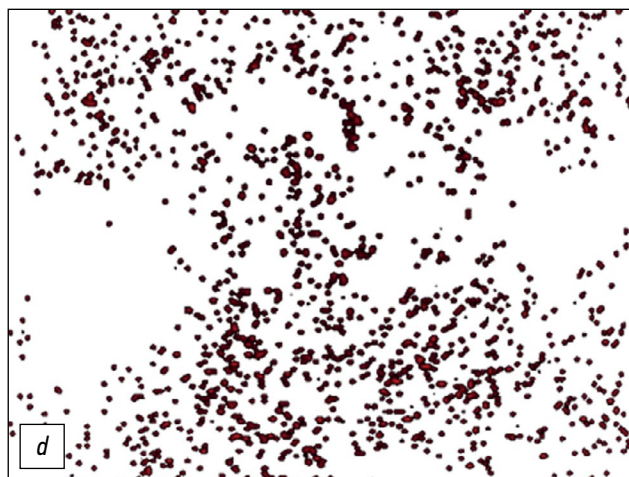
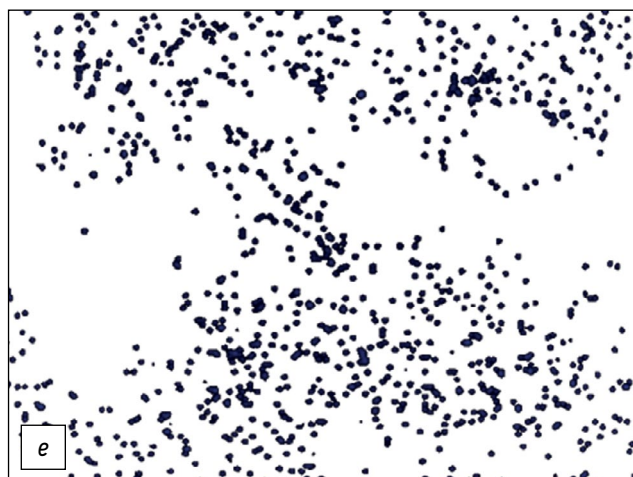
Увеличение $\times 15$ Увеличение $\times 33$ Увеличение $\times 33$ Увеличение $\times 33$ Увеличение $\times 33$

Рис. 4. Микрофотография поверхности образца кости лабораторного животного с имплантацией гранул состава гидроксиапатита/волластонита 60/40 масс.% на 30-е сутки (*a, b*), карты распределения кальция (*c*), фосфора (*d*) и кремния (*e*) по данному участку.

Fig. 4. Micrography of the surface of a bone sample of a laboratory animal with implantation of granules of the composition HA/WT 60/40 wt.% on day 30 (*a, b*), maps of the distribution of calcium (*c*), phosphorus (*d*) and silicon (*e*) in this area.

содержание кальция, фосфора и кремния было существенно выше ($p=0,02$), чем в других группах, что особенно отчётливо проявлялось к 90-м суткам ($p=0,02$) (табл. 4). При этом снижение уровня кремния в изученных макропрепаратах группы 2 на всех сроках наблюдения происходило менее стремительно при схожей положительной динамике показателей кальция и фосфора.

При проведении корреляционного анализа Спирмена обнаружены значимые корреляции средней и высокой силы между уровнем микроэлементов в структуре новообразованной ткани и плотностью кости во всех группах, за исключением фосфора в группе 3 (в данном случае корреляции не наблюдалось). Наиболее сильная корреляция отмечается в отношении количества кремния

и плотности новообразованной ткани в группах 1 и 2 ($r=-0,848$ и $-0,775$) соответственно. Прямая корреляция между содержанием кальция и плотностью ткани наблюдалась во всех исследуемых группах и оценивалась нами как корреляция средней степени выраженности. Изменение количества фосфора в структуре костной ткани не всегда соответствовало увеличению плотности новообразованной ткани: так, в группе 2 мы наблюдали умеренную корреляцию ($r=0,458$), а в группе 3 корреляция и вовсе не прослеживалась ($r=0,158$) (табл. 5).

ОБСУЖДЕНИЕ

Резюме основного результата исследования

Оценивая полученные в ходе исследования результаты, можно отметить, что имплантаты, содержащие в своём составе фосфаты и силикаты кальция, могут быть использованы для восполнения костных дефектов, так как обладают свойствами остеоиндукции и остеокондукции

при отсутствии патологической воспалительной реакции окружающих тканей. Наиболее выраженный остеогенный эффект, подтверждённый лучевыми и микроскопическими методами исследования, наблюдался в группе 2, где в зону метафизарного дефекта были имплантированы материалы с соотношением фосфатов и силикатов кальция 60/40 масс.%.

Обсуждение основного результата исследования

Способность к физиологической, репаративной регенерации и постнагрузочной перестройке является фундаментальной характеристикой костной ткани, определяющей циклы замещения и ремоделирования. Эти процессы, в свою очередь, включают рекрутирование и дифференцировку популяций остеобластных и остеокластических клеток, активность которых координируется и регулируется сложным сочетанием биологических, биохимических и физических факторов [16, 17]. Среди важнейших биологических компонентов, ответственных

Таблица 4. Распределение микроэлементов в структуре новообразованной ткани на 90-е сутки исследования, Me [LQ; HQ]

Table 4. The distribution of trace elements in the structure of the newly formed tissue on the 90th day of the study, Me [LQ; HQ]

