



## Экспериментальные исследования биоактивности композитных материалов, перспективных для использования в травматологии и ортопедии: обзор литературы

В.В. Рерих<sup>1,2</sup>, В.Д. Синявин<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБУ «Новосибирский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им. Я.Л. Цивьяна» Минздрава России, г. Новосибирск, Россия

<sup>2</sup> ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Новосибирск, Россия

### Реферат

**Цель исследования** — определение свойств современных биоактивных композитных материалов, имеющих наибольшее преимущество для использования в травматологии и ортопедии, в том числе в хирургии позвоночника. **Материал и методы.** Выполнен поиск и анализ литературных источников, опубликованных в научной базе PubMed, а также научной электронной библиотеки eLIBRARY и поисковой системе Semantic Scholar. Для поиска использованы ключевые слова: имплантаты, современные биоматериалы, композиты, тканевая инженерия, скаффолды, графен, гидрогели, 3D-биопечать, ортопедия. Нами был произведен поиск научных публикаций за период с 2010 по 2020 г. Оценивались следующие свойства: биотолерантность, биоактивность, остеокондуктивность, остеоиндуктивность, остеостимуляция, механическая прочность. **Результаты.** Созданию композитов уделяется особое внимание. Композиты изготовлены путем объединения двух или более материалов для достижения биохимических и биомеханических свойств. В производстве композитов определенное место занимает технология 3D-биопечати, благодаря которой возможна разработка индивидуального имплантата согласно заданной ситуации. **Заключение.** Сочетание свойств композитных материалов, указывающих на их биоактивность и прочность, а также использование 3D-технологий для формирования геометрических размеров имплантатов из них обеспечивают высокий потенциал для применения в области травматологии и ортопедии, в том числе для использования в хирургии позвоночника.

**Ключевые слова:** имплантаты, современные биоматериалы, композиты, тканевая инженерия, скаффолды, графен, гидрогели, 3D-биопечать, пластика позвонка, межпозвонковый диск.

**Источник финансирования:** работа выполнена без спонсорской поддержки.

Рерих В.В., Синявин В.Д. Экспериментальные исследования биоактивности композитных материалов, перспективных для использования в травматологии и ортопедии: обзор литературы. *Травматология и ортопедия России*. 2021;27(1):97-105. <https://doi.org/10.21823/2311-2905-2021-27-1-97-105>.

**Cite as:** Rerikh V.V., Sinyavin V.D. [Bioactivity Experimental Studies of Composite Materials Promising for Use in Traumatology and Orthopedics: Review]. *Travmatologiya i ortopediya Rossii* [Traumatology and Orthopedics of Russia]. 2021;27(1):97-105. (In Russian). <https://doi.org/10.21823/2311-2905-2021-27-1-97-105>.

✉ Рерих Виктор Викторович / Victor V. Rerikh; e-mail: [rvv\\_nsk@ngs.ru](mailto:rvv_nsk@ngs.ru)

Рукопись поступила/Received: 22.11.2020. Принята в печать/Accepted for publication: 15.03.2021.



## Bioactivity Experimental Studies of Composite Materials Promising for Use in Traumatology and Orthopedics: Review

Victor V. Rerikh<sup>1,2</sup>, Vladimir D. Sinyavin<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Tsivyan Novosibirsk Research Institute of Traumatology and Orthopaedics, Novosibirsk, Russia

<sup>2</sup> Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk Russia

### Abstract

**The aim of the study** — to determine the properties of modern bioactive composite materials that have the greatest advantage for use in traumatology and orthopedics, particularly in spine surgery. **Material and Methods.** We performed a comprehensive literature search using PubMed, Medline, eLIBRARY and Semantic Scholar. The keywords “implants”, “biomaterials”, “composites”, “tissue engineering”, “scaffolds”, “graphene”, “hydrogels”, “3D bioprinting” were used to identify papers examining the topic of interest. We included comparative studies published from 2010 to 2020 in our review. The following properties were evaluated in papers: biotolerance, bioactivity, osteoconductivity, osteoinductivity, osteostimulation, mechanical strength. **Results.** Special attention is paid to the creation of composites. Composites are made by combining two or more materials to achieve biochemical and biomechanical properties. In composites production, a certain place is occupied by the technology of 3D bioprinting, thanks to which it is possible to develop an individual implant according to a given situation. **Conclusion.** The combination of composite materials properties indicating on their bioactivity and mechanical strength, as well as the use of 3D techniques to design the geometric forms of implants, provide a high potential for use in traumatology and orthopedics, particularly in spinal surgery.

**Keywords:** implants, biomaterials, composites, tissue engineering, scaffolds, graphene, hydrogels, 3D bioprinting, spinal surgery.

**Funding:** no funding or sponsorship was received for this study.

### Введение

Одной из актуальных проблем современной травматологии и ортопедии остается вопрос восстановления и замещения патологически измененной костной ткани [1, 2, 3]. В течение более полувека золотым стандартом является замещение дефекта аутокостью, однако малый объем трансплантата, повреждение донорского участка, различие в структуре и биомеханике частей скелета ограничивают применение этого метода [1, 2, 3, 4, 5]. В этой связи появились новые направления разработки материалов, которые бы не только позволяли восполнить костный дефект, но и способствовали стимуляции процессов остеогенеза, обладали механической прочностью и минимальной токсичностью.

