

Оценка свойств костнозамещающих материалов на основе полиэтиленгликоль диакрилата и октакальциевого фосфата на модели монокортикального диафизарного дефекта бедренной кости крысы: экспериментальное исследование

И.М. Щербаков, Е.С. Климашина, П.В. Евдокимов, А.А. Тихонов,
В.И. Путляев, Г.А. Шипунов, В.А. Зацепин, В.Э. Дубров, Н.В. Данилова,
П.Г. Мальков

ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», г. Москва, Россия

Актуальность. Проблема замещения дефектов кости актуальна в настоящее время, постоянно ведутся поиски новых синтетических костнозамещающих материалов, однако идеальный материал не найден до сих пор.

Цели исследования: 1) определение пригодности модели монокортикального дефекта диафиза бедренной кости крысы с дополнительным профилактическим армированием при помощи накостной пластины для оценки биологических свойств имплантируемых материалов на примере коммерчески доступного материала chronOS®; 2) оценка osteoconductive свойств композитных материалов на основе полиэтиленгликоль диакрилата и октакальциевого фосфата с архитектурой Кельвина и типа гирийд на разработанной модели.

Материал и методы. Монокортикальный дефект диафиза бедренной кости крыс размером 7 мм в длину производили под наркозом в асептических условиях операционной и фиксировали полиэфирэфиркетоновой пластиной и шестью титановыми винтами. Крыс распределяли случайным образом на четыре группы по 12 особей в каждой. В группе «Контроль» у животных костный дефект не заполняли. У животных в группе «Хронос» дефект заполняли подготовленным материалом chronOS® в виде полужидкого блока, в группе «Кельвин» — исследуемым материалом с архитектурой Кельвина, в группе «Гирийд» — исследуемым материалом с архитектурой типа гирийд. Через 3 и 6 нед. крыс выводили из эксперимента и производили гистологическое исследование зоны дефекта. Затем выполняли гистометрическую оценку количества новообразованной костной ткани с последующей статистической обработкой результатов.

Результаты. В ходе эксперимента все животные достигли планируемой конечной точки, инфекционные осложнения и потеря фиксации зафиксированы не были. При гистологическом исследовании зоны дефекта выявлен минимальный рост кости в группе «Контроль», достаточно медленное образование кости в материале группы «Гирийд» и статистически значимо более выраженное образование костной ткани в порах материалов в группах «Кельвин» и «Хронос».

Заключение. Разработанная модель дефекта кости спонтанно не заполняется костной тканью и позволяет проводить изучение биологических свойств костнопластических материалов (способность к биодеградации и osteoconductive свойства). Osteoconductive свойства композитного материала на основе полиэтиленгликоль диакрилата и октакальциевого фосфата с архитектурой Кельвина выше, чем с архитектурой типа гирийд, и сопоставимы с таковыми у материала chronOS.

Ключевые слова: регенерация костной ткани, критический дефект, гидрогель, костнозамещающие материалы, 3D-печать.

Щербаков И.М., Климашина Е.С., Евдокимов П.В., Тихонов А.А., Путляев В.И., Шипунов Г.А., Зацепин В.А., Дубров В.Э., Данилова Н.В., Мальков П.Г. Оценка свойств костнозамещающих материалов на основе полиэтиленгликоль диакрилата и октакальциевого фосфата на модели монокортикального диафизарного дефекта бедренной кости крысы: экспериментальное исследование. *Травматология и ортопедия России*. 2023;29(1): 25-35. <https://doi.org/10.17816/2311-2905-2039>.

✉ Щербаков Иван Михайлович; e-mail: imscherbackov@yandex.ru

Рукопись получена: 21.12.2022. Рукопись одобрена: 03.03.2023. Статья опубликована: 14.03.2023.

© Щербаков И.М., Климашина Е.С., Евдокимов П.В., Тихонов А.А., Путляев В.И., Шипунов Г.А., Зацепин В.А., Дубров В.Э., Данилова Н.В., Мальков П.Г., 2023



Properties of Calcium Phosphate/Hydrogel Bone Grafting Composite on the Model of Diaphyseal Rat Femur's Defect: Experimental Study

Ivan M. Shcherbakov, Elena S. Klimashina, Pavel V. Evdokimov, Andrei A. Tikhonov, Valerii I. Putlayev, Georgii A. Shipunov, Vladislav A. Zatsepin, Vadim E. Dubrov, Natal'ia V. Danilova, Pavel G. Malkov

Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

Background. The problem of bone defects replacement is relevant nowadays, that is why many scientists create new synthetic bone substitutes, but the «ideal» material has not been found so far.

The aims of the study: 1) to determine the suitability of the monocortical defect model in the rat femur diaphysis with additional prophylactic reinforcement with a bone plate for assessing the biological properties of implanted materials using the commercially available ChronOS® material as an example; 2) to assess of the osteoconductive properties of composite materials based on poly(ethylene glycol)diacrylate and octacalcium phosphate with architecture Kelvin and gyroid types on the developed model.

Methods. A prospective study, level of evidence II. A monocortical defect of the rat femoral diaphysis (length 7 mm) was produced under anaesthesia in aseptic conditions and fixed with a polyetheretherketone plate and six titanium screws. In the control group, the defect was left empty. In other groups, blocks of one of three materials were implanted — chronOS and composites of poly(ethylene glycol)diacrylate and octacalcium phosphate with 3D-printed Kelvin and gyroid architectures. After 3 and 6 weeks, the rats were sacrificed, and histological examination of the defect zone was performed. The amount of newly formed bone tissue was histometrically assessed, followed by statistical processing of the results.

Results. All rats have reached the planned endpoint, and there were no infectious complications or loss of fixation. Histological examination of the defect zone revealed minimal bone growth in the Control group, rather slow bone formation in the Gyroid group, and statistically significantly more pronounced bone formation in the pores of the materials in the Kelvin and Chronos groups.

Conclusions. Bone defect in this model was not spontaneously filled with bone tissue and allowed us to study the biological properties of bone substitutes (the ability to biodegrade and osteoconductive properties). The osteoconductive properties of a composite material based on poly(ethylene glycol)diacrylate and octacalcium phosphate with a Kelvin architecture are higher than with a gyroid architecture and are comparable to that of the chronOS.

Keywords: bone repair, critical-size defect, hydrogel, bone substitutes, 3D-printing.

Cite as: Shcherbakov I.M., Klimashina E.S., Evdokimov P.V., Tikhonov A.A., Putlayev V.I., Shipunov G.A., Zatsepin V.A., Dubrov V.E., Danilova N.V., Malkov P.G. [Properties of Calcium Phosphate/Hydrogel Bone Grafting Composite on the Model of Diaphyseal Rat Femur's Defect: Experimental Study]. *Travmatologiya i ortopediya Rossii* [Traumatology and Orthopedics of Russia]. 2023;29(1):25-35. (In Russian). <https://doi.org/10.17816/2311-2905-2039>.