Группа	Кальций, масс.%	Фосфор, масс.%	Кремний, масс.%
1-я	28,41 [26,15; 30,22]	11,75 [11,23; 12,32]	0,04 [0,02; 0,09]
2-я	36,02 [30,93; 38,25]	18,56 [17,94; 19,17]	0,17 [0,08; 0,23]
3-я	24,08 [21,95; 26,95]	14,11 [12,18; 15,35]	0,11 [0,05; 0,19]
4-я	21,75 [19,55; 23,51]	11,61 [10,58; 12,44]	0,05 [0,02; 0,07]

Таблица 5. Коэффициент корреляции Спирмена для уровня кальция, фосфора и кремния в биоптатах в масс.% и плотности кости в единицах HU

Table 5. Spearman correlation coefficient for the levels of calcium, phosphorus and silicon in biopsies by weight.% and bone density in HU

Группа	Элементы	r_s	p	t (N-2)
1-я	Ca/HU	0,691	>0,001	6,526
	P/HU	0,733	>0,001	7,319
	Si/HU	-0,818	>0,001	-9,673
2-я	Ca/HU	0,681	>0,001	6,298
	P/HU	0,458	0,001	3,503
	Si/HU	-0,775	>0,001	-8,34
3-я	Ca/HU	0,573	0,0002	4,74
	P/HU	0,158	0,27	1,08
	Si/HU	-0,696	>0,001	-6,58
4-я	Ca/HU	0,573	>0,001	4,74
	P/HU	0,559	0,00003	4,58
	Si/HU	-0,694	>0,001	-6,54

Примечание. Ca — кальций, P — фосфор, Si — кремний.

Note. Ca — calcium, P — phosphorus, Si — silicon.

за репаративную активность костей, традиционно рассматриваются различные факторы роста, манифестирующие в результате активации альфа-гранул тромбоцитов, такие как PDGF, VEGF, TGF, IGF-I, IGF-II, FGF, TGF- β 1 и другие [16], биологически активные субстраты (эндостатины, ангиопозитины и тромбоспондин I) [18], Т-лимфоциты и провоспалительные цитокины, в частности интерлейкин-17F (IL-17F) [19]. Ряд авторов придают особое значение реорганизации полноценной гормональной регуляции повреждённых областей скелета, от которой в целом зависят адекватность и характер восстановительных процессов, отмечая, что именно каскад эндокринных изменений сопровождает процессы как физиологической, так и репаративной регенерации костной ткани на всех её стадиях [20–23]. В некоторых работах процесс регуляции межклеточного поведения, взаимодействия детерминированных и индуцированных клеточных элементов с внеклеточным матриксом и цитоскелетом определяется как важнейший компонент остеогенеза, а интегрины, его осуществляющие, принимают активное участие не только в ангиогенезе, миграции клеток и общей регуловке клеточного цикла, но и в дифференцировке остеобластических и остеокластических структур [24].

Однозначной проблемой течения репаративной регенерации в области костного дефекта является необходимость её четкой ориентации в сторону органотипического замещения, поскольку на ранних этапах восполнения утраченных структур рост соединительной ткани с последующим её фиброзированием, очевидно, останавливает процесс неоостеогенеза. С другой стороны, фактор роста соединительной ткани при определённых условиях сам выступает в качестве важнейшего регулятора скелетогенеза, обеспечивая физиологическое протекание процессов мезенхимальной конденсации, хондрогенеза и остеогенеза [25]. В некоторых экспериментальных исследованиях было показано, что фактор роста соединительной ткани, который экспрессируется и секретируется уже остеобластами во время пролиферации, регуляторно индуцирует процесс остеогенной дифференцировки в самих остеобластах, а его патологическая экспрессия становится компонентом новых механизмов развития неорганотипического замещения и вторичного остеопороза [26]. Сам процесс фиброирования становится неоправданной неспецифической реакцией организма, физиологически обеспечивающей изолирование сохранившихся костных клеток от контактов с внешней средой, но значительно препятствующей дифференцировке и специализации соединительной ткани, особенно в контакте с абиогенными структурами (имплантаты, эндопротезы и пр.) [27]. Следуя этой логике, замещение дефекта биоимплантатами несёт те же самые риски неконтролируемого роста недифференцированной соединительной ткани. Препятствовать этому процессу, а точнее, способствовать органотипическому восполнению дефекта, может не только стадийная деградация имплантируемого материала, но и возможность создания такого

микроокружения, которое бы побуждало или способствовало развитию процессов дальнейшей дифференцировки растущих остеогенных структур. В связи с этим, опираясь на изученный минеральный состав костной ткани, многие исследователи уделяют первостепенное внимание наличию и распределению эссенциальных элементов в зоне повреждения. Известно, что во время формирования костной ткани происходит увеличение концентрации некоторых макро- и микроэлементов, в частности кальция, фосфора, кремния [12]. Логично попытаться создать такие концентрации этих составляющих, которые бы, с одной стороны, смогли направить гистогенез в нужную сторону, а с другой — обеспечить растущие ткани оптимальным количеством необходимого элементного материала. Изолированное применение биоимплантатов, состоящих исключительно из различных соединений кальция или кремния, хотя и широко используется в современной травматологии и ортопедии, не лишено некоторых недостатков. Установлено, что у имплантатов, изготовленных на основе фосфатов кальция, существует серьёзная проблема неконтролируемой биодеградации: медленная резорбция ингибирует процессы остеointеграции, а быстрое растворение может привести к недостаточному заполнению костного дефекта [28]. Использование гидроксиапатита определённо способствует процессам остеогенеза, однако этот процесс развивается преимущественно на поверхности биоимплантата, в его центре при недостаточной деградации может формироваться недифференцированная соединительная ткань [29]. Кремний в составе биоимплантатов имеет другой механизм действия: постепенно высвобождаясь, он потенцирует остеогенез путём воздействия преимущественно на сосудистый компонент грануляционной ткани [30]. А поскольку костная ткань, являясь высокоспециализированной, развивается и перестраивается в условиях оксибиотического типа питания, индукция функции эндотелиальных клеток посредством активации сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF) и основного фактора роста фибробластов позволяет получить необходимый биологический эффект [31, 32]. Высокая концентрация силикат-ионов, более чем в двадцать раз превышающая исходную, обнаружена в зонах роста молодой кости, при этом максимальное их количество находится в цитоплазме остеобластов, где ортофосфорная кислота потенцирует процессы их дифференцировки и повышает концентрацию маркеров остеогенеза, включая С-терминальный пропептид проколлагена 1-го типа (PICP) [12]. Существенным недостатком материалов, выполненных на основе кремния (биостёкол), является значительно более быстрая, чем у фосфатов кальция, биодеградация, что не позволяет использовать их в качестве остеокондуктивного каркаса для относительно медленно растущей кости [33].

