

Направленная регенерация костной ткани с использованием барьерной мембраны на основе альгината натрия и октакальциевого фосфата

А.Н. Гурин^{1,2}, А.Ю. Федотов³, Р.В. Деев⁴, В.С. Комлев³

¹Центральный научно-исследовательский институт стоматологии и челюстно-лицевой хирургии, Москва

²Первый московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, Москва

³Институт металлургии и материаловедения им. А.А. Байкова РАН, Москва

⁴Институт Стволовых Клеток Человека, Москва

Sodium alginate bioresorbable membrane and octacalcium phosphate biomaterial for guided bone regeneration

A.N. Gurin^{1,2}, A.Yu. Fedotov³, R.V. Deev⁴, V.S. Komlev³

¹Central Scientific Research Institute of Dentistry and Maxillofacial Surgery, Moscow

²I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow

³A.A. Baikov Institute of Metallurgy and Materials Science, RAS, Moscow

⁴Human Stem Cells Institute, Moscow

Барьерные мембраны необходимы для изоляции костного дефекта от прорастания фиброзной ткани. Значительные перспективы представляют мембраны на основе альгината натрия. В исследовании биорезорбируемая мембрана на основе альгината натрия сшивалась 10% раствором хлорида кальция/магния (30/70), имела пористость 80% и прочность на растяжение до 2 МПа. В качестве биоматериала использовали гранулы октакальциевого фосфата (ОКФ) размером 0,5–1,0 мм, с развитой поверхностью. Исследование проведено на 40 крысах линии Вистар. Модель повреждения – критический дефект теменной кости (10 мм). Сроки наблюдения – 1 и 3 мес. Животные были разделены на 4 группы: 1) костный дефект заживал под кровяным свертком; 2) костный дефект заполняли гранулами октакальциевого фосфата; 3) костный дефект заполняли гранулами октакальциевого фосфата и изолировали от мягких тканей альгинатной мембраной; 4) костный дефект изолировали альгинатной мембраной.

В контрольной группе эксперимента процессов восстановления кости не наблюдали. Во второй группе гранулы ОКФ были хаотично распределены в «мягких тканях», резорбция гранул была выражена слабо. В третьей группе альгинатная мембрана хорошо изолировала костный дефект, процессы остеорепарации и резорбции гранул были выражены. В четвертой группе альгинатная мембрана постепенно подвергалась резорбции с появлением минерализованных участков, по-видимому, из-за осаждения солей кальция, который был использован для сшивки мембраны. Таким образом, показано, что альгинатная мембрана соответствует всем требованиям для барьерных мембран, будучи нейтральной к окружающим тканям, не вызывает побочных явлений, сохраняет свою структуру в течение длительного периода. Гранулы ОКФ под мембраной постепенно резорбируются с формированием минерализованной костной ткани.

Ключевые слова: альгинат натрия, октакальциевый фосфат, остеопластический материал, критический костный дефект, направленная тканевая регенерация

To study the characteristics of a porous sodium alginate membrane and assess its role in guided bone regeneration of critical bone defects in rats' skulls containing ceramic octacalcium phosphate. The polymer membrane was made through lyophilization of 5 ml of 2% sodium alginate solution sealed with 10% solution of calcium/magnesium chloride (30/70). OCP granules were synthesized through processing calcium salts with orthophosphoric acid. The in vivo experiment involved 24 Vistar rats. Critical 9 mm diameter defects were made in their parietal bones. The animals were divided into four groups: 1st – control group, 2nd – the defect contained OCP granules and was covered with a skin flap, 3rd – OCP under an alginate membrane, 4th – membrane only without OCP. The animals were withdrawn from the experiment after one and three months. The membranes obtained had a porosity of up to 80% and a tensile strength of up to 2mPa. Ceramic OCP granules were porous, spherical, about 0.6 or 0.7 mm in size. XRF showed that the characteristic peak for OCP was at 4.8° 2θ.

During the in vivo experiment in the control group, the skin flap grew together with the dura mater and closed the defect. In the second group, OCP granules were allocated randomly in the soft tissues. In the third one, granules became organized within the bone defect and the alginate membrane was preventing the granules from migrating and the connective tissue from growing into the defect. Osteoid tissue was formed and then mineralized. In the fourth group, the alginate membrane gradually went disintegrating, with appearing solid parts resembling ossified fragments. No inflammation was observed. A study of the AM has shown that it matches all the requirements for barrier membranes, by being neutral to the adjacent tissues, not causing inflammation, being able to keep its structure for a long period, building solid, maybe mineralized fragments along with resorption areas, which is evidenced by the sealing lines, and not causing giant multinuclear cells to appear. OCP granules under the AM are gradually resorbed, building up osteoid tissue that then gets mineralized.

Key words: sodium alginate, membrane, octacalcium phosphate, bone graft, critical bone defect, guided bone regeneration.

Технологии направленной регенерации тканей с успехом используются в пародонтологии, имплантологии и челюстно-лицевой хирургии. В них в качестве барьеров для предотвращения прорастания в зону дефекта соединительной ткани широко применяются мембраны, чем создается ложе для формирования костной ткани. Достаточно давно сформулированы основные принципы применения биологических барьерных мембран [1, 2], в частности, биосовместимость, интеграция с костной тканью, препятствие прорастанию соединительной ткани или эпителия, ограничение проникновения бактерий, формирование пространства для органотипических тканей при заполнении дефекта. При этом, мембраны не должны оказывать негативного воздействия на процессы гистотипической регенерации, а в идеальном варианте — их оптимизировать.

В качестве барьерных мембран используются различные материалы, в том числе коллаген [3, 4], политетрафторэтилен (ПТФЭ) (Cytoplast, США) [5, 6], внеклеточный матрикс дермы (Alloderm, США) [7], декальцинированная компактная костная ткань (Genderm, Испания) [8, 9], полигидроксibuтират [10], полиуретан [11], гиалуроновые кислоты (Hyalonect, США) [12], обогащенная тромбоцитами плазма [13], мембраны из полилактид-ко-ε-капролактона (PLCL) [14] и другие вещества в различных комбинациях [15].

