

## **БИОКОМПОЗИЦИОННЫЙ НАНОСТРУКТУРИРОВАННЫЙ ПРЕПАРАТ КОЛЛАПАН В ИНЖИНИРИНГЕ КОСТНОЙ ТКАНИ**

**Г.Н. Берченко**

**ФГУ «ЦИТО им. Н.Н. Приорова Росмедтехнологии», Москва, Россия**

Несмотря на значительные успехи в хирургической технике, лечение переломов кости может сопровождаться развитием осложнений. Замедленное или полное несращение переломов кости развивается в 5% случаев всех переломов и до 20% случаев высокоэнергетических переломов (Dickson, 2007). Гипертрофические или атрофические несрастающиеся переломы отличаются нарушением межклеточного и клеточно-матриксного взаимодействия, недостаточной клеточной активностью или её полным отсутствием. Предотвращение развития подобных ситуаций, а также лечение больших костных дефектов, формирующихся после тяжелых травм или различных заболеваний, требуют новых подходов с использованием биологически активных материалов и тканевого инжиниринга. Данная проблема имеет важное социальное и экономическое значение, о чем свидетельствует ежегодное проведение во всём мире около 4 миллионов процедур с использованием костных имплантатов и их заменителей, а также разработка широкого спектра биоматериалов для клинического использования.

Аутогенная губчатая кость является золотым стандартом для репаративной регенерации повреждённой кости, так как обладает остеокондуктивными, остеоиндуктивными и остеогенными свойствами. Однако процедура забора аутокости увеличивает время оперативного вмешательства, потерю крови, время госпитализации. Наиболее частыми осложнениями (до 20% случаев), связанными с забором донорского материала, являются: повреждения сосудов и нервов, формирование гематомы, развитие хронических невропатических болей, инфекционного процесса. Объем забираемого ауто трансплантата ограничен и составляет около 20 см<sup>3</sup>. Дальнейшее увеличение объема забираемого донорского материала увеличивает риск развития осложнений. Кроме того, большинство остеогенных клеток погибает в

ближайшее время после имплантации, аутогенная кость быстро резорбируется и как правило часто деградирует ещё до полного заживления костного дефекта.

Костные аллоимплантаты также имеют свои ограничения – медленная остеоинтеграция имплантата, возможность передачи от донора к реципиенту различных заболеваний и развития иммуногенных реакций.

Одним из перспективных направлений замещения костных дефектов является использование биоактивных материалов на основе фосфатов кальция (гидроксиапатит, трикальцийфосфат, ситаллы, биоактивные стёкла), близких по своему составу костной ткани человека. Продолжается активная разработка биоактивных материалов на основе синтетического гидроксиапатита, который по фазовому составу идентичен основной минеральной составляющей кости – биологическому гидроксиапатиту. Материалы на основе гидроксиапатита обладают способностью к химическому и биологическому связыванию с костью.

На моделях различных животных показано, что некоторые кальцийфосфатные материалы, такие как гидроксиапатит, бетатрикальций фосфат, бифазная трикальцийфосфатная керамика индуцируют эктопический (внекостный) остеогенез, то есть обладают остеоиндуктивными свойствами. Эти свойства кальцийфосфатных материалов обладают межвидовыми различиями. Эктопический остеогенез, при имплантации кальцийфосфатных материалов, почти никогда не определяется у крыс и мышей, редко у кроликов, но обнаруживается очень часто у более крупных млекопитающих – коз, овец, собак, а также у приматов, таких как бабуины.

Остеоиндуктивные свойства определяются многочисленными факторами, такими как размер, форма, порозность, химиче-

ский состав, поверхностная микроструктура биоматериала и др..В культуре клеток определённые кальцийфосфатные материалы способствуют дифференцировке стволовых мезенхимальных клеток костного мозга человека в остеобласты в условиях отсутствия в культуральной среде остеогенных стимулирующих факторов, что свидетельствует о важнейшей роли клеточно-матриксного взаимодействия в направлении дифференцировки плюрипотентных малодифференцированных клеток.