Некоторые исследования показали, что использование имплантируемых материалов на основе композитов, включающих фосфат и силикат кальция при замещении

дефектов костной ткани, показывает сравнительно лучшие результаты, нежели разрозненное их применение [13, 34, 35]. Вероятно, сочетанное использование этих веществ может потенцировать сильные стороны каждой из составляющих и относительно нивелировать слабые. Соответственно, изучение особенностей изменения количеств фосфора, кальция и кремния в растущей костной ткани может дать косвенную информацию об особенностях её регенерации, зависимости элементного состава от стадийности процесса и определить оптимальное соотношение изучаемых компонентов в составе имплантата. Высокоинформативным инструментом для такого исследования выступает комбинированный метод РЭМ-ЭДА, обеспечивающий возможность визуализации морфологии поверхности образцов биологических объектов, идентификации качественного и количественного элементного состава их приповерхностного слоя, а также получение данных об интегральном и локальном распределении атомов химических элементов в режиме картирования [36].

В общей клинической практике основным широко применяемым испытанием, предназначенным для контроля и визуализации регенераторных процессов костной ткани, в силу доступности, достаточной степени объективности и простоты является рутинное рентгенологическое исследование. Его существенным недостатком представляется отсутствие объективных критериев, позволяющих выявлять, оценивать и сравнивать зоны репаративной активности. Этому недостатка лишена следующая генерация рентгенологических методов — мультиспиральная компьютерная томография, представляющая возможность детекции интересующих областей в числовых значениях — единицах Хаунсфилда (НУ). Основой сравнения плотности костной ткани служит, как правило, шкала, предложенная С.Е. Misch и L.T. Kircos в 1999 году. Нижней границей плотности кости сами авторы указывают показатель в 150 НУ, но, по некоторым другим источникам, костная ткань диагностируется при плотности более 200 НУ, мышечная — от 148 НУ, недифференцированная — от 5 до 135 НУ [37]. Солидаризированным мнением считается выявление органотипической костной перестройки при оптической плотности изучаемой ткани, превышающей 350 НУ [38–40], что и было принято нами за основной критерий в настоящей работе.

Отправной точкой исследования являлось определение рентгенологической плотности структур костного дефекта при его первичном заполнении фосфатно-силикатными гранулами. Поскольку на 7-е сутки после замещения дефекта в опытных группах медианы плотности не имели статистически значимой разницы между собой и значительно (более чем в 2 раза) превышали этот показатель в группе 1 — без замещения дефекта имплантатами, можно признать, что исходная рентгенологическая плотность структур костного дефекта определялась в большей степени плотностью самого имплантируемого материала и не зависела от соотношения фосфатов и силикатов в его

составе. К 30-м суткам после имплантации отмечалось снижение показателей плотности на 3,5% в группе 2, более чем на 50% — в группах 3 и 4 и умеренный рост в контрольной группе на 75% (до 189 НУ). Такое существенное снижение показателей плотности к этому сроку в опытных группах, по нашему мнению, объяснялось в первую очередь первичной фрагментацией и деградацией имплантируемого материала и низкой площадью новообразованной костной ткани. По полученным ранее данным, её площадь колебалась от 8,51 [6,25; 9,97] в группе 2 до 6,11 [4,75; 8,21] в группе 3 и 3,68 [2,87; 4,88] в группе 4 [15]. Вероятно, большим количеством новой кости объяснялось и менее существенное снижение плотности в группе 2.

Безусловно, непосредственное влияние на рентгенологическую плотность оказывали и остаточные гранулы имплантируемых биокомпозитов. С помощью выполненного нами морфометрического исследования было установлено, что во всех исследуемых группах имелись фрагменты гранулированного материала (размером 15–35 мкм), плотно встроенные в новообразованную трабекулярную структуру. Однако их количество к 90-м суткам не превышало 7,9% от общего объёма дефекта в группе 2 и сохранялось на уровне 17,4 и 17,3% в группах 3 и 4 соответственно, при этом площадь новообразованной костной ткани в группе 2 составила 23,06 [19,51; 26,01] %, в группе 3 — 17,5 [15,4; 20,8] % и в группе 4 — 7,6 [4,5; 9,3] % [15]. Следовательно, именно площадь новообразованной ткани оказывала большее влияние на рентгенологическую плотность регенерата, нежели оставшиеся, частично резорбируемые, фрагменты гранул.