Барьерные мембраны подразделяются на нерезорбируемые и биорезорбируемые. К нерезорбируемым мембранам относится ПТФЭ. Материалы на основе ПТФЭ характеризуется высокой устойчивостью в биологических системах, т.е. к разрушающему действию тканей организма-хозяина, микроорганизмов, и не вызывает иммунных реакций. Очевидный недостаток ПТФЭ-мембран — при обнажении мембраны (расхождении швов) происходит быстрый лизис подлежащей костной ткани [16]. Кроме того, ПТФЭ-мембраны оказывают подавляющее действие на синтез коллагена, гликозамингликанов — основных компонентов внеклеточного матрикса [17]. В настоящее время нерезорбируемые мембраны теряют свое значение и в клинической практике их применение ограничено специфическими показаниями.

Биорезорбируемые мембраны характеризуются быстрой интеграцией в ткани (в зависимости от свойств материала), также быстрой резорбцией в случае их обнажения; при их использовании показано интенсивное восстановление мягких тканей [18, 19]. Большинство резорбируемых мембран, используемых в медицинских целях, производятся на основе коллагена животного происхождения, полисахаридов [20, 21], полигликолида, полилактида и их сополимеров [22]. Мембраны из коллагена, без поперечных сшивок биодеградируют к 5–7 сут. Фрагменты мембран из сшитого коллагена в зоне дефекта могут быть обнаружены и через 2 недели после имплантации [23, 24]. Недостатки этого материала хорошо известны. В медицинской практике при применении коллагеновых мембран существует риск послеоперационного разрыва в результате их низкой прочности и потенциальной опасности инфицирования [25]. Более того применение в качестве «сшивающего агента» токсичных химических соединений, остатки которых остаются после полимеризации, отрицательно влияет на биосовместимость

изделия, что приводит к образованию своеобразных ниш между мембраной и соединительной тканью и способствует миграции в них микробов и поддержанию воспаления [26].

Синтетические мембраны из полилактидов и их сополимеров могут отрицательно влиять на окружающие ткани, вызывая умеренную цитотоксическую реакцию в процессе биорезорбции [27].

Поиск новых материалов для получения мембран, удовлетворяющих современным запросам, продолжается. Одним из перспективных материалов является альгинат. Это безазотистый полисахарид, представляющий собой семейство неразветвленных бинарных сополимеров, состоящих из связанных (1–4) гликозидными связями остатков бета-D-маннуриновой (M) или ее C-5 эпимера L-гулуриновой кислоты (G), образуя длинные цепи [28]. Он биосовместим, не иммуногенен и гидрофилен [29]. В медицине широко используется в виде гидрогелей как матрикс для доставки лекарственных веществ и клеток к тканям [30]. Альгинат нашел широкое применение в фармацевтической, текстильной, пищевой промышленности, косметологии и стоматологии. Особым свойством альгината является то, что он не резорбируется естественным образом под действием ферментов и клетки не склонны к активной адгезии к альгинату [31, 32], по-видимому, за счет высокой гидрофильности и наличия отрицательного заряда цепей [30], что делает альгинат нейтральным по отношению к окружающим тканям. Это свойство было использовано рядом авторов для получения альгинатной мембраны для направленной костной регенерации [33–36]. Мембраны, полученные *ex tempore*, характеризовались слабой адгезией и прочностью, не смотря на это, под ними наблюдалась регенерация костной ткани. Методика получения таких мембран проста: в костный дефект вводился альгинатный гель и капельно — CaCl_2 , в результате происходила полимеризация и дефект заполнялся.

Нами были разработаны пористые альгинатные мембраны с четкой структурной организацией и прочностью. Целью данной работы являлось изучение структурных изменений пористой мембраны из альгината натрия (AM), оценка ее роли для направленной костной регенерации в костных дефектах черепа критического размера у крыс при совместном применении с керамическими гранулами октакальциевого фосфата (ОКФ).

Материал и методы

Получение альгинатных мембран

В качестве исходных компонентов использовали альгинат натрия (Acros, США), хлорид кальция (CaCl_2 , Sigma-Aldrich, США), хлорид магния (MgCl_2 , Sigma-Aldrich, США), карбонат кальция (CaCO_3 , Sigma-Aldrich, США), дигидрофосфат аммония ($\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$, Fisher BioReagents, США) и ацетат натрия ($\text{CH}_3\text{COONa} \times 3\text{H}_2\text{O}$, Fisher BioReagents, США).

Мембрану на основе альгината (AM) получали с использованием лиофильной сушки (ЛС-1000, Россия). 5 мл 2% водного раствора альгината натрия заливали в пластиковую форму размером 40×60 мм. Данные заготовки подвергали охлаждению при температуре -10°C до полного замораживания. Лиофильную сушку проводили при давлении в рабочей

камере 6×10^{-5} атм. и температуре конденсирующей поверхности 55°C в течение 24 ч. Полученные мембраны сшивали 10% раствором хлорида кальция/магния (30/70) на основе этилового спирта. Проводили пятикратную промывку материалов в дистиллированной воде. Полученные мембран сушили под давлением 100 Н на 1 см^2 в течение 2 сут. при комнатной температуре.

Получение керамических гранул октакальциевого фосфата

Гранулы ОКФ получали согласно ранее опубликованной технологии [37]. Способ изготовления заключается в химической трансформации керамики на основе карбоната кальция (CaCO_3 (кальцит)) в ди-кальцийфосфат дигидрат (ДКФД), с последующим гидролизом ДКФД в ОКФ. Полученные материалы подвергали стерилизации гамма-облучением при дозе 20 кГр в течение 24 ч [38].

Физико-химические методы исследования материалов

Рентгенофазовый анализ (РФА) образцов проводили с помощью дифрактометра Ultima 4 фирмы Rigaku (Япония) на монохроматизированном $\text{CuK}\alpha$ излучении. Идентификацию фаз выполняли с использованием базы рентгенометрических данных PDF-2.