**Цель исследования** — определение свойств современных биоактивных композитных материалов, имеющих наибольшее преимущество для использования в травматологии и ортопедии, в том числе в хирургии позвоночника.

### Материал и методы

Поиск литературы проводился в базе PubMed, научной электронной библиотеке eLIBRARY и поисковой системе Semantic Scholar. Для проведе-

ния анализа и оценки литературных данных были определены критерии включения и исключения источников в исследование.

Для первого этапа поиска использованы ключевые слова: имплантаты, биоматериалы, композиты, тканевая инженерия, скаффолды, графен, гидрогели, 3D-биопечать. Нами был произведен поиск научных публикаций за период с 2010 по 2020 г. Всего было выявлено 348 источников.

На следующем этапе были отобраны полнотекстовые источники, в которых оценивались такие характеристики материалов, как биотолерантность, биоактивность, остеоиндуктивность, остеокондуктивность, остеостимуляция, механическая прочность исследуемых имплантатов. По итогам данного этапа отобраны 84 публикации.

На третьем этапе отбора введен следующий критерий — экспериментальные методы оценки выбранных характеристик путем проведения опытов *in vivo* (на лабораторных животных) и *in vitro*. По результатам анализа по данному критерию отобрана 51 работа.

На завершающем этапе исследования осталось 38 публикаций, в которых описанные биоматериалы обладали достаточными прочностными характеристиками, а также могли бы стимулировать

регенерацию костной ткани, что принципиально важно для их использования в травматологии и ортопедии, в том числе в хирургии позвоночника.

Критерии исключения: тезисы докладов; исследования, имеющие признаки вторичности и дублирования (схожие протокол исследования и др.); исследования, не подкрепленные экспериментальной составляющей (без проведенных опытов *in vivo* и *in vitro*).

### Результаты

Синтетические биоматериалы отчасти обладают свойствами аутологичной кости, например, механической прочностью, однако прочие характеристики (остеоиндуктивность, остеокондуктивность, остеостимуляция) выражены в меньшей степени [6, 7]. Поэтому современная биоинженерия направлена на изготовление имплантатов в комбинации с биоактивными веществами и/или стволовыми клетками. Получившиеся в результате материалы по своим биохимическим и биомеханическим качествам приближены к костной ткани [6, 7]. Основные свойства отдельных материалов, используемых для изготовления композитов, описанных в литературных источниках и отраженных в данной работе, приведены в таблице 1.

Данные таблицы показывают, что создание композитов направлено на улучшение свойств материалов, а также на их применение для восполнения утраченных объемов костной ткани.

*Композитный материал* — многокомпонентный материал, изготовленный из двух или более компонентов с существенно различными физическими и/или химическими свойствами, которые в сочетании приводят к появлению нового материала с характеристиками, отличными от характеристик отдельных компонентов.

Именно на изготовлении композитов заострен интерес современных исследователей для созда-

ния «идеального» имплантата, обеспечивающего одновременно биоразлагаемость и стимулированное восстановление костной ткани.

### Композиты на основе полимеров

*Полимеры* — вещества, состоящие из мономерных звеньев, соединенных в длинные макромолекулы химическими или координационными связями. Разработка полимерных композитов направлена не только на устранение этих недостатков, но и приобретение новых преимуществ или улучшение существующих.

Так, например, создание пьезоэлектрических полимерных биокompозитов привлекательно ввиду возможности электрически стимулировать клеточный ответ. В исследовании R. Chernozem с соавторами представлены новые минеральные  $\text{CaCO}_3$  пьезоэлектрические биоразлагаемые каркасы на основе двух полимеров: 3-гидроксипропанат — (PHV) и 3-гидроксипропанат-со-3-гидроксипропанат (PHBV) [8]. На поверхности каркаса осуществлялся синтез  $\text{CaCO}_3$  *in situ*. Сравнительная характеристика показала, что значительно более высокий (в 4,3 раза) пьезоэлектрический заряд и более высокая пористость (~15%) приводят к более однородному росту  $\text{CaCO}_3$  в трехмерных структурах для каркасов PHV по сравнению с таковым для PHBV. Подобная модификация привела к выраженному апатит-образующему поведению каркасов в моделируемой жидкости организма. В свою очередь, это привело к образованию плотного монослоя хорошо распределенных и пролиферируемых клеток остеообластов вдоль волокон. Поверхности полимеров, минерализованные  $\text{CaCO}_3$ , имели более высокую адгезию и пролиферацию клеток остеообластов, тем самым обуславливая свои остеоиндуктивные свойства. Важно отметить, что исследование жизнеспособности клеток подтвердило биосовместимость всех каркасов.