Отечественными производителями (фирма Интермедпатит) разработан биологически активный препарат Коллапан, содержащий наноструктурированный синтетический гидроксиапатит (размер частиц гидроксиапатита 20 нанометров), коллаген, антибиотики. Наноструктурированными или нанофазными являются материалы, структурная единица которых определяется величиной от 1 до 100 нанометров. В многочисленных экспериментально-морфологических и клинических исследованиях нами обнаружено, что препарат Коллапан, обладая антимикробными, остеокондуктивными и остеоиндуктивными свойствами, является постепенно резорбируемой матрицей, на поверхности которой в условиях условно асептических и инфицированных костных дефектов формируется новообразованная кость. При этом вокруг частиц Коллапана при различных сроках исследования признаков воспалительной реакции не выявляется, между имплантируемым материалом и новообразованной костью прослойка фиброзной ткани не формируется. Коллапан является препаратом, используемым для направленной тканевой регенерации, так как он предотвращает врастание в область костного дефекта рыхлой соединительной ткани и формирование замыкательной костной пластинки в трубчатых костях. Микробиологические исследования показали высокую антимикробную активность Коллапана в течение 16-20 суток, во время которых происходит равномерное выделение антибиотика в окружающие ткани области имплантации.

Остеоиндуктивные свойства биокомпозиционного наноструктурированного препарата Коллапан ещё недостаточно изучены, однако некоторые из них, по-видимому, можно объяснить следующим образом:

1) поверхностная структура имплантированного Коллапана определяет селек-

тивную абсорбцию на его поверхности неколлагеновых белков внеклеточного матрикса – фибронектина, витронектина, остеокальцина, костных сиалопротеинов и др., которые способствуют через клеточно-субстратные адгезивные рецепторы (интегрины) последующей адгезии клеток-предшественников остеобластов, их пролиферации, дифференцировке и синтетической активности остеобластов при одновременном торможении адгезии и роста клеток фибробластической линии;

2) наноструктурированный гидроксиапатит Коллапана, обладая площадью поверхности в десятки и сотни раз превышающую таковую обычных биоимплантатов, абсорбирует многочисленные эндогенные костные морфогенетические и остеогенные белки, являющиеся остеоиндуктивными растворимыми факторами, опосредующими хемотаксис, прикрепление к имплантату и дифференцировку малодифференцированных клеток ложа реципиента в остеобласты;

3) растворение синтетического наноструктурированного гидроксиапатита Коллапана сопровождается высвобождением ионов  $Ca^{2+}$  и  $PO_4^{3-}$ , их обменом с ионами тканевой жидкости с последующей репреципитацией и формированием слоя биологического гидроксиапатита на поверхности имплантата, то есть постепенно растворяющийся имплантат замещается новообразованной костью (ползуший остеогенез);

Тканевой инжиниринг является альтернативой для использования аутотрансплантатов и костных аллоимплантатов. Инжиниринг тканей – это создание в лабораторных условиях живых функциональных компонентов, которые могут быть использованы для регенерации неправильно функционирующих тканей (Hench, 2005). В инжиниринге кости используется три компонента: 1) живые клетки (обычно мезенхимальные стволовые клетки, полученные из костного мозга и способные дифференцироваться в остеобласты или хондробласты); 2) матрица, обладающая остеокондуктивными свойствами, к которой могут прикрепляться предшественники остеобластов с последующим ростом и формированием кости; 3) факторы роста, стимулирующие клеточную активность и дифференцировку с развитием остео- или хондрогенеза.