Изображения материалов получали с помощью сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) фирмы Tescan Vega SBU II (Чехия) при ускоряющем напряжении 10–30 kV.

Механические свойства определяли на испытательной машине Instron Electro Puls E 3000 фирмы Instron (Великобритания) с камерой для проведения испытаний в биологических жидкостях при 37°C .

Исследование мембраны на основе альгината натрия и октакальциевого фосфата in vivo

При проведении эксперимента соблюдались принципы гуманного обращения с животными в соответствии с требованиями, предусмотренными приказом Минздрава СССР № 12000 от 02.04.80 «Правила проведения работ с экспериментальными животными».

В эксперименте использовали 40 крыс линии Вистар (в возрасте 14 нед. и весом 200–300 г). Всем животным формировался полнослойный дефект теменных костей диаметром 10 мм; дном дефекта служила твердая мозговая оболочка. Животные были разделены на четыре группы: одна контрольная и три экспериментальные. Животным первой группы (контроль) рану послойно ушивали, не внося перед этим в дефект каких-либо материалов. У животных второй группы дефект заполняли стандартной навеской гранул ОКФ. В третьей — гранулы ОКФ укрывались альгинатной мембраной (АМ). В дефект у крыс четвертой группы помещали только АМ. Для наркоза применен Zoletil® 50 (0,4 мл, внутривенно, Virbac S.A., Франция), для местного обезболивания — ультракаин.

Животных содержали в виварии на стандартном рационе, ежедневно проводили контрольные осмотры. Крыс выводили из эксперимента через один и три месяца путем передозировки Zoletil® 50 (Virbac S.A., Франция). Выпиленный фрагмент крыши черепа, включавший область ранее выполненного дефек-

та с регенератом фиксировали в 10% формалине на фосфатном буфере при $\text{pH} = 7,4$.

После фиксации образцы промывали в проточной воде несколько часов. Помещали в 20% раствор ЭДТА, декальцинировали в течение 10 сут. с ежедневной сменой раствора. Декальцинированные образцы промывали в проточной воде в течение суток. Проводили по спиртам возрастающей концентрации, заключали в парафин, изготавливали серийные срезы толщиной около 7 мкм. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином. Препараты изучали в световом микроскопе, совмещенном с системой полуавтоматического анализа изображений. Исследовали и анализировали тканевый и клеточный состав регенерата, измеряли размеры дефекта. Долю новообразованной костной ткани на срезах подсчитывали отдельно для краевых и центральных участков дефекта, разделив его диаметр на 4 равные части от краев костного дефекта (2 периферические и 2 центральные).

Результаты и обсуждение

Альгинатные мембраны (АМ)

Толщина полученных мембран составляла около 1,5 мм. АМ имели высокую пористость — до 80% и прочность при растяжении — до 2 МПа. На рис. 1 представлена пористая, ячеистая поверхность АМ. На поперечном срезе визуализированы ячейки материала и перегородки между ними.

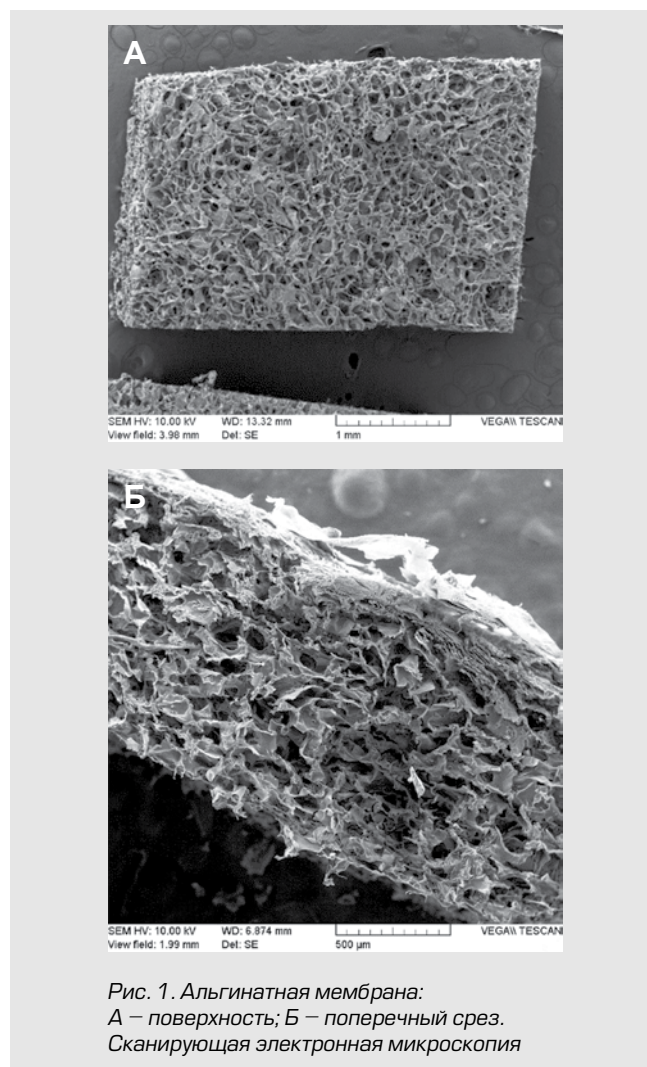


Рис. 1. Альгинатная мембрана:
А — поверхность; Б — поперечный срез.
Сканирующая электронная микроскопия

Керамические гранулы ОКФ

Керамические гранулы ОКФ имеют сферическую форму и размер около 500 ± 100 мкм. Их поверхность характеризуется пористой ячеистой структурой с плоскими игольчатыми кристаллами, которые, располагаясь в разных направлениях, формируют ячеисто-игольчатый рельеф. Рентгенофазовый анализ показал, что данный остеопластический материал является однофазным продуктом с характерным пиком для ОКФ при $4,8^\circ 2\theta$ (рис. 2).

