

## REVIEWS

## ХИРУРГИЧЕСКИЕ ИМПЛАНТАТЫ С ПОВЫШЕННОЙ ОСТЕОИНДУКТИВНОСТЬЮ НА ОСНОВЕ БИОКОМПОЗИЦИОННЫХ И КАЛЬЦИЙФОСФАТНЫХ МАТРИКСОВ, ИЗГОТОВЛЕННЫХ МЕТОДОМ 3D-ПРОТОТИПИРОВАНИЯ И СОДЕРЖАЩИХ РЕКОМБИНАНТНЫЕ БЕЛКОВЫЕ ФАКТОРЫ РОСТА, ДЛЯ РЕШЕНИЯ ЗАДАЧ РЕГЕНЕРАТИВНОЙ МЕДИЦИНЫ

**В. В. Зайцев<sup>1, 2</sup>, Т. В. Сафронова<sup>3</sup>, Р. С. Есипов<sup>2, 4</sup>, Ю. С. Лукина<sup>5</sup>**

<sup>1</sup> ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии имени Н. Н. Приорова» МЗ РФ, г. Москва, Россия

<sup>2</sup> АО «Научно-производственное объединение «ТРАНСКОМ», г. Москва, Россия

<sup>3</sup> ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова», г. Москва, Россия

<sup>4</sup> ФГБН «Институт биоорганической химии имени академиком М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова» РАН, г. Москва, Россия

<sup>5</sup> Российский химико-технологический университет имени Д. И. Менделеева, г. Москва, Россия

## SURGICAL IMPLANTS WITH INCREASED OSTEOINDUCTIVITY BASED ON BIOCOSMPOSITE AND CALCIUMPHOSPHATE MATRICES PRODUCED VIA 3D PROTOTYPING AND MODIFIED WITH RECOMBINANT PROTEIN GROWTH FACTORS FOR REGENERATIVE MEDICINE

**V. V. Zaitsev<sup>1, 2</sup>, T. V. Safronova<sup>3</sup>, R. S. Esipov<sup>2, 4</sup>, Yu. S. Lukina<sup>5</sup>**

<sup>1</sup> Priorov National Medical Research Center of Traumatology and Orthopedics of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

<sup>2</sup> Joint stock company «Research and production Association «TRANSKOM», Moscow, Russia

<sup>3</sup> Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

<sup>4</sup> Shemyakin–Ovchinnikov Institute of bioorganic chemistry of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

<sup>5</sup> Dmitry Mendeleev University of Chemical Technology of Russia, Moscow, Russia

**Резюме.** Представлены материалы для получения хирургических имплантатов на основе фосфатов кальция, а также рекомбинантные белковые факторы роста для решения задач регенеративной медицины (библ.: 4 ист.).

**Ключевые слова:** аддитивные технологии, конструкции тканевой инженерии, регенеративные методы лечения, рекомбинантные белковые факторы роста, фосфаты кальция.

*Статья поступила в редакцию 24.06.2019 г.*

**Summary.** Materials based on calcium phosphates and recombinant protein growth factors for surgical implant's for solving problems of regenerative medicine are presented (bibliography: 4 refs).

**Key words:** additive technologies, calcium phosphates, recombinant protein growth factors, regenerative medicine, tissue engineering constructions.

*Article received 24.06.2019.*

В Российской Федерации ежегодно регистрируется до 20 млн травм, половина из которых связана с переломами и посттравматическими дефектами костной ткани.

Приблизительно в 40% подобных оперативных случаев показана направленная тканевая регенерация с использованием остеопластических материалов и хирургических имплантатов на их основе.

Применение хирургических имплантатов, изготовленных методом 3D-прототипирования, с повышенной остеоиндуктивностью, содержащих рекомбинантные белковые факторы роста (рекомбинантные костные морфогенетические белки = recombinant human bone morphogenetic

proteins = rhBMP), может гарантированно предотвращать развитие посттравматической инвалидизации при последствиях травм челюстно-лицевой области черепа; краниопластике; резекции кист и новообразований длинных костей; открытых переломах длинных костей конечностей; формировании спинальных сращений; переломах длинных костей, осложненных сопутствующей патологией (сочетанная травма, инфицированные костные переломы).