В настоящее время в клинической практике с целью активизации остеогенеза находит метод использования обогащенной тромбоцитами (безъядерными клетками) аутоплазмы (Platelet-Rich Plasma – PRP). Аутологичная PRP представляет собой концентрированную суспензию тромбоцитов в ограниченном объеме плазмы. Активатором обогащенной тромбоцитами плазмы является смесь тромбина и хлористого кальция, которая способствует образованию обогащенного тромбоцитами геля (PRP-гель). Метод основан на применении аутологичных тромбоцитов, в которых содержатся многочисленные факторы роста и цитокины, способствующие свёртыванию крови, регенерации ткани и процессам минерализации кости. Данный метод с успехом применяется в челюстно-лицевой, сердечно-сосудистой, пластической и косметической хирургии, при лечении тромбоцитопении, дентальной и костной имплантации, спондилодезе, метаболических заболеваний костно-суставной системы.

В á гранулах тромбоцитов выявлено свыше 30 ростовых факторов, при этом наиболее изучены следующие факторы роста, способствующие регенерации тканей: 1) тромбоцитопроизводный фактор роста (PDGF); 2) фактор роста эндотелия сосудов (VEGF); 3) трансформирующий фактор роста (TGF-β); 4) кислый и основной факторы роста фибробластов (aFGF и bFGF); 5) инсулиноподобный фактор роста типа I и II (IGF); 6) эпидермальный фактор роста (EGF). Особенно большое значение для регенерации костной ткани имеют TGF-β, представляющие собой большую группу белков, среди которых TGF-β1 и морфогенетические белки кости (BMPs) модулируют клеточную пролиферацию, дифференцировку малодифференцированных клеток в остеобласты, увеличивают синтез внеклеточного матрикса кости и ингибируют его деградацию, продуцируют иммуносупрессорный эффект.

Кроме того появились единичные работы, свидетельствующие об антимикробных свойствах PRP-геля. В исследованиях *in vitro* выявлено, что PRP-гель ингибирует рост *Staphylococcus aureus* и *Escherichia coli*, являющихся широко распространенной причиной госпитальной инфекции, причем ингибирующее действие на *Staphylococcus aureus* сопоставимо с эффектом гентамицина или оксацилина.

Исходя из основных принципов тканевого инжиниринга, с целью активизации регенерации костной ткани, сотрудниками ЦИТО разработан метод сочетанного применения Коллапана и обогащённой тромбоцитами аутоплазмы в травматолого-ортопедической практике. В данном случае в качестве живых клеток используется концентрат собственных тромбоцитов, которые разрушаясь в костном дефекте выделяют многочисленные факторы роста, запускающие и активирующие процессы остеогенеза, тогда как Коллапан выполняет роль постепенно лизирующейся матрицы, обладающей не только остеокондуктивными, антибактериальными, но и остеоиндуктивными свойствами.

Сочетанное применение Коллапана с аутологичной PRP (в костный дефект вводится смесь гранул или геля Коллапана с аутологичной PRP) вызывает значительную активизацию репаративной регенерации кости, выраженную в большей степени, чем при использовании Коллапана или, особенно, аутологичной PRP, в отдельности. В данном случае Коллапан, кроме всего прочего, служит средством локальной доставки выделяющихся из тромбоцитов аутологичных факторов роста. Не исключено, что факторы роста могут связываться физическими или ковалентными связями с элементами Коллапана (синтетическим наноструктурированным гидроксипатитом и коллагеном) с последующим пролонгированным выделением в костном дефекте. Локально выделяющиеся аутологичные факторы роста, стимулируя адгезию, пролиферацию, дифференцировку клеток - предшественников остеобластов, функциональную активность остеобластов и синтез этими клетками внеклеточного матрикса кости, значительно усиливают остеоиндуктивные свойства биокомпозиционного препарата Коллапан, ускоряют этапы репаративной регенерации кости.

Таким образом, использование в инжиниринге костной ткани биокомпозиционного наноструктурированного препарата Коллапан в сочетании с факторами роста обогащённой тромбоцитами аутоплазмы, является безопасным и эффективным методом активизации репаративной регенерации кости.