Результаты исследования *in vivo*

Все животные удовлетворительно перенесли оперативное вмешательство; значимых осложнений в послеоперационном периоде не было выявлено; послеоперационные раны заживали первичным натяжением. У животных контрольной группы (первая) через один и три месяца дефект был сохранен. Так, при морфометрическом исследовании расстояние между конусами роста костной ткани составляло более 9 и 7 мм, соответственно (табл. 1).

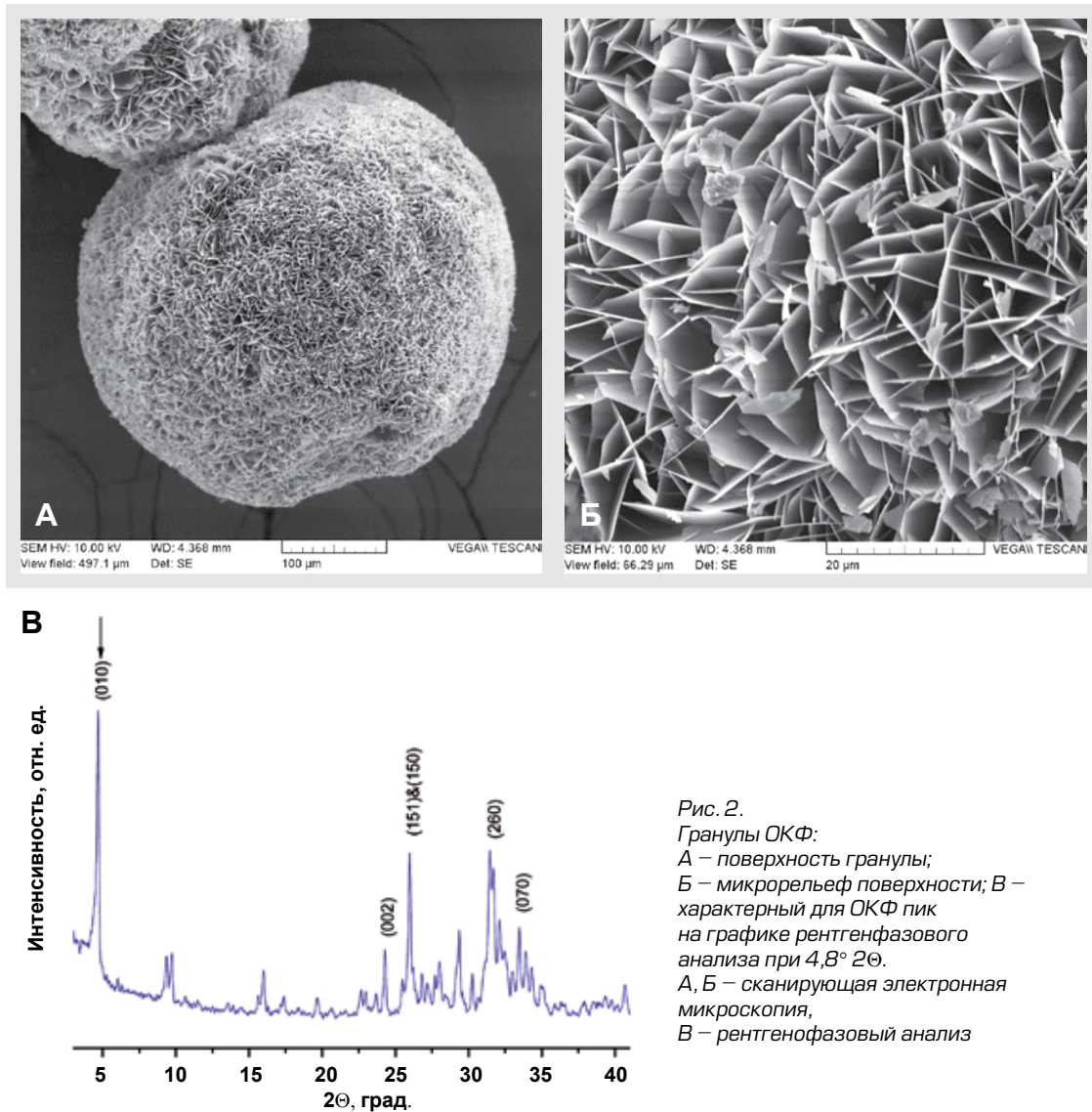


Таблица 1. Средний диаметр костного дефекта (мкм)

Группа	30 сут.	90 сут.
Первая (контроль)	9327±58	7663,5±22
Вторая (ОКФ)	8129±44	4774±128
Третья (ОКФ+АМ)	6225±97,6	3978±34
Четвертая (АМ)	6774±25	4151±72

При этом, не смотря на наличие ретикулофиброзной костной ткани в краях костного дефекта, уже следует констатировать формирование замыкательных пластинок с медиальной стороны. С височной стороны регенерат закономерно несколько более выражен. Объем дефекта на первом сроке заполнен волокнистой соединительной тканью с прослойками организуемой гематомы. Хорошо визуализированы кровеносные сосуды ремоделирующейся «грануляционной ткани». На сроке 90 сут. отмечено формирование плотной волокнистой соединительной ткани с высокой степенью упорядоченности коллагеновых волокон, которые направлены параллельно твердой мозговой оболочке (рис. 3). Таким образом, существенного остеогистогенеза у животных данной группы не произошло, а дефект заполнен к концу наблюдения соединительной тканью.