Таблица 1

Характеристика материалов, используемых для создания композитов

Свойства	Материал				
	Синтетические полимеры	Хитозан	Гидрогели	Металлы	Графен
Остеокондуктивность	-	+	+	-	-
Биоактивность	+	+	+	-	+
Атоксичность	+	+/-	+	+	+
Биодеградация	-/+	+	-	-	-
Остеоиндуктивность	-	-	-	-	+
Прочность	+	+	-	+	+

Особо важной характеристикой имплантатов является гидрофильность. В работе А. Zviagin с соавторами описано изготовление биоразлагаемых каркасов на основе поликапролактона (PCL), поли-3-гидроксibuтирата (PHB) и полианилина с кальций-фосфатным покрытием [9]. Подобное покрытие обеспечивает гидрофильность, что, в свою очередь, при контакте с костной тканью предупреждает инкапсуляцию имплантата и улучшает контакт на границе кость-материал.

Отдельное внимание уделяется биокомпозитам, на основе которых создаются так называемые скаффолды. Скаффолды представляют собой трехмерные пористые или волокнистые матрицы, основная функция которых состоит в обеспечении механического каркаса для клеток и выполняют функции, аналогичные функциям внеклеточного матрикса [10, 11, 12, 13].

Требования к скаффолдам следующие: пролиферация клеток за счет адгезивной поверхности; биосовместимость; нетоксичность; биодegradация, скорость которой соответствовала бы росту собственной ткани; оптимальный размер пор для пространственного распределения клеток [11, 12].

Выделяют три основные группы материалов, применяемых при изготовлении скаффолдов: природные полимеры, синтетические полимеры и керамика [12]. Анализ свойств природных полимеров показывает, что одним из объединяющих их недостатков является малая механическая прочность. Если принимать во внимание, что опорная функция — это главная функция скаффолдов, то данный недостаток представляет существенную проблему при регенерации костных тканей. Альтернативой натуральным материалам служат синтетические полимеры. Благодаря большому количеству методов синтеза и обработки материалов можно легко получить как необходимую форму, так и широкий спектр физико-химических свойств матриц [12, 13, 14]. Однако стоит отметить, что при синтезе скаффолдов очень редко используется какой-либо один компонент. Чаще всего для оптимизации параметров и получения необходимых характеристик матриц при изготовлении используют комбинацию нескольких материалов, имеющих разные свойства. Например, стабильность полимеров, обладающих недостаточной механической прочностью, может быть усилена путем добавления прочных полимеров [12, 13]. Аналогичным образом к материалам, которые имеют слабые остеоиндуктивные и остеокондуктивные свойства, могут быть добавлены более биоактивные полимеры [15, 16].

К ключевому этапу относится предварительное размещение стволовых клеток на скаффолды перед имплантацией матриц к месту дефекта [17].

К таковым относятся мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки костного мозга, основные функции которых — не только пролиферация и дифференцировка, но и секреция широкого спектра биоактивных веществ, усиливающих тканевую регенерацию [13, 14, 15]. За счет своего иммунофенотипического, морфологического сходства альтернативным вариантом могут выступать стромальные клетки жировой ткани, которые, по некоторым данным, имеют более высокий остеогенный потенциал [15, 16, 17, 18]. Для усиления или поддержания направленного остеогенного эффекта нередко используются индукторы остеогенеза, в частности костный морфогенетический белок (BMP) [18]. Помимо этого, биоактивные вещества при дополнении в скаффолд определяют ряд задач, таких как локализованная доставка ростовых факторов, сохранение биологической активности молекул и контролируемое их высвобождение [17].

В целом технологии объединения скаффолдов и клеточных компонентов направлены на привлечение собственных стволовых клеток, запуск остеогенеза и васкуляризацию имплантата [17, 18]. В перспективе подобная технология может быть использована в изготовлении так называемых кейджей, которые имплантируются при проведении межтелового спондилодеза.

В работах G. Turnbull с соавторами [19] и Y. Moukbil с соавторами [20], посвященных 3D-биопечати, отмечено, что не каждый материал способен воспроизвести определенную форму при использовании в отдельности. Большинство композитных биоматериалов решает и эту проблему. Несомненно, отличительной чертой данной технологии является изготовление точной микроархитектуры конструкций, разработка индивидуального имплантата согласно заданной ситуации.

Далее представлены полимерные 3D-композиты на основе хитозана, поликапролактона, полимолочной и полигликолевой кислот.