Сопоставление полученных при РЭМ и МСКТ данных с определением корреляционных связей между ними стало основной, но не единственной задачей проводимого исследования.

Исследование элементного состава костных препаратов методом ЭДА позволило установить, что в группе 2 во все сроки наблюдения содержание кальция, фосфора и кремния было не просто наибольшим, но и имело статистически значимую разницу и с группой контроля, и с опытными группами, причём количество кальция и фосфора нарастало только до 60-х суток, а содержание кремния снижалось в десять раз к 90-м суткам. В группе 4 массовые доли кальция и фосфора хотя и нарастали до 90-х суток, но были наименьшими и сравнимыми с показателями в контрольной группе. Кремния на 30-е сутки определялось значимо больше, чем в группе контроля, но значимо меньше, чем в других опытных группах. Данные группы 3 занимали промежуточное положение, но были наиболее близки к показателям группы 4. Таким образом, максимальное накопление кальция в зоне костного дефекта было выявлено в группе 2, что в целом было пропорционально его концентрации в порошках.

Исходя из полученных данных можно предположить, что ориентация на количество элементов в исходном материале не может быть принята в качестве изолированного

фактора, определяющего ресурс ионного воздействия. Эксперимент показал более важную роль соотношений фосфатов и силикатов кальция в имплантируемом материале для проявления их регенераторного потенциала. Лучший потенцирующий эффект при массовом содержании в гранулах 60% ГА и 40% ВТ, свидетельствующий о наибольшей выраженности и продолжительности процессов формирования костной ткани, объясняется более ранней и высокой степенью деградации материала, в том числе с помощью тканевых активных клеточных элементов (к примеру, гигантских клеток инородных тел), с последующим более быстрым захватом и накоплением их клетками остеобластического ряда. Обращает на себя внимание, что при использовании фосфатно-силикатных имплантатов с соотношением ГА/ВТ 40/60 масс.% МСКТ плотность новообразованной ткани в зоне сформированного дефекта к 90-м суткам оказалась меньше, чем в группе 1, где зона метафизарного дефекта оставалась незаполненной.

Нами выполнено сравнение полученных методом РЭМ-ЗДА результатов с объективной рентгенологической картиной. Как показало проведенное исследование, лучшие результаты замещения дефекта наблюдались в группе 2, где уже к 30-м суткам регистрировались костные структуры, продолжающие органотипическую перестройку в 60-е и 90-е сутки эксперимента и достигшие в итоге плотности зрелой губчатой кости. В других опытных и контрольной группах показатели плотности костного регенерата к 90-м суткам исследования значительно отставали от результатов группы 2, причём более близкие значения зафиксированы у животных группы 3, а наименьшие и сопоставимые — в группах 1 и 4. Корреляция полученных рентгенологических данных и уровней содержания кальция, фосфора и кремния показала высокую тесноту связи между количеством кальция и плотностью костного регенерата, что является исследованной и объяснимой закономерностью. Выявленная в данной работе прямая корреляционная зависимость между высоким содержанием кремния в ранние сроки специализации соединительной ткани и рентгенологической плотностью кости подтверждает в первую очередь положение о значении этого микроэлемента в регенераторных процессах, а его снижение может служить маркером органотипической перестройки. С другой стороны, по полученным данным, вероятное оптимальное соотношение фосфата кальция (гидроксиапатита) и силиката кальция (волластонита) находится в области 60/40 масс.%. Данные выполненного эксперимента указывают на то, что дальнейшее повышение содержания силиката кальция ведёт к замедлению не только органотипической перестройки, но и формирования самого костного регенерата. Перспективой исследования является выявление границы регенераторного потенциала имплантатов при пропорциональном снижении количества кремния в имплантируемых биоматериалах.

Подводя общие итоги, следует отметить, что результаты, полученные в ходе выполнения данной работы,

демонстрируют целесообразность изучения особенностей течения репаративного остеогенеза в зависимости от ионного окружения, а также высокий потенциал использования синтетической биокерамики в целом и перспективности применения имплантатов на основе фосфатно-силикатных композитов для замещения костных дефектов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Стадийность накопления ионов кальция, фосфора и кремния находится в прямой корреляционной связи с рентгенологическими показателями плотности костного регенерата и изменяется в соответствии с процессами регенерации и специализации структур повреждённой области.

Количественные показатели содержания кальция и фосфора в костном регенерате нарастают преимущественно в сроки от 30 до 60 суток, а показатели кремния, достигая максимальных значений к 30-м суткам эксперимента, в дальнейшем монотонно снижаются, что подтверждает положение о значении этого микроэлемента в пусковых регенераторных процессах, а его снижение может служить маркером органотипической перестройки.

Синтетические гранулы, содержащие в своём составе фосфат кальция (гидроксиапатит) и силикат кальция (волластонит) в соотношении 60/40 масс.%, показали наибольший потенциал регенераторного воздействия как в ранние сроки (30 суток), так и на протяжении всего экспериментального исследования.

ДОПОЛНИТЕЛЬНО

Вклад авторов. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией). Наибольший вклад распределён следующим образом: А.А. Рождественский — проведение экспериментального исследования, сбор данных, обзор литературы, анализ данных, статистическая обработка, написание текста; Г.Г. Дзюба — обзор литературы, проведение экспериментального исследования, написание текста, редактирование статьи; Д.А. Полонянкин — сбор данных, редактирование статьи.

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

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с проведённым исследованием и публикацией настоящей статьи.

