

Современные способы обработки и стерилизации аллогенных костных тканей (обзор литературы)

К.А. Воробьев, С.А. Божкова, Р.М. Тихилов, А.Ж. Черный

ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им. Р.Р. Вредена»
Минздрава России
Ул. Акад. Байкова, д. 8, Санкт-Петербург, 195427, Россия

Реферат

В мировой клинической практике использование биоматериалов на основе костной ткани при реконструктивно-пластических операциях становится все более распространенной процедурой. Аллогенные костнопластические материалы являются основной заменой аутокости и лучшей альтернативой любому синтетическому костнозамещающему материалу. Методы, используемые для хранения, обработки и стерилизации материалов на основе костной ткани, с течением времени совершенствуются и претерпевают изменения. Главными задачами исследователей остаются исключение инфицирования и создание материала, сохраняющего биологические свойства кости. В обзоре литературы описаны основные методы, используемые для хранения, обработки и стерилизации биотканей и условия, необходимые для создания безопасных аллогенных костнопластических материалов, обладающих остеоиндуктивными, остеокондуктивными, остеогенными свойствами.

Ключевые слова: стерилизация костных трансплантатов, аллогенные костнопластические материалы, остеокондукция, остеоиндукция, остеогенность.

DOI: 10.21823/2311-2905-2017-23-3-134-147.

Current Methods of Processing and Sterilization of Bone Allografts (Review of Literature)

K.A. Vorobyov, S.A. Bozhkova, R.M. Tikhilov, A.Zh. Cherny

Vreden Russian Research Institute of Traumatology and Orthopedics
8, ul. Akad. Baykova, St. Petersburg, 195427, Russian Federation

Abstract

Currently, the use of bone allografts for reconstructive orthopedic surgery in clinical practice around the world is becoming a common procedure. Bone allografts are the first substitute material to the autologous bone and the best alternative to any artificial substituting material. The methods used for the preservation, processing and sterilization of bone are changing and evolving with time. The main goals remain the same including exclusion of infections and creation of the material with sustained properties of the normal bone.

The present review reflects the essential methods for biological tissue processing, sterilization and preservation with the analysis of the key requirements for manufacturing of safe allogeneic osteoplastic materials with osteoinductive, osteoconductive and osteogenic properties.

Keywords: sterilization of bone grafts, bone allograft-based substitutes, osteoinduction, osteoconduction, osteogenic.

DOI: 10.21823/2311-2905-2017-23-3-134-147.

Competing interests: the authors declare that they have no competing interests.

Funding: the authors have no support or funding to report.

Воробьев К.А., Божкова С.А., Тихилов Р.М., Черный А.Ж. Современные способы обработки и стерилизации аллогенных костных тканей (обзор литературы). *Травматология и ортопедия России*. 2017;23(3):134-147. DOI: 10.21823/2311-2905-2017-23-3-134-147.

Cite as: Vorobyov K.A., Bozhkova S.A., Tikhilov R.M., Cherny A.Zh. [Current Methods of Processing and Sterilization of Bone Allografts (Review of Literature)]. *Traumatologiya i ortopediya Rossii* [Traumatology and Orthopedics of Russia]. 2017;23(3):134-147. (in Russian). DOI: 10.21823/2311-2905-2017-23-3-134-147.

Воробьев Константин Александрович. Ул. Акад. Байкова, д. 8, Санкт-Петербург, 195427, Россия / Konstantin A. Vorobyev. 8, ul. Akad. Baykova, St. Petersburg, 195427, Russian Federation; e-mail: vorobyov_doc@mail.ru

Рукопись поступила/Received: 12.05.2017. Принята в печать/Accepted for publication: 18.08.2017.

Введение

Кость является старейшей среди тканей, используемых для пересадки. Трансплантация костной ткани упоминается во второй главе Бытия Ветхого завета Библии: «И навел Господь Бог на человека крепкий сон; и, когда он уснул, взял одно из ребер его, и закрыл то место плоти».

Первая успешная костная трансплантация была межвидовой (ксеногенной) и выполнена в России в 1668 г. голландским хирургом J. van Meekeren, который пересади́л фрагмент кости черепа собаки московскому дворянину, получившему открытую черепно-мозговую травму ударом меча [1].

В настоящее время в мире выполняется ежегодно от 3,5 до 4 млн операций с использованием разных костнопластических материалов [2]. Количество вмешательств этого типа продолжает увеличиваться, что можно объяснить несколькими причинами. Во-первых, растет число высокотехнологичных операций (все виды эндопротезирования) и, соответственно, количество ревизий. По данным национальных регистров артропластики коленного и тазобедренного суставов (Arthroplasty Registers, URL: <http://www.ear.efort.org/registers.aspx>), одной из наиболее значимых причин растущих потребностей в костнопластических материалах является увеличение ревизионных вмешательств на крупных суставах. Они сопровождаются замещением дефекта в зоне имплантации компонентов эндопротеза, сформированного в ходе деструкции кости вследствие нестабильности или инфекционного процесса [3–6]. Во-вторых, это развитие биотехнологий и тканевой инженерии как отдельной области экспериментально-клинической медицины. В-третьих, это совершенствование технологий обработки и стерилизации биотканей, что приводит к уменьшению частоты осложнений после трансплантации: иммунных и воспалительных реакций со стороны организма реципиента, инфекций, переломов, резорбции и лизиса [7, 8].

Костнопластические материалы: классификация и свойства

Скелет человека состоит из 206 костей. Адаптация каждой кости к определенной роли привела к изменению ее размера, формы и композиции. При выборе костнопластического материала хирург должен оценить не только функ-

цию кости и состояние окружающих тканей, но и учесть следующие факторы [9]:

- 1) предполагаемое клиническое применение;
- 2) размер дефекта и необходимое количество материала;
- 3) биомеханические свойства;
- 4) химический состав;
- 5) доступность;
- 6) остеоиндуктивность, остеокондуктивность и остеогенность;
- 7) использование резорбируемых материалов;
- 8) возможность влияния на процессы остеointegrации и ремоделирования;
- 9) возможные побочные эффекты и осложнения;
- 10) стоимость;
- 11) этические аспекты.

Процедура костной пластики преследует две основных цели:

1) восполнение дефекта (дефицита) костной ткани материалом нужной формы и размера, обладающего необходимыми прочностными характеристиками;

2) восстановление в области замещенного дефекта нормальных процессов костеобразования путем использования материалов, обладающих остеогенными, остеоиндуктивными и остеокондуктивными свойствами [10].

Существует несколько классификаций костнопластических материалов.

В зависимости от способа предварительной химической обработки, по мнению И.А. Кириловой, аллогенная кость может быть: нативной, деминерализованной или депротеинизированной [11].

Классификация T.W. Bauer и G.F. Muschler разделяет костнопластические материалы по происхождению, структуре, форме и способам стерилизации [12]. Она применима только для ауто- и аллогенных материалов.

L.L. Hench предложил классификацию костнозамещающих материалов по химическим, физическим и биологическим свойствам [13]. При этом она актуальна для материалов синтетического и полусинтетического происхождения.

Наиболее современной и рациональной, на наш взгляд, является классификация, предложенная S.K. Nandi [14]. Все костнопластические и костнозамещающие материалы, независимо от происхождения, характеризуются по трем ведущим признакам: остеокондуктивность, остеоиндуктивность и остеогенность (табл. 1).