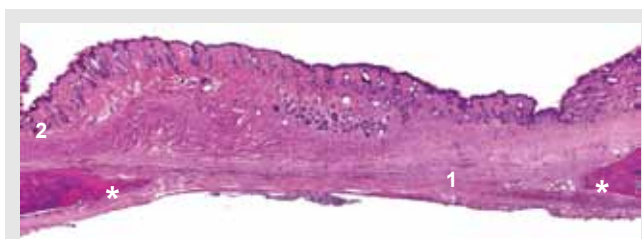


Рис. 3. Гистотопограмма дефекта теменных костей у животного первой группы (контроль), 90 сут.: * – «конус роста» вокруг краев костного дефекта; 1 – плотная волокнистая соединительная ткань в дефекте; 2 – кожа. Окраска: гематоксилин и эозин. Ув. $\times 4$

Вторая группа. Через 30 сут. дефект содержал незначительное количество гранул ОКФ непосредственно под кожей и формирующейся соединительнотканной прослойкой. Следует отметить, что они расположены преимущественно вблизи краев костного дефекта, в то время как в центральных зонах дефекта их количество резко снижается вплоть до полного отсутствия. Гранулы ОКФ окружены клетка-

ми реактивно изменённой соединительной ткани, в некоторых местах регистрируются непосредственно примыкающие к гранулам гигантские многоядерные клетки инородных тел, однако их количество невелико. Выраженных признаков продолжающегося воспаления нет.

Через три месяца картина мало изменилась. Гранулы ОКФ также хаотично разобцены выраженными коллагеновыми перемычками. Их присутствие сказалось на процессе репаративного остеогенеза: средний диаметр дефекта на этом сроке составлял около 5 мм. Важно подчеркнуть, что и средний диаметр гранул, измеренный по расстоянию самых глубоко вдающихся расщелин, не изменился значимо по сравнению с размерами на сроке 30 сут. Таким образом, следует констатировать, что в данной группе, помимо механического смещения стандартной навески гранул ОКФ по подкожному пространству в костной ране, происходило преимущественное развитие соединительной ткани, которая инкапсулировала даже отдельные гранулы; в таком брадитрофном состоянии в данный регион не мигрировали клетки-предшественницы фагоцитов и не дифференцировались в симпласты, способные резорбировать фосфаты кальция.

Животным третьей группы в костный дефект помещали стандартную навеску гранул ОКФ и укрывали АМ. Состояние регенерата у этих животных через 30 сут. от начала эксперимента существенно отличалось от обнаруженного в предыдущих наблюдениях. Через 30 сут. в гистологическом препарате обнаружены как плотно лежащие в дефекте гранулы, так и укрывающая их альгинатная мембрана. АМ плотно прилегает к краям костного дефекта, между ней и гранулами новообразованных тканей нет, либо незначительная прослойка волокнистой соединительной ткани (рис. 5). Структура АМ на данном сроке крупночейстая. Перегородки представлены собственно альгинатом, в который начали мигрировать фибробластоподобные клеточные элементы. В оптически пустых ячейках обнаружены признаки бедного белком экссудата, свободные эритроциты с признаками деструкции, очевидно попавшие в данную

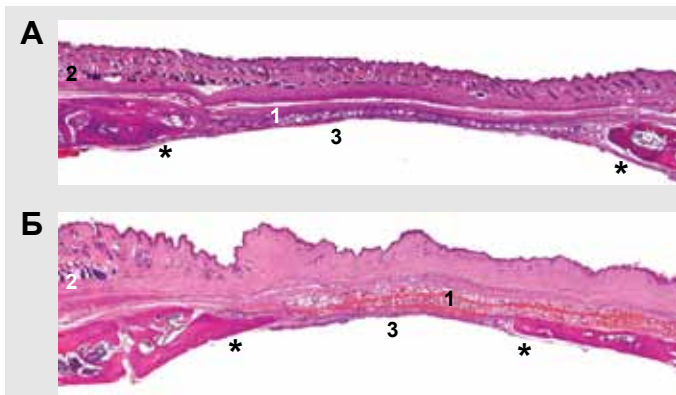
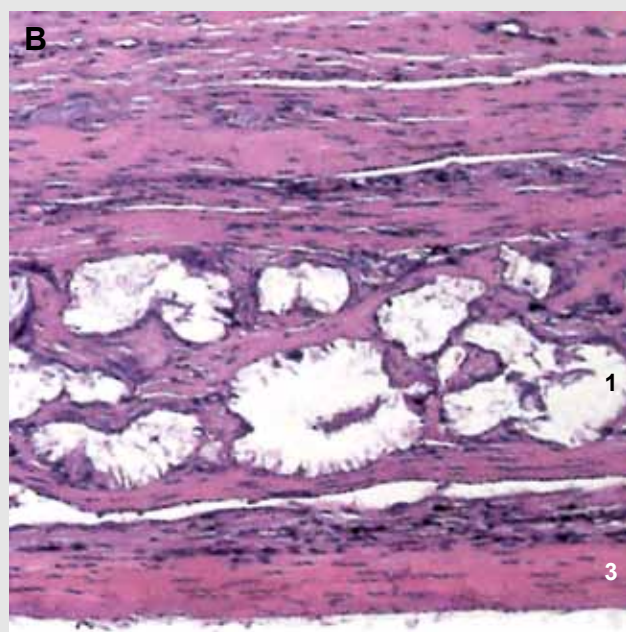


Рис. 4. Гистотопограмма дефекта теменных костей у животных второй группы (ОКФ), А – 30 сут., Б – 90 сут., В – фрагмент Б: * – «конус роста» вокруг краев костного дефекта; 1 – гранулы ОКФ между слоями волокнистой соединительной ткани различной степени уплотненности; 2 – кожа; 3 – твердая мозговая оболочка. Окраска: гематоксилин и эозин. Ув.: А, Б $\times 4$, В $\times 40$



область во время операции. Также для этой зоны регенерата характерно наличие умеренной лимфоцитарной инфильтрации клетками диаметром 7–10 мкм. При этом АМ на всем протяжении сохраняет свою целостность.

Гранулы ОКФ равномерно распределены в костном дефекте. В основном они окружены формирующейся рыхлой волокнистой соединительной тканью с небольшим числом веретеновидных фибробластоподобных клеток. Клеточные элементы равновероятно располагаются как вблизи, так и на удалении от гранул. Несмотря на это, в некоторых участках, преимущественно расположенных в центре дефекта, вокруг гранул детектируется новообразованная костная ткань, которая в ряде полей зрения несет признаки пластинчатого строения. Костная ткань в виде полумесяца охватывает одну или несколько гранул. В некоторых случаях гранула ОКФ может быть полностью замурована в кость. Внутренняя поверхность кости, обращенная к ОКФ своим контуром, повто-

ряет изрезанный рельеф гранулы; между ними нет каких-либо тканевых прослоек, а также визуализированных клеточных элементов (рис. 5).