ADDITIONAL INFO

Author contribution. All authors confirm that their authorship meets the international ICMJE criteria (all authors have made a

significant contribution to the development of the concept, research and preparation of the article, read and approved the final version before publication). The greatest contribution is distributed as follows: A.A. Rozhdestvenskiy — conducting an experimental study, data collection, literature review, data analysis, statistical processing, writing a text; G.G. Dzuba — literature review, analysis of the results obtained, writing the text, editing the article;

D.A. Polonyankin — literature review, analysis of the results obtained, writing the text, editing the article

Funding source. The study was carried out as part of the fulfillment of the state task of the Ministry of Health of the Russian Federation № 056-00048-22-00 dated January 10, 2022.

Competing interests. The authors declare that they have no competing interests.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Штейнле А.В. Посттравматическая регенерация костной ткани (часть 1) // Сибирский медицинский журнал. 2009. Т. 4, № 1. С. 101–108. EDN: KZFTDH
2. Борзунов Д.Ю. Несвободная костная пластика по Г.А. Илизарову в проблеме реабилитации больных с дефектами и ложными суставами длинных костей // Гений ортопедии. 2011. № 2. С. 21–26. EDN: OGCTHL
3. Bokov A.E., Mlyavikh S.G., Shirokova N.Y., Davydenko D.V., Orlinskaya N.Y. Current Trends in the Development of Materials for Bone Grafting and Spinal Fusion (Review) // Modern Technologies in Medicine. 2018. Vol. 10, № 4. P. 203–219. doi: 10.17691/stm2018.10.4.24
4. Пуляев В.И. Современные биокерамические материалы // Со- ровский образовательный журнал. 2004. Т. 8, № 1. С. 44–50.
5. Zhou P., Xia D., Ni Z., et al. Calcium silicate bioactive ceramics induce osteogenesis through oncostatin M // Bioact Mater. 2020. Vol. 6, № 3. P. 810–822. doi: 10.1016/j.bioactmat.2020.09.018
6. Persikov A.V., Brodsky B. Unstable molecules form stable tissues // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2002. Vol. 99, № 3. P. 1101–1103. doi: 10.1073/pnas.042707899
7. Громова О.А., Торшин И.Ю., Лиманова О.А. Кальций и его синергисты в поддержке структуры соединительной и костной ткани // Лечащий врач. 2014. № 5. С. 69. EDN: SCPKLN
8. Mu Y., Du Z., Xiao L., et al. The Localized Ionic Microenvironment in Bone Modelling/Remodelling: A Potential Guide for the Design of Biomaterials for Bone Tissue Engineering // J Funct Biomater. 2023. Vol. 14, № 2. P. 56. doi: 10.3390/jfb14020056
9. Gharbi A., Oudadesse H., El Feki H., et al. High Boron Content Enhances Bioactive Glass Biodegradation // J Funct Biomater. 2023. Vol. 14, № 7. P. 364. doi: 10.3390/jfb14070364
10. Jugdaohsingh R. Silicon and bone health // J Nutr Health Aging. 2007. Vol. 11, № 2. P. 99–110.
11. Zhou B., Jiang X., Zhou X., et al. GelMA-based bioactive hydrogel scaffolds with multiple bone defect repair functions: therapeutic strategies and recent advances // Biomater Res. 2023. Vol. 27, № 1. P. 86. doi: 10.1186/s40824-023-00422-6
12. Скрипникова И.А., Гурьев А.В. Микроэлементы в профилактике остеопороза: фокус на кремний // Остеопороз и остеопатии. 2014. Т. 17, № 2. С. 36–40. doi: 10.14341/osteo2014236-40
13. Ros-Tárraga P., Mazón P., Revilla-Nuin B., et al. High temperature $\text{CaSiO}_3\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ceramic promotes osteogenic differentiation in adult human mesenchymal stem cells // Mater Sci Eng C Mater Biol Appl. 2020. Vol. 107. P. 110355. doi: 10.1016/j.msec.2019.110355
14. Misch C.E., Kircos L.T. Diagnostic imaging and techniques. Contemporary Implant Dentistry. 2nd ed. Mosby; St. Louis, 1999. P. 73–87.
15. Рождественский А.А., Дзюба Г.Г., Ерофеев С.А., и др. Репаративная регенерация при замещении костного дефекта синтетическим гранулированным имплантатом на основе различных комбинаций фосфата и силиката кальция // Политравма. 2023. № 4. С. 63–71. EDN: BVAQOD
16. Kupka J.R., Sagheb K., Al-Nawas B., Schiegnitz E. The Sympathetic Nervous System in Dental Implantology // J Clin Med. 2023. Vol. 12, № 8. P. 2907. doi: 10.3390/jcm12082907
17. Takayama T., Imamura K., Yamano S. Growth Factor Delivery Using a Collagen Membrane for Bone Tissue Regeneration // Biomolecules. 2023. Vol. 13, № 5. P. 809. doi: 10.3390/biom13050809
18. Корыткин А.А., Зыкин А.А., Захарова Д.В., Новикова Я.С. Применение обогащённой тромбоцитами плазмы при замещении очага аваскулярного некроза головки бедренной кости аллотрансплантатами // Травматология и ортопедия России. 2018. Т. 24, № 1. С. 115–122. doi: 10.21823/2311-2905-2018-24-1-115-122
19. Блаженко А.Н., Родин И.А., Понкина О.Н., и др. Влияние А-PRP-терапии на репаративную регенерацию костной ткани при свежих переломах костей конечностей // Инновационная медицина Кубани. 2019. Т. 3, № 15. С. 32–38. doi: 10.35401/2500-0268-2019-15-3-32-38
20. Wang Y., Kim J., Chan A., Whyne C., Nam D. A two-phase regulation of bone regeneration: IL-17F mediates osteoblastogenesis via C/EBP- β in vitro // Bone. 2018. Vol. 116. P. 47–57. doi: 10.1016/j.bone.2018.07.007
21. Monageng E., Offor U., Takalani N.B., Mohlala K., Opuwari C.S. A Review on the Impact of Oxidative Stress and Medicinal Plants on Leydig Cells // Antioxidants (Basel). 2023. Vol. 12, № 8. P. 1559. doi: 10.3390/antiox12081559
22. Дедов И.И., Мельниченко Г.А. Эндокринология. Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2019. 1112 с.
23. Gao M., Du Z., Dong Q., Su S., Tian L. DAP1 regulates osteoblast autophagy via the ATG16L1-LC3 axis in Graves' disease-induced osteoporosis // J Orthop Surg Res. 2023. Vol. 18, № 1. P. 711. doi: 10.1186/s13018-023-04171-z
24. Мироманов А.М., Гусев К.А. Гормональная регуляция остеогенеза: обзор литературы // Травматология и ортопедия России. 2021. Т. 27, № 4. С. 120–130. doi: 10.21823/2311-2905-1609
25. Aguilar A., Gifre L., Ureña-Torres P., et al. Pathophysiology of bone disease in chronic kidney disease: from basics to renal osteodystrophy and osteoporosis // Front Physiol. 2023. Vol. 14. P. 1177829. doi: 10.3389/fphys.2023.1177829
26. Hwang J., Lee S.Y., Jo C.H. Degenerative tendon matrix induces tenogenic differentiation of mesenchymal stem cells // J Exp Orthop. 2023. Vol. 10, № 1. P. 15. doi: 10.1186/s40634-023-00581-4
27. Xu B., Wang X., Wu C., et al. Compound icariin enhances BMP-2 induced differentiation and signalling by targeting