Классификация костнопластических и костнозамещающих материалов S.K. Nandi [14]
Classification of bone and bone substituting grafts S.K. Nandi [14]

| Класс | Описание | Примеры | Свойства |
|---------------------------------|---|---------------------------------|---|
| Аутотрансплантат | Используется самостоятельно | — | Остеокондуктивность, остеоиндуктивность, остеогенность |
| Аллотрансплантат, аллоимплантат | Используется самостоятельно или в комбинации с другими веществами | Allegro, Orthoblast, Grafton | Остеокондуктивность, остеоиндуктивность |
| Факторы роста | Природные и рекомбинантные факторы роста могут использоваться самостоятельно или в комбинации с другими материалами | TGF-β, PDGF, FGF, BMP | Остеоиндуктивность, остеокондуктивность и остеоиндуктивность в сочетании с материалом-носителем |
| Клетки | Используются для генерации новой ткани самостоятельно или наносятся на материал-носитель | Мезенхимальные стволовые клетки | Остеогенность, остеокондуктивность и остеоиндуктивность в сочетании с материалом-носителем |
| На основе керамики | Включают кальция фосфат, кальция сульфат, биоактивное стекло. Используются самостоятельно или с другими материалами | Osteograft, Osteoset, NovaBone | Остеокондуктивность, ограниченные остеоиндуктивные свойства в сочетании с костным мозгом |
| На основе полимеров | Биодеградируемые и недеградируемые полимеры. Используются самостоятельно или с другими материалами | Cortoss, OPLA, Immix | Остеокондуктивность, биорезорбция у рассасывающихся полимеров |
| Прочие | На основе коралла, хитозана и др. | ProOsteon | Остеокондуктивность, биорезорбция |

Понятие «остеоиндуктивность» впервые было предложено M.R. Urist с соавторами. Под ним подразумевается способность костнопластического материала стимулировать процессы костеобразования [15]. Остеокондукция — это способность костнопластического материала быть поддерживающей конструкцией для прорастания сосудов и структур новой костной ткани (остеоинтеграции). Остеогенез — это способность костнопластического материала генерировать новую кость, что характерно для аутотрансплантатов или материалов, содержащих аутогенные остеопрогениторные клетки. «Золотым стандартом» является аутокость, обладающая всеми тремя свойствами: остеокондуктивностью, остеоиндуктивностью и остеогенностью [2].

На основании указанных свойств в 2007 г. P.V. Giannoudis предложил концепцию «dia-

mond concept of fracture repair». В ней автор выделил четыре основных условия, необходимых для успешной остеоинтеграции и ремоделирования костнопластического материала: клетки с остеогенным потенциалом, остеокондуктивная матрица, остеоиндуктивный стимул, механическая стабильность [16].

Аллогенные костнопластические материалы являются основной альтернативой ауто-трансплантатам и лучшей заменой любым костнозамещающим материалам. Основными преимуществами аллогенных костнопластических материалов являются биологическое внутривидовое происхождение; микроархитектура, соответствующая нормальной морфологии; протекание процессов резорбции и ремоделирования подобно нормальной костной регенерации [8]; возможность сохранения остеоиндуктивных и остеокондуктивных свойств,

а также неограниченная возможность их использования в качестве матрицы для создания различных тканеинженерных конструкций [17, 18]. Только в США в 2013 г. было использовано около миллиона аллотрансплантатов [19]. Известно, что их трансплантация выполняется в 10 раз чаще, чем пересадка других органов и тканей [14], и занимает второе место после переливания компонентов крови [20].

Таким образом, идеальный костнопластический материал должен представлять собой трехмерную тканеинженерную конструкцию, содержащую живые клетки и/или биологически активные вещества, которая не только заполняет дефект, обладает необходимыми прочностными характеристиками и стимулирует процессы костеобразования, но и способна генерировать новую кость [2, 7, 8, 21].

Нативные костные аллотрансплантаты: свойства и особенности хранения

Многие авторы отмечают высокий процент хороших результатов при использовании нативных (в основном в свежемороженом виде) костных аллотрансплантатов [22]. Большое значение в успешном клиническом применении этих материалов играет степень иммунного ответа. Процесс иммунного отторжения костных аллотрансплантатов происходит аналогично отторжению при трансплантации других органов. Подбор донора, согласно установленным правилам, исключение возможного инфицирования и выполнение необходимых иммунологических исследований совместимости донора и реципиента позволяют снизить выраженность иммунного ответа. Хранение при низких температурах и соблюдение правил заморозки и оттаивания также снижает иммуногенность, что обусловлено разрушением антиген-представляющих клеток в межтрабекулярных пространствах. Основным преимуществом свежемороженом аллотрансплантатов, подвергнутых обработке, по сравнению с аллогенными костнопластическими материалами, является лучшее сохранение биологических и физико-механических свойств, присущих нормальной кости. Например, С. Delloye с соавторами считают, что глубокая заморозка костных трансплантатов позволяет сохранить первоначальные механические свойства кости [23]. В научной литературе встречаются и противоположные мнения о том, что органические компоненты (клетки, костный мозг и др.) могут быть причиной длительного воспаления, а очистка до костного матрикса ускоряет процесс васкуляризации и миграции клеток, способствуя остеоинтегра-

ции и ремоделированию [24]. В исследовании D.J. Costain с соавторами высказано мнение, что для наиболее объективной оценки свойств свежемороженом костных аллотрансплантатов необходимо проведение хорошо контролируемого рандомизированного сравнительного клинического исследования [10].

Оптимальная температура для хранения тканей точно не определена и продолжает оставаться предметом дискуссий. Температура -80°C , рекомендованная большинством исследователей для хранения костных трансплантатов, определена эмпирически. Основными мотивами были инактивация ферментативной активности и роста кристаллов льда. По мнению С. Fölsch с соавторами, все биологические костнопластические материалы должны сохраняться при низких температурах. При этом для хранения обработанных и стерилизованных аллоимплантатов в течение двух лет подходит температура -20°C , тогда как для длительного хранения костных трансплантатов необходима температура -80°C и ниже с допустимым сроком хранения 5 лет [25].

Как упоминалось выше, важными факторами, влияющими на качество свежемороженом трансплантатов, являются не только температура хранения, но и процессы заморозки и оттаивания. А. S. Parkes с соавторами предложили методику двухэтапного замораживания: сначала ткань в упаковке погружают в специальный раствор с температурой $-20...30^{\circ}\text{C}$ на 30 мин., затем переносят в камеру при температуре -79°C . При разработке различных методов контролируемой скорости заморозки многие исследователи сошлись во мнении, что оптимальная скорость охлаждения — 1°C в минуту [26]. В дополнение к скорости охлаждения важную роль играет процесс оттаивания. В исследованиях А. С. Taylor с соавторами отмечено, что оптимальной температурой для оттаивания тканей является 45°C [27].

Очистка и первичная дезинфекция

Необходимость очистки кости от органических компонентов обусловлена двумя аспектами: снижением риска передачи инфекции и снижением антигенного и воспалительного потенциала [28]. По мнению R. Lomas с соавторами, очистка повышает клиническую эффективность и безопасность материалов [3]. Кроме того, наиболее значимая эпидемиологическая опасность связана с органическим компонентом донорской кости, соответственно, его удаление снижает потенциальную возможность инфицирования [18].

Методы очистки кости от органических компонентов в зависимости от способов воздействия могут быть разделены на химические, физические и физико-химические. Важно соблюдать баланс между эффективностью очистки и сохранением свойств костной ткани. С одной стороны, необходимо применять химические и физические методы обработки с достаточным, ввиду его сложной анизотропной трехмерной структуры, проникновением в костный матрикс. С другой стороны, важно сохранить естественные остеоиндуктивные, остеокондуктивные свойства кости и не оставлять следов веществ, используемых в ходе очистки, которые способны спровоцировать воспалительные реакции после имплантации и негативно повлиять на процесс остеоинтеграции и ремоделирования [29, 30].

К основным способам очистки, в основе которых лежит физическое воздействие, можно отнести ультразвуковую кавитацию, отрицательное давление в вакууме, промывание жидкостями под высоким давлением (например, гидродинамическая струя), температурное воздействие, центробежную силу, интенсивное перемешивание или встряхивание, магнитное поле. Большинство из них заложены в основу разных технологий очистки, которые мы рассмотрим далее.

Наиболее распространенными веществами, применяемыми для химической очистки, являются: перекись водорода, метанол- и этанолсодержащие смеси, хлороформ, хлористый литий, бромводородная кислота, ферменты (трипсин, химотрипсин), обработка сверхкритическими жидкостями.