✉ Ivan M. Shcherbakov; e-mail: imscherbackov@yandex.ru

Submitted: 21.12.2022. Accepted: 03.03.2023. Published: 14.03.2023.

© Shcherbakov I.M., Klimashina E.S., Evdokimov P.V., Tikhonov A.A., Putlayev V.I., Shipunov G.A., Zatsepin V.A., Dubrov V.E., Danilova N.V., Malkov P.G., 2023

ВВЕДЕНИЕ

Создание новых искусственных костнозамещающих материалов актуально, потому что потребность в них высока, однако до сих пор не создано ни универсального материала, удовлетворяющего всем клиническим требованиям, ни набора препаратов с четкими показаниями к применению в различных ситуациях [1, 2, 3, 4]. Развитие наук о материалах позволяет создавать большое количество соединений и композитов с вероятными клиническими свойствами (способность к биодеградации с заданной скоростью, остеокондуктивность, остеоиндуктивность и остеогенность). Однако только теоретически, без проведения исследований на животных моделях, подтвердить или опровергнуть наличие таких свойств невозможно [5, 6, 7].

Одним из перспективных направлений в материаловедении является создание костнозамещающих имплантатов с трехмерной архитектурой пор, позволяющей улучшить остеокондуктивные свойства при сохранении прочностных характеристик [8, 9, 10]. Одним из возможных материалов для заполнения дефектов костей могут быть композиты на основе гидрогелей с добавлением фосфатов кальция с соотношением по массе $Ca/P < 1,5$ (например, октакальциевый фосфат (ОКФ) с химической формулой $Ca_8(HPO_4)_2(PO_4)_4 \cdot 5H_2O$), имеющие большую скорость резорбции по сравнению с гидроксиапатитом и трикальций фосфатом [11, 12]. Увеличение остеокондуктивных свойств свойственно для конструкций со связно-пористой архитектурой и долей пустот по объему более 75% [13]. Но такие параметры ставят задачу поиска их оптимального пространственного взаиморасположения без потери всей системой механической прочности. Одним из возможных путей решения такой задачи может быть применение современных методов топологической оптимизации [14, 15, 16]. Хорошую комбинацию механических свойств и физической проницаемости в расчетах показывают архитектуры Кельвина и типа гироид, однако реальные преимущества каждой из них требуют экспериментального подтверждения [17, 18].

Цели исследования:

1) определение пригодности модели монокортикального дефекта диафиза бедренной кости крысы с дополнительным профилактическим армированием при помощи наkostной пластины для оценки биологических свойств имплантируемых материалов на примере коммерчески доступного материала chronOS®;

2) оценка остеокондуктивных свойств композитных материалов на основе полиэтиленгликоль диакрилата и октакальциевого фосфата с архитектурой Кельвина и типа гироид на разработанной модели.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Материалы

Исследуемые биорезорбируемые макропористые 3D-конструкции нового поколения представляют собой гидрогелевый композит, наполненный частицами фосфата кальция. В качестве непрерывной фазы композита был применен гидрогель на основе полиэтиленгликоль диакрилата (ПЭГ ДА). В качестве второй фазы композита использовался ОКФ — $Ca_8(HPO_4)_2(PO_4)_4 \cdot 5H_2O$.

Для синтеза гидрогелевых композитов использовали фотополимеризуемые суспензии на основе ПЭГ ДА, ОКФ, воды и фотоинициатора по методике, описанной в нашей предыдущей статье [19]. Для формирования вышеуказанных конструкций была выбрана стереолитографическая 3D-печать с помощью DLP-принтера Ember (Autodesk, США). При этом трехмерные модели структур были созданы с помощью компьютерных программ Monolith (Autodesk, США) и Fusion 360 (Autodesk, США).

Общая пористость созданных материалов по объему составила около 70%, основные каналы имеют размеры 1250 мкм и переходы между ними 750 мкм, что обеспечивает максимальную проницаемость таких архитектур. В процессе компьютерного конструирования для реализации цели исследования были выбраны 3D-модели со структурой Кельвина и типа гироид (рис. 1) [17, 19].

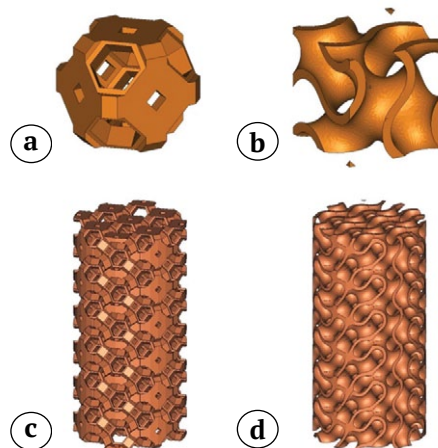


Рис. 1. Изометрическая проекция компьютерных моделей трехмерных структур с различными архитектурами: а — элементарная ячейка структуры Кельвина; б — элементарная ячейка структуры типа гироид; в — цилиндрическая структура с архитектурой Кельвина; д — цилиндрическая структура с архитектурой типа гироид

Fig. 1. Isometric projection of computer models of three-dimensional structures with different architectures: а — an elementary cell of a Kelvin type structure; б — an elementary cell of a Gyroid type structure; в — a cylindrical structure with a Kelvin type architecture; д — a cylindrical structure with a Gyroid type architecture

Структура Кельвина представляет собой плотную упаковку усеченных октаэдров со сквозными каналами, перпендикулярными каждой грани. Структура типа гироид представляет собой минимальную периодическую поверхность [20].

В качестве материала сравнения использовали широко распространенный полностью синтетический керамический материал на основе $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ (трикальцийфосфат) chronOS® (DePuy Synthes, Johnson & Johnson, Швейцария), хаотичная пористость которого формируется путем неконтролируемого вспенивания и застывания исходного материала в промышленных условиях. В этом материале общая пористость по объему составляет около 55%, размер основных пор — 300 мкм, а переходы между ними — 50 мкм.

Животные

Исследование выполнено на 53 самцах крыс *Rattus norvegicus* линии Wistar в возрасте 25–30 нед. из ЦКП «SPF-виварий» Института цитологии и генетики СО РАН. Животных содержали в виварии в клетках, по 3 особи в каждой. Доступ к воде и корму был *ad libitum*.

Дизайн эксперимента, ход хирургического вмешательства, лабораторные исследования

Тип исследования — проспективное, уровень доказательности — II.

Для введения животных в состояние наркоза внутривенно вводили препараты Золетил 50 (Zoletil, Virbac Sante Animale, Франция) и Ксила (Xyla, Interchemie werken «De Adelaar B.V», Нидерланды) в дозах 6,25/6,25 мг/кг и 4 мг/кг соответственно.