to connective tissue growth factor (CTGF) in SAMP6 osteoblasts // *PloS One*. 2018. Vol. 13, № 7. P. e0200367. doi: 10.1371/journal.pone.0200367

28. Shkurupy V.A., Kim L.B., Kovner A., Cherdanceva L.A. Connective tissue and the problems of its pathological conditions // *Bulletin of Siberian Medicine*. 2017. Vol. 16. P. 75–85. doi: 10.20538/1682-0363-2017-4-75-85

29. Mofakhami S., Salahinejad E. Biphasic calcium phosphate microspheres in biomedical applications // *J Control Release*. 2021. Vol. 338. P. 527–536. doi: 10.1016/j.jconrel.2021.09.004

30. Kamitakahara M., Tatsukawa E., Shibata Y., et al. Effect of silicate incorporation on in vivo responses of α -tricalcium phosphate ceramics // *J Mater Sci Mater Med*. 2016. Vol. 27, № 5. P. 97. doi: 10.1007/s10856-016-5706-5

31. Dashnyam K., Buitrago J.O., Bold T., et al. Angiogenesis-promoted bone repair with silicate-shelled hydrogel fiber scaffolds // *Biomater Sci*. 2019. Vol. 7, № 12. P. 5221–5231. doi: 10.1039/c9bm01103j

32. Edranov S.S., Matveeva N.Y., Kalinichenko S.G. Osteogenic and Regenerative Potential of Free Gingival Graft // *Bull Exp Biol Med*. 2021. Vol. 171. P. 404–401. doi: 10.1007/s10517-021-05237-w

33. Zhang J., Liu Y., Chen Y., et al. Adipose-Derived Stem Cells: Current Applications and Future Directions in the Regeneration of Multiple Tissues // *Stem Cells Int*. 2020. Vol. 2020. P. 8810813. doi: 10.1155/2020/8810813

REFERENCES

1. Shteinle AV. Posttraumatic regeneration of bone tissue (part 1). *Siberian Medical Journal*. 2009;4(1):101–108. EDN: KZFTDH

2. Borzunov DYU. Non-free bone grafting according to G.A. Ilizarov in the problem of rehabilitation of patients with long bones defects and pseudoarthroses. *Genij Ortopedii*. 2011;(2):21–26. EDN: OGCTHL

3. Bokov AE, Mlyavkyh SG, Shirokova NY, et al. Current Trends in the Development of Materials for Bone Grafting and Spinal Fusion (Review). *Modern Technologies in Medicine*. 2018;10(4):203–219. doi: 10.17691/stm2018.10.4.24

4. Putlaiyev VI. Modern bioceramic materials. *Sorov education journal*. 2004;8(1):44–50.

5. Zhou P, Xia D, Ni Z, et al. Calcium silicate bioactive ceramics induce osteogenesis through oncostatin M. *Bioact Mater*. 2020;6(3):810–822. doi: 10.1016/j.bioactmat.2020.09.018

6. Persikov AV, Brodsky B. Unstable molecules form stable tissues. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2002;99(3):1101–1103. doi: 10.1073/pnas.042707899

7. Gromova OA, Troshin Iyu, Limanova OA. Calcium and its synergists in supporting the structure of connective and bone tissue. *Attending doctor*. 2014;(5):69. EDN: SCPKLN

8. Mu Y, Du Z, Xiao L, et al. The Localized Ionic Microenvironment in Bone Modelling/Remodelling: A Potential Guide for the Design of Biomaterials for Bone Tissue Engineering. *J Funct Biomater*. 2023;14(2):56. doi: 10.3390/jfb14020056