Эволюцию технологий очистки можно проследить по патентам разных авторов. Например, в 1989 г. К. Robert предложил простой процесс замачивания костных трансплантатов в растворах антибиотиков и дезинфицирующих средств, при этом он не удалял значительное количество костного мозга и клеточных элементов, что оказалось недостаточным для снижения антигенности (USA Patent 5,298,222). Позднее, в 1991 г., В. Morse и Е. Shanbrom предложили методику, согласно которой кость пропитывали в растворе поливинилпирролидон-йода, после чего выполняли очистку от органических элементов с использованием шейкера, далее повторяли пропитывание и выполняли лиофилизацию (USA Patent 5,333,626). В этом патенте впервые описано использование интенсивного перемешивания в шейкере и обработка струей жидкости под высоким давлением. В 1994 г. В. Morse опубликовал патент, дополнив предыдущий этап с применением отрицательного давления в вакууме

с давлением 84,66 кПа, впервые употребив термин «первичное обеззараживание» (USA Patent 5,513,662). В 1995 г. в патенте, предложенном L. Wolfinbarger, была описана технология многоэтапной очистки, использующая интенсивное перемешивание, встряхивание, отрицательное давление в вакууме, дополненное промыванием раствором перекиси водорода и спирта (USA Patent 5,556,379). Через 3 года L. Wolfinbarger дополнил предыдущую технологию ультразвуковой кавитацией, что, по мнению автора, принципиально отличается от встряхивания, перемешивания и отрицательного давления ввиду того, что ультразвуковая энергия создает волны, которые разрушают органические компоненты костного трансплантата посредством повышения молекулярного давления (USA Patent 5,797,871). Применение метода ультразвуковой кавитации позволило повысить степень очистки от органических элементов до 99,9% [30]. В 1999 г. L. Wolfinbarger предложил способ очистки костных трансплантатов с использованием центробежной силы, при котором также выполняли промывку растворами перекиси водорода, спирта, применяли интенсивное перемешивание и встряхивание. Использование центробежной силы схоже с обработкой отрицательным давлением в вакууме, но позволяет исследовать осадок на предмет содержания органических компонентов, что улучшило качество контроля процесса очистки (USA Patent 5,977,432).

Разные способы очистки отражены также в патентах Российской Федерации. Так, например, Р.А. Быковым для удаления костного мозга из губчатой кости предлагается разложение органических компонентов путем ферментации 2–5% раствором трипсина с последующей отмывкой физиологическим раствором (патент РФ № 2301633). В другом патенте того же автора предлагается способ изготовления костных имплантатов, в котором для очистки фрагмент кости механически обрабатывают гидродинамической струей (патент РФ № 2526429).

Метод очистки, предложенный Л.Т. Воловой, основан на воздействии химическими веществами — липосистемами, перекисью водорода, экспозицией в спиртоэфирном растворе и ультразвуковыми колебаниями (патент РФ № 2166252).

М.В. Лекишвили предложил многоэтапную методику, включающую длительные 48-часовые экспозиции в растворах 6% перекиси водорода, смеси хлороформа с этанолом. В этом методе также предусмотрено воздействие центробежной силы (патент РФ № 2172104).

И.А. Кирилова с соавторами разработали способ, который подразумевает депроитеинизацию путем 96-часовой экспозиции в 0,01% растворе химотрипсина, 48-часовую экспозицию в 10% растворе перекиси водорода, обработку жидким эфиром и 10% раствором хлористого лития. Также предложено воздействие переменным магнитным полем (патент РФ № 2223104).

Р.М. Тихилов с соавторами предложили методику очистки, при которой материал многократно промывали 10% раствором перекиси водорода, выдерживали его в 0,6% растворе бромводородной кислоты с последующей отмывкой дистиллированной водой (патент РФ № 2377959).

Метод, предложенный Н.П. Демичевым с соавторами, предполагает экспозицию в 6% растворе перекиси водорода с последующей механической очисткой гидродинамической струей (патент РФ № 2440730).

В зарубежных публикациях также описываются методы очистки путем воздействия химическими веществами. Так, например, J. Rauh с соавторами используют способ, при котором костные имплантаты инкубируют в смеси хлороформа (99,4%) и метанола (99,8%) в соотношении 2/1 в течении 2 ч, затем восьмикратно (по 15 мин.) промывают в ультразвуковой мойке в растворе метанола, затем костные имплантаты дважды промывают от химических веществ деионизированной водой [31].

В методе, предложенном М. J. Eagle, предпочтение отдается способам физического воздействия — температурой, центробежной силой, интенсивным перемешиванием и встряхиванием, ультразвуковой кавитацией. Кость при этом отмывается стерильной водой при температуре 57–59°C. Метод подразумевает многократность и кратковременность процедур, а влияние химических веществ сведено к минимуму [18, 30]. В ходе исследований биологической совместимости костнопластических материалов с тканями реципиента после имплантации было обнаружено, что наличие остатков некоторых веществ даже в нетоксичных концентрациях может приводить к воспалительным реакциям и инкапсуляции [7].

В исследованиях С.А. DePaula с соавторами выявлено значительное снижение остеоиндуктивных свойств в результате обработки 3% раствором перекиси водорода после экспозиции в течение 5 ч [29]. Большую роль играет дли-

тельность экспозиции в этанол- и метанолсодержащих растворах, поскольку они снижают остеоиндуктивный потенциал.

В качестве примера очистки и дезинфекции сверхкритическими жидкостями можно привести метод обработки сверхкритическим диоксидом углерода, который обладает высокой степенью проникновения в костные материалы, антимикробными свойствами, является хорошим растворителем органических компонентов и липидов, сохраняя при этом остеокондуктивные свойства костных материалов [32, 33].

Использование многих химических веществ при изготовлении костнопластических материалов в зарубежных странах строго регламентируется. Например, стандартом Американской ассоциации тканевых банков (AATB) E1.044 Disinfection by Chemical Agents запрещается использование ртутьсодержащих и четвертичных соединений, формальдегида, β-пропиолактона, глутаральдегида и хлороформа¹. В любом случае при использовании химических веществ, дезинфектантов или антибиотиков должна быть маркировка, позволяющая определить наличие возможных остаточных следов и информировать об их присутствии в материале, который будет использоваться в клинике.

Стерилизация костных трансплантатов

Существует множество способов стерилизации костных трансплантатов, обладающих разными свойствами, преимуществами и недостатками. Однако основной стратегией исключения инфицирования реципиента по-прежнему остается строгий отбор доноров, соблюдение правил забора донорского материала и контроль качества.

Биологический костнопластический материал может определяться как стерильный, когда используемые для стерилизации методы гарантируют, что в нем полностью отсутствуют какие-либо микроорганизмы. Эффективность стерилизации оценивают по уровню гарантии стерильности — sterility assurance level (SAL). Это величина степени вероятности того, что один стерилизованный продукт по отношению к общему количеству может быть инфицирован [34, 35]. В настоящее время FDA (Food and Drug Administration) предъявляет требования 1:1000 (SAL 10³). Многие мировые тканевые банки работают по более жестким требованиям — 1:1000000

¹ Dock N.L., Osborne J.C., Brubaker S.A. Standards for Tissue Banking. 13th ed. American Association of Tissue Banks: March 1, 2012. 349.

(SAL 10⁶), предложенным ААМІ (Association for the Advancement of Medical Instrumentation) и рекомендованным, например, ААТВ².

Учитывая большое количество способов, применяемых для стерилизации биологических костнопластических материалов, на наш взгляд, наиболее целесообразно рассмотреть следующие: ионизирующее излучение, оксид этилена, тепловая стерилизация, спиртовой раствор надуксусной кислоты, озон, микроволновое излучение, химическая стерилизация комбинациями асептических растворов и/или антибиотиков.