Через 90 сут. эксперимента АМ была сохранена, полностью перекрывала костный дефект; однако в ней обнаруживали признаки резорбции и расслоения. Следует отметить, что происходило постепенное замещение альгинатных компонентов на плотную волокнистую соединительную ткань. В результате к данному сроку наблюдения АМ представляла собой в значительной степени соединительнотканное ячеистое образование, препятствующее как миграции из области дефекта гранул ОКФ, так и вращению тканей со стороны прилегающего апоневроза и дермы.

В центре дефекта гранулы ОКФ объединены новообразованной вокруг гранул ОКФ костной тканью, в объеме которой превалировала пластинчатая ее разновидность. Важно отметить, что гранула ОКФ при этом оставалась «замурованной» в костном регенерате, предопределяя его ячеистое строение.

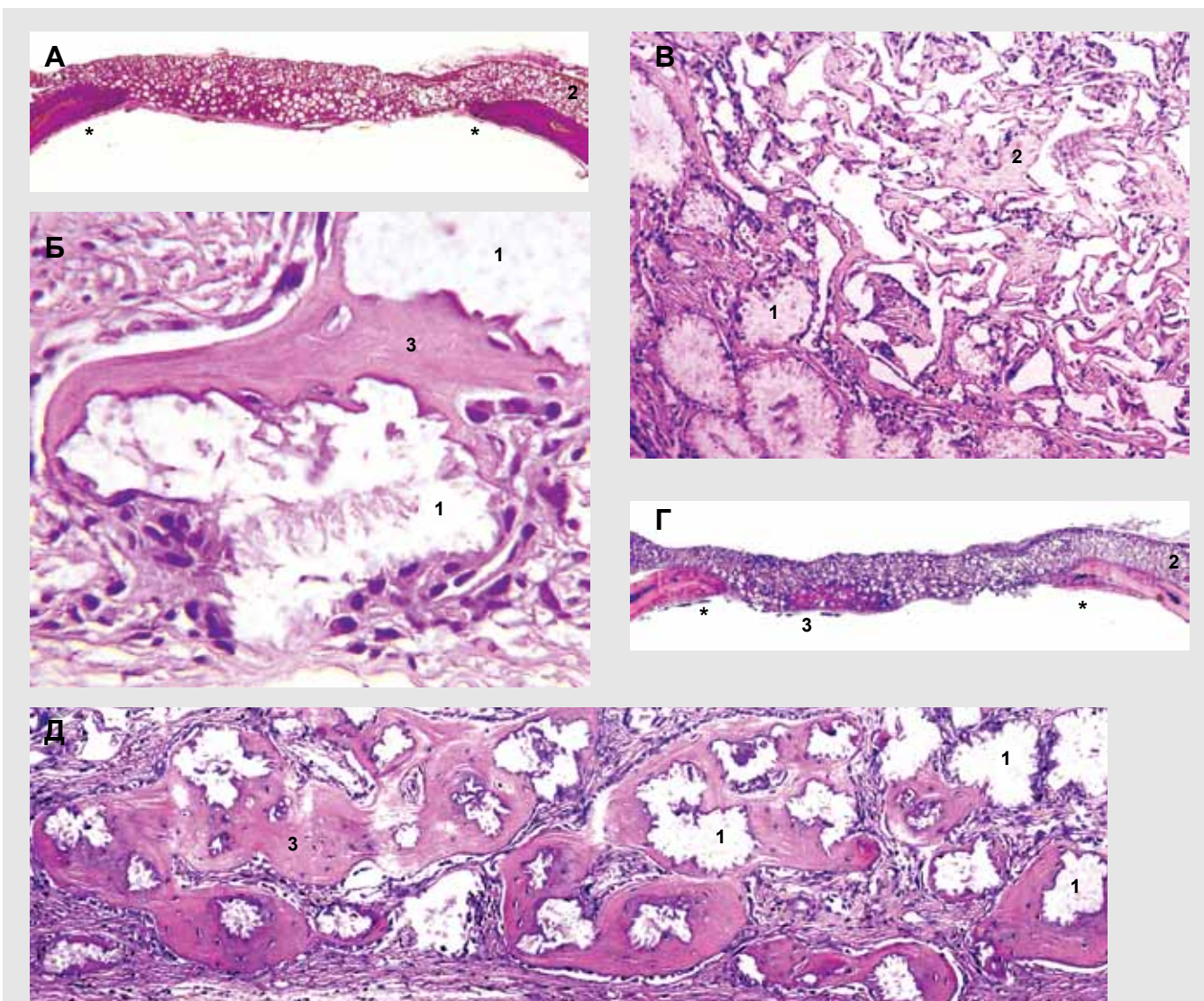


Рис. 5. Дефект теменных костей у животных третьей группы (ОКФ+АМ): А–В – 30 сут., Г, Д – 90 сут. А, Г – гистотопограммы; Б – остеогенез в центральных зонах дефекта, связанный с гранулами ОКФ; В – структура альгинатной мембраны, в перегородки ячеек срослись фибробластоподобные клеточные элементы; Д – участок остеогенеза, связанный с гранулами ОКФ в центральной части дефекта. * «конус роста» вокруг опилов; 1 – гранулы ОКФ между слоями волокнистой соединительной ткани различной степени уплотненности; 2 – АМ; 3 – костная ткань, образовавшаяся вокруг гранул ОКФ. Окраска: гематоксилин и эозин. Ув.: А, Г $\times 4$, Б, В, Д $\times 100$

В целом, на данном сроке практически весь объем костного дефекта заполнен воссозданной костной тканью. При этом признаков патологических процессов — экссудативного или продуктивного воспаления, ангиоматоза, избыточного развития костной ткани — детектировать не удалось.