### *Хитозан*

Хитозан — это полисахарид, который содержится в панцире ракообразных. Как универсальный искусственный полимер, полученный модификацией хитина, он обладает биосовместимостью и биодegradируемостью в дополнение к антибактериальным и биоадгезивным свойствам. Хитозан был объединен с рядом материалов [21]. Так, хитозановые скаффолды на основе микрочастиц были получены несколькими группами исследователей. T. Jiang с соавторами получили композит с использованием молочной и полигликолевой кислот с дополнительно нанесенными на поверхность каркаса молекулами гепарина. Механические испытания показали, что гепаринизация каркасов не приводит к изменению механических свойств или

пористости. Повысилась активность остеобластов на поверхности скаффолда. Кроме того, присутствие хитозана регулирует экспрессию генов остеопонтина и костного сиалопротеина. Авторы выявили, что остеобласты прикрепляются вокруг имплантата, после чего начинается их пролиферация, достигающая своего апогея на 14-й день, а полное покрытие скаффолда клетками происходит за 21 день. В рамках данной работы также были исследованы композитные хитозановые каркасы на основе нановолокон, включающие такие материалы, как кремний и наногидроксиапатит (ННА), которые продемонстрировали свою прочность [22]. Н. Wu с соавторами [23] и Ch.-Z. Wang с соавторами [24] разработали композит из поли-L-молочной кислоты (PLA) и наногидроксиапатита (ННА) с добавлением комплекса хитозан-алендроната (CS-ALs). Аллендроновая (AL) кислота обладает такими свойствами, как остеоиндукция и ингибирование резорбции костной ткани. Полученный композит имел однородную пористую структуру, исследован в опытах *in vivo* путем имплантации в модель костного дефекта кролика. Костные дефекты репонировались с появлением новых костных образований, наблюдавшихся в течение 4–8 нед. имплантации. Процесс остеогенеза был значительно выше в группе хитозан-алендронат, высвобождение аллендроната продолжалось в течение 30 дней после формирования костной ткани. Таким образом, исследование показало перспективность применения данного биоматериала как для доставки лекарственных препаратов, так и для инженерии костной ткани.

Е.М. Goncalves с соавторами создали легированные кремнием кристаллы гидроксиапатита (НА), поликапролактона (PCL) и углеродные нанотрубки в 3D-печатных композитных каркасах. Получившийся композит превосходно держит полученную форму и отличается опорной прочностью по сравнению с обычным поликапролактоном в опытах *in vitro* [25]. А.Е. Jakus с соавторами использовали органические растворители для создания 3D-композитного биоматериала НА-PCL и НА-PLGA (полигликолевая кислота), описанного как гиперэластичная кость [26]. Для изучения биосовместимости *in vivo* мышам подкожно имплантировали композиты НА-PLGA. Через 7 дней нативная ткань интегрировалась в имплантат, причем при гистологическом анализе наблюдалась васкуляризация. Кроме того, способность гиперэластичной кости индуцировать регенерацию костной ткани была оценена *in vivo* на модели спондилодеза крыс. В эксперименте участвовали скаффолды НА-PLGA и НА-PLGA с имплантацией рекомбинантного человеческого костного морфогенетического белка 2 (rhBMP-2). Для сравнения был использован скаффолд деминерализо-

ванного костного матрикса (DBM). В течение 8 нед. *in vivo* показатели остеогенеза скаффолда НА-PLGA были аналогичны скаффолду DBM. Эти результаты свидетельствуют о том, что без каких-либо дополнительных факторов роста данный скаффолд обладает собственными остеоиндуктивными свойствами. Также было определено, что скаффолды НА-PLGA с rhBMP-2 быстрее стимулируют остеогенез. Скаффолды НА-PLGA были также имплантированы в дефекты костей голени приматов для оценки эффективности при более крупных дефектах кортикальной кости. Через 4 нед. *in vivo* имплантаты были удалены из дефектов голени и исследованы. Выявлены признаки выраженной васкуляризации и продвижения минерализованной ткани в имплантаты из кортикальной кости. Было также замечено, что участки, не находящиеся в непосредственном контакте с нативной костью, развивают собственную минерализованную ткань, что предполагает регуляцию экспрессии остеогенных клеток без добавления каких-либо факторов роста, что указывает на остеоиндуктивный потенциал имплантата [26].

В ряде исследований были изучены биоматериалы, которые способны заменять не костную, а хрящевую ткань [27, 28, 29], в частности гидрогели. Гидрогели представляют собой гели, построенные из ячеек гидрофильных полимерных цепей. Их природа позволяет поглощать большое количество воды в трехмерную сеть, которая идеально подходит для поддержания роста клеток [27]. Работа К. Markstedt с соавторами посвящена созданию наноцеллюлозного (NFC) биокомпозита, содержащего человеческие хондроциты, жизнеспособность которых составила 95% после 3D-печати в опытах *in vitro* [29]. Однако механической целостности гидрогелей недостаточно для того, чтобы позволить перейти к анализу *in vivo*. Поэтому были предприняты попытки создать композитные материалы, способные интегрировать прочность в гидрогели. Так, Y.R. Lou с соавторами разработали биокомпозиты для имплантации в пораженный хрящ, содержащие либо наноцеллюлозу с альгинатом натрия (NFC/A), либо наноцеллюлозу с гиалуроновой кислотой (NFC/HLA) [30]. Наноцеллюлоза выбрана с целью имитации основной массы коллагена в матриксе хряща, альгинат добавлен вместо природных протеогликанов, а гиалуроновая кислота включена в качестве основного компонента в нативном хряще. Полученные индуцированные плюрипотентные стволовые клетки (ИПСК) и человеческие хондроциты затем инкапсулировались в биокомпозит. С использованием 3D-биопринтера напечатаны сетчатые конструкции. В случае NFC/HLA в ИПСК наблюдались низкая пролиферация и фенотипические изменения в сторону плюрипотентности. А в варианте

конструкции NFC/A гиалиноподобная хрящевая ткань с экспрессией коллагена II типа наблюдалась через 5 нед. Микроскопически выявлено увеличение количества клеток в хрящевой ткани. Таким образом, композит NFC/A оказался пригодным для биопечати, а также для поддержки производства хряща в совместной культуре с хондроцитами.