Применение спиртового раствора надуксусной кислоты продолжает оставаться популярным методом стерилизации [36]. J. Rauh с соавторами в своем исследовании продемонстрировали высокие стерилизующие свойства, сохранение механической прочности костных имплантатов, а также отметили, что этот метод позволяет создавать материал, пригодный для заселения культуры клеток [31]. Однако в литературе описаны 9 случаев вторичного инфицирования после имплантации материалов, стерилизованных этим способом [37].

В качестве примера химической стерилизации можно привести методику, предложенную В.И. Савельевым с соавторами, которая предполагает стерилизацию в жидкой комбинированной стерилизующей и консервирующей среде, содержащей цитрат кислый, глюкозу, фурацилин, натрий бромистый, этанол, диметилсульфоксид, сульфат амикацина в заданных концентрациях (патент РФ № 2235462). Этот метод до настоящего времени используется в РНИИТО им. Р.Р. Вредена для изготовления аллогенных костнопластических материалов.

Некоторые авторы с целью дезинфекции и стерилизации применяют растворы антибиотиков. Например, компания BioCleanse™ Tissue Sterilization Process (США) на одном из этапов своей технологии использует методику промывания (лаважа) костных материалов комбинациями антибиотиков [34].

В литературе встречаются исследования, посвященные микроволновому излучению. В работах R.A. Dunsmuir, G. Gallacher [38], а позднее R. Singh с соавторами [39] была описана методика стерилизации головок бедренных костей при помощи микроволнового излучения. Стерильность была достигнута при частоте 2450 МГц и мощности 900 Вт в течение 2 мин. Несмотря на простоту, доступность и малые затраты на методику, она не получила широкого применения, так как ее эффектив-

ность зависит от содержания молекул воды в материале, а неравномерность распределения микроволнового излучения формирует в стерилизуемом объекте так называемые «необлученные зоны» или «холодные пятна».

Также в научной литературе встречаются работы с описанием применения *озона* для стерилизации [40, 41]. Озон классифицируется как окисляющий агент, его главное преимущество — скорость и высокая эффективность в относительно низких дозах. При этом отсутствует необходимость в дополнительном этапе оксигенации, как при использовании окиси этилена. Однако этот метод оказывает токсичное воздействие на персонал. Озон примерно в 160 раз токсичнее оксида этилена. Кроме того, метод требует применения относительно дорогого специализированного оборудования.

Достичь уровня стерильности SAL 10⁶ можно только при использовании окиси этилена и радиации (ионизирующее излучение дозой не менее 25 кГр) [34, 35, 42, 43].

Несмотря на некоторое снижение популярности окиси этилена (ОЭ) для стерилизации костнопластических материалов, этот метод по-прежнему продолжают использовать во многих странах. Этот метод активно использовали для стерилизации тканей в РНИИТО им. Р.Р. Вредена до середины 2000-х годов (патенты РФ № 2223790, 2219952). Высокая эффективность и надежность стерилизации при адекватных концентрациях раствора были продемонстрированы во многих исследованиях. В основе разрушающего действия на патогены лежит процесс алкилирования цепей ДНК и РНК, что препятствует нормальному течению репродуктивных процессов микроорганизмов. Недостатками метода являются длительный цикл, высокая стоимость, потенциальная опасность для пациентов, персонала и окружающей среды. Потенциальную опасность для пациента составляют остаточные продукты ОЭ, такие как этиленхлоргидрин, образующийся в результате реакции с хлоридом, и этиленгликоль, образованный в результате реакций с водой. Оба вещества способны вызывать гемолиз и воспаление, а также обладают токсическими, мутагенными и канцерогенными свойствами [42, 44].

Считается, что применение радиации для стерилизации тканей берет начало в 1948 г. с публикации J.G. Trump и R.J. Van De Graaff [45]. С тех пор этот метод значительно усовершенствовались. Его широкое применение обусловлено хорошей проникаемостью, возмож-

² Там же.

ностью стерилизовать ткани в герметичной упаковке и контролировать процесс [35].

Основными источниками ионизирующего излучения для стерилизации биоматериалов являются высокочастотные источники энергии фотонов, такие как кобальт-60 (^{60}Co) и цезий-137 (^{137}Cs), а также электроны высоких энергий из линейных ускорителей электронов. Оба типа ионизируют молекулы через разные процессы, которые влияют на их практическое применение для стерилизации. Разрушающее действие радиации на бактерии, вирусы и споры обусловлено двумя основными механизмами — прямым разрушением ДНК клеток и опосредованным разрушением свободными радикалами, образующимися вследствие радиолиза молекул воды [46]. Для стерилизации рекомендуют дозу 25 кГр, которую предложили Artandli и Van Winkle в 1959 г. определив ее на основании исследования минимальной смертельной дозы для 150 видов микроорганизмов [47, 48]. Тканевые банки в разных странах используют дозы в диапазоне от 8 до 50 кГр, наиболее распространенными являются дозы 15–35 кГр. Применение разных доз связано с различными методиками предстерилизационной обработки, применением радиопротекторов и радиопоглощающих веществ. Например, в костном банке Польши используют дозу 35 кГр, а в костном банке Австралии — 15 кГр [49]. В. Conway с соавторами высказали мнение о том, что доза 15 кГр недостаточна для инактивации ВИЧ [50]. О.Р. Шангина для стерилизации биоматериалов применяет дозу 25 кГр, но считает, что доза 15 кГр является достаточной для достижения стерильности [51, 52].

Ионизирующее излучение влияет на механическую прочность материалов на основе кости. Это связано с разрушением полипептидных цепей костного коллагена, который является важным фактором остеоиндукции [46, 53, 54]. В исследованиях В. Loty показано, что механическая прочность кости снижается по мере увеличения дозы, и эта зависимость не является линейной: применение дозы 27 кГр приводит к снижению прочности на 20%, а 37 кГр — на 65% [55].

Доказано снижение разрушительного воздействия радиации на костные материалы при низких температурах. В ряде исследований А. Dziedzic-Goclawska с соавторами (1991–2005) облучение кости проводили при температуре -72°C дозой 35 кГр, что, по мнению авторов, повышает надежность стерилизации и не влияет на механическую прочность. Также авторы представили сведения о том, что после

имплантации 250 тыс. разных аллогенных материалов (75% из которых на основе аллокости) не было выявлено ни одного случая инфицирования [49]. Подобные данные опубликованы в работе S. Wientroub и А.Н. Reddi, где разрушающее воздействие ионизирующего излучения потоком быстрых электронов снижалось при низких температурах [56]. В исследовании С.Р. Balsly с соавторами материалы на основе аллотрансплантатов облучали дозой 28,5 кГр в сухом льде, в результате не было установлено статистически значимых различий в механической прочности или величине модуля упругости облученных образцов по сравнению с контрольными группами [57].

Другим направлением в разработке методик по защите аллогенных тканей от воздействия радиации является использование поглотителей свободных радикалов. В работе А. Seto с соавторами показано, что применение таких веществ, как маннит, аскорбат и рибофлавин, существенно ослабляет негативное воздействие радиации [58]. J. Reid с соавторами показали снижение разрушающего воздействия ионизирующего излучения при использовании радиопротекторов для облучения аллогенных сухожильно-костных (фрагмент надколенника с собственной связкой) имплантатов [59]. В экспериментальном исследовании Н.В. Burgess с соавторами на кроликах было выявлено, что использование радиопротекторов при облучении относительно высокой дозой 50 кГр не ухудшало процессы остеointegrации и ремоделирования костных имплантатов из свода черепа в сравнении с необработанными [60]. Применение радиационной защиты также отражено в работе А. Alanaу, где стерилизация костных имплантатов высокими дозами (50 кГр) радиации не повлияла на процессы перестройки после имплантации в позвоночник крыс [61]. В одном из последних исследований, опубликованных Т. Attia с соавторами, показаны хорошие радиопротекторные свойства рибозы. Ее применение при стерилизации позволяет лучше сохранять osteoconductive свойства костных материалов [62].

В.И. Савельев с соавторами в 2009 г. предложил комбинированный способ стерилизации аллогенных костнопластических материалов, при котором после механической очистки и обработки растворами хлороводородной или бромоводородной кислоты заданной концентрации осуществлялась стерилизация ионизирующим излучением дозой 12 кГр (патент РФ № 2356224).