Четвертая группа: костный дефект содержал только АМ без ОКФ. Процесс репаративного гистогенеза в данном случае протекал интенсивнее, чем в костной ране черепа без какой либо пластики, но несколько уступал показателям, определенным для третьей группы (см. табл. 1).

Состояние АМ в динамике не отличалось от предыдущей группы (рис. 6).

Доля костной ткани в разных участках регенерата в группах различалась (табл. 2). Так, в наиболее показательной с точки зрения оценки остеоиндуктивных свойств материала центральных частях дефекта объемное количество костной ткани было зафиксировано через 90 сут. только у животных третьей группы (ОКФ+АМ). Краевой регенерат, непосредственно связанный с костными опилами и берущий от него начало, так же был наиболее выражен после сочетанного применения ОКФ и АМ. Использование только гранул ОКФ в данной модельной системе не приводило к значимым различиям в доле новообразованной костной ткани по сравнению с контролем и АМ.

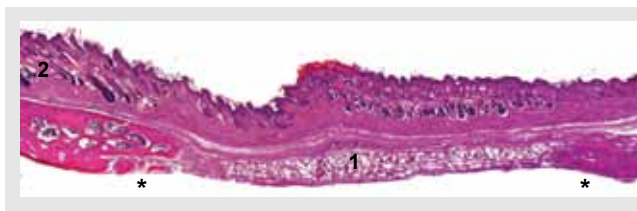


Рис. 6. Гистотопограмма дефекта теменных костей у животного четвертой группы (АМ), 90 сут.: * — «конус роста» вокруг опилов; 1 — АМ в зоне дефекта; 2 — кожа. Окраска: гематоксилин и эозин. Ув.: $\times 4$

Таблица 2. Доля костной ткани (%)

Группа	30 сут.		90 сут.	
	Краевая часть	Центральная часть	Краевая часть	Центральная часть
Первая группа (контроль)	12 \pm 4,8	—	18 \pm 6	—
Вторая группа (ОКФ)	22 \pm 16	—	34 \pm 12	—
Третья группа (ОКФ+АМ)	37 \pm 10*	—	49 \pm 15*	28 \pm 7*
Четвертая группа (АМ)	14 \pm 5,4	—	16 \pm 8	—

* — различия при сравнении с контрольной группой на том же сроке статистически значимы ($p < 0,05$).

Заключение

Таким образом, показано, что использование гранул ОКФ в предложенной форме (микрогранулы с развитой поверхностью) в модели ортотопической имплантации в область дефекта плоских костей черепа не приводит к выраженному воспалению. В сочетании с модулирующей микроокружение в раневой нише АМ приводит к более выраженному заполнению дефекта органотипической тканью, что позволяет предполагать наличие у материала остеоиндукционных потенциалов. Нельзя исключить, что, помимо предотвращения врастания соединительной ткани

в дефект, АМ способствует более стабильному нахождению гранул в нем. Среди свойств, которые могут в дальнейшем ограничить практическое применение АМ следует указать относительно медленную резорбцию, что, по-видимому, связано с высокой концентрацией «сшивающего агента» — хлорида кальция.

Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ 12-03-33074.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Karring T., Isidor F., Nyman S. et al. New attachment formation on teeth with a reduced but healthy periodontal ligament. *J. Clin. Periodontology*. 1985; 12: 51–60.
2. Hardwick R, Scantlebury TV, Sanchez R, Whitley N, Ambruster J. Membrane design criteria for guided bone regeneration of the alveolar ridge. In: Buser D, Dahlin C, Schenk RK, editors. *Guided bone regeneration in implant dentistry*. Chicago: Quintessence; 1994. p. 101–136.
3. Bornstein M.M., Bosshardt D., Buser D. Effect of two different bioabsorbable collagen membranes on guided bone regeneration: a comparative histomorphometric study in the dog mandible. *Journal of Periodontology*. 2007; 78: 1943–53.
4. Jégoux F., Goyenville E., Cognet R. et al. Mandibular segmental defect regenerated with macroporous biphasic calcium phosphate, collagen membrane, and bone marrow graft in dogs. *Archives of otolaryngology--head & neck surgery*. 2010; 136: 971–78.
5. Dahlin C., Sandberg E., Alberius P. et al. Restoration of mandibular nonunion bone defects. An experimental study in rats using

an osteopromotive membrane method. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 1994; 23: 237–42.

6. Linde A., Hedner E. Recombinant bone morphogenetic protein-2 enhances bone healing, guided by osteopromotive e-PTFE membranes: an experimental study in rats. *Calcified tissue international*. 1995; 56: 549–53.

7. Borges G.J., Novaes A.B., Jr., Grisi M.F.d.M. et al. Acellular dermal matrix as a barrier in guided bone regeneration: a clinical, radiographic and histomorphometric study in dogs. *Clinical Oral Implants Research*. 2009; 20:1105–15.

8. Bernabé P.F.E., Melo L.G.N., Cintra L.T.A. et al. Bone healing in critical-size defects treated with either bone graft, membrane, or a combination of both materials: a histological and histometric study in rat tibiae. *Clinical Oral Implants Research*. 2012; 23:384–88.

9. Gerbi M.E.M., Pinheiro A.L.B., Marzola C. et al. Assessment of bone repair associated with the use of organic bovine bone and membrane irradiated at 830 nm. *Photomedicine and laser surgery*. 2005; 23:382–88.