Авторы этой статьи не исключают перспективу использования подобного материала в вертебрологии, в частности создания имплантатов межпозвонковых дисков.

### Композиты на основе металлов

Не стоит путать между собой понятия металл-композит и сплав. Сплав представляет собой однородный металлический материал, состоящий из смеси двух или больше химических элементов с преобладанием металлических компонентов. Учитывая приведенное выше определение композитов, металл-композиты создаются на основе какого-то одного металла или сплавов с добавлением других веществ иной природы (полимер, керамика и т.д.). Композиты на основе металлов, созданные путем нанесения покрытия фосфата кальция и гидроксиапатита, прошедшие экспериментальные исследования, на данный момент являются наиболее изученными [31], что, несомненно, является обоснованием для их использования в клинической практике. Следует выделить исследование Е.А. Chudinova с соавторами, в котором описаны биокомпозиты на основе трехмерных пористых аддитивно изготовленных каркасов Ti6Al4V, модифицированных специальными биосовместимыми наночастицами фосфата кальция (CaP), нанесенными методом электрофореза. Культивирование мезенхимальных стволовых клеток человека на покрытых каркасах показало, что улучшенная гидрофильность благоприятна для прикрепления и роста клеток *in vitro*. Ионы кальция и фосфора в зоне «кость – имплантат», а также среда, подготовленная мезенхимальными клетками, отличаются повышенным формированием кристаллов гидроксиапатита по сравнению с каркасами без покрытия, тем самым демонстрируя свои остеокондуктивные, остеостимулирующие свойства [32].

Создание металлических имплантатов с приданием им новых свойств, таких как биорезорбируемость и остеокондуктивность, отражены в работе Н. Yang с соавторами. Исследование посвящено разработкам легирующей конструкции из биоразлагаемого цинка. Проводилось сравнение биоразлагаемых полимеров и металлов. В данной работе описываются материалы из сплава цинка с легирующими элементами магния, кальция, лития, которые подвергались скринингу в исследованиях *in vitro*. Авторы выявили, что легирование лития

вместе с магнием и цинком приводит к ускоренной деградации, не теряя механической прочности материала. В опытах *in vivo*, проведенных путем установки стержней в диафиз костей грызунов, выявлено, что спустя 8 нед. объем чистого цинкового имплантата снизился до  $95,12 \pm 1,39\%$ , а его скорость разложения составила  $0,14 \pm 0,05$  мм в год. В противоположность этому сплав цинк-литий продемонстрировал значительное более высокую скорость деградации —  $0,26 \pm 0,03$  мм в год без потери механической прочности. Также выявлено, что добавление элементов магния и кальция в данное соединение усиливает цитосовместимость, остеогенез без отсутствия формирования фиброзной капсулы, что свидетельствует о высоких остеointegrативных способностях. В этом же опыте при проведении микроскопического исследования зон костной резорбции на границе кость-имплантат не обнаружено. Остеоциты в новой костной ткани расположены более организованно, что указывает на их зрелый статус с формированием органоспецифичной костной ткани. Таким образом, исследователям удалось создать деградируемый, биотолерантный и биосовместимый материал, близкий по прочности к титану [33].

В последнее десятилетие в мировой литературе описаны принципиально новые вещества, обладающие уникальными свойствами — одним из таких материалов является графен.

### Графен

Графен — это двумерный материал, аллотропная модификация углерода. В случае графена атомы углерода выстроены в шестигранную структуру и формируют слой толщиной в один атом. Графен имеет впечатляющие механические свойства: он гибкий, тонкий и легкий [34, 35]. Графен придает имплантатам высокий уровень биосовместимости по многим причинам. Графен может существовать в биологической среде, не вызывая на границе ткань-имплантат эффекта металлоза [34]. Плотная кольцевая структура графена предотвращает соприкосновение любых внешних молекул с имплантатом. Слой молекул углерода толщиной в один атом действует как твердая мембрана в жидкой среде человеческого тела, что повышает механическую функциональность имплантата [35] и снижает риск инфицирования [36]. Графен способствует регенерации костных клеток, является отличным носителем клеточных структур, что продемонстрировано в работе Т.Е. Karov с соавторами [37]. Было проведено систематическое исследование, в котором изучалась оптимальная стратегия технологий включения факторов роста (морфогенетического белка-2 (BMP-2) и эритропоэтина) на поверхности полимерных каркасов