9. Gharbi A, Oudadesse H, El Feki H, et al. High Boron Content Enhances Bioactive Glass Biodegradation. *J Funct Biomater*. 2023;14(7):364. doi: 10.3390/jfb14070364

10. Jugdaohsingh R. Silicon and bone health. *J Nutr Health Aging*. 2007;11(2):99–110.

11. Zhou B, Jiang X, Zhou X, et al. GelMA-based bioactive hydrogel scaffolds with multiple bone defect repair functions: therapeutic

34. Karadjian M., Essers C., Tsihlakidis S., et al. Biological Properties of Calcium Phosphate Bioactive Glass Composite Bone Substitutes: Current Experimental Evidence // *Int J Mol Sci*. 2019. Vol. 20, № 2. P. 305. doi: 10.3390/ijms20020305

35. Keshavarz M., Alizadeh P., Kadumudi F.B., et al. Multi-levelled Nanosilicate Implants Can Facilitate Near-Perfect Bone Healing // *ACS Appl Mater Interfaces*. 2023. Vol. 15, № 17. P. 21476–21495. doi: 10.1021/acsami.3c01717

36. Полонянкин Д.А., Блесман А.И., Постников Д.В., Теплоухов А.А. Теоретические основы растровой электронной микроскопии и энергодисперсионного анализа наноматериалов: учеб. пособие. Омск: Изд-во ОмГТУ, 2019. С. 5–10.

37. Чуйко А.Н., Копытов А.А. Компьютерная томография и основные механические характеристики костных тканей // Медицинская визуализация. 2012. № 1. С. 102–107. EDN: OYWKSL

38. Misch C.E. Density of bone: Effect on treatment planning, surgical approach, and healing. In: *Contemporary Implant Dentistry*. St. Louis, MI, USA, 1993. P. 469–485.

39. Яблоков А.Е. Оценка оптической плотности костной ткани при дентальной имплантации // Российская стоматология. 2019. Т. 12, № 3. С. 8–13. doi: 10.17116/rosstomat2019120318

40. Baek Y.W., Lim Y.J., Kim B. Comparison of Implant Surgery Methods of Cortical Tapping and Cortical Widening in Bone of Various Density: A Three-Dimensional Finite Element Study // *Materials (Basel)*. 2023. Vol. 16, № 8. P. 3261. doi: 10.3390/ma16083261

strategies and recent advances. *Biomater Res*. 2023;27(1):86. doi: 10.1186/s40824-023-00422-6

12. Skripnikova IA, Guriev AV. Micronutrients in the prevention of osteoporosis: focus on silicon. *Osteoporosis and osteopathy*. 2014;17(2):36–40. doi: 10.14341/osteo2014236-40

13. Ros-Tàrraga P, Mazón P, Revilla-Nuín B, et al. High temperature $\text{CaSiO}_3\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ceramic promotes osteogenic differentiation in adult human mesenchymal stem cells. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2020;(107):110355. doi: 10.1016/j.msec.2019.110355

14. Misch CE, Kircos LT. Diagnostic imaging and techniques. In: Misch C.E., editor. *Contemporary Implant Dentistry*. 2nd ed. Mosby; St. Louis; 1999. P. 73–87.

15. Rozhdestvenskiy AA, Dzuba GG, Erofeev SA, et al. Reparative regeneration when replacing a bone defect with a synthetic granular implant based on various combinations of calcium phosphate and silicate. *Polytrauma*. 2023;(4):63–71. EDN: BVAQQD

16. Kupka JR, Sagheb K, Al-Nawas B, Schiegnitz E. The Sympathetic Nervous System in Dental Implantology. *J Clin Med*. 2023;12(8):2907. doi: 10.3390/jcm12082907

17. Takayama T, Imamura K, Yamano S. Growth Factor Delivery Using a Collagen Membrane for Bone Tissue Regeneration. *Biomolecules*. 2023;13(5):809. doi: 10.3390/biom13050809

18. Koritkin AA, Zukin AA, Zakharova DV, Novikova YaS. The use of platelet-rich plasma in replacing the focus of avascular necrosis of the femoral head with allografts. *Traumatology and orthopedics of Russia*. 2018;24(1):115–122. doi: 10.21823/2311-2905-2018-24-1-115-122

19. Blazgenko AN, Rodin IA, Ponkina O, et al. Influence of A-PRP-therapy on reparative regeneration of bone tissue in fresh limb fractures. *Innovative medicine of Kuban*. 2019;3(15):32–38. doi: 10.35401/2500-0268-2019-15-3-32-38