Среди всех видов остеопластических матриц, применяемых в настоящее время в мировой хирургической остеологии, 30% составляют синтетические кальцийфосфатные остеозамещающие

материалы, 26% — деминерализованный костный матрикс и 44% — материалы, содержащие rhBMP.

Биокомпозиционные и кальцийфосфатные матриксы и хирургические имплантаты на их основе, изготовленные из ксеногенных тканей или резорбируемых фосфатов кальция, доминируют на мировом рынке изделий медицинского назначения.

Востребованность различных видов исходных матриксов, используемых для изготовления остеопластических материалов, которые закупаются государственными лечебными учреждениями РФ, достаточна велика. Потребность российского рынка в разрабатываемых матриксах и хирургических имплантатах составляет более 0,5 млн единиц в год.

Данные портала государственных закупок Российской Федерации о заключенных контрактах свидетельствуют о том, что остеопластические материалы, закупленные государственными лечебными учреждениями, составляют:

51% — на основе ксеногенного костного матрикса, полученного от сельскохозяйственных животных;

37% — на основе синтетического кальцийфосфатного матрикса;

10% — на основе аллогенного костного матрикса.

При этом на отечественном медицинском рынке полностью отсутствуют хирургические имплантаты на основе биокомпозиционных и кальцийфосфатных матриксов, изготовленные с помощью 3D-прототипирования, с контролируемой пористой системой и повышенной остеоиндуктивностью, содержащие rhBMP.

Поэтому в настоящее время актуальной является разработка технологий получения высокоостеоиндуктивных хирургических имплантатов на основе биокомпозиционных и кальцийфосфатных матриксов, изготовленных методом 3D-прототипирования и содержащих rhBMP [1].

Широкая доклиническая оценка и 20-летний мировой опыт клинического применения продемонстрировали эффективность rhBMP в качестве активного стимулятора остеогенеза, регенераторный потенциал которых равен потенциалу аутологичного костного материала или превосходит его.

Разрабатываемые имплантаты на основе новых остеопластических материалов и хирургических имплантатов предназначены для коррекции сложной патологии опорно-двигательной системы человека, а именно для:

— хирургической коррекции сложных врожденных и приобретенных пороков лицевого черепа;

— краниопластики;

— лечения костной патологии после резекции кист и новообразований;

— лечения открытых переломов длинных костей;

— лечения костных несращений при множественных переломах или несращениях длинных костей;

— формирования клинически эффективных спинальных сращений;

— лечения костных переломов при сочетании травмы и инфицирования.

Для успешного применения новых остеопластических материалов на основе синтетических кальцийфосфатных матриксов необходимо, чтобы материалы отвечали следующим требованиям:

— были изготовлены из биосовместимых материалов заданного фазового состава с высокой химической чистотой, исключающей соединительнотканное инкапсулирование имплантата в организме реципиента;

— обладали открытой бимодальной пористой структурой;

— характеризовались выраженным капиллярным эффектом и гидрофильностью сформированной пористой системы;

— обеспечивали возможность фиксации rhBMP, в том числе и через носитель второго уровня;

— резорбировались синхронно с регенерацией костной ткани по времени;

— имели достаточную для манипуляций начальную механическую прочность [2].

Хирургические имплантаты могут быть изготовлены на основе недеминерализованного, деминерализованного, термически депротейнизированного ксеногенного костного матрикса. При этом они могут быть использованы в виде крошки губчатого слоя, крошки кортикального слоя, блоков губчатого слоя, кортикальных пластин, цилиндров, кортикальных мембран тонкого среза — имплантата надкостницы (варианты исполнения «кортикальный бинт» или «кортикальный пластырь»).

Кальцийфосфатные материалы как основа для создания конструкций тканевой инженерии могут содержать в своем составе ряд биосовместимых биорезорбируемых неорганических фаз, к которым относят: трикальцийфосфат ( $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ), пирофосфат кальция ( $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$ ), карбонатгидроксипатит, октакальциевый фосфат ( $\text{Ca}_8(\text{HPO}_4)_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ), Na- и K-замещенные трикальцийфосфаты ( $\text{Ca}_{10}\text{Na}(\text{PO}_4)_7$ ,  $\text{Ca}_{10}\text{K}(\text{PO}_4)_7$ ), монетит ( $\text{CaHPO}_4$ ), брушит ( $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ), струвит ( $\text{NH}_4\text{MgPO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ), ньюберит ( $\text{MgHPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ), пирофосфат магния ( $\text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7$ ), т. е. материалы принадлежащие к системам  $\text{CaO}-\text{P}_2\text{O}_5$ ,  $\text{CaO}-\text{P}_2\text{O}_5-\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{CaO}-\text{P}_2\text{O}_5-\text{CO}_2$ ,  $\text{CaO}-\text{P}_2\text{O}_5-\text{CO}_2-\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{MgO}-\text{CaO}-\text{P}_2\text{O}_5$ ,  $\text{Na}_2\text{O}-\text{CaO}-\text{P}_2\text{O}_5$ ,  $\text{K}_2\text{O}-\text{CaO}-\text{P}_2\text{O}_5$ , и ряд других [3].

Хирургические имплантаты могут быть представлены биокомпозиционными матриксами «коллаген/фосфаты кальция», инъекруемыми пористыми (вспененными) кальцийфосфатными цементами, объемными формами с открытой пористой системой. При этом резорбируемые неорганические или композитные матриксы могут служить основой для создания конструкций тканевой инженерии, будучи модифицированными рекомбинантными морфогенетическими белками или фармацевтическими субстанциями целевого назначения, например антибиотиками пролонгированного действия. Лекарственные препараты могут быть инкорпорированы в структуру резорбируемого матрикса с помощью сверхкритических технологий.

Для получения неорганических материалов с пористой структурой используют различные способы [4]. Среди них: метод выгорающих добавок, метод вспенивания шликера, метод реплики, разнообразные приемы аддитивных технологий, применяемых на стадии формования. Наибольшее распространение среди методов аддитивных технологий получили метод стереолитографической печати керамического полуфабриката и метод экструзионной печати из высококонцентрированных суспензий.

Макропористые керамические кальцийфосфатные матриксы с архитектурой «гиرويد» и «кельвин», полученные с использованием 3D-печати, обладают максимально большой поверхностью, необходимой для последующего инкорпорирования rhBMP или целевых фармацевтических субстанций.

Для получения с использованием стереолитографической 3D-печати резорбируемых кальцийфосфатных керамических пористых матриц, обладающих заданной геометрией порового пространства, необходимо: синтезировать активные порошки фосфатов кальция; подготовить суспензию этих порошков в смеси мономеров, способных формировать пространственную полимерную сетку при воздействии УФ-света; осуществить печать прекерамического полуфабриката, представляющего собой композит с полимерной матрицей, наполненной кальцийфосфатным порошком; провести термообработку для удаления полимера и спекания кальцийфосфатного порошка. Данная последовательность операций позволяет получить керамические материалы заданного фазового состава и с заданной архитектурой керамического скелета.

При получении керамических кальцийфосфатных материалов с использованием экструзионной послойной печати необходимо приготовить высококонцентрированную суспензию кальцийфосфатного порошка, дисперсионная среда которой

представлена водными растворами солей неорганической или органической природы и/или водными растворами полимеров; провести послойное формование порошковых кордов, продавливая суспензию через фильеру заданного размера; после сушки сформованного изделия провести термообработку для разложения солей, удаления временного технологического связующего и спекания керамического скелета.

Оба описанных метода были использованы для получения пористых керамических материалов, фазовый состав которых был представлен преимущественно пирофосфатом кальция  $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$ . Для снижения температуры обжига и управления микроструктурой керамического материала использовали спекающую добавку — полифосфат кальция  $\text{Ca}(\text{PO}_3)_2$ . Поли- и пирофосфаты кальция обладают большей скоростью резорбции (растворения), чем хорошо известные и широко применяемые материалы, включающие гидроксипатит  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$  и трикальцийфосфат  $(\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2)$ .

Керамические материалы с архитектурой «гиرويد» и «кельвин», полученные с использованием стереолитографической печати в качестве метода формования прекерамического полуфабриката, обладали общей пористостью до 85%. Керамические материалы, произведенные с применением экструзионного пластического формования, обладали общей пористостью до 70%. При этом макропоры имели размер 100–900 мкм, а микропоры — до 10 мкм. Материалы обладали прочностью, достаточной для проведения экспериментов по оценке биосовместимости как *in vitro*, так и *in vivo*.

Оценка выраженности биологического отклика на кальцийфосфатные матриксы различной пористости была проведена на модели подкожной имплантации мелким лабораторным животным.

Пористый кальцийфосфатный матрикс с фазовым составом, представленным преимущественно пирофосфатом кальция  $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$ , стимулировал развитие выраженного ангиогенеза. При этом аналогичный по составу плотный матрикс, имеющий только микропористую систему, не стимулировал развитие капиллярной кровеносной сосудистой сети в окружающей соединительнотканной капсуле.

Наиболее перспективным направлением повышения остеоиндуктивности хирургических имплантатов и ускорения процессов регенерации костной ткани является создание биокомпозитных материалов, содержащих основные компоненты ткани и активные белковые субстанции rhBMP.

Применение синтетических остеопластических материалов, содержащих rhBMP, позволяет получать клинически значимые костные сращения в ранее практически безнадежных клинических

случаях, сократить сроки реабилитации больных, исключает многочисленные проблемы, связанные с применением ауто- и аллогенных костных материалов [1].

При планировании исследований, связанных с разработкой и получением конструкций тканевой инженерии, необходимо выбрать эффективную технологию получения rhBMP; выбрать адекватный вариант биодеградируемого носителя для rhBMP; определить варианты химической фиксации rhBMP на биодеградируемом носителе; выявить клинически эффективные дозы rhBMP в зависимости от этиологии, локализации и выраженности патологического процесса; предпринять ряд мер, направленных на снижение коммерческой стоимости rhBMP.

В рамках предварительных исследований по проблеме была произведена отработка доклинической оценки остеопластических материалов в модельных исследованиях *in vivo*. Были отработаны следующие модели с использованием мелких лабораторных животных: модель подкожной импланта-

ции; остеосинтез при имплантации исследуемого материала в сформированный костный диастаз в большеберцовой кости с интрамедулярной фиксацией и в бедренной кости с наружной костной фиксацией аппаратом балочного типа; формирование костной перфорации критического размера с интрамедулярной фиксацией; протезирование тазобедренного сустава двуполюсным эндопротезом.

Таким образом, развитие регенеративных методов лечения костной ткани предполагает проведение исследований и развитие следующих технологий: получения синтетических кальцийфосфатных остеопластических матриц с использованием при формировании методов 3D-печати, включая стереолитографическую и экструзионную печать; очистки и модификации ксеногенных костных матриц в сверхкритических средах; фиксации rhBMP на исходных биокомпозиционных и синтетических матрицах; химической стабилизации биологических матриц, содержащих rhBMP (с целью контроля времени резорбции).

#### УВЕДОМЛЕНИЕ

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проекты № 18-29-11079 мк и 18-53-00034).

#### NOTIFICATION

The work was carried out with the financial support of the RFBR (projects N 18-29-11079 MK and 18-53-00034).

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Zaitsev V. V. Biocomposite osteoplastic materials based on biological, polymer and calcium phosphate matrices using modified supercritical and genetic engineering technologies for tissue engineering in regenerative medicine. Production technology, preclinical evaluation in model studies "in vitro" and "in vivo". *Materialy X yubileynogo Vserossiyskogo s"ezda travmatologov-ortopedov* (Proceedings of the X anniversary all-Russian Congress of orthopaedic traumatologists), Moscow, 16–19 September 2014. Russian (Зайцев В. В. Биокomпозиционные остеопластические материалы на основе биологических, полимерных и кальций-фосфатных матриц, модифицированных с использованием сверхкритических и генно-инженерных технологий для тканевой инженерии в регенеративной медицине. Технология получения, доклиническая оценка в модельных исследованиях «in vitro» и «in vivo». Материалы X юбилейного Всероссийского съезда травматологов-ортопедов, Москва, 16–19 сентября 2014 г.).
2. Reddi A. H. BMPs: from bone morphogenetic proteins to body morphogenetic proteins. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2005; 16: 249–50. DOI: 10.1016/j.cytogfr.2005.04.003
3. Safronova T. V., Putlyayev V. I. Powder Systems for Calcium Phosphate Ceramics. *Inorganic Materials.* 2017; 53 (1): 17–26. DOI: 10.1134/S0020168516130057
4. Belyakov A. V., Lukin E. S., Safronova T. V., Safina M. N., Putlyayev V. I. Porous materials made from calcium phosphates (Review). *Glass and Ceramics.* 2008; 65 (9–10): 337–9. DOI: 10.1007/s10717-009-9086-x

### СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

**Зайцев Владимир Валентинович** — канд. мед. наук, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии имени Н. Н. Приорова» МЗ РФ, 127299, Россия, г. Москва, ул. Приорова, д. 10, АО «НПО «ТРАНСКОМ», Россия, 109028, г. Москва, Ивановский малый пер., д. 4, стр. 1, конт. тел.: +7(929)6045377, e-mail: zaitsev-cito@mail.ru

**Сафронова Татьяна Викторовна** — канд. тех. наук, доцент, старший научный сотрудник, химический факультет, ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова», 119991, Россия, г. Москва, ГСП-1, Ленинские горы, д. 1, стр. 3, конт. тел.: +7(916)3470641, e-mail: t3470641@yandex.ru

**Есипов Роман Станиславович** — канд. хим. наук, ФГБУН «Институт биоорганической химии имени академиков М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова» РАН, 117997, Россия, г. Москва, ГСП-7, ул. Миклухо-Маклая, д. 16/10, АО «НПО «ТРАНСКОМ», Россия, 109028, г. Москва, Ивановский малый пер., д. 4, стр. 1, конт. тел.: +7(495)3366833, e-mail: esipov@ibch.ru

**Лукина Юлия Сергеевна** — канд. тех. наук, доцент, Российский химико-технологический университет имени Д. И. Менделеева, 125047, Россия, г. Москва, Миусская площадь, д. 9, конт. тел.: +7(903)1503038, e-mail: lukina\_rctu@mail.ru

### INFORMATION ABOUT AUTHORS

**Zaitsev Vladimir V.** — M. D., Ph. D. (Medicine), Priorov National Medical Research Center of Traumatology and Orthopedics of the Ministry of Health of the Russian Federation, 10, Priorova str., Moscow, Russia, 127299, JSC «RPA «TRANSCOM», 4–1, Malyy Ivanovskiy alleyway, Moscow, Russia, 109028, cont. phone: +7(929)6045377, e-mail: zaitsev-cito@mail.ru

**Safronova Tatyana V.** — Ph. D. (Engineering), associate professor, senior researcher, Faculty of Chemistry, Lomonosov Moscow State University, 1–3, Leninskiye Gory, GSP-1, Moscow, Russia, 119991, cont. phone: +7(916)3470641, e-mail: t3470641@yandex.ru

**Esipov Roman S.** — Ph. D. (Chemistry), Shemyakin–Ovchinnikov Institute of bioorganic chemistry of the Russian Academy of Sciences, 16/10, Miklukho-Maklaya str., GSP-7, Moscow, Russia, 117997, JSC «RPA «TRANSCOM», 4–1, Malyy Ivanovskiy alleyway, Moscow, Russia, 109028, cont. phone: +7(495)3366833, e-mail: esipov@ibch.ru

**Lukina Yulia S.** — Ph. D. (Engineering), associate professor, Dmitry Mendeleev University of Chemical Technology of Russia, 9, Miuskaya square, Moscow, Russia, 125047, cont. phone: +7(903)1503038, e-mail: lukina\_rctu@mail.ru