с покрытием оксида графена. Легкость графена и его тонкость позволяют имплантату имитировать вес кости, так как он практически не добавляет веса имплантату [35]. Покрытие графеном способно изменять имеющиеся свойства материалов или придавать им новые, что показано в исследовании, проведенном С. Zhao с соавторами [38]. Исследователями оценивалось потенциальное применение покрытия графена в опытах *in vitro*, включающих морфологию предостеопластической клеточной линии (МС3Т3-Е1), цитотоксичность, пролиферацию, дифференцировку и апоптоз. Графен-покрытые субстраты показали превосходную биосовместимость с клетками МС3Т3-Е1. Выявлено, что дифференцировка клеток МС3Т3-Е1 была усилена покрытыми субстратами, что указывает на то, что оксид графена способен поддерживать остеогенез. Это исследование доказывает биосовместимость графена и способность к остеостимуляции.

### Заключение

Сочетание свойств композитных материалов, указывающих на их биоактивность и прочность, а также использование 3D-технологий для формирования геометрических размеров имплантатов из них обеспечивает им высокий потенциал для применения в области травматологии и ортопедии, в том числе для использования в хирургии позвоночника.

### Литература [References]

1. Рерих В.В., Предеин Ю.А., Зайдман А.М., Ластевский А.Д., Батаев В.А., Никулина А.А. Экспериментальное обоснование применения остеотрансплантата при травматических дефектах позвонка. *Хирургия позвоночника*. 2018;15(4):41-51. doi: 10.14531/2018.4.41-51. Rerikh V.V., Predein Yu.A., Zaidman A.M., Lastevsky A.D., Bataev V.A., Nikulina A.A. [Experimental substantiation of osteotransplant application in traumatic vertebral defects]. *Hirurgia pozvonochnika* [Spine surgery]. 2018;15(4):41-51. doi: 10.14531/2018.4.41-51. (In Russian).
2. Asghari F., Samiei M., Adibkia K., Akbarzadeh A., Davaran S. Biodegradable and biocompatible polymers for tissue engineering application: a review. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*. 2017;45:185-192. doi: 10.3109/21691401.2016.1146731.
3. Bastami F., Nazeman P., Moslemi H., Rezai Rad M., Sharifi K., Khojasteh A. Induced pluripotent stem cells as a new getaway for bone tissue engineering: a systematic review. *Cell Prolif*. 2017;50(2):e12321. doi: 10.1111/cpr.12321.
4. Anastasiadis K., Koulaouzidou E., Palaghias G., Eliades G. Bonding of Composite to Base Materials: Effects of Adhesive Treatments on Base Surface Properties and Bond Strength. *J Adhes Dent*. 2018;20(2):151-164. doi: 10.3290/j.jad.a40302.
5. Кирилова И.А. Анатомо-функциональные свойства кости как основа создания костно-пластических материалов для травматологии и ортопедии. Москва: ФИЗМАТЛИТ; 2019. 256 с.
6. Kirilova I.A. [Anatomical and functional properties of bone as the basis for creating bone-plastic materials for traumatology and orthopedics]. Moscow: FIZMATLIT; 2019. 256 p. (In Russian).
6. Yu W., Li R., Chen P., Hou A., Li R., Sun X. et al. Use of a three-dimensional printed polylactide-coglycolide/tricalcium phosphate composite scaffold incorporating magnesium powder to enhance bone defect repair in rabbits. *J Orthop Translat*. 2018;16:62-70. doi: 10.1016/j.jot.2018.07.007.
7. Кузнецова Д.С., Тимашев П.С., Баграташвили В.Н., Загайнова Е.В. Костные имплантаты на основе скаффолдов и клеточных систем в тканевой инженерии (обзор). *Современные технологии в медицине*. 2014; 6(4):201-212. Kuznetsova D.S., Timashev P.S., Bagratashvili V.N., Zagaynova E.V. [Scaffold- and Cell system-based bone grafts in tissue engineering (Review)]. *Sovremennye tekhnologii v medicine* [Modern Technologies in Medicine]. 2014; 6(4):201-212. (In Russian).
8. Chernozem R.V., Surmeneva M.A., Shkarina S.N., Loza K., Eppe M., Ulbricht M. et al. Piezoelectric 3-D Fibrous Poly (3-hydroxybutyrate)-Based Scaffolds Ultrasound-Mineralized with Calcium Carbonate for Bone Tissue Engineering: Inorganic Phase Formation, Osteoblast Cell Adhesion, and Proliferation. *ACS Appl Mater Interfaces*. 2019;11(21):19522-19533. doi: 10.1021/acsami.9b04936.
9. Zviagin A., Chernozem R.V., Surmeneva M.A., Loza K., Prymak O., Ulbricht M. et al. Influence of Calcium-Phosphate Coating on Wet ability of Hybrid Piezoelectric Scaffolds. *IOP Conf. Ser.: Mater. Sci. Eng*. 2019;597(1): 12-61. doi: 10.1088/1757-899X/597/1/012061.
10. Gleeson J., O'Brien F. Composite scaffolds for orthopedic regenerative medicine. In: *Advances in Composite Materials for Medicine and Nanotechnology*. In Tech Open Access; 2011. p. 33-59.
11. Bhumiratana S., Vunjak-Novakovic G. Concise review: personalized human bone grafts for reconstructing head and face. *Stem Cells Trans Med*. 2012;1(1):64-69. doi: 10.5966/sctm.2011-0020.
12. Grayson W.L., Frohlich M., Yeager K., Bhumiratana S., Chan M.E., Cannizzaro C. et al. Engineering anatomically shaped human bone grafts. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2010;107(8):3299-3304. doi: 10.1073/pnas.0905439106.
13. Stella J.A., D'Amore A., Wagner W.R., Sacks M.S. On the biomechanical function of scaffolds for engineering load bearing soft tissues. *Acta Biomater*. 2010;6(7):2365-2381, doi: 10.1016/j.actbio.2010.01.001.
14. Amoabediny Gh., Salehi-Nik N., Heli B. The role of biodegradable engineered scaffold in tissue engineering. In: *Biomaterials Science and Engineering*. 2011. p. 153-172.
15. Garg T., Singh O., Arora S., Murthy R. Scaffold: a novel carrier for cell and drug delivery. *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst*. 2012;29(1):1-63. doi: 10.1615/critrevtherdrugcarriersyst.v29.i1.10.
16. Carfi Pavia F.C., Rigogliuso S., La Carrubba V., Mannella G.A., Ghersi G., Brucato V. Poly lactic acid based scaffolds for vascular tissue engineering. *Chem Eng Transactions*. 2012;27:409-414.
17. Gloria A., Causa F., Russo T., Battista E., Della Moglie R., Zeppetelli S. et al. Three-dimensional poly( $\epsilon$ -caprolactone) bioactive scaffolds with controlled structural and surface properties. *Biomacromolecules*. 2012;13(11):3510-3521. doi: 10.1021/bm300818y.