Термическая стерилизация является одним из наиболее простых и популярных методов стерилизации, поскольку она безопасна и не требует

сложного оборудования и специальных условий для реализации [25]. Этот метод применим для уничтожения вируса ВИЧ-инфекции, который имеет низкую устойчивость к тепловому воздействию. Так, 30-минутное воздействие на вирус температурой 56°C в водяной бане приводит к его уничтожению в 100% случаях [63]. Однако существует зависимость между необходимой для уничтожения микроорганизмов температурой и ее разрушительным воздействием на костные ткани.

Результаты исследования S. Shin с соавторами показали, что процесс реваскуляризации и образования новой костной ткани после термической обработки при 60°C значимо не отличался от контрольных образцов, но воздействие температуры 100°C вызывало значительное ухудшение этих процессов [64]. Это связано с тем, что при температуре выше 60°C начинается процесс денатурации костного коллагена. С.Т. Vangsness с соавторами сообщили, что при воздействии температурой свыше 80°C структура коллагена значительно разрушается, а температура до 60°C не оказывает на него выраженного повреждающего действия [65].

Одним из надежных методов температурной стерилизации головок бедренных костей, по данным разных авторов, является система Lobator sd-2 (Telos, Германия) [34, 35].

Экспериментально доказано, что поддержание температуры 82,5°C в центре головки бедра с диаметром не более 56 мм в течение 15 мин. создает необходимые условия для уничтожения микроорганизмов и сохраняет надлежащие биологические свойства кости. Высокая надежность данного метода, на наш взгляд, обусловлена абсолютной автоматизацией процесса стерилизации, который управляется и контролируется встроенной в устройство программой, исключающей возможность коррекции длительности цикла и температурного режима. Несмотря на высокую эффективность пастеризации для уничтожения неспорообразующих бактерий и клинически значимых вирусов, указанный температурный режим малоэффективен в отношении спор *B. subtilis* и *C. sporogenes*. При использовании данной методики необходимо строго соблюдать условия забора донорского материала, критерии отбора доноров, выполнять необходимые серологические тесты, а в случае использования головок бедренных костей от полиорганных доноров обязательно должны быть проведены дополнительные исследования методом ПЦР для исключения ВИЧ-инфекции, гепатитов В и С [63, 66]. Сравнительная характеристика очистки, первичной дезинфекции и некоторых методов конечной стерилизации представлена в таблице 2.

Таблица 2/Table 2

**Сравнительная характеристика методов очистки и стерилизации
костных аллотрансплантатов**
Comparison of bone allograft cleaning and sterilization methods

| Характеристика | Очистка и первичная дезинфекция | Химическая стерилизация | | Ионизирующее излучение 25 кГр (SAL 10 ⁶)* | Тепловая стерилизация системой Lobator sd-2 |
|-----------------------------------|---------------------------------|---------------------------------------|-------------------------|---|---|
| | | Окись этилена (SAL 10 ⁶)* | Комбинированная среда** | | |
| Уничтожение бактерий | Нет | Да | Да ¹ | Да | Да ² |
| Уничтожение грибов | Нет | Да | Да ¹ | Да | Да ³ (достаточная) |
| Уничтожение спор | Нет | Да | Да ¹ | Да | Да ⁴ (низкая) |
| Уничтожение вирусов | Нет | Да | Да ¹ | Да | Да ² |
| Удаление крови и липидов | Да | Нет | Да ⁵ | Нет | Нет |
| Влияние на механическую прочность | Да ⁶ | Нет | Нет ⁵ | Да | Да |

| Характеристика | Очистка и первичная дезинфекция | Химическая стерилизация | | Ионизирующее излучение 25 кГр (SAL 10 ⁶)* | Тепловая стерилизация системой Lobator sd-2 |
|--|---------------------------------|---------------------------------------|---------------------------|---|---|
| | | Окись этилена (SAL 10 ⁶)* | Комбинированная среда** | | |
| Биосовместимость | Да ⁶ | Да ⁷ | Да ⁵ | Да | Да |
| Проникающая способность в стерилизуемый объект | Зависит от ^{6,8} | Зависит от ⁸ | Полная | Полная | Полная ⁹ |
| Возможность обработки трансплантатов разного размера и структуры | Да | Да | Да | Да | Нет |
| Возможность использования в качестве носителя для клеток и биологически-активных веществ | Зависит от ⁶ | Да ¹⁰ | Исследования не проводили | Да | Да ¹¹ |

* — SAL 10⁶ — уровень гарантии стерильности (SAL — sterility assurance level) — вероятность инфицирования после обработки возможна в одном из 1 000 000 образцов; ** — жидкая комбинированная стерилизующая среда (патент РФ № 2235462); ¹ — степень не определена; ² — высокая (6 log 10) вероятность инфицирования после стерилизации возможна в одном из 1 000 000 образцов [63, 66]; ³ — достаточная (3,15 log 10) вероятность инфицирования после стерилизации возможна в одном из 1412 образцов [63, 66]; ⁴ — низкая (0,33–1,77 log 10) вероятность инфицирования после стерилизации возможна в одном из 58 образцов [63, 66]; ⁵ — требует стандартизованного сравнительного исследования; ⁶ — зависит от технологии и веществ; ⁷ — зависит от количества остаточных продуктов [42]; ⁸ — зависит от свойств трансплантата (размер, плотность и т.д.); ⁹ — только для головок бедренной кости d < 56 мм [63, 66]; ¹⁰ — при условии полного очищения от остаточных веществ; ¹¹ — при условии предстерилизационной очистки от клеток и других органических компонентов костного мозга.

Заключение

Анализ научных публикаций позволил выделить несколько ключевых проблем, требующих дальнейшего изучения и решения. Первое, что следует отметить, — это отсутствие единых стандартов при работе с донорскими тканями в России. Отделы по заготовке тканей, как правило, работают по внутренним инструкциям. В мировой клинической практике работа с донорскими тканями регламентируется директивами и стандартами ассоциаций тканевых банков, поэтому их забор, хранение, методы и способы обработки и стерилизации определены общими правилами, что отражено в зарубежных публикациях.

Следующее, на что мы обратили внимание — отсутствие критериев и рекомендаций для выбора того или иного костнопластического материала для конкретной клинической ситуации. По нашему мнению, это важно, поскольку в зависимости от методов обработки и стерилизации, материалы на основе аллокости изменяют свои свойства. Готовый к использованию в клинике конечный продукт может иметь различные характеристики, что ставит перед хирургами

проблему выбора материала как в ходе предоперационного планирования, так и интраоперационного использования.

Также следует отметить, что в мировой практике предпочтение отдается использованию свежемороженых костных трансплантатов, которые в большей степени сохраняют естественные свойства кости. За рубежом ведется активная работа по совершенствованию методов хранения и использования свежих трансплантатов аллокости. В клинической практике профильных учреждений России использование материалов данной группы ограничено, о чем свидетельствует отсутствие публикаций. Проведение углубленных исследований в этом направлении представляется нам актуальным и перспективным.

Как было изложено выше, одной из наиболее актуальных причин растущих потребностей в костнозамещающих материалах в ортопедической практике является увеличение ревизионных вмешательств на крупных суставах, которые сопровождаются пластикой дефекта, образованного в зоне стояния компонентов эндопротеза вследствие асептической неста-

бильности или в результате хронического инфекционного процесса. Это связано с тем, что патологический процесс, протекающий в зоне стояния компонентов эндопротеза, имеет свои особенности, поскольку длительно существующее воспаление любой этиологии вызывает хроническую гипоксию и инициирует процесс фиброзной перестройки окружающих тканей. Поэтому аллогенные костнопластические материалы, используемые при вмешательствах на таких костных дефектах, должны стимулировать процессы костеобразования, а в случае остеомиелита или перипротезной инфекции — обладать антимикробными свойствами. Эта тема также требует дальнейших исследований.