20. Wang Y, Kim J, Chan A, Whyne C, Nam D. A two-phase regulation of bone regeneration: IL-17F mediates osteoblastogenesis via C/EBP- β in vitro. *Bone*. 2018;116:47–57. doi: 10.1016/j.bone.2018.07.007
21. Monageng E, Offor U, Takalani NB, Mohlala K, Opuwari CS. A Review on the Impact of Oxidative Stress and Medicinal Plants on Leydig Cells. *Antioxidants (Basel)*. 2023;12(8):1559. doi: 10.3390/antiox12081559
22. Dedov II, Melnichenko GA. *Endocrinology*. Moscow: GEOTAR-Media; 2019. 1112 p.
23. Gao M, Du Z, Dong Q, Su S, Tian L. DAP1 regulates osteoblast autophagy via the ATG16L1-LC3 axis in Graves' disease-induced osteoporosis. *J Orthop Surg Res*. 2023;18(1):711. doi: 10.1186/s13018-023-04171-z
24. Miromanov AM, Gusev KA. Hormonal regulation of osteogenesis: a review of the literature. *Traumatology and orthopedics of Russia*. 2021;27(4):120–130. doi: 10.21823/2311-2905-1609
25. Aguilar A, Gifre L, Ureña-Torres P, et al. Pathophysiology of bone disease in chronic kidney disease: from basics to renal osteodystrophy and osteoporosis. *Front Physiol*. 2023;14:1177829. doi: 10.3389/fphys.2023.1177829
26. Hwang J, Lee SY, Jo CH. Degenerative tendon matrix induces tenogenic differentiation of mesenchymal stem cells. *J Exp Orthop*. 2023;10(1):15. doi: 10.1186/s40634-023-00581-4
27. Xu B, Wang X, Wu C, et al. Flavonoid compound icariin enhances BMP-2 induced differentiation and signalling by targeting to connective tissue growth factor (CTGF) in SAMP6 osteoblasts. *PloS One*. 2018;13(7):e0200367. doi: 10.1371/journal.pone.0200367
28. Shkurupy VA, Kim V, Kovner AV, Cherdanceva LA. Connective tissue and the problems of its pathological conditions. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2017;16:75–85. doi: 10.20538/1682-0363-2017-4-75-85
29. Mofakhami S, Salahinejad E. Biphasic calcium phosphate microspheres in biomedical applications. *J Control Release*. 2021;338:527–536. doi: 10.1016/j.jconrel.2021.09.004
30. Kamitakahara M, Tatsukawa E, Shibata Y, et al. Effect of silicate incorporation on in vivo responses of α -tricalcium phosphate ceramics. *J Mater Sci Mater Med*. 2016;27(5):97. doi: 10.1007/s10856-016-5706-5
31. Dashnyam K, Buitrago JO, Bold T, et al. Angiogenesis-promoted bone repair with silicate-shelled hydrogel fiber scaffolds. *Biomater Sci*. 2019;7(12):5221–5231. doi: 10.1039/c9bm01103j
32. Edranov SS, Matveeva NY, Kalinichenko SG. Osteogenic and Regenerative Potential of Free Gingival Graft. *Bull Exp Biol Med*. 2021;171:404–401. doi: 10.1007/s10517-021-05237-w
33. Zhang J, Liu Y, Chen Y, et al. Adipose-Derived Stem Cells: Current Applications and Future Directions in the Regeneration of Multiple Tissues. *Stem Cells Int*. 2020;2020:8810813. doi: 10.1155/2020/8810813
34. Karadjian M, Essers C, Tsitlakidis S, et al. Biological Properties of Calcium Phosphate Bioactive Glass Composite Bone Substitutes: Current Experimental Evidence. *Int J Mol Sci*. 2019;20(2):305. doi: 10.3390/ijms20020305
35. Keshavarz M, Alizadeh P, Kadumudi FB, et al. Multi-leveled Nanosilicate Implants Can Facilitate Near-Perfect Bone Healing. *ACS Appl Mater Interfaces*. 2023;15(17):21476–21495. doi: 10.1021/acsami.3c01717
36. Polonyankin DA, Blesman AI, Postikov DV, Teployhov AA. *Theoretical foundations of scanning electron microscopy and energy dispersive analysis of nanomaterials: tutorial*. Omsk: OmgTU; 2019. 116 p.
37. Chuiko AN, Kopitov AA. Computed tomography and basic mechanical characteristics of bone tissues. *Medical visualization*. 2012;(1):102–107. EDN: OYWKSL
38. Misch CE. Density of bone: Effect on treatment planning, surgical approach, and healing. In: *Contemporary Implant Dentistry*. St. Louis, MI, USA; 1993. P. 469–485.
39. Yablokov AE. Evaluation of the optical density of bone tissue in dental implantation. *Russian Dentistry*. 2019;12(3):8–13. doi: 10.17116/rosstomat2019120318
40. Baek YW, Lim YJ, Kim B. Comparison of Implant Surgery Methods of Cortical Tapping and Cortical Widening in Bone of Various Density: A Three-Dimensional Finite Element Study. *Materials (Basel)*. 2023;16(8):3261. doi: 10.3390/ma16083261

ОБ АВТОРАХ

* **Рожdestvensкий Андрей Александрович;**

адрес: Россия, 644020, Омск, ул. Серова, 56;

ORCID: 0000-0002-9566-6926;

eLibrary SPIN: 3348-5229;

e-mail: Rozhdestvensky@bk.ru

Дзуба Герман Григорьевич, д-р мед. наук, доцент;

ORCID: 0000-0002-4292-213X;

eLibrary SPIN: 3290-2830;

e-mail: germanort@mail.ru

Полонянкин Денис Андреевич, канд. пед. наук,

ORCID: 0000-0001-6799-3105;

eLibrary SPIN: 8251-9838;

e-mail: dapolonyankin@omgtu.ru

AUTHORS' INFO

* **Andrey A. Rozhdestvenskiy,** MD;

address: 56 Serova str., 644020 Omsk, Russia;

ORCID: 0000-0002-9566-6926;

eLibrary SPIN: 3348-5229;

e-mail: Rozhdestvensky@bk.ru

German G. Dzuba, MD, Dr. Sci. (Medicine), associate professor;

ORCID: 0000-0002-4292-213X;

eLibrary SPIN: 3290-2830;

e-mail: germanort@mail.ru

Denis A. Polonyankin, Cand. Sci. (Pedagogy);

ORCID: 0000-0001-6799-3105;

eLibrary SPIN: 8251-9838;

e-mail: dapolonyankin@omgtu.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author