18. Mei N., Chen G., Zhou P., Chen X., Shao Z.Z., Pan L.F., Wu C.G. Biocompatibility of Poly(epsilon-caprolactone) scaffold modified by chitosan – the fibroblasts proliferation in vitro. *J Biomater Appl.* 2005;(62):992-997. doi: 10.1177/0885328205048630.
19. Turnbull G., Clarke J., Picard F., Riches P.E., Jia L., Han F. 3D bioactive composite scaffolds for bone tissue engineering. *Bioact Mater.* 2017;3(3):278-313. doi: 10.1016/j.bioactmat.2017.10.001.
20. Moukbil Y., Isindag B., Ozbek B., Gayir V.E. 3D printed bioactive composite scaffolds for bone tissue engineering. *Bioprinting.* 2020;(17):64. doi: 10.1016/j.bprint.2019.e00064.
21. Lee J.H., Jeong B.O. The effect of hyaluronate-carboxymethyl cellulose on bone graft substitute healing in a rat spinal fusion model. *J Korean Neurosurg Soc.* 2011;50(5):409-414. doi: 10.3340/jkns.2011.50.5.409.
22. Jiang T., Khan Y., Nair L.S., Abdel-Fattah W.S., Laurencin C.T. Functionalization of chitosan/poly (lactic acid-glycolic acid) sintered microsphere scaffolds via surface heparinization for bone tissue engineering. *J Biomed Mater Res A.* 2010;93(3):1193-1208. doi: 10.1002/jbm.a.32615.
23. Wu H., Lei P., Liu G., Zhang Yu Sh., Yang J., Zhang L. et al. Reconstruction of large-scale defects with a novel hybrid scaffold made from poly(L-lactic acid)/Nanohydroxyapatite/Alendronate-loaded chitosan microsphere: in vitro and in vivo studies. *Sci Rep.* 2017;7(1):359. doi: 10.1038/s41598-017-00506-z.
24. Wang Ch.-Z., Chen S.-M., Chen Ch.-H., Wang Ch.-K., Wang Gh.-J., Chang J.-K. The effect of the local delivery of alendronate on human adipose-derived stem cell-based bone regeneration. *Biomaterials.* 2010;31(33):8674-8683. doi: 10.1016/j.biomaterials.2010.07.096.
25. Goncalves E.M., Oliveira F.J., Silva R.F., Neto M.A., Fernandes M.H., Amaral M. et al. Three-dimensional printed PCL-hydroxyapatite scaffolds filled with CNTs for bone cell growth stimulation. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2016;104(6):1210-1219. doi: 10.1002/jbm.b.33432.
26. Jakus A.E., Rutz A., Jordan S.W., Kannan A., Mitchell S.M., Yun Ch. et al. Hyperelastic “bone”: a highly versatile, growth factor-free, osteoregenerative, scalable, and surgically friendly biomaterial. *Sci Transl Med.* 2016;8(358):358ra127. doi: 10.1126/scitranslmed.aaf7704.
27. Ahmed E.M. Hydrogel: preparation, characterization, and applications: a review. *J Adv Res.* 2015;6(2):105-121. doi: 10.1016/j.jare.2013.07.006.
28. Dziadek M., Kudlackova R., Zima A., Slosarczyk A., Ziabka M., Jelen P. et al. Novel multicomponent organic-inorganic WPI/gelatin/CaP hydrogel composites for bone tissue engineering. *J Biomed Mater Res A.* 2019;107(11):2479-2491. doi: 10.1002/jbm.a.36754.
29. Markstedt K., Mantas A., Tournier I., Ávila H.M., Hägg D., Gatenholm P. 3D bioprinting human chondrocytes with nano-cellulose-alginate-bioink for cartilage tissue engineering applications. *Biomacromolecules.* 2015;16(5):1489-1496. doi: 10.1021/acs.biomac.5b00188.
30. Lou Y.R., Kanninen L., Kuisma T., Niklander J., Noon L.A., Burks D. et al. The use of nanofibrillar cellulose hydrogel as a flexible three-dimensional model to culture human pluripotent stem cells. *Stem Cells Dev.* 2014;23(4):380-392. doi: 10.1089/scd.2013.0314.
31. Кирилова И.А. Костная ткань как основа остеопластических материалов для восстановления костной структуры. *Хирургия позвоночника.* 2011;(1):68-74. doi: 10.14531/ss2011.1.68-74.
- Kirilova I.A. [Bone tissue as a basis of osteoplastic materials for bone structure restoration]. *Hirurgia pozvonochnika [Spine Surgery].* 2011;(1):68-74. doi: 10.14531/ss2011.1.68-74.
32. Chudinova E.A., Surmeneva M.A., Timin A.S., Karpov T.E., Wittmar A., Ulbricht M. et al. Adhesion, proliferation, and osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells on additively manufactured Ti6Al4V alloy scaffolds modified with calcium phosphate nanoparticles. *Colloids Surfaces B: Biointerfaces.* 2019;176:130-139. doi: 10.1016/j.colsurfb.2018.12.047.
33. Yang H., Jia B., Zhang Z., Qu X., Li G., Lin W. et al. Alloying design of biodegradable zinc as promising bone implants for load-bearing applications. *Nat Commun.* 2020;11(1):401. doi: 10.1038/s41467-019-14153-7.
34. Wang S., Duan C., Yang W., Gao X., Shi J., Kang J. et al. Two-dimensional nanocoating-enabled orthopedic implants for bimodal therapeutic applications. *Nanoscale.* 2020;11(12):11936-11946. doi: 10.1039/d0nr02327b.
35. Singh Z. Applications and toxicity of graphene family nanomaterials and their composites. *Nanotechnol Sci Appl.* 2016;9:15-28. doi: 10.2147/NSA.S101818.
36. Murugan N., Chozhanathmisra M., Sathishkumar S., Karthikeyan P., Rajavel R. Novel graphene-based reinforced hydroxyapatite composite coatings on titanium with enhanced anti-bacterial, anti-corrosive and biocompatible properties for improved orthopedic applications. *IJPCBS.* 2016;6(4):432-442.
37. Karpov T.E., Peltek O.O., Muslimov A.R., Tarakanchikova Y.V., Grunina T.M., Poponova M.S. et al. Development of Optimized Strategies for Growth Factor Incorporation onto Electrospun Fibrous Scaffolds to Promote Prolonged Release. *ACS Appl Mater Interfaces.* 2020;12(5):5578-5592. doi: 10.1021/acsami.9b20697.
38. Zhao C., Lu X., Zanden C., Liu J. The promising application of graphene oxide as coating materials in orthopedic implants: preparation, characterization and cell behavior. *Biomed Mater.* 2015;10(1):015019. doi: 10.1088/1748-6041/10/1/015019.