Современной тенденцией мировой клинической практики становится использование достижений биотехнологий и регенеративной медицины при реконструктивно-пластических операциях на костной ткани. Костнопластические материалы перестали быть статическими конструкциями. Присущая им ранее инертность сменяется биологической активностью, которая выражается в сохранении или придании им остеокондуктивных, остеоиндуктивных и остеогенных свойств, что создает лучшие условия для остеointegrации и ремоделирования. При выборе метода обработки и стерилизации необходимо учитывать возможность дальнейшего использования материалов из аллокости в качестве матрицы-носителя клеточных культур или биологически-активных веществ для создания тканеинженерных конструкций.

Многообразие методик, используемых для очистки и стерилизации костных аллотрансплантатов, ставит перед специалистами проблему выбора наиболее оптимальной из них. Выбор зависит от множества переменных — количества донорского материала, пригодного для использования; технических возможностей; объема и форм обрабатываемых биоматериалов; клинических потребностей в зависимости от вида конечного продукта; целесообразности финансовых затрат на технологический процесс. Однако, на наш взгляд, ведущими критериями по-прежнему должны оставаться безопасность пациента и высокая клиническая эффективность материалов этой группы.

Конфликт интересов: не заявлен.

Источник финансирования: исследование проведено без спонсорской поддержки.

Литература / References

- Haeseker B. Mr. Job van Meekeren (1611-1666) and surgery of the hand. *Plast Reconstr Surg*. 1988;82(3):539-546.
- Henkel J., Woodruff M.A., Epari D.R., Steck R., Glatt V., Dickinson I.C., Choong P.F., Schuetz M.A., Huttmacher D.W. Bone Regeneration Based on Tissue Engineering Conceptions — A 21st Century Perspective. *Bone Res*. 2013;1(3):216-248. DOI: 10.4248/BR201303002.
- Lomas R., Chandrasekar A., Board T.N. Bone allograft in the UK: perceptions and realities. *Hip Int*. 2013;23(5):427-433. DOI: 10.5301/hipint.5000018.
- Тихилов Р.М., Шубняков И.И., Коваленко А.Н., Черный А.Ж., Муравьева Ю.В., Гончаров М.Ю. Данные регистра эндопротезирования тазобедренного сустава РНИИТО им. Р.Р. Вредена за 2007–2012 годы. *Травматология и ортопедия России*. 2013;(3):167-190. Tikhilov R.M., Shubnyakov I.I., Kovalenko A.N., Cherniy A.Zh., Muravyeva Yu.V., Goncharov M.Yu. [Data of hip arthroplasty registry of Vreden Russian Research Institute for Traumatology and Orthopedics for the period 2007–2012 years]. *Травматология и Ортопедия России* [Traumatology and Orthopedics of Russia]. 2013;(3):167-190. (in Russian).
- Корнилов Н.Н., Куляба Т.А., Филь А.С., Муравьева Ю.В. Данные регистра эндопротезирования коленного сустава РНИИТО им. Р.Р. Вредена за 2011–2013 годы. *Травматология и ортопедия России*. 2015;(1):136-151. DOI: 10.21823/2311-2905-2015-0-1-136-151. Kornilov N.N., Kulyaba T.A., Fil A.S., Muravyeva Yu.V. [Data of knee arthroplasty register of Vreden Russian Research Institute of Traumatology and orthopedics for period 2011–2013]. *Травматология и ортопедия России* [Traumatology and Orthopedics of Russia]. 2015;(1):136-151. (in Russian). DOI: 10.21823/2311-2905-2015-0-1-136-151
- Мухаметов У.Ф., Мухаметов Ф.Ф., Сулейманов Я.Н., Нугаев Р.Я., Нигматуллин Р.Т., Шангина О.Р. Некоторые аспекты ревизионного эндопротезирования тазобедренного сустава. Пластика костных дефектов губчатыми аллоплантами. *Гений ортопедии*. 2016;(4):29-35. DOI 10.18019/1028-4427-2016-4-29-35. Mukhametov U.F., Mukhametov F.F., Suleimanov I.N., Nugaev R.I., Nigmatullin R.T., Shangina O.R. [Some aspects of the hip arthroplasty revision. Bone defect plasty with sponge allografts]. *Genij Ortopedii* [Orthopedic Genius]. 2016;(4):29-35. (in Russian). DOI: 10.18019/1028-4427-2016-4-29-35.
- Hernigou P., Pariat J., Queinnee S., Homma Y., Flouzat Lachaniette C.H., Chevallier N., Rouard H. Supercharging irradiated allografts with mesenchymal stem cells improves acetabular bone grafting in revision arthroplasty. *Int Orthop*. 2014;38(9):1913-1921. DOI: 10.1007/s00264-014-2285-2.
- Oryan A., Alidadi S., Moshiri A., Maffulli N. Bone regenerative medicine: classic options, novel strategies, and future directions. *J Orthop Surg Res*. 2014;9(1):18. DOI: 10.1186/1749-799X-9-18.
- Brydone A.S., Meek D., Maclaine S. Bone grafting, orthopaedic biomaterials, and the clinical need for bone engineering. *Proc Inst Mech Eng H*. 2010;224(12):1329-1343.
- Costain D.J., Crawford R.W. Fresh-frozen vs. irradiated allograft bone in orthopaedic reconstructive surgery. *Injury*. 2009;40(12):1260-1264. DOI: 10.1016/j.injury.2009.01.116.
- Кирилова И.А., Садовой М.А., Подорожная В.Т. Сравнительная характеристика материалов для костной пластики: состав и свойства. *Хирургия позвоночника*. 2012;(3):72-83. Kirilova I.A., Sadovoy M.A., Podorozhnaja V.T. [Comparative Characteristics of Materials for Bone Grafting: Composition and Properties]. *Khirurgiya pozvonochnika* [Spine surgery]. 2012;(3):72-83. (in Russian).

12. Bauer T.W., Muschler G.F. Bone grafts materials. An overview of the basic science. *Clin Orthop Relat Res.* 2000;(371):10-27.
13. Hench L.L. Biomaterials: a forecast for the future. *Biomaterials.* 1998;19(16):1419-1423.
14. Nandi S.K., Roy S., Mukherjee P., Kundu B., De D.K., Basu D. Orthopedic applications of bone graft and graft substitutes: a review. *Indian J Med Res.* 2010;132:15-30.
15. Urist M.R., Silverman B.F., Büiring K., Dubuc F.L., Rosenberg J.M. The bone induction principle. *Clin Orthop Relat Res.* 1967;53:243-83.
16. Giannoudis P.V., Einhorn T.A., Marsh D. Fracture healing: the diamond concept. *Injury.* 2007;38(4):3-6.
17. Лекишвили М.В., Склянчук Е.Д., Акатов В.С., Очкуренко А.А., Гурьев В.В., Рагинов И.С., Бугров С.Н., Рябов А.Ю., Фадеева И.С., Юрасова Ю.Б., Чеканов А.С. Костнопластические остеоиндуктивные материалы в травматологии и ортопедии. *Гений ортопедии.* 2015;(4):61-67. DOI: 10.18019/1028-4427-2015-4-61-67. Lekishvili M.V., Sklianchuk E.D., Akatov V.S., Ochurenko A.A., Gur'ev V.V., Raginov I.S., Bugrov S.N., Riabov A.Iu., Fadeeva I.S., Iurasova Ju.B., Chekanov A.S. [Osteoplastic osteoinductive materials in traumatology and orthopaedics]. *Genij Ortopedii* [Orthopedic Genius]. 2015;(4):61-67. (in Russian). DOI: 10.18019/1028-4427-2015-4-61-67.
18. Smith C.A., Richardson S.M., Eagle M.J., Rooney P., Board T., Hoyland J.A. The use of a novel bone allograft wash process to generate a biocompatible, mechanically stable and osteoinductive biological scaffold for use in bone tissue engineering. *J Tissue Eng Regen Med.* 2015;9(5): 595-604. DOI: 10.1002/term.1934.
19. Islam A., Chapin K., Moore E., Ford J., Rinnac C., Akkus O. Gamma Radiation Sterilization Reduces the High-cycle Fatigue Life of Allograft Bone. *Clin Orthop Relat Res.* 2016;474(3):827-835. DOI: 10.1007/s11999-015-4589-y.
20. Elsalanty M.E., Genecov D.G. Bone grafts in craniofacial surgery. *Craniomaxillofac Trauma Reconstr.* 2009;2(3): 125-134. DOI: 10.1055/s-0029-1215875.
21. Woodruff M.A., Lange C., Reichert J., Berner A., Chen F., Fratzl P., Schantz J.T., Huttmacher D.W. Bone tissue engineering: from bench to bedside. *Materials Today.* 2012;15(10):430-434. DOI: 10.1016/S1369-7021(12)70194-3.
22. Man W.Y., Monni T., Jenkins R., Roberts P. Post-operative infection with fresh frozen allograft: reported outcomes of a hospital-based bone bank over 14 years. *Cell Tissue Bank.* 2016;17(2):269-275. DOI:10.1007/s10561-016-9547-8.
23. Delloye C., Simon P., Nyssen-Behets C., Banse X., Bresler F., Schmitt D. Perforations of cortical bone allografts improve their incorporation. *Clin Orthop Relat Res.* 2002;(396): 240-247.
24. Lomas R., Drummond O., Kearney J.N. Processing of whole femoral head allografts: A method for improving clinical efficacy and safety. *Cell Tissue Bank.* 2000;1(3):193-200. DOI: 10.1023/A:1026512312385.
25. Fölsch C., Mittelmeier W., Bilderbeek U., Timmesfeld N., von Garrel T., Peter Matter H. Effect of Storage Temperature on Allograft Bone. *Transfus Med Hemother.* 2012;39(1):36-40. DOI: 10.1159/000335647.
26. Parkes A.S. Factors affecting the viability of frozen ovarian tissue. *J Endocrinol.* 1958;17(4):337-343.
27. Taylor A.C. The physical state of transition in the freezing of living cells. *Ann N Y Acad Sci.* 1960;85:595-609.
28. Vastel L., Masse C., Mesnil P., Crozier E., Padilla F., Laugier P., Mitton D., Courpied J.P. Comparative ultrasound evaluation of human trabecular bone graft properties after treatment with different sterilization procedures. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2009;90(1):430-437. DOI: 10.1002/jbm.b.31302.
29. DePaula C.A., Truncale K.G., Gertzman A.A., Sunwoo M.H., Dunn M.G. Effects of hydrogen peroxide cleaning procedures on bone graft osteoinductivity and mechanical properties. *Cell Tissue Bank.* 2005;6(4):287-298. DOI: 10.1007/s10561-005-3148-2.
30. Eagle M.J., Man J., Rooney P., Hogg P., Kearney J.N. Assessment of an improved bone washing protocol for deceased donor human bone. *Cell Tissue Bank.* 2015;16(1):83-90. DOI: 10.1007/s10561-014-9443-z.
31. Rauh J., Despang F., Baas J., Liebers C., Pruss A., Gelsinsky M., Günther K.P., Stiehler M. Comparative biomechanical and microstructural analysis of native versus peracetic acid-ethanol treated cancellous bone graft. *Biomed Res Int.* 2014;2014:784702. DOI: 10.1155/2014/784702.
32. Russell N., Rives A., Pelletier M.H., Wang T., Walsh W.R. The effect of supercritical carbon dioxide sterilization on the anisotropy of bovine cortical bone. *Cell Tissue Bank.* 2015;16(1):109-121. DOI: 10.1007/s10561-014-9447-8.
33. Ruphuy G., Souto-Lopes M., Paiva D., Costa P., Rodrigues A.E., Monteiro F.J., Salgado C.L., Fernandes M.H., Lopes J.C., Dias M.M., Barreiro M.F. Supercritical CO₂ assisted process for the production of high-purity and sterile nano-hydroxyapatite/chitosan hybrid scaffolds. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2017 May 4 [Epub ahead of print]. DOI: 10.1002/jbm.b.33903.
34. Mohr J., Germain M., Winters M., Fraser S., Duong A., Garibaldi A., Simunovic N., Alsop D., Dao D., Bessemer R., Ayeni O.R. Bioburden Steering Committee and Musculoskeletal Tissue Working group. Disinfection of human musculoskeletal allografts in tissue banking: a systematic review. *Cell Tissue Bank.* 2016;17(4):573-584. DOI: 10.1007/s10561-016-9584-3.
35. Singh R., Singh D., Singh A. Radiation sterilization of tissue allografts: A review. *World J Radiol.* 2016;8(4): 355-369. DOI: 10.4329/wjr.v8.i4.355.
36. Wassilew G.I., Janz V., Renner L., Perka C., Pruss A. Reduced rates of non-union with modified periacetabular osteotomy using peracetic-acid sterilized cancellous allografts. *Cell Tissue Bank.* 2016;17(4):713-720. DOI: 10.1007/s10561-016-9587-0.
37. Indelicato P.A., Ciccotti M.G., Boyd J., Higgins L.D., Shaffer B.S., Vangsness C.T. Jr. Aseptically processed and chemically sterilized BTB allografts for anterior cruciate ligament reconstruction: a prospective randomized study. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2013;21(9): 2107-2112. DOI: 10.1007/s00167-012-2309-7.
38. Dunsmuir R.A., Gallacher G. Microwave sterilization of femoral head allograft. *J Clin Microbiol.* 2003;41(10):4755-4757.
39. Singh R., Singh D. Sterilization of bone allografts by microwave and gamma radiation. *Int J Radiat Biol.* 2012;88(9):661-666. DOI: 10.3109/09553002.2012.700166.
40. Матвейчук И.В., Розанов В.В., Пантелеев В.И., Агалакова Л.М., Кирилова И.А. Инновационные подходы к совершенствованию процесса стерилизации для решения задач биоимплантологии. *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии.* 2013;11(11):92-97. Matveychuk I.V., Rozanov V.V., Panteleev V.I., Agalakova L.M., Kirilova I.A. [Innovative approaches to improvement of process of sterilization for the solution

- of problems of bioimplantology]. *Voprosy biologicheskoi, meditsinskoi i farmatsevticheskoi khimii* [Problems of Biological, Medical and Pharmaceutical Chemistry]. 2013;11(11):92-97.
41. Rediguieri C.F., Pinto Tde.J., Bou-Chacra N.A., Galante R., de Araújo G.L., Pedrosa Tdo N., Maria-Engler S.S., De Bank P.A. Ozone Gas as a Benign Sterilization Treatment for PLGA Nanofiber Scaffolds. *Tissue Eng Part C Methods*. 2016;22(4):338-347. DOI: 10.1089/ten.TEC.2015.0298.
 42. Shintani H. Ethylene Oxide Gas Sterilization of Medical Devices. *Biocontrol Sci*. 2017;22(1):1-16. DOI: 10.4265/bio.22.1.
 43. Калашников В.В., Гордеев А.В., Павлов Е.П., Бушманов Ю.А. Разработка и применение метода радиационной стерилизации в Федеральном медицинском биофизическом центре им. А. И. Бурназяна (обзор). *Саратовский научно-медицинский журнал*. 2014;10(4):844-849. Kalashnikov V.V., Gordeev A.V., Pavlov E.P., Bushmanov U.A. [Development and application of radiation sterilization method in Federal Medical and Biophysical centre n.a. A.I. Burnazyan (review)]. *Saratovskiy nauchno-meditsinskiy zhurnal* [Saratov Journal of Medical Scientific Research]. 2014;10(4):844-849.
 44. Moore T.M., Gendler E., Gendler E.. Viruses adsorbed on musculoskeletal allografts are inactivated by terminal ethylene oxide disinfection. *J Orthop Res*. 2004;22(6):1358-1361. DOI: 10.1016/j.orthres.2004.05.002.
 45. Trump J.G., Van De Graaff R.J. Irradiation of biological materials by high energy roentgen rays and cathode rays. *J Applied Physics*. 1948;19:599-604. DOI: 10.1063/1.1698178.
 46. Nguyen H, Morgan DA, Forwood MR. Sterilization of allograft bone: effects of gamma irradiation on allograft biology and biomechanics. *Cell Tissue Bank*. 2007;8(2):93-105. DOI: 10.1007/s10561-006-9020-1.
 47. Nguyen H., Morgan D.A., Forwood M.R. Sterilization of allograft bone: is 25 kGy the gold standard for gamma irradiation? *Cell Tissue Bank*. 2007;8(2):81-91. DOI: 10.1007/s10561-006-9019-7.
 48. Tallentire A. The Spectrum of Microbial Radiation Sensitivity. *Radiat Phys Chem*. 1980;15:83-89. DOI: 10.1016/0146-5724(80)90101-6.
 49. Dziejcz-Goclawska A., Kaminski A., Uhrynowska-Tyszkiewicz I., Stachowicz W. Irradiation as a safety procedure in tissue banking. *Cell Tissue Bank*. 2005;6(3):201-219. DOI: 10.1007/s10561-005-0338-x.
 50. Conway B., Tomford W., Mankin H.J., Hirsch M.S., Schooley R.T. Radiosensitivity of HIV-1-potential application to sterilization of bone allografts. *AIDS*. 1991;5(5):608-609.
 51. Шангина О.Р., Нигматуллин Р.Т. Влияние радиационной стерилизации на структуру и свойства биоматериалов. *Морфология*. 2006;129(3):44-47. Shangina O.R., Nigmatullin R.T. [Effect of radiation sterilization on biomaterial structure and properties]. *Morfologiya* [Morphology]. 2006;129(3):44-47.
 52. Шангина О.Р., Хасанов Р.А. Организационная структура и технологическая схема тканевого банка «ALLOPLANT®». *Технологии живых систем*. 2015;12(4):66-67. Shangina O.R., Khasanov R.A. [Organizational structure and technological scheme of "Alloplant®" tissue bank]. *Tekhnologii zhivyykh sistem* [Technologies of Living Systems]. 2015;12(4):66-67.
 53. Hoburg A., Keshlaf S., Schmidt T., Smith M., Gohs U., Perka C., Pruss A., Scheffler S. High-dose electron beam sterilization of soft-tissue grafts maintains significantly improved biomechanical properties compared to standard gamma treatment. *Cell Tissue Bank*. 2015;16(2):219-226. DOI: 10.1007/s10561-014-9461-x.
 54. Burton B., Gaspar A., Josey D., Tupy J., Grynpas M.D., Willett T.L. Bone embrittlement and collagen modifications due to high-dose gamma-irradiation sterilization. *Bone*. 2014;61:71-81. DOI: 10.1016/j.bone.2014.01.006.
 55. Loty B., Courpied J.P., Tomeno B., Postel M., Forest M., Abelanet R.. Bone allografts sterilised by irradiation. Biological properties, procurement and results of 150 massive allografts. *Int Orthop*. 1990;14(3):237-242.
 56. Wientroub S., Reddi A.H. Influence of irradiation on the osteoinductive potential of demineralized bone matrix. *Calcif Tissue Int*. 1988;42(4):255-260.
 57. Balsly C.R., Cotter A.T., Williams L.A., Gaskins B.D., Moore M.A., Wolfenbarger L. Jr. Effect of low dose and moderate dose gamma irradiation on the mechanical properties of bone and soft tissue allografts. *Cell Tissue Bank*. 2008;9(4):289-298. DOI: 10.1007/s10561-008-9069-0.
 58. Seto A., Gatt C.J. Jr, Dunn M.G. Radioprotection of tendon tissue via cross-linking and free radical scavenging. *Clin Orthop Relat Res*. 2008;466(8):1788-1795. DOI: 10.1007/s11999-008-0301-9.
 59. Reid J., Sikka R., Tsoi W., Narvy S.J., Hedman T., Lee T.Q., Vangness C.T. Jr. Sterilization effects on the mechanical properties of human bone-patellar tendon-bone allografts. *Orthopedics*. 2010;33(4). DOI: 10.3928/01477447-20100225-06.
 60. Burgess H.W., Mackrell J., Toms D., Karunanidhi A., Vaidya S., Hollinger J.O., Grieb T.A., Bertenshaw G.P. Response of bone subjected to optimized high dose irradiation. *J Biomater Appl*. 2010;24(5):387-400. DOI: 10.1177/0885328208097088.
 61. Alanay A., Wang J.C., Shamie A.N., Napoli A., Chen C., Tsou P. A novel application of high dose rate (50kGy) gamma irradiation for demineralized bone matrix: effects on fusion rate in a rat spinal fusion model. *Spine J*. 2008;8(5):789-795. DOI: 10.1016/j.spinee.2007.06.009.
 62. Attia T., Woodside M., Minhas G., Lu X.Z., Josey D.S., Burrow T., Grynpas M., Willett T.L. Development of a novel method for the strengthening and toughening of irradiation-sterilized bone allografts. *Cell Tissue Bank*. 2017 May 30 [Epub ahead of print]. DOI: 10.1007/s10561-017-9634-5.
 63. Pruss A., Kao M., von Garrel T., Frommelt L., Gürtler L., Benedix F., Pauli G. Virus inactivation in bone tissue transplants (femoral heads) by moist heat with the 'Marburg bone bank system'. *Biologicals*. 2003;31(1):75-82.
 64. Shin S., Yano H., Fukunaga T., Ikebe S., Shimizu K., Kaku N., Nagatomi H., Masumi S. Masumi Biomechanical properties of heat-treated bone grafts. *Arch Orthop Trauma Surg*. 2005;125(1):1-5. DOI: 10.1007/s00402-004-0746-6.
 65. Vangness C.T. Jr, Mitchell W. 3rd, Nimni M., Erlich M., Saadat V., Schmotzer H. Collagen shortening. An experimental approach with heat. *Clin Orthop Relat Res*. 1997;(337):267-271.
 66. Pruss A., Seibold M., Benedix F., Frommelt L., von Garrel T., Gürtler L., Dörffel Y., Pauli G., Göbel UB. Validation of the 'Marburg bone bank system' for thermodisinfection of allogenic femoral head transplants using selected bacteria, fungi, and spores. *Biologicals*. 2003;31(4):287-294.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ:

Воробьев Константин Александрович – младший научный сотрудник экспериментально-морфологического отделения ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им. Р.Р. Вредена» Минздрава России, Санкт-Петербург

Божкова Светлана Анатольевна – д-р мед. наук, руководитель научного направления профилактики и лечения раневой инфекции, заведующая отделением клинической фармакологии ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им. Р.Р. Вредена» Минздрава России, Санкт-Петербург

Тихилов Рашид Муртузалиевич – д-р мед. наук, профессор, директор ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им. Р.Р. Вредена» Минздрава России, Санкт-Петербург

Черный Андрей Жоржевич – канд. мед. наук, заместитель директора по лечебной работе ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им. Р.Р. Вредена» Минздрава России, Санкт-Петербург

INFORMATION ABOUT AUTHORS:

Konstantin A. Vorobyov – Researcher, Research Department of Experimental Morphology, Vreden Russian Research Institute of Traumatology and Orthopedics, St. Petersburg, Russian Federation

Svetlana A. Bozhkova – Dr. Sci. (Med.), Head of the Research Department of Prevention and Treatment of Wound Infection and Department of Clinical Pharmacology, Vreden Russian Research Institute of Traumatology and Orthopedics, St. Petersburg, Russian Federation

Rashid M. Tikhilov – Dr. Sci. (Med.) Professor, Director of Vreden Russian Research Institute of Traumatology and Orthopedics, St. Petersburg, Russian Federation

Andrey Zh. Cherny – Cand. Sci. (Med), Clinical Director of Vreden Russian Research Institute of Traumatology and Orthopedics, St. Petersburg, Russian Federation