10. Kostopoulos L., Karring T. Guided bone regeneration in mandibular defects in rats using a bioresorbable polymer. *Clinical Oral Implants Research*. 1994; 5:66–74.
11. Farso Nielsen F., Karring T., Gogolewski S. Biodegradable guide for bone regeneration. Polyurethane membranes tested in rabbit radius defects. *Acta orthopaedica Scandinavica*. 1992; 63:66–69.
12. Rhodes N.P., Hunt J.A., Longinotti C. et al. In vivo characterization of Hyalonect, a novel biodegradable surgical mesh. *The Journal of surgical research*. 2011; 168:e31–38.
13. Kazakos K., Lyras D.N., Thomaidis V. et al. Application of PRP gel alone or in combination with guided bone regeneration does not enhance bone healing process: An experimental study in rabbits. *Journal of cranio-maxillo-facial surgery: official publication of the European Association for Cranio-Maxillo-Facial Surgery*. 2011; 39:49–53.
14. Kim J.-H., Kim M.-K., Park J.-H. et al. Performance of novel nanofibrous biopolymer membrane for guided bone regeneration within rat mandibular defect. In vivo (Athens, Greece). 2011; 25:589–95.
15. Cai Y.Z., Wang L.L., Cai H.X. et al. Electrospun nanofibrous matrix improves the regeneration of dense cortical bone. *Journal of biomedical materials research. Part A*. 2010; 95:49–57.
16. Simion M., Scarano A., Gionso L. et al. Guided bone regeneration using resorbable and nonresorbable membranes: a comparative histologic study in humans. *International Journal of Oral and Maxillofacial Implants*. 1996; 11:735–42.
17. Fontana F., Maschera E., Rocchietta I. et al. Clinical classification of complications in guided bone regeneration procedures by means of a nonresorbable membrane. *International Journal of Periodontics and Restorative Dentistry*. 2011; 31:265–73.
18. Lekholm U., Becker W., Dahlin C. et al. The role of early versus late removal of GTAM® membranes on bone formation at oral implants placed into immediate extraction sockets. An experimental study in dogs. *Clinical Oral Implants Research*. 1993; 4: 121–29.
19. Lundgren D., Sennerby L, Falk H. et al. The use of a new bioresorbable barrier for guided bone regeneration in connection with implant installation. Case reports. *Clin. Oral Implants Res*. 1994. 5: 177–184.
20. Zitzmann N.U., Naef R., Schärer P. Resorbable versus nonresorbable membranes in combination with Bio-Oss for guided bone regeneration. *The International journal of oral & maxillofacial implants*. 1997; 12: 348–52.
21. Kuo S.M., Chang S.J., Cheng-Chie Niu G. et al. Guided tissue regeneration with use of β -TCP/chitosan composite membrane. *Journal of Applied Polymer Science*. 2009; 112: 3127–34.
22. Montjovent M.D., Mathieu L., Schmoekel H. et al. Repair of critical size defects in the rat cranium using ceramic-reinforced PLA scaffolds obtained by supercritical gas foaming. *Journal of biomedical materials research. Part A*. 2007; 83: 41–51.
23. Stetzer K., Cooper G., Gassner R. et al. Effects of fixation type and guided tissue regeneration on maxillary osteotomy healing in rabbits. *Journal of oral and maxillofacial surgery: official journal of the American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons*. 2002; 60: 427–36; discussion 436–437.
24. Dimitriou R., Mataliotakis G.I., Calori G.M. et al. The role of barrier membranes for guided bone regeneration and restoration of large bone defects: current experimental and clinical evidence. *BMC medicine*. 2012; 10: 81.
25. Gielkens P.F.M., Schortinghuis J., de Jong J.R. et al. The influence of barrier membranes on autologous bone grafts. *J.Dent.Res*. 2008; 87:1048–1052.
26. Alpar B., Leyhausen G., Gunay H. et al. Compatibility of resorbable and nonresorbable guided tissue regeneration membranes in cultures of primary human periodontal ligament fibroblasts and human osteoblast-like cells. *Clin. Oral Invest*. 2000; 4:219–25.
27. Von Arx T., Broggin N., Jensen S.S. et al. Membrane durability and tissue response of different bioresorbable barrier membranes: a histologic study in the rabbit calvarium. *Int.J.OralMaxillofac.Impl*. 2005; 20:843–853
28. Петрович Ю.А., Гурин А.Н., Гурин Н.А., Киченко С.М. Перспективы применения в стоматологии полифункциональных биополимеров хитозана и альгината. *Росс.стом.журн*. 2008; 2:67–73.
29. Augst A.D., Kong H.J., Mooney D.J. Alginate hydrogels as biomaterials. *Macromolecular bioscience*. 2006; 6:623–33.
30. Andersen Th. Alginates as biomaterials in tissue engineering. *Carbohydr. Chem*. 2012; 37:227–58.
31. Smetana K. Cell biology of hydrogels. *Biomaterials*. 1993; 14:1046–50.
32. Lansdown A.B., Payne M.J. An evaluation of the local reaction and biodegradation of calcium sodium alginate (Kaltostat) following subcutaneous implantation in the rat. *Journal of the Royal College of Surgeons of Edinburgh*. 1994; 39:284–88.
33. Ishikawa K., Ueyama Y., Mano T. et al. Self-setting barrier membrane for guided tissue regeneration method: Initial evaluation of alginate membrane made with sodium alginate and calcium chloride aqueous solutions. *Journal of biomedical materials research*. 1999; 47:111–15.
34. Ueyama Y., Ishikawa K., Mano T. et al. Usefulness as guided bone regeneration membrane of the alginate membrane. *Biomaterials*. 2002; 23:2027–33.
35. Ueyama Y., Koyama T., Ishikawa K. et al. Comparison of ready-made and self-setting alginate membranes used as a barrier membrane for guided bone regeneration. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. 2006; 17:281–88.
36. He H., Huang J., Shi J. et al. Haversian remodeling in guided bone regeneration with calcium alginate film in circular bone defect model of rabbit. *Artificial Cells, Blood Substitutes and Biotechnology*. 2007; 35:533–42.
37. Fedotov A.Yu., Komlev V.S., Teterina A.Yu. et al. Preparation of octacalcium phosphate from calcium carbonate powder. *Inorganic Materials*. 2013; 49(11): 1148–51.
38. Exner H.E. A model stereological nomenclature. *Acta Stereologica*. 1987; 6:179–184.

Поступила