

# Биологические аспекты применения композиционных материалов на основе полилактида в ортопедии

П.М. Качалина<sup>1</sup>, П.А. Ковалева<sup>1</sup>, А.И. Черемных<sup>1</sup>, В.А. Львов<sup>1</sup>, Н.Ю. Анисимова<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский технологический университет «МИСиС»; Россия, 119049 Москва, Ленинский пр-кт, 4;

<sup>2</sup>ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115522 Москва, Каширское шоссе, 24

**Контакты:** Полина Михайловна Качалина [m1905504@edu.misis.ru](mailto:m1905504@edu.misis.ru)

**Введение.** Пациентам со злокачественными опухолями костей и суставов часто требуется проведение реконструктивных операций для остеосинтеза или артродеза. Дизайн конструкции может быть реализован за счет 3D-печати с использованием биodeградируемых материалов с эффектом памяти формы, что позволит облегчить оперативный доступ и снизить риск проведения повторной операции.

**Цель исследования** – оценка механических свойств, биосовместимости и биологической активности полимеров из полилактида (ПЛА) с добавлением гидроксиапатита (ГА) и диоксида кремния (SiO<sub>2</sub>), произведенных методом экструзии и 3D-печати, для выявления перспектив разработки на их основе имплантатов для остеореконструктивных операций.

**Материалы и методы.** Материалы на основе ПЛА с добавлением 10, 15 и 20 % ГА и SiO<sub>2</sub> были получены методом экструзии. Из данных материалов методом 3D-печати получили образцы, прошедшие исследование на сжатие. Исследовали также экстракты образцов, полученные после инкубации образцов в фетальной телячьей сыворотке в течение 30 сут. Биосовместимость оценивали по уровню гемолиза и цитотоксичности экстрактов из материалов, а также стимуляции оксидативного стресса. Отдельно изучали влияние экстрактов на клеточную адгезию и интенсивность колонизации мультипотентными мезенхимальными стромальными клетками поверхности как интактных, так и подвергнутых биodeградации образцов.

**Результаты.** Установлено, что добавление к ПЛА ГА и SiO<sub>2</sub> не приводило к достоверному нарастанию гемолиза и цитотоксичности в сравнении с чистым ПЛА. Однако инкубация с экстрактами образцов, содержащих 20 % примеси, стимулировала нарастание оксидативного стресса в лейкоцитах и угнетала клеточную адгезию. Образцы на основе смеси ПЛА с 10 и 15 % ГА максимально эффективно стимулировали колонизацию клетками поверхности образцов.

**Заключение.** Материалы на основе ПЛА, дополненного 10 и 15 % ГА, сочетают высокую прочность, биосовместимость, способность к биodeградации и эффективную osteoкондуктивность, что делает их перспективными кандидатами для изготовления имплантатов для остеореконструкции и артродеза пациентов с проблемами опорно-двигательной системы, и в частности онкологических больных.

**Ключевые слова:** имплантат, полилактид, эффект памяти формы, артродез, остеопластика

**Для цитирования:** Качалина П.М., Ковалева П.А., Черемных А.И. и др. Биологические аспекты применения композиционных материалов на основе полилактида в ортопедии. Российский биотерапевтический журнал 2025;24(1):78–86.

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2025-24-1-78-86>

## Biological aspects of the polylactide-based composite materials application in orthopedics

Polina M. Kachalina<sup>1</sup>, Polina A. Kovaleva<sup>1</sup>, Anna I. Cheremnykh<sup>1</sup>, Vladislav A. Lvov<sup>1</sup>, Natalia Yu. Anisimova<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>National University of Science and Technology «MISIS»; 4 Leninskiy Pr., Moscow 119049, Russia;

<sup>2</sup>N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia; 24 Kashirskoe Shosse, Moscow 115522, Russia

**Contacts:** Polina Mikhailovna Kachalina [m1905504@edu.misis.ru](mailto:m1905504@edu.misis.ru)

**Background.** Patients with malignant bone and joint tumors often require reconstructive surgery for osteosynthesis or arthrodesis. The design of the implant can be realized by 3D printing using biodegradable materials with shape memory effect, which will facilitate operative access and reduce the risk of reoperation.

**Aim.** The study aimed to evaluate the mechanical properties, biocompatibility and biological activity of polylactide (PLA) with hydroxyapatite (HA) and silicon dioxide (SiO<sub>2</sub>) produced by extrusion and 3D printing to identify prospects for the development of implants based on them for osteoreconstructive surgeries.

**Materials and methods.** Materials based on PLA with the addition of 10, 15 and 20 % HA and SiO<sub>2</sub> were obtained by extrusion. These materials were 3D-printed to produce samples that underwent a compression test. Their extracts obtained after incubation of the samples in fetal calf serum for 30 days were examined. Biocompatibility was assessed by the level of hemolysis and cytotoxicity of the extracts, as well as stimulation of oxidative stress. The effects of the extracts on cell adhesion and intensity of multipotent mesenchymal stromal cells colonization on the surface of both intact and biodegraded samples were studied separately.

**Results.** The addition of HA and SiO<sub>2</sub> to PLA did not significantly increase hemolysis and cytotoxicity compared to pure PLA. However, incubation with extracts of samples containing 20 % stimulated an increase in oxidative stress in leukocytes, and inhibited cell adhesion. Samples with 10 and 15 % HA maximally stimulated cell colonization on the sample surface.

**Conclusion.** Materials based on PLA with 10 and 15 % HA combine high strength, biocompatibility, biodegradability and effective osteoconductivity, which makes them promising candidates for implants for osteoreconstruction and arