

Original article

© Коллектив авторов, 2016

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ НОВОГО БИОКОМПОЗИЦИОННОГО МАТЕРИАЛА НА ОСНОВЕ ГИАЛУРОНОВОЙ КИСЛОТЫ И НЕДЕМИНЕРАЛИЗОВАННОГО КОСТНОГО КОЛЛАГЕНА НА ВОССТАНОВЛЕНИЕ КОСТНЫХ ДЕФЕКТОВ

Иванов С.Ю.^{1,4}, Ларионов Е.В.², Петров А.И.³, Петров И.Ю.³, Ипполитов Ю.А.³,
Семенова Ю.А.^{1,4}

¹ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» Минобнауки, 117198, Москва;

²ООО «НПК ВИТАФОРМ», 127318, Москва;

³ФГБОУ ВО «Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко» Минздрава России,
394036, Воронеж,

⁴ФГБОУ ВО «Нижегородская государственная медицинская академия» Минздрава России,
603005, Нижний Новгород, Россия

В настоящее время для обеспечения полноценной репаративной регенерации костной ткани в практике хирургической стоматологии и челюстно-лицевой хирургии используется большое количество биоматериалов.

Целью настоящего экспериментального исследования – новый материал для костной пластики на основе гиалуроновой кислоты (ГК), сульфатированных гликозаминогликанов (сГАГ) и недеминерализованного костного коллагена на восстановление костных дефектов.

Материал и методы: в работе использовали 20 кроликов породы Шиншилла, которых разделили на 2 группы – опытную и контрольную. Под местной анестезией бором формировали дефекты в гребне подвздошной кости, которые заполняли биоматериалом. В 1-й (опытной) группе в созданный дефект имплантировали исследуемый материал, состоящий из биоконпозиции ГК, сГАГ и недеминерализованного коллагена, во 2-й (контрольной) группе дефект заполняли крошкой недеминерализованного коллагена. Животных выводили из эксперимента в сроки 2 нед, 1, 2 и 3 мес.

Результаты и выводы: проводили гистоморфологические и гистохимические исследования образцов костной ткани, которые позволили сделать вывод о том, что разработанный биоконпозиционный материал на основе ГК, сГАГ и недеминерализованного коллагена обладает эффективным стимулирующим действием на репарацию костного дефекта, препятствует развитию воспаления и фиброза, способствует образованию новой костной ткани, что делает возможным его применение при восстановлении костных дефектов при оперативных вмешательствах в хирургической стоматологии и челюстно-лицевой хирургии.

Ключевые слова: гиалуроновая кислота; сГАГ; костный недеминерализованный коллаген; восстановление костных дефектов.

Для цитирования: Иванов С.Ю., Ларионов Е.В., Петров А.И., Петров И.Ю., Ипполитов Ю.А., Семенова Ю.А. Исследование влияния нового биоконпозиционного материала на основе гиалуроновой кислоты и недеминерализованного костного коллагена на восстановление костных дефектов. *Российский вестник дентальной имплантологии*. 2016; 2(34): DOI:.....

ОСТЕОПЛАСТИЧЕСКИЕ ТЕХНОЛОГИИ И МАТЕРИАЛЫ

Для корреспонденции: Семенова Юлия Александровна, аспирант каф. челюстно-лицевой хирургии и имплантологии ФПКВ НижГМА, E-mail: juliya_semenova@bk.ru

Ivanov S.Yu.^{1,4}, Larionov E.V.², Petrov A.I.³, Petrov I.Yu.³, Ippolitov Yu.A.³, Semenova Yu.A.^{1,4}
**STUDY OF NEW BIOCOMPOSITE MATERIAL BASED ON
HYALURONIC ACID AND NO DEMINERALISATION BONE COLLAGEN RESTORATION BONE DEFECTS**

¹People's Friendship University of Russia, 117198, Moscow, Russian Federation;

²Scientific Production Company «Vitaphorm», 127318, Moscow, Russian Federation;

³N.N. Burdenko Voronezh State Medical University, 394036, Voronezh, Russian Federation;

⁴Post graduate education in Nizhny Novgorod medical state academy, 603005, Nizhny Novgorod, Russian Federation

Objective: At the present time to provide a complete reparative regeneration of bone tissue in the practice of surgical stomatology and maxillo-facial surgery uses a large number of different biomaterials.

The aim of this study is an experimental study of a new material for osteoplasty based on hyaluronic acid (HA), sulfated glycosaminoglycans (sGAG) and nedemineralizovannogo bone collagen to restore bone defects.

Materials and Methods: We used 20 Chinchilla rabbits, which were divided into two groups, experimental and control. Under local anesthesia, boron formed defects in the crest of the ilium, which was filled with biomaterial. In the first group (experimental) in the created defect was implanted test material consisting of biocomposition HA sGAG nedemineralizovannogo and collagen, in the second group (control) the defect was filled with crumbs nedemineralizovannogo collagen. The animals were taken out of the experiment in terms of 2 weeks, 1, 2 and 3 months.

Results and conclusions: performed histomorphological and histochemical examination of bone samples, which led to the conclusion that the developed biocomposite material based on HA sGAG and nedemineralised collagen has effective stimulating effect on bone defect repair, prevents the development of inflammation and fibrosis, promotes the formation of new bone, which makes possible its use in the restoration of bone defects in surgical interventions in surgical dentistry and maxillo-facial surgery.

Keywords: *hyaluronic acid; sulfated glycosaminoglycans; nondemineralised bone collagen; bone defects' recovery.*

Citation: Ivanov S.Yu., Larionov E.V., Petrov A.I., Petrov I.Yu., Ippolitov Yu.A., Semenova Yu.A. Study of new biocomposite material based on hyaluronic acid and no demineralisation bone collagen restoration bone defects. The russian bulletin of dental implantology. 2016; 2(34): . (in Russian). DOI:.....

For correspondence: *Semenova Julija Aleksandrovna*, postgraduate student of the Department of maxillofacial surgery and implantology of the Nizhny Novgorod state medical Academy, E-mail: juliya_semenova@bk.ru

Acknowledgments. The study had no sponsorship.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Received 28.03.16

Accepted 12.05.16

Определенные дефекты костной ткани или ее возрастная утрата, патологические состояния не могут быть устранены путем ее физиологической регенерации или простым хирургическим вмешательством [1]. В таких случаях для восстановления ткани, как правило, применяются биоматериалы или их

синтетические аналоги, способные либо механически выполнять функции кости, либо оказывать индуцирующее влияние на процессы регенерации.

В настоящее время существует большое количество разнообразных биопластических материалов, которые обладают остеокондуктивными и/или остеиндуктив-

ными свойствами. Материалы, содержащие практически чистый гидроксиапатит, проявляют главным образом кондуктивные свойства. Другая группа материалов представляет собой либо полностью или частично деминерализованную костную ткань, либо некоторые компоненты данной ткани, а также их сочетания с факторами роста и/или биологически активными субстанциями, обладающими способностью индуцировать остеогенез или направленно влиять на обменные процессы в формирующейся кости [2, 3].

Современные остеопластические материалы должны быть эффективными, безопасными, хорошо заполнять объем костного дефекта, обладать osteoconductive и osteoinductive функциями, способствовать формированию новой кости, подобной материнской. В настоящее время ведется поиск и разработка новых биологических и синтетических агентов, добавление которых в имплантируемый костезамещающий материал будет способствовать улучшению микроциркуляции в области операции, ускорению прорастания сосудов и репаративной регенерации костной ткани в месте дефекта [4].

Особую роль в формировании и построении костной ткани играют матричные сложные полисахариды (гиалуроновая кислота, хондроитин и гепаран сульфаты) [2, 3, 5]. Важным матричным компонентом соединительной ткани, особенно развивающейся, является несulfатированный гликозаминогликан – гиалуроновая кислота [6, 7].

Гиалуроновая кислота (ГК) как молекула состоит из неразветвленных цепей дисахаридов D-глюкуроновой кислоты и N-ацетилглюкозамина с М.в. 550 000 - 800 000 Da., соединенных гликозидной связью. Водные растворы высокомолекулярной натриевой соли ГК характеризуются высокой вязкостью и когезивностью [8]. Эти растворы стали использовать в офтальмохирургии и артрохирургии для защиты клеток от механических повреждений в качестве протекторов (вископротекторов) для поддержания или создания защищенных пространств в тканях [6].

Как когезивный вископротектор ГК характеризуется относительно прочными соединениями молекулярных цепочек между собой, за счет чего раствор ГК ведет себя как единая масса, поддерживающая объем полостей и дефектов [9]. Это свойство широко используется в косметологии, ортопедии и офтальмохирургии.

В адгезивных или дисперсионных растворах межмолекулярные цепочки менее прочно связаны друг с другом. Такие растворы более текучи (при той же концентрации полимера, что и в когезивном) и хуже удерживают необходимый объем полости или дефекта. Адгезивные растворы (например, раствор sulfатированных глико-

заминогликанов – сГАГ) прочнее соединяются с клетками тканей, образуя на поверхности клеточного пласта тонкий защитный молекулярный слой [10].

К основным свойствам ГК следует отнести ее биоинертность и биосовместимость, она входит в состав зрелой и развивающейся соединительной ткани, где играет роль межклеточного вещества, способного заполнять и поддерживать эффективный объем за счет связывания большого количества воды [4].

В костной ткани ГК – единственный представитель несulfатированных гликозаминогликанов. В развивающейся костной ткани содержание ГК в два раза выше, чем в зрелой ткани.

В настоящее время в научной литературе имеются единичные сообщения об экспериментальных исследованиях ГК и морфогенетических белков при восстановлении костных дефектов [11]. Однако ее роль в восстановлении и заживлении костной ткани остается малоизученной.

Известна новая отечественная разработка биокомпозиционного материала на основе ГК, сГАГ и недеминерализованного костного коллагена (Патент РФ № 2517037). К положительным свойствам этой композиции относится наличие биосовместимого коллагена костной ткани в качестве основного носителя комплекса ГК и сГАГ. Материал соответствует всем требованиям, предъявляемым к безопасности и функциональности его применения.

Цель настоящего исследования – экспериментальное и гистоморфологическое изучение влияния нового остеопластического материала на основе ГК, сГАГ и недеминерализованного коллагена на восстановление экспериментальных костных дефектов.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В работе использовали отечественный биоматериал – недеминерализованный костный коллаген, выделенный из кости быка (производство ООО «НПК ВИТА-ФОРМ», г. Москва) в виде крошки, который смешивали с композицией ГК (М.в. 550 000 - 800 000 Da) и сГАГ (хондроитин сульфат, Bioiberica (Испания)).

Особенностью технологии получения биокомпозиции является поэтапный селективный процесс элиминации резидуальных белков (до 10 % органического матрикса костной ткани) путем гидролизной обработки костной ткани, обезжириванием в смеси хлороформ: этанол, отмывки, интенсивного смешивания с ГК и сГАГ. Полученную таким образом композицию использовали в виде костной крошки размером 700-2000 мкм, стерилизованную потоком быстрых электронов (Патент РФ № 2517037).

Исследования действия композиции на состояние костного дефекта проводили на кроликах породы Шин-

шила ($n=20$), которых разделили на 2 группы – опытную и контрольную, в каждой было по 10 животных.

Хирургические вмешательства выполняли под общей анестезией Рометаром, 20,0 мл (Чехия) в дозировке 0,1 мг на кг массы тела.

Под местной анестезией Sol. Lidokaini 1% - 2 мл проводили горизонтальный разрез кожи, хирургический доступ осуществляли через боковую поверхность подвздошной кости, с последующим ее скелетированием. Остеотомом цилиндрической формы диаметром 3,0 мм со скоростью вращения 100 оборотов в 1 мин перпенди-

кулярно кости создавали костные дефекты глубиной до 1 см у всех 20 кроликов.

В 1-й (опытной) группе животных дефект заполняли недеминерализованным костным коллагеном, выделенным из губчатой кости и содержащим гликозаминогликаны, смешанные предварительно с ГК в пропорции 1:3. Сверху укладывали коллагеновую резорбируемую мембрану («НПК ВИТАФОРМ», г. Москва), рану покрывали антисептиком. Во 2-й (контрольной) группе у 10 кроликов костные дефекты заполняли недеминерализованным костным коллагеном. Сверху укладывали

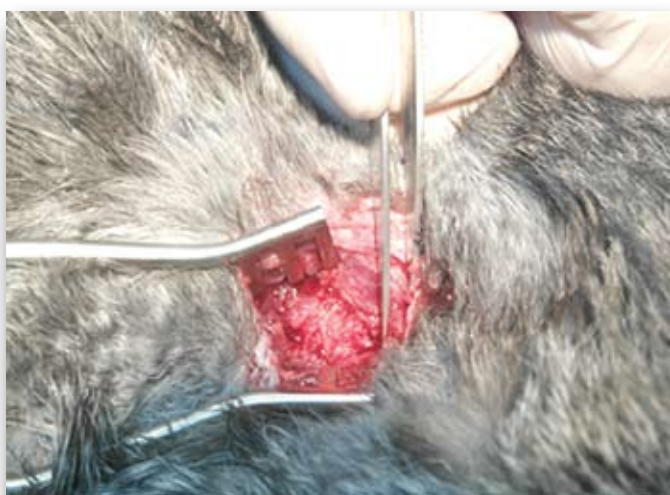


Рис. 1.

Ход операции.

Материал уложен в дефект гребня подвздошной кости.

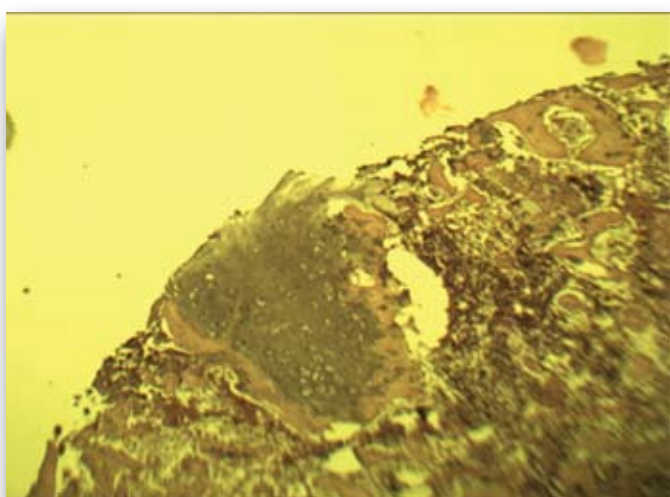


Рис. 2.

Гистологическая картина поперечного среза участка дефекта кости, заполненного биокомпозицией и ГК через 2 недели после операции.

Видна «пробка» пастообразной массы с крошкой. Окраска гематоксилин эозин. Опыт. Ув.100.

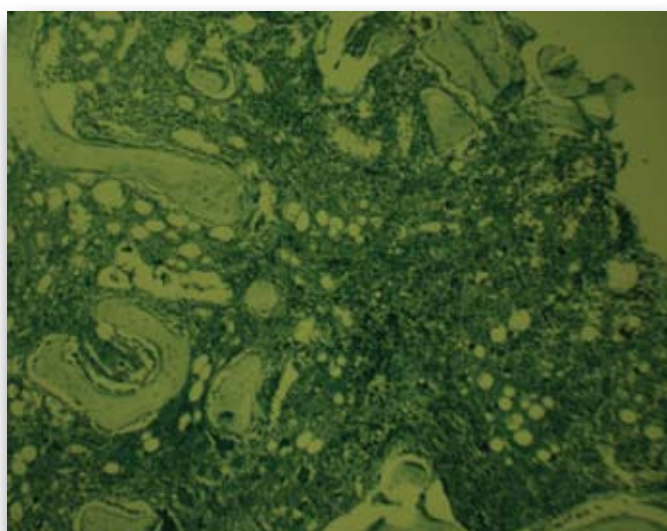


Рис. 3.

Гистохимическая картина участка поперечного среза дефекта подвздошной кости, заполненного биокомпозицией через 2 недели после операции.

Окраска ферригидроксиолом Опыт. Ув.140.

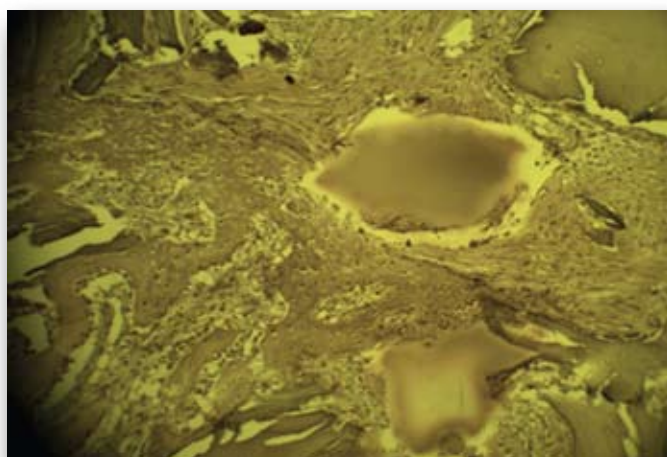


Рис. 4.

Гистологическая картина участка дефекта кости, заполненного композицией через 2 недели после операции.

Опыт. Окраска гематоксилин эозин. Опыт. Ув.240.

коллагеновую мембрану, рану покрывали антисептиком (рис. 1).

Место хирургического вмешательства ушивали покойно во избежание разрыва мягкотканых лоскутов с использованием нитей из рассасывающего полилактина 910 (викрил 5/0, производитель «Этикон», Саммервилль, США). Животных держали на обычной диете в течение 3 мес.

Кроликов выводили из эксперимента через 2 нед, 1 и 3 мес по 2 животных в каждой группе эвтаназией путем введения летальной дозы препарата «Зоолетил» в соответствии с рекомендациями МЗ РФ.

После выведения животных из эксперимента и удаления из подвздошной области фрагментов кости полученные биоптаты погружали в свежеприготовленный 10% нейтральный буферизованный формалин для фиксации на 10–14 дней.

Гистоморфологические и гистохимические исследования проводили на базе ФГБОУ ВО «Нижегородская государственная медицинская академия» Минздрава России и ФГБОУ ВО «Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко» Минздрава России. Для выполнения гистологических и гистохимических методов исследования после фиксации фрагмент промывали в проточной воде не менее 2 сут. После деминерализации костных фрагментов готовили парафиновые срезы и окрашивали морфологические препараты гематоксилином и эозином, а также для идентификации ГК проводили гистохимическую окраску с помощью реакции с ферригидроксиолом при pH 2,0.

Изучение препаратов и фотографирование выполняли с помощью микроскопа Motic и фотокамеры MoticCam (Испания).

РЕЗУЛЬТАТЫ.

Использованный в работе костный недеминерализованный коллаген – это пористый материал белого или слегка желтоватого цвета, который после смешивания с композиционным раствором ГК и сГАГ представляет собой вязкую пластичную массу, легко и полностью заполняющую весь объем дефекта.

Во время срока исследования все животные были здоровы и активны. Заживление операционных ран проходило без осложнений в опытных и контрольных группах.

Гистоморфологическая и гистохимическая картина в исследованных группах животных была следующей (рис. 2, 3).

В опытной группе животных через 2 нед после операции материал полностью заполнял объем дефекта без пустот и полостей, ограничивая зону дефекта по периферии от окружающих тканей.

При гистохимической окраске срезов ферригидрок-

сизолом на ГК отмечено, что полость дефекта заполнена раствором ГК, который окружает крошку недеминерализованного коллагена (см. рис. 3).

При большем увеличении (рис. 4.) видно начало развития фиброваскулярной ткани вокруг материала и остеоида. Когезивно-адгезивные свойства композиции обеспечивают активное замещение дефекта на этот срок наблюдения.

Так, ГК в смеси с сГАГ формирует в дефекте временную матричную сетчатую структуру (рис. 5). На рисунке хорошо виден участок с активной клеточной пролиферацией в межучточном пространстве дефекта, заполненном временным матриксом из ГК сГАГ и недеминерализованного коллагена.

На некоторых препаратах отмечали усиление пролиферации сосудов, которые обычны для реакций на имплантацию материалов в этой фазе заживления. Моно- и полиморфонуклеаров в зоне дефекта не выявляли, участков развития фиброзных изменений и воспаления тканей в дефекте не отмечали.

Эти данные подтверждают активную роль ГК и ее дериватов на ранних стадиях развития раневого процесса, а именно в адгезии и клеточной миграции [21].

На ранних фазах заживления (7–14 дней после повреждения) в дефекте возрастают контрактивные свойства ГК к коллагену и фибронектину, которые в свою очередь формируют временный матрикс для остеогенных и хондрогенных пулов клеток [12].

При заполнении дефекта недеминерализованным коллагеном у контрольных животных на двухнедельном

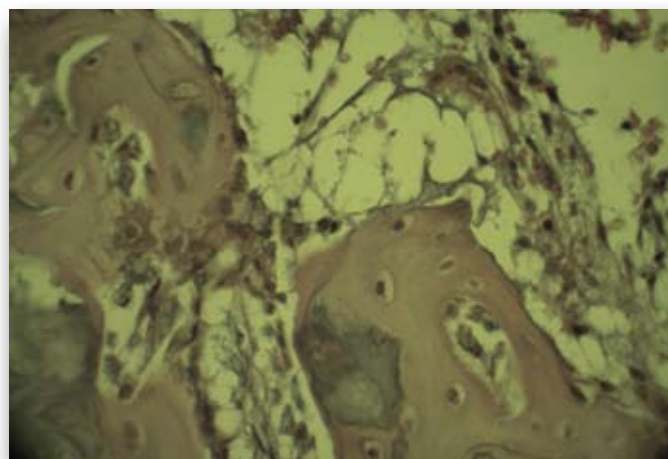


Рис. 5.

Гистологическая картина участка дефекта кости, заполненного композицией через 2 недели после операции.

В межучточном пространстве дефекта ГК создает временный провизорный матрикс. Опыт. Окраска гематоксилин эозин. Опыт. Ув. 240.

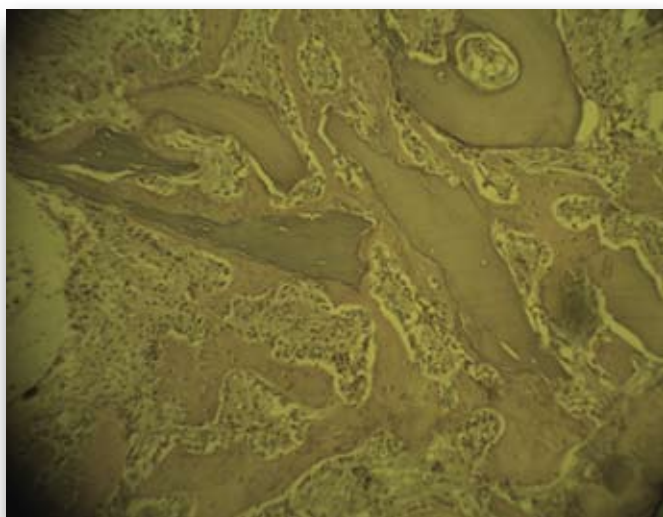


Рис. 6а.

Гистологическая картина участка дефекта кости, заполненного недеминерализованным костным коллагеном через 2 нед после операции.

Контроль. Окраска гематоксилин эозин. Опыт. Ув.240.

сроке (рис. 6, а) наблюдали заполнение дефекта фиброваскулярной тканью с начальными зонами оформления остеоида.

Каких-либо воспалительных реакций или отторжений материалов на данном сроке наблюдения в опытной и контрольной группах не отмечали.

К отличиям опытных и контрольных препаратов на сроке 2 нед после операции следует отнести более выраженную реакцию развития хрящевой и костной ткани, особенно в прикортикальных зонах дефектов в опытных группах, которая особенно заметна на более поздних сроках наблюдения.

На сроке 1 мес после операции наблюдали активацию остеорепарации, что морфологически определялось следующим. В прикортикальной зоне дефекта развивается новая, преимущественно хрящевая ткань (рис. 6, б), которая занимает всю зону дефекта. Пролиферация хондрогенной ткани наиболее интенсивна в прикортикальных участках дефекта. На отдельных участках между хрящевой и костной тканью формируется пограничная зона первичной костной мозоли.

Под развивающимся гиалиновым хрящем формируется новая трабекулярная губчатая кость (рис. 7). Пучки коллагеновых волокон выстраиваются параллельно минерализованной зоне хряща, формируя пограничную зону кость-хрящ. В сформированных трабекулах и балках видны участки, содержащие частицы материала, погруженные в межклеточное вещество, вблизи, вплотную к частицам крошки, формируются новые костные балки. Трабекулы имеют неровные линии склеивания, что сви-

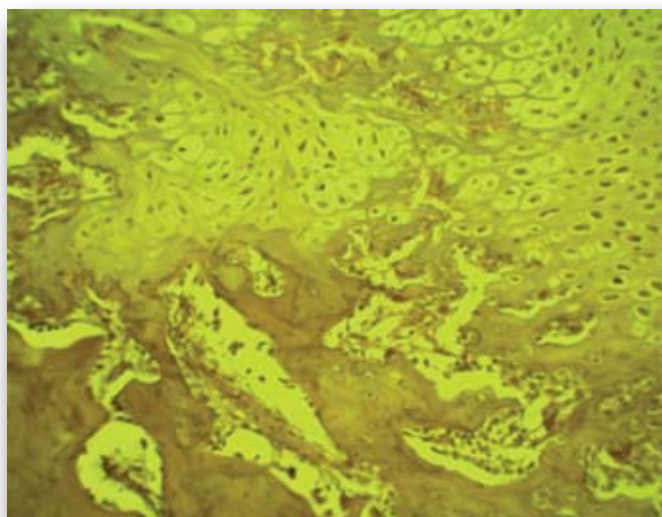


Рис. 6б.

Гистологическая картина участка дефекта кости, заполненного биокомпозицией ГК и недеминерализованного коллагена через 1 мес после операции.

Активная остеорепарация в зоне дефекта. Окраска гематоксилин эозин. Опыт. Ув.140.

детельствует об их незрелости. В межклеточном веществе развивается новая сосудистая сеть, способствующая активации остеорепарации.

Гистохимическая картина опытных образцов через 1 мес после операции была следующей (рис. 9): ГК локализуется в основном в межклеточном веществе вокруг

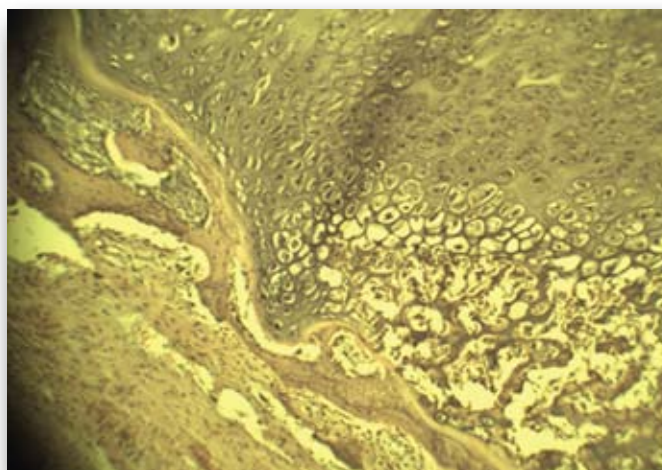


Рис. 7.

Гистологическая картина участка дефекта кости, заполненного биокомпозицией ГК и недеминерализованного коллагена через 1 мес после операции. Формирование пограничной зоны кость-хрящ.

Опыт. Окраска гематоксилин эозин. Опыт. Ув.140.

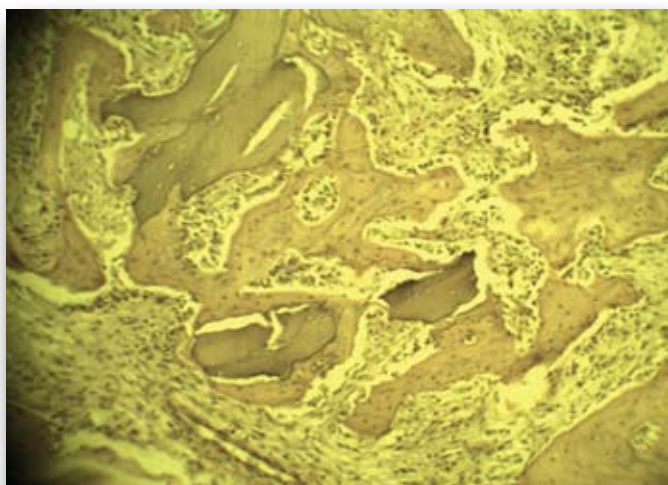


Рис. 8.

Гистологическая картина участка дефекта кости, заполненного биокомпозицией ГК и недеминерализованного коллагена через 1 мес после операции. Новая костная ткань с погруженными частицами материала.

Опыт. Окраска гематоксилин эозин. Ув.240.

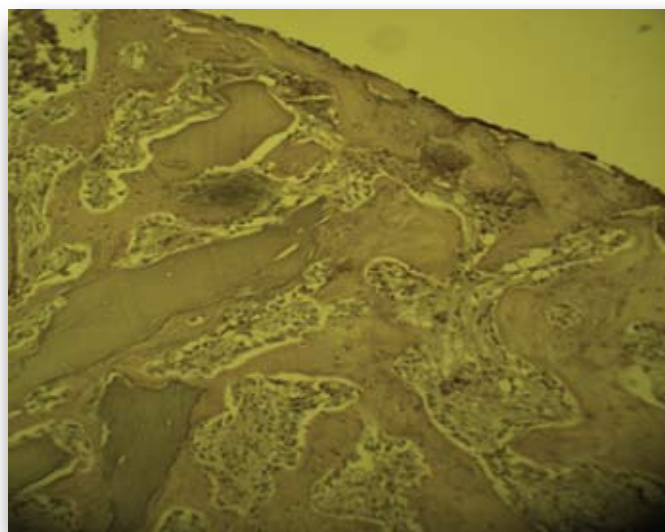


Рис. 10.

Гистологическая картина участка дефекта кости, с недеминерализованным коллагеном через 1 мес после операции.

Окраска гематоксилин эозин. Контроль. Ув.140.

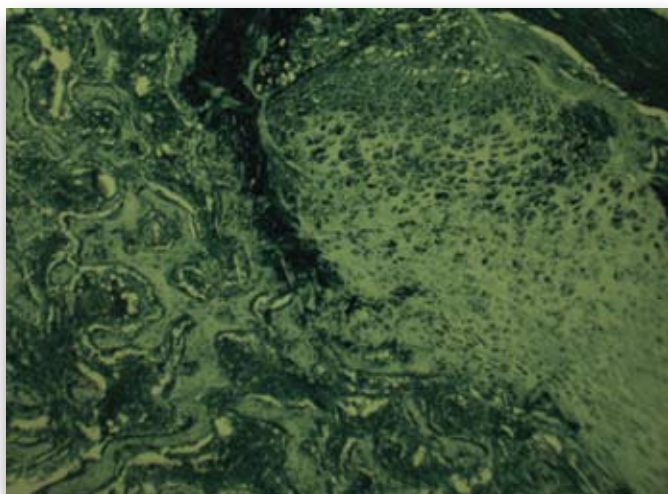


Рис. 9.

Гистохимическая картина участка поперечного среза дефекта подвздошной кости, заполненного биокомпозицией ГК и недеминерализованного коллагена через 1 мес после операции.

Окраска ферригидроксиолом Опыт. Ув.140.

трабекул новой костной ткани и в частицах крошки. Это доказывает ее непосредственное участие в построении нового костного матрикса, в частности, коллагена типа I, в построении хрящевой ткани, содержащей в основном коллаген типа II, и формировании пограничной зоны между хрящевой и костной тканью.

Присутствие в материале ГК и сГАГ придает имплантированному материалу когезивно-адгезивные свойства, которые определяют основные качества всей компози-

ции – активно влиять на процессы хондро- и остеоэпипарации на ранних стадиях заживления костного дефекта.

На контрольных препаратах (1 мес после операции) также наблюдается процесс активного заживления (рис. 10), зона дефекта заполняется новой костной тканью с меньшей плотностью по сравнению с опытными.

Через 2 мес после операции на опытных препаратах наблюдали дальнейший процесс активной остеоэпипарации. В этот период наблюдения костный дефект снаружи закрыт зрелой хрящевой тканью.

Гистохимическая окраска на ГК показала, что в прикортальных слоях частицы материала погружены в новый костный матрикс. В губчатой зоне дефект полностью заполняется новой костной тканью, формируются множественные трабекулы и балки. Частицы недеминерализованного коллагена подвергаются частичной фрагментации, ГК имеет сетчатую структуру и заключена в ткань новой кости. В отдельных участках дефекта определяли зоны ремоделирования.

Через 3 мес после операции зона дефекта на опытных препаратах трудно определяется (рис. 13). В области бывшего дефекта имеется вновь сформированная костная ткань в прикортальной зоне с развитыми остеоонами, хорошо развитыми линиями склеивания, которые на данный срок наблюдения выглядят несколько неравномерными. Костная ткань плотная без полостей и разрывов.

На рис. 14 представлены места локализации ГК через 3 мес после операции, видны участки скопления клеток, синтезирующие эндогенную ГК. Костный дефект заполнен практически зрелой костной тканью.

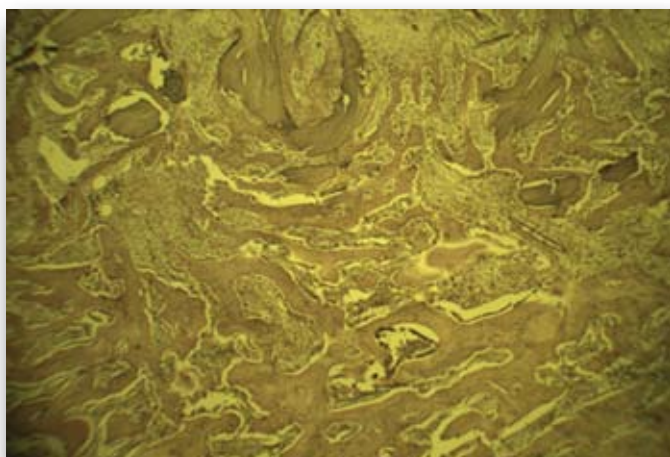


Рис. 11.

Гистологическая картина участка дефекта кости, заполненного биокомпозицией ГК и недеминерализованного коллагена через 2 мес после операции. Заполнение дефекта новой костной тканью. Окраска гематоксилин эозин. Опыт. Ув.140.

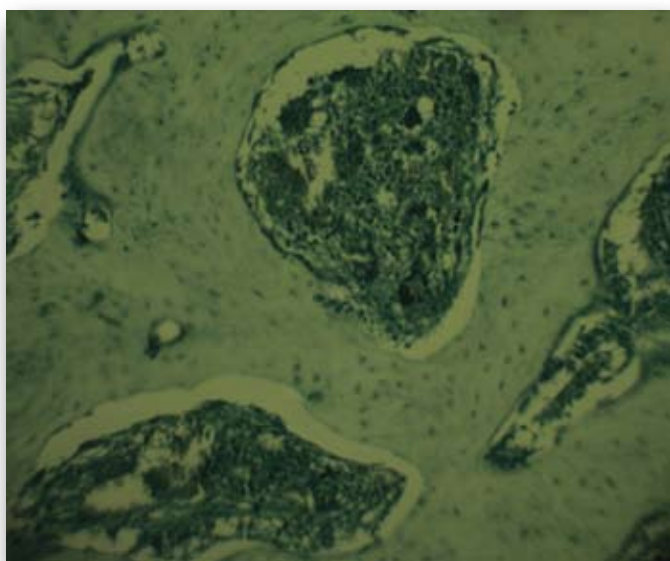


Рис. 12.

Гистохимическая картина участка в зоне среза дефекта подвздошной кости, заполненного биокомпозицией ГК и не деминерализованного коллагена через 2 мес после операции.

Окраска ферригидроксизолем Опыт. Ув.240.

ОБСУЖДЕНИЕ

Таким образом, проведенные нами исследования влияния нового остеопластического материала на основе ГК, сГАГ и недеминерализованного костного коллагена показали, что имплантированный в костный дефект материал в первые фазы заживления (7-14 дней после операции) не вызывает реакций отторжения или фиброобразования.

Механизм действия композиции на восстановление

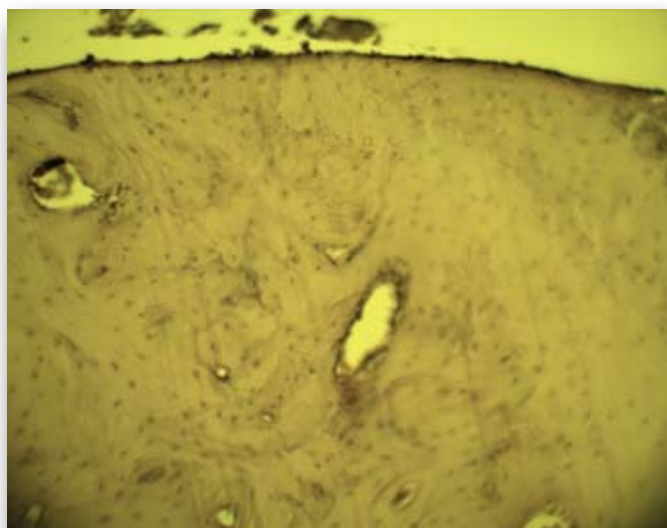


Рис. 13.

Гистологическая картина участка дефекта кости, заполненного биокомпозицией ГК и не деминерализованного коллагена через 3 мес после операции.

Заполнение дефекта новой костной тканью. Окраска гематоксилин эозин. Опыт. Ув.140.

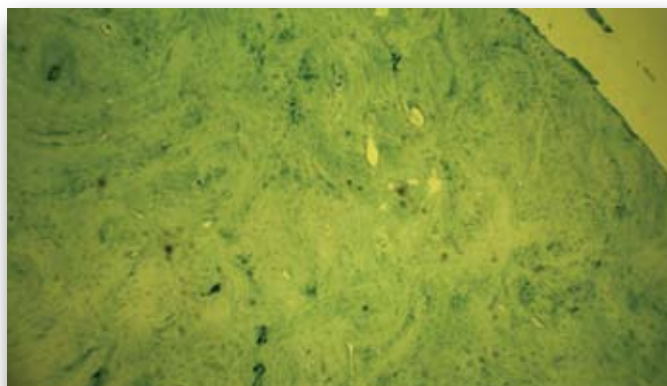


Рис. 14.

Гистохимическая картина участка в зоне среза дефекта подвздошной кости, заполненного биокомпозицией ГК и не деминерализованного коллагена через 3 мес после операции.

Окраска ферригидроксизолем Опыт. Ув.140.

костного дефекта определяется свойствами, входящих в него компонентов. Так, ГК в сочетании с сГАГ и костным недеминерализованным коллагеном формирует в дефекте сложный полисахаридный матрикс, способствующий адгезии, миграции и пролиферации клеток в первые фазы заживления, одновременно защищая внутреннюю клеточную выстилку эндооста (см. рис. 5).

Миграция и пролиферация клеток в биокомпозиционный материал начинается с первых суток после имплантации, достигает максимума к 7–10-му дню, что способствует интеграции остеогенных и хондрогенных клеток в зону

дефекта, началу развития остеоида и росту новой хрящевой ткани.

Известно, что дериваты ГК (глюкуроновые кислоты, глюкозамины др.) оказывают стимулирующее действие на рост хрящевой ткани [13].

ГК имеет на мембранах клеток специфическое место связывания – рецептора CD 44, интегрин, способствующего адгезии макромолекул на хондроцитах. Наши исследования показали, что этот процесс наиболее выражен у опытных животных к первому месяцу после имплантации материала в дефект.

Локализация ГК в процессе репарации меняется, часть материала погружается в матрикс вновь сформированной костной и хрящевой ткани, особенно в пограничные зоны кость – минерализованный хрящ (см. рис. 7–9).

Комплекс ГК и сГАГ активно участвует в построении пограничной области между костной и хрящевой тканью, часть недеминерализованного коллагена остается погруженной в развитую новую костную ткань (см. рис. 9).

К 2–3-месячному сроку процесс восстановления дефектов практически заканчивается, часть материала еще остается погруженной в новый костный и хрящевой матрикс, граница хрящ–кость полностью сформирована.

Гистохимическое окрашивание на ГК к 3-месячному сроку наблюдения показало, что содержание экзогенного комплекса ГК и сГАГ и недеминерализованного коллагена во вновь сформированном костном матриксе минимально (см. рис. 14).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, комплекс ГК, сГАГ и коллаген играют ключевую роль в организации внеклеточного (экстрацеллюлярного) матрикса на каждой фазе восстановления и заживления соединительной ткани после повреждения [10].

Присутствие ГК и сГАГ придает имплантированному материалу когезивно-адгезивные свойства, которые определяют основные свойства всей композиции – активно влиять на процессы хондро- и остерепарации на ранних стадиях заживления костного дефекта.

Биосовместимость, а более конкретно антигенные и иммуногенные свойства ГК исследованы группой Benedetti L. [10]. Было показано, что дериваты ГК (уроновые кислоты, D-глюкозамины и т.д.) при имплантации под кожу, интраперитонеально и интравитреально не приводят к развитию фиброза вокруг места имплантации, при этом реакция полиморфнонуклеаров на введение растворов была минимальной. Биодegradацию дериватов ГК наблюдали с 7-го по 90-й день после имплантации. Гистологическими и гистохимическими методами показано, что дериваты ГК деградируют полностью через 90 дней после имплантации [10, 14]. Наши исследования

подтверждают данные этих авторов. При имплантации биокомпозиционного материала в костный дефект на срок до 3 мес видно, что материал сохраняет свою первоначальную структуру с частичной краевой деструкцией (до 2 мес), которая носит локальный характер. Естественная высокая пористость недеминерализованного коллагена способствует более качественному закрытию волокон комплексом ГК и сГАГ (эффект экранирования) и миграции в него собственных клеток ткани, в которую он помещен [4]. Отсутствие фиброзной реакции на имплантацию материала свидетельствует о его биосовместимости и отсутствии на него патологической реакции.

Введение в костный недеминерализованный коллаген ГК и сГАГ создает активный комплекс, снижающий первичную воспалительную реакцию на имплантированный материал, что повышает его устойчивость к биораспаду.

Такой комплекс при помещении в костные дефекты способен быть эффективным и активным субстратом для активации связывания факторов роста, костных морфогенетических белков, агрегации тромбоцитов, остеобластов и остеокластов, что способствует ремоделированию костной ткани и стимуляции репарации костного дефекта.

Разработанный отечественный биокомпозиционный материал на основе ГК, сГАГ и недеминерализованного костного коллагена способствует восстановлению хрящевой и костной ткани, снижает воспалительные реакции, препятствует развитию фиброза, что делает перспективным его широкое применение при различных оперативных вмешательствах в хирургической стоматологии и челюстно-лицевой хирургии.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Белозеров М.Н. Оценка остеопластических свойств различных биокомпозиционных материалов для заполнения дефектов челюстей. Дис. ... канд. мед. наук. Москва. 2004: 146
2. Иванов С.Ю., Ларионов Е.В. и соавт. Новое поколение биокомпозиционных материалов для замещения дефектов костной ткани. Новое в стоматологии. 1999; 5: 47–50.
3. Иванов С.Ю., Ларионов Е.В., Семенова Ю.А., Рябова В. М. Исследование нового биокомпозиционного остеопластического материала на основе костного минерального компонента, гиалуроновой кислоты и сульфатированных глюкозаминогликанов. Российский вестник дентальной имплантологии. 2015; 31(1); 14–9.
4. Иванов С.Ю., Ларионов Е.В., Панин А.М., Володина Д.Н. Разработка биоматериалов для остеопластики на основе коллагена костной ткани. Институт стоматологии. 2005; 4: 21–3.

ОСТЕОПЛАСТИЧЕСКИЕ ТЕХНОЛОГИИ И МАТЕРИАЛЫ

5. Alpar J.J. Viscoelastic surgery *Ann. Ophthalmol.* 1987; 19: 350–3.
6. Avitabile T., Marano F., Castiglione F., Bucolo C., Cro M., Ambrosio L. Biocompatibility and biodegradation of in-travitreal hyaluronan implants in rabbits. *Biomaterials.* 2001; 22(3): 195–200.
7. Balazs E.A. Sodium hyaluronate and viscosurgery. editors. Healon (sodium hyaluronate) a guide to its in ophthalmic surgery. Eds. by D. Miller, R. Stegman. John Wiley & Sons, 1983.
8. Benedetti L., Cortivo R., Berti T., Berti A., Pea F., Mazzo M., Moras M., Abatangelo G. Biocompatibility and biodegradation of different hyaluronan derivatives (Hyafl) implanted in rats. *Biomaterials.* 1993; 14(15): 1154–60.
9. Chen W.Y., Abatangelo G. Functions of hyaluronan in wound repair. *Wound Repair Regen.* 1999; 7(2): 79–89.
10. Frenkel S.R., Di Cesare P.E. Scaffolds for articular cartilage repair. *Ann Biomed Eng.* 2004; 32: 26–34.
11. Härfstrand A., Molander N., Stenevi U. et al. Evidence of hyaluronic acid and hyaluronic acid binding sites on human corneal endothelium. *J. Cataract Refract. Surg.* 1992; 18: 265–9.
12. Larsen N.E., Balazs E.A. Drug delivery systems using hyaluronan and its derivatives. *Advanced Drug Delivery Review.* 1991; 7: 695–8.
13. Laurent T.C., Fraser J. R. Hyaluronan. 1992; 6(7): 2397–404.
14. Porter J.B. Oldham S.L. et al. Mechanical properties of a biodegradable bone regeneration scaffold. *J. Biomechanical Engineering.* 2000; 122(3): 286–8.
15. Robey P.G. Bone matrix proteoglycans and glycoproteins «Principles of Bone Biology». 1-st ed. Ed. by P.J. Bilezikian, L.G. Raisz, G.A. Rodan. Academic, San Diego. 1996.
16. Schawalder P. Effects of bone morphogenetic protein-2 and hyaluronic acid on the osseointegration of hydroxyapatite-coated implants: An experimental study in sheep. *J. Biomedical Materials Res.* 2005; 73a: 295–302.
17. Toole B.P. Glycosaminoglycans in morphogenesis. In: Hay E.D. *Cell Biology of the Extracellular Matrix.* New York: Plenum; 1981: 259–94.
1. Belozerov M.N. Evaluation of various properties of biocomposite osteoplastic materials for filling defects of the jaws. *Dis. Moscow.* 2004. 146 (in Russian)
2. Ivanov S.Ju., Larionov E.V. i dr. New generation of biocomposite materials for replacement of defects of a bone tissue. *Novoe v stomatologii.* 1999; 5: 47–50. (in Russian)
3. Ivanov S.Yu., Larionov E.V., Semenova Yu.A., Ryabova V.M. Investigation of new biocomposite osteoplastic material based on bone mineral component, hyaluronic acid and sulfated glycosaminoglycans. *ZH. Rossiyskii vestnik dental'noy implantologii.* 2015; 31(1): 14–9. (in Russian)
4. Ivanov S.Yu., Panin A.M., Volodina D.N. Development of biomaterials for osteoplasty collagen-based bone. *Klinicheskaya stomatologiya.* 2005; 4: 21–3. (in Russian)
5. Alpar J.J. Viscoelastic surgery *Ann. Ophthalmol.* 1987; 19: 350–3.
6. Avitabile T., Marano F., Castiglione F., Bucolo C., Cro M., Ambrosio L. Biocompatibility and biodegradation of in-travitreal hyaluronan implants in rabbits. *Biomaterials.* 2001; 22(3): 195–200.
7. Balazs E.A. Sodium hyaluronate and viscosurgery. Ed.. Healon (sodium hyaluronate) a guide to its in ophthalmic surgery. Eds. by D. Miller, R. Stegman. John Wiley & Sons, 1983.
8. Benedetti L., Cortivo R., Berti T., Berti A., Pea F., Mazzo M., Moras M., Abatangelo G. Biocompatibility and biodegradation of different hyaluronan derivatives (Hyafl) implanted in rats. *Biomaterials.* 1993; 14 (15): 1154–60.
9. Chen W.Y., Abatangelo G. Functions of hyaluronan in wound repair. *Wound Repair Regen.* 1999; 7(2): 79–89.
10. Frenkel S.R., Di Cesare P.E. Scaffolds for articular cartilage repair. *Ann Biomed Eng.* 2004; 32: 26–34.
11. Härfstrand A., Molander N., Stenevi U. et al. Evidence of hyaluronic acid and hyaluronic acid binding sites on human corneal endothelium. *J. Cataract Refract. Surg.* 1992; 18: 265–9.
12. Larsen N.E., Balazs E.A. Drug delivery systems using hyaluronan and its derivatives. *Advanced Drug Delivery Review.* 1991; 7: 695–8.
13. Laurent T.C., Fraser J. R. Hyaluronan. 1992; 6(7): 2397–404.
14. Porter J.B. Oldham S.L. et al. Mechanical properties of a biodegradable bone regeneration scaffold. *J. Biomechanical Engineering.* 2000; 122(3): 286–8.
15. Robey P.G. Bone matrix proteoglycans and glycoproteins «Principles of Bone Biology». 1-st ed. Ed. by P.J. Bilezikian, L.G. Raisz, G.A. Rodan. Academic, San Diego. 1996: 155.
16. Schawalder P. Effects of bone morphogenetic protein-2 and hyaluronic acid on the osseointegration of hydroxyapatite-coated implants: An experimental study in sheep. *J. Biomedical Materials Res.* 2005; 73a: 295–302.
17. Toole B.P. Glycosaminoglycans in morphogenesis. In: Hay E.D. *Cell Biology of the Extracellular Matrix.* New York: Plenum; 1981: 259–94.

REFERENCES

Поступила
Принята в печать