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Рерих Виктор Викторович — д-р мед. наук, начальник научно-исследовательского отделения патологии позвоночника, ФГБУ «Новосибирский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им. Я.Л. Цивьяна» Минздрава России; профессор кафедры травматологии и ортопедии, ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Новосибирск, Россия  
clinic@niito.ru  
<https://orcid.org/0000-0001-8545-0024>

## AUTHORS' INFORMATION:

Victor V. Rerikh — Dr. Sci. (Med.), Head of the Research Department of Spinal Pathology, Tsivyan Novosibirsk Research Institute of Traumatology and Orthopaedics; Professor, Department of Traumatology and Orthopedics, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia  
clinic@niito.ru  
<https://orcid.org/0000-0001-8545-0024>



*Синявин Владимир Дмитриевич* — аспирант, ФГБУ «Новосибирский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им. Я.Л. Цивьяна» Минздрава России, г. Новосибирск, Россия  
Dr.VladimirSinyavin@gmail.com  
<https://orcid.org/0000-0001-5237-6403>

*Vladimir D. Sinyavin* — PhD Student, Tsivyan Novosibirsk Research Institute of Traumatology and Orthopaedics, Novosibirsk, Russia  
Dr.VladimirSinyavin@gmail.com  
<https://orcid.org/0000-0001-5237-6403>

### *Заявленный вклад авторов*

Все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации. 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.

### *Конфликт интересов*

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.