В асептических условиях операционной после достижения хирургической стадии наркоза и очистки зоны операции от шерсти в положении крысы на правом боку на операционном столе производили разрез кожи в проекции бедренной кости длиной 6,0 см. Далее остро и тупо осуществляли доступ к диафизу бедренной кости по латеральной межмышечной перегородке. После

выполнения доступа в средней трети диафиза бедренной кости по дорсальной поверхности конической фрезой с алмазным напылением диаметром 2,3 мм с помощью аппарата Marathon-N2 (Saeyang Microtech, Республика Корея) выполняли дефект полуцилиндрической формы длиной 7 мм и радиусом 4 мм (рис. 2а).

Крыс распределяли случайным образом в четыре группы по 12 особей в каждой. В группе «Контроль» у животных костный дефект не заполняли. У животных в группе «Хронос» дефект заполняли подготовленным материалом chronOS® в виде полуцилиндрического блока, в группе «Кельвин» — исследуемым материалом с архитектурой Кельвина, в группе «Гироид» — исследуемым материалом с архитектурой типа гироид.

Кость армировали пластиной из полиэфифиркетона размерами 30,0×4,0×4,5 мм с ее размещением по тыльнолатеральной поверхности бедренной кости и фиксацией 6 титановыми винтами диаметром 1,2 мм, длиной 10 мм (Конмет, Россия), по 3 винта с каждой стороны дефекта (рис. 2б). После фиксации рану послойно ушивали, повязки не накладывали, иммобилизацию не применяли. Средняя длительность операции составила 39±8 мин. (от 23 до 54 мин.). Объем кровопотери составлял не более 1,0 мл.

Через 3 и 6 нед. после выполнения операции животных выводили из эксперимента по стандартной методике с использованием CO_2 -камеры с последующим забором материала (участок бедренной кости с дефектом) для гистологического исследования.

Фиксацию образцов выполняли в 10% нейтральном забуференном формалине на протяжении 24–48 ч. По прошествии этого времени материалы подвергали декальцинации в нейтральном растворе трилона Б 25% комнатной температуры на аппарате Orbital Shaker OS20 (Biosan, Латвия). После выполнения декальцинации по стандартной методике производили промывку в дистиллированной воде, гистологическую проводку и заливку. Далее изготавливали поперечные срезы парафиновых блоков толщиной 3–4 мкм, проводили их окраску гематоксилином и эозином.

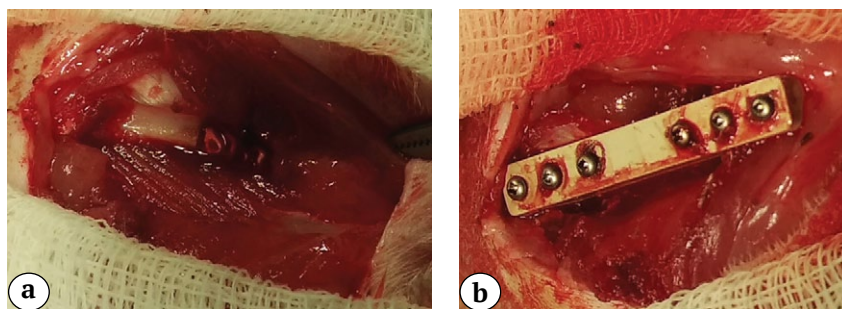


Рис. 2. Вид операционной раны: а — дефект с имплантированным материалом; б — аугментация кости пластиной и винтами

Fig. 2. The view of surgical wound: а — bone defect with implanted material; б — bone augmentation by plate and screws

Гистометрический анализ

Для оценки результатов проводили слепой гистометрический анализ. Изображения гистологических препаратов получали с помощью светового микроскопа Leica DM LB2 (Carl Zeiss, Германия) и цифровой камеры AxioCam ICc3 (Carl Zeiss, Германия). Оцифрованные изображения переводили в формат JPEG. Гистометрическую оценку проводили с помощью программы Fiji [21] при увеличении в 20 раз с измерением площади новообразованной костной ткани в лакунах материалов в мм². Новообразованную костную ткань определяли по характерной структуре и окраске. При этом учитывали зоны, не связанные с эндостом или толщиной кортикальной кости, чтобы избежать включения разрастаний. Для каждого образца проводили вычисление на трех препаратах, всего для каждой группы получалось 18 значений (только для групп «Хронос 3 недели» и «Контроль 6 недель» — 15 значений).

Статистический анализ

Результаты каждой группы представляли в виде среднего, максимального и минимального значений. Для установления статистической значимости различий использовали вычисление непараметрического критерия Краскела–Уоллиса с помощью программы StatSoft Statistica 10.0 (2011) отдельно для групп со сроком вывода 3 нед. и 6 нед.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В ходе проведения эксперимента от осложнений, связанных с наркозом, погибло 2 животных. У 4 животных в процессе проведения операции произошел ятрогенный перелом бедренной кости в области дефекта, в связи с чем была выполнена эвтаназия с помощью CO₂-камеры. У одного животного из группы «Хронос» (№ 12) на следующий

день после операции из-за агрессии соседей по клетке произошло расхождение послеоперационной раны с обширным дефектом мягких тканей, из-за чего по этическим соображениям выполнена эвтаназия. Остальные животные перенесли оперативное вмешательство и дожили до вывода из эксперимента без особенностей.

В процессе наблюдения за животными масса тела увеличивалась. Средняя масса крыс на момент ввода в эксперимент была 347 г, на момент вывода через 3 нед. — 398 г, через 6 нед. — 445 г. Значимая разница между группами по массе и ее приросту не зафиксирована.

Изменений поведения животных в процессе эксперимента не наблюдали. Все животные в послеоперационном периоде передвигались на четырех лапах без ограничений. У всех животных послеоперационные раны зажили первичным натяжением. Внешних признаков инфекционных осложнений зафиксировано не было. В процессе забора материала при осмотре зоны имплантации также не было зафиксировано признаков нагноения, повреждения или миграции фиксаторов, переломов кости.

В группе «Контроль» на гистологических срезах зона дефекта была заполнена грануляционной соединительной тканью. Формирование трабекул костной ткани, не связанной с эндостом, не отмечено ни через 3, ни через 6 нед., что позволяет считать данный дефект критическим (рис. 3).

В группе «Хронос» на всех препаратах был виден поперечный срез материала прямоугольной формы, внешние линейные размеры которого не менялись через 3 и 6 нед. Неорганическую основу блока идентифицировали как поля ячеистой бледно-серой структуры, не содержащей клеточных и волокнистых элементов. Практически всегда снаружи блок был окружен тонким слоем грануляционной соединительной ткани, при этом выраженной воспалительной реакции (большого

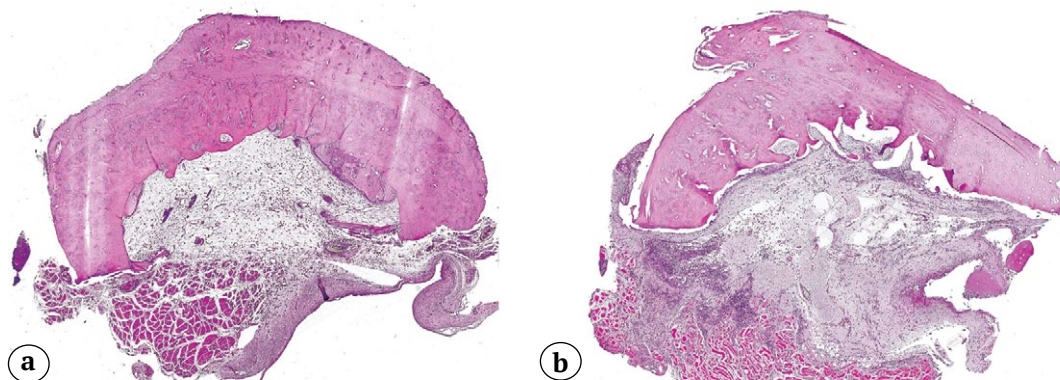


Рис. 3. Гистологические препараты поперечных срезов бедренной кости на уровне дефекта (группа «Контроль»): а — через 3 нед.; б — через 6 нед. Окрашивание гематоксилином и эозином. Ув. ×20

Fig. 3. The cross sections of femur at the defect level (Control group): а — after 3 weeks; b — after 6 weeks. Staining with hematoxylin and eosin. Mag. ×20

количества полиморфноядерных нейтрофилов, макрофагов или гигантских клеток инородных тел) не отмечалось ни через 3, ни через 6 нед.

Через 3 нед. было отмечено прорастание соединительной ткани с клеточными элементами и сосудами в поры по всей толще материала с формированием костных балок по периферии блока (в среднем 25–35 балок на срез). Через 6 нед. отмечено образование костных трабекул в порах по всему объему материала (рис. 4).

В группе «Гироид» на гистологических срезах обратило на себя внимание постоянное наличие округлых пустот, повторяющих контуры имплантируемых блоков материала, содержащих окрашиваемые в коричнево-красный цвет структуры, не содержащих клеточных элементов и волокон различной неправильной формы с наличием постоянных ленточных элементов строения (рис. 5). Эти ленточные структуры были расценены как остатки гидрогеля, из которого изготавливались блоки материала. На гистологических препаратах через 3 нед. с момента имплантации было отмечено полное

заполнение пор материала грануляционной соединительной тканью с образованием трабекул кости, однако через 6 нед. площадь новообразованной кости оказалась меньше, чем в группах «Хронос» и «Кельвин». При этом сам материал и его структура прослеживали на препаратах этого времени с большим трудом.

В группе «Кельвин» на гистологических препаратах также были выявлены зоны округлых пустот, повторяющих контуры имплантируемых блоков материала и содержащих меньшие по площади окрашиваемые в коричнево-красный цвет структуры без клеточных элементов и волокон (рис. 6). Форма этих пустот отличается от таковых на препаратах с имплантированным материалом с архитектурой типа гироид. Osteoconductive свойства материала с архитектурой Кельвина были выражены лучше, о чем говорит большая масса костной ткани вокруг материала и в его порах. По сравнению с гистологическими препаратами группы «Хронос» участки костной ткани были больше по площади и повторяли архитектуру пор материала.

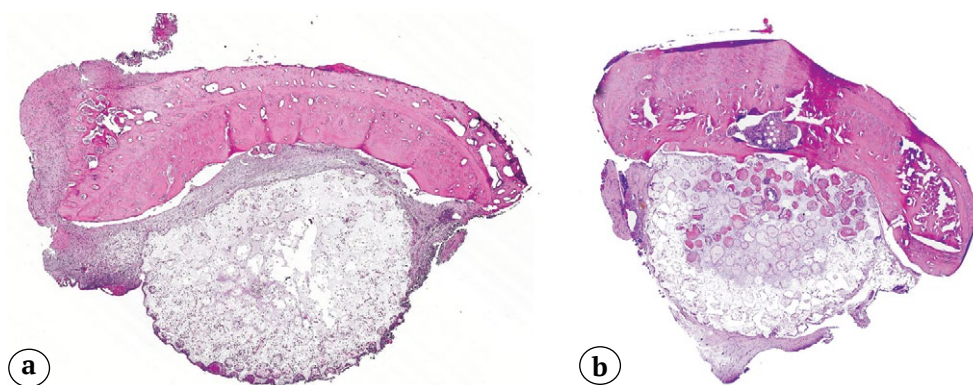


Рис. 4. Гистологические препараты поперечных срезов бедренной кости на уровне дефекта (группа «Хронос»): а — через 3 нед.; б — через 6 нед. Окрасивание гематоксилином и эозином. Ув. ×20

Fig. 4. The cross sections of femur at the defect level (Chronos group): a — after 3 weeks; b — after 6 weeks. Staining with hematoxylin and eosin. Mag. ×20

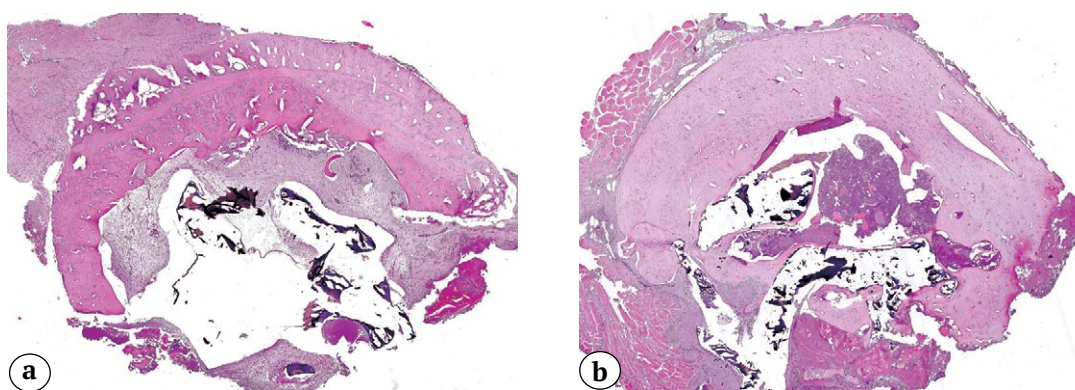


Рис. 5. Гистологические препараты поперечных срезов бедренной кости на уровне дефекта (группа «Гироид»): а — через 3 нед.; б — через 6 нед. Окрасивание гематоксилином и эозином. Ув. ×20

Fig. 5. The cross sections of femur at the defect level (Gyroid group): a — after 3 weeks; b — 6 after weeks. Staining with hematoxylin and eosin. Mag. ×20

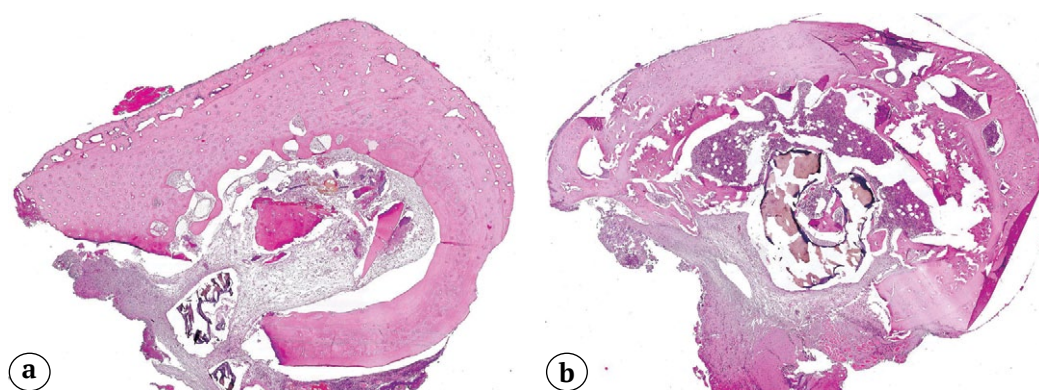


Рис. 6. Гистологические препараты поперечных срезов бедренной кости на уровне дефекта (группа «Кельвин»): а — через 3 нед.; б — через 6 нед. Окрашивание гематоксилином и эозином. Ув. $\times 20$

Fig. 6. The cross sections of femur at the defect level (Kelvin group): а — after 3 weeks; б — after 6 weeks. Staining with hematoxylin and eosin. Mag. $\times 20$

Результаты вычисления площади новообразованной костной ткани во всех группах представлены в таблице 1.

Различия между группами по площади новообразованной костной ткани были статисти-

чески значимыми как для срока 3 нед. (Н критерий Краскела–Уоллиса составляет 57,4399, что соответствует $p < 0,01$), так и 6 нед. (Н критерий Краскела–Уоллиса составляет 38,4702, что соответствует $p < 0,01$).

Таблица 1

Распределение по группам исследования показателя площади новообразованной костной ткани

Группа	Срок наблюдения, нед.	Площадь новообразованной костной ткани, мм ²		
		Среднее значение	Минимальное значение	Максимальное значение
«Контроль»	3	0,0515	0	0,7070
	6	0,1462	0	0,8350
«Хронос»	3	0,3694	0,0920	0,7760
	6	1,1686	0,1570	3,1230
«Кельвин»	3	0,9107	0	1,8270
	6	1,2650	0,0870	2,9780
«Гироид»	3	0,0497	0	0,6060
	6	0,0853	0	0,6710

ОБСУЖДЕНИЕ

Для исследования биологических свойств материалов *in vivo* используются различные модели как по выбору животных (мыши [22], крысы [23, 24, 25, 26, 27], кролики [28], собаки [29], так и по методике имплантации. Очевидно, что дефект для изучения свойств материалов должен быть критическим, то есть не иметь возможности спонтанного замещения. В противном случае наличие материала будет даже замедлять замещение костной тканью и отражать только скорость его биодеградации.

Критические дефекты, описанные в литературе, условно можно разделить на два типа. К первому типу можно отнести дефекты, не требующие в силу своей стабильности дополнительной аугментации, профилактически предотвращающей патологический перелом оперируемой кости (округлые фрезевые дефекты черепа [25, 30, 31], округлые фрезевые дефекты эпифизов бедренной и большеберцовой костей [28]). Ко второму типу относятся дефекты, требующие стабилизации ввиду высокого риска переломов костей при обычной нагрузке — полные сегментарные дефекты бедрен-

ной кости, фиксированные штифтом [22], пластиной [32] или аппаратом наружной фиксации [33].

Выполнение исследований на дефектах без аугментации технически проще, однако такие дефекты по биологическим свойствам меньше соответствуют реальным клиническим ситуациям. Изучение сегментарных диафизарных дефектов продиктовано клиническим запросом на восстановление длины укороченной в силу различных причин конечности без использования длительных методик дистракционного остеогенеза или крайне трудоемких переносов трансплантатов на сосудистой ножке. Но такие модели технически сложны для выполнения и могут не подходить в качестве скрининговых. В настоящем исследовании была использована модель монокортикального дефекта диафиза бедра с фиксацией пластиной и винтами. Такой выбор обусловлен необходимостью сочетания критического дефекта диафизарной кости с надежной фиксацией материала в дефекте и обеспечения возможности полноценной локомоции животного в течение периода наблюдения без повышения риска перелома фиксатора и кости.

Предложенная модель создания дефекта продемонстрировала свои возможности, на что указывает отсутствие инфекционных и механических осложнений на сроке наблюдения до 6 нед. в условиях сохранной локомоторной функции крыс. Преимуществами этой модели по сравнению с другими способами фиксации являются размещение фиксатора в тканях и отсутствие элементов наружной фиксации, которые потенциально могут травмировать само животное или соседей по клетке [33]. От интрамедуллярного фиксатора предлагаемая модель отличается незанятостью костномозгового канала фиксатором и отсутствием необходимости размещать материал рядом с костью, что приближает нашу модель к клинической ситуации [22]. От полного дефекта нашу модель отличают простота хирургической техники и возможность надежной фиксации материала в зоне дефекта за счет конгруэнтности форм и прижатия пластиной [32].

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Заявленный вклад авторов

Щербakov И.М. — концепция и дизайн исследования, сбор и обработка материала, написание текста статьи, статистическая обработка данных.

Климашина Е.С. — концепция и дизайн исследования, сбор и обработка материала, редактирование текста статьи.

Евдокимов П.В. — концепция и дизайн исследования, сбор и обработка материала, написание текста статьи.

Тихонов А.А. — концепция и дизайн исследования, сбор и обработка материала, редактирование текста статьи.

Настоящая работа показала, что монокортикальный дефект, как и полный, является критическим, на что указывает отсутствие спонтанного замещения костной тканью зоны резекции в срок 6 нед. Кроме того, предлагаемая биологическая модель пригодна для исследования потенциальных костнозамещающих материалов, о чем свидетельствует выраженное прорастание костной тканью материала ChronOS® с подтвержденными остеокондуктивными свойствами.

Второй целью нашей работы было установление влияния двух типов трехмерной архитектуры материала на остеокондуктивные свойства гидрогелей на основе полиэтиленгликоль диакрилата, нагруженных ОКФ. Влияние структуры пористого материала на прорастание костной ткани описано в литературе [18]. В результате исследования можно сделать вывод о превосходстве в плане остеокондуктивных свойств архитектуры Кельвина над архитектурой типа гироид у композитных материалов на основе ПЭГ ДА. Одной из причин этого может быть биологическое взаимодействие тканей с трехмерными порами, приводящее к запуску определенных механотрансдуктивных сигналов и направлению дифференцировки клеток-предшественников по пути остеобластов, лучше выраженное в структуре Кельвина. Дополнительными причинами могут являться более быстрая деградация и потеря прочности механической структуры, что на поздних сроках затруднило образование новой кости и по свойствам, вероятно, было сопоставимо с условиями в дефекте группы «Контроль».

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработанная модель дефекта кости является критической и позволяет проводить изучение биологических свойств костнопластических материалов (способность к биодеградации и остеокондуктивные свойства). Остеокондуктивные свойства композитного материала на основе полиэтиленгликоль диакрилата и октакальциевого фосфата с архитектурой Кельвина выше, чем с архитектурой типа гироид.

DISCLAIMERS

Author contribution

Shcherbakov I.M. — concept and design of the study, collection and processing of material, writing the draft, statistical analysis

Klimashina E.S. — concept and design of the study, collection and processing of material, text editing.

Evdokimov P.V. — concept and design of the study, collection and processing of material, writing the draft.

Tikhonov A.A. — collection and processing of material, text editing.

Путляев В.И. — концепция и дизайн исследования, сбор и обработка материала, редактирование текста статьи.

Шипунов Г.А. — сбор и обработка материала.

Зацепин В.А. — сбор и обработка материала.

Дубров В.Э. — концепция и дизайн исследования, редактирование текста статьи.

Данилова Н.В. — сбор и обработка материала, написание текста статьи.

Мальков П.Г. — сбор и обработка материала, редактирование текста статьи.

Все авторы прочли и одобрили финальную версию рукописи статьи. Все авторы согласны нести ответственность за все аспекты работы, чтобы обеспечить надлежащее рассмотрение и решение всех возможных вопросов, связанных с корректностью и надежностью любой части работы.

Источник финансирования. Работа выполнена при поддержке РФФ (грант № 17-79-20427).

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

Этическая экспертиза. Проведение исследования одобрено Комитетом по биоэтике (№ 82-ж от 25.10.2018). Исследование проведено при соблюдении принципов гуманного обращения с лабораторными животными в соответствии с требованиями Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментов и других научных целей и директивой 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза от 22 сентября 2010 г. по охране животных, используемых в научных целях.

Информированное согласие на публикацию. Не требуется.

ЛИТЕРАТУРА [REFERENCES]

1. Карякин Н.Н., Горбатов Р.О., Новиков А.Е., Нифтуллаев Р.М. Хирургическое лечение пациентов с опухолями длинных трубчатых костей верхних конечностей с использованием индивидуальных имплантатов из костнозамещающего материала, созданных по технологиям 3D-печати. *Гений ортопедии*. 2017;23(3):323-330. doi: 10.18019/1028-4427-2017-23-3-323-330. Karyakin N.N., Gorbатов R.O., Novikov A.E., Niftullaev R.M. [Surgical treatment of patients with tumors of long bones of upper limbs using tailored 3D printed bone substitute implants]. *Genij Ortopedii [Orthopaedic Genius]*. 2017;23(3):323-330. (In Russian). doi: 10.18019/1028-4427-2017-23-3-323-330.
2. Касьянова Е.С., Копелев П.В., Александрова С.А. Оценка влияния модификации коллагеном I типа поверхности остеозамещающего материала “БИОСИТ СР ЭЛКОР” на жизнеспособность мезенхимных стромальных клеток костного мозга. *Бюллетень инновационных технологий*. 2018;2(3(7)):32-37. Kasyanova E.S., Kopelev P.V., Alexandrova S.A. [Analysis of the viability of bone marrow mesenchymal stromal cells cultivated on osteoreplacement material BIOSIT-SR ELCOR after surface modification by collagen type I]. *Byulleten' innovatsionnykh tekhnologii [Bulletin of Innovative Technologies]*. 2018;2(3(7)):32-37. (In Russian).

Putlayev V.I. — concept and design of the study, collection and processing of material, text editing.

Shipunov G.A. — collection and processing of material.

Zatsepin V.A. — collection and processing of material.

Dubrov V.E. — concept and design of the study, text editing.

Danilova N.V. — collection and processing of material, writing the draft.

Malkov P.G. — collection and processing of material, text editing.

All authors have read and approved the final version of the manuscript of the article. All authors agree to bear responsibility for all aspects of the study to ensure proper consideration and resolution of all possible issues related to the correctness and reliability of any part of the work.

Funding source. The study was supported by the Russian Science Foundation (Grant No 17-79-20427).

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

Ethics approval. The study was approved by the local Ethics Committee of the Lomonosov Moscow State University (protocol No 82-zh, 25.10.2018). The study was conducted in compliance with the principles of humane treatment of laboratory animals in accordance with the requirements of the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experiments and other Scientific Purposes and Directive 2010/63/EU of the European Parliament and the Council of the European Union of September 22, 2010 on the protection of animals used for scientific purposes.

Consent for publication. Not required.

3. Крюков Е.В., Брижань Л.К., Хоминец В.В., Давыдов Д.В., Чирва Ю.В., Севастьянов В.И. и др. Опыт клинического применения тканеинженерных конструкций в лечении протяженных дефектов костной ткани. *Гений ортопедии*. 2019;25(1):49-57. doi: 10.18019/1028-4427-2019-25-1-49-57. Kryukov E.V., Brizhan' L.K., Khominets V.V., Davydov D.V., Chirva Yu.V., Sevastianov V.I. et al. [Clinical use of scaffold-technology to manage extensive bone defects]. *Genij Ortopedii [Orthopaedic Genius]*. 2019;25(1):49-57. (In Russian). doi: 10.18019/1028-4427-2019-25-1-49-57.
4. Хоминец В.В., Воробьев К.А., Соколова М.О., Иванова А.К., Комаров А.В. Аллогенные остеопластические материалы для реконструктивной хирургии боевых травм. *Известия Российской Военно-медицинской академии*. 2022;41(3):309-314. doi: 10.17816/rmmar109090. Khominets V.V., Vorobev K.A., Sokolova M.O., Ivanova A.K., Komarov A.V. [Allogeneic osteoplastic materials for reconstructive surgery of combat injuries]. *Izvestiya Rossiiskoi Voenno-meditsinskoi akademii [Russian Military Medical Academy Reports]*. 2022;41(3):309-314. (In Russian). doi: 10.17816/rmmar109090.
5. Bai X., Gao M., Syed S., Zhuang J., Xu X., Zhang X.Q. Bioactive hydrogels for bone regeneration. *Bioact Mater*. 2018;3(4):401-417. doi: 10.1016/j.bioactmat.2018.05.006.

6. van der Heide D., Cidonio G., Stoddart M.J., D'Este M. 3D printing of inorganic-biopolymer composites for bone regeneration. *Biofabrication*. 2022;14(4). doi: 10.1088/1758-5090/ac8cb2.
7. Wu Y., Zeng W., Xu J., Sun Y., Huang Y., Xiang D. et al. Preparation, physicochemical characterization, and in vitro and in vivo osteogenic evaluation of a bioresorbable, moldable, hydroxyapatite/poly(caprolactone-co-lactide) bone substitute. *J Biomed Mater Res A*. 2023;111(3):367-377. doi: 10.1002/jbm.a.37463.
8. Kitamura M., Ohtsuki C., Iwasaki H., Ogata S., Tanihara M., Miyazaki T. The controlled resorption of porous alpha-tricalcium phosphate using a hydroxypropylcellulose coating. *J Mater Sci Mater Med*. 2004;15(10):1153-1158. doi: 10.1023/B:JMSM.000046399.40310.47.
9. Bohner M. Resorbable biomaterials as bone graft substitutes. 2010;13(1-2):24-30. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1369702110700146>. doi: 10.1016/S1369-7021(10)70014-6.
10. Hing K.A. Bioceramic bone graft substitutes: influence of porosity and chemistry. *Int J Appl Ceram Technol*. 2005;2(3):184-199. doi: 10.1111/j.1744-7402.2005.02020.x.
11. Komlev V.S., Bozo I.I., Deev R.V., Gurin A.N. Bioactivity and effect of bone formation for octacalcium phosphate ceramics. In: *Octacalcium Phosphate Biomaterials*. 2020. p. 85-119. doi: 10.1016/B978-0-08-102511-6.00005-4. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780081025116000054>.
12. Suzuki O. Octacalcium phosphate: osteoconductivity and crystal chemistry. *Acta Biomater*. 2010;6(9):3379-3387. doi: 10.1016/j.actbio.2010.04.002.
13. Miño-Fariña N., Muñoz-Guzón F., López-Peña M., Ginebra M.P., Del Valle-Fresno S., Ayala D. et al. Quantitative analysis of the resorption and osteoconduction of a macroporous calcium phosphate bone cement for the repair of a critical size defect in the femoral condyle. *Vet J*. 2009;179(2):264-272. doi: 10.1016/j.tvjl.2007.09.011.
14. Sutradhar A., Paulino G.H., Miller M.J., Nguyen T.H. Topological optimization for designing patient-specific large craniofacial segmental bone replacements. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2010;107(30):13222-13227. doi: 10.1073/pnas.1001208107.
15. Al-Tamimi A.A., Peach C., Fernandes P.R., Cseke A., Bartolo P.J.D.S. Topology Optimization to Reduce the Stress Shielding Effect for Orthopedic Applications. *Procedia CIRP*. 2017;65:202-206. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2212827117305425>.
16. Querin O.M., Victoria M., Alonso C., Ansolá R., Martí P. Topology Optimization as a Digital Design Tool. In: *Topology Design Methods for Structural Optimization*. Elsevier; 2017. p. 93-111. doi: 10.1016/B978-0-08-100916-1.00006-4. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780081009161000064>.
17. Тихонов А.А., Евдокимов П.В., Путляев В.И., Сафронова Т.В., Филиппов Я.Ю. О выборе архитектуры остеокондуктивных биокерамических имплантатов. *Материаловедение*. 2018;(8):43-48. doi: 10.31044/1684-579X-2018-0-8-43-48. Tikhonov A.A., Evdokimov P.V., Putlyayev V.I., Safronova T.V., Filippov Ya.Yu. [On architecture of osteoconductive bioceramic implants]. *Materialovedenie [Materials Science]*. 2018;(8):43-48. (In Russian). doi: 10.31044/1684-579X-2018-0-8-43-48.
18. Kapfer S.C., Hyde S.T., Mecke K., Arns C.H., Schröder-Turk G.E. Minimal surface scaffold designs for tissue engineering. *Biomaterials*. 2011;32(29):6875-6882. doi: 10.1016/j.biomaterials.2011.06.012.
19. Тихонов А.А., Кукуева Е.В., Евдокимов П.В., Климашина Е.С., Путляев В.И., Щербаков И.М. и др. Синтез замещенного октакальциевого фосфата для наполнения композитных имплантатов на основе полимерных гидрогелей, сформированных стереолитографической 3d-печатью. *Неорганические материалы*. 2018;54(10):1123-1132. doi: 10.1134/S0002337X18100172. Tikhonov A.A., Kukueva E.V., Evdokimov P.V., Klimashina E.S., Putlyayev V.I., Shcherbakov I.M. et al. [Synthesis of substituted octacalcium phosphate for filling composite implants based on polymer hydrogels produced by stereolithographic 3d printing] *Neorganicheskie materialy [Inorganic Materials]*. 2018;54(10):1123-1132. (In Russian). doi: 10.1134/S0002337X18100172.
20. Schindelin J., Arganda-Carreras I., Frise E., Kaynig V., Longair M., Pietzsch T. et al. Fiji: an open-source platform for biological-image analysis. *Nat Methods*. 2012;9(7):676-682. doi: 10.1038/nmeth.2019.
21. Mohiuddin O.A., Campbell B., Poche J.N., Ma M., Rogers E., Gaupp D. et al. Decellularized Adipose Tissue Hydrogel Promotes Bone Regeneration in Critical-Sized Mouse Femoral Defect Model. *Front Bioeng Biotechnol*. 2019;7:211. doi: 10.3389/fbioe.2019.00211.
22. Dau M., Ganz C., Zaage F., Frerich B., Gerber T. Hydrogel-embedded nanocrystalline hydroxyapatite granules (Elastic blocks) based on a cross-linked polyvinylpyrrolidone as bone grafting substitute in a rat tibia model. *Int J Nanomedicine*. 2017;12:7393-7404.
23. Frasca S., Norol F., Le Visage C., Collombet J.M., Letourneur D., Holy X. et al. Calcium-phosphate ceramics and polysaccharide-based hydrogel scaffolds combined with mesenchymal stem cell differently support bone repair in rats. *J Mater Sci Mater Med*. 2017;28(2):35. doi: 10.1007/s10856-016-5859-6.
24. Lohmann P., Willuweit A., Neffe A.T., Geisler S., Gebauer T.P., Beer S. et al. Bone regeneration induced by a 3D architected hydrogel in a rat critical-size calvarial defect. *Biomaterials*. 2017;113:158-169. doi: 10.1016/j.biomaterials.2016.10.039.
25. Каралкин П.А., Сергеева Н.С., Комлев В.С., Свиридова И.К., Кирсанова В.А., Ахмедова С.А. и др. Биосовместимость и остеопластические свойства минерал-полимерных композиционных материалов на основе альгината натрия, желатина и фосфатов кальция, предназначенных для 3D-печати костнозамещающих конструкций. *Гены и клетки*. 2016;11(3):94-101. Karalkin P.A., Sergeeva N.S., Komlev V.S., Sviridova I.K., Kirsanova V.A., Akhmedova S.A. et al. [Biocompatibility and osteoplastic properties of mineral polymer composite materials based on sodium alginate, gelatin, and calcium phosphates intended for 3d-printing of the constructions for bone replacement]. *Geny i kletki [Genes and Cells]*. 2016;11(3):94-101. (In Russian).
26. Мураев А.А., Бонарцев А.П., Гажва Ю.В., Рябова В.М., Волков А.В., Жаркова И.И. и др. Разработка и доклинические исследования ортотопических костных имплантатов на основе гибридной конструкции из поли-3-оксибутирата и альгината натрия. *Современные технологии в медицине*. 2016;8(4):42-49.

- Muraev A.A., Bonartsev A.P., Gazhva Yu.V., Riabova V.M., Volkov A.V., Zharkova I.I., et al. [Development and Preclinical Studies of Orthotopic Bone Implants Based on a Hybrid Construction from Poly(3-Hydroxybutyrate) and Sodium Alginate]. *Sovremennye tehnologii v medicine* [Modern Technologies in Medicine]. 2016;8(4):42. (In Russian). doi: 10.17691/stm2016.8.4.06.
28. Bi S., Wang P., Hu S., Li S., Pang J., Zhou Z. et al. Construction of physical-crosslink chitosan/PVA double-network hydrogel with surface mineralization for bone repair. *Carbohydr Polym.* 2019;224:115176. doi: 10.1016/j.carbpol.2019.115176.
29. Лунева С.Н., Талашова И.А., Осипова Е.В., Накоскин А.Н., Еманов А.А. Влияние состава биокомпозиционных материалов, имплантированных в дырчатые дефекты метафиза, на репаративную регенерацию и минерализацию костной ткани. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* 2013;156(8):255-259.
Luneva S.N., Talashova I.A., Osipova E.V., Nakoskin A.N., Emanov A.A. [Influence of the Composition of Biocomposite Materials Implanted in Perforated Metaphyseal Defects on Reparative Regeneration and Mineralization of Bone Tissue] *Vyulleten' eksperimental'noi biologii i meditsiny* [Bulletin of Experimental Biology and Medicine]. 2013;156(8): 255-259. (In Russian).
30. Susin C., Lee J., Fiorini T., Koo K.T., Schüpbach P., Finger Stadler A. et al. Screening of Hydroxyapatite Biomaterials for Alveolar Augmentation Using a Rat Calvaria Critical-Size Defect Model: Bone Formation/Maturation and Biomaterials Resolution. *Biomolecules.* 2022;12(11):1677. doi: 10.3390/biom12111677.
31. Wang M., Gu Z., Li B., Zhang J., Yang L., Zheng X. et al. Bioactive Nanocomposite Microsponges for Effective Reconstruction of Critical-Sized Calvarial Defects in Rat Model. *Int J Nanomedicine.* 2022;17:6593-6606. doi: 10.2147/IJN.S389194.
32. van der Stok J., Koolen M.K., de Maat M.P., Yavari S.A., Alblas J., Patka P. et al. Full regeneration of segmental bone defects using porous titanium implants loaded with BMP-2 containing fibrin gels. *Eur Cell Mater.* 2015;29:141-153; discussion 153-154. doi: 10.22203/ecm.v029a11.
33. Ando K., Imagama S., Kobayashi K., Ito K., Tsushima M., Morozumi M. et al. Effects of a self-assembling peptide as a scaffold on bone formation in a defect. *PLoS One.* 2018;13(1):e0190833. doi: 10.1371/journal.pone.0190833.

Сведения об авторах

- ✉ Щербakov Иван Михайлович
Адрес: Россия, 119991, г. Москва, Ленинские горы, д. 1
<https://orcid.org/0000-0001-5487-9039>
e-mail: imscherbackov@yandex.ru
- Климашина Елена Сергеевна — канд. хим. наук
<https://orcid.org/0000-0002-7441-7381>
e-mail: alenakovaleva@gmail.com
- Евдокимов Павел Владимирович — канд. хим. наук
<https://orcid.org/0000-0003-4398-054X>
e-mail: pavel.evdokimov@gmail.com
- Тихонов Андрей Александрович
<https://orcid.org/0000-0003-3372-5393>
e-mail: andytikhon94@gmail.com
- Путляев Валерий Иванович — канд. хим. наук
<https://orcid.org/0000-0001-7601-6787>
e-mail: valery.putlayev@gmail.com
- Шипунов Георгий Александрович
<https://orcid.org/0000-0003-4495-7050>
e-mail: shipunovgeorge@gmail.com
- Зацепин Владислав Александрович
<https://orcid.org/0000-0001-8233-2989>
e-mail: gyglvladislav@gmail.com
- Дубров Вадим Эрикович — д-р мед. наук, профессор
<https://orcid.org/0000-0001-5407-0432>
e-mail: vduort@gmail.com
- Данилова Наталья Владимировна — канд. мед. наук
<http://orcid.org/0000-0001-7848-6707>
e-mail: natalyadanilova@gmail.com
- Мальков Павел Георгиевич — канд. мед. наук
<http://orcid.org/0000-0001-5074-3513>
e-mail: malkovp@fbm.msu.ru

Authors' information

- ✉ Ivan M. Shcherbakov
Address: 1, Leninskie Gory, Moscow, 119991, Russia
<https://orcid.org/0000-0001-5487-9039>
e-mail: imscherbackov@yandex.ru
- Elena S. Klimashina — Cand. Sci. (Chem.)
<https://orcid.org/0000-0002-7441-7381>
e-mail: alenakovaleva@gmail.com
- Pavel V. Evdokimov — Cand. Sci. (Chem.)
<https://orcid.org/0000-0003-4398-054X>
e-mail: pavel.evdokimov@gmail.com
- Andrei A. Tikhonov
<https://orcid.org/0000-0003-3372-5393>
e-mail: andytikhon94@gmail.com
- Valerii I. Putlayev — Cand. Sci. (Chem.)
<https://orcid.org/0000-0001-7601-6787>
e-mail: valery.putlayev@gmail.com
- Georgii A. Shipunov
<https://orcid.org/0000-0003-4495-7050>
e-mail: shipunovgeorge@gmail.com
- Vladislav A. Zatsepin
<https://orcid.org/0000-0001-8233-2989>
e-mail: gyglvladislav@gmail.com
- Vadim E. Dubrov — Dr. Sci. (Med.), Professor
<https://orcid.org/0000-0001-5407-0432>
e-mail: vduort@gmail.com
- Natal'ia V. Danilova — Cand. Sci. (Med.)
<http://orcid.org/0000-0001-7848-6707>
e-mail: natalyadanilova@gmail.com
- Pavel G. Malkov — Cand. Sci. (Med.)
<http://orcid.org/0000-0001-5074-3513>
e-mail: malkovp@fbm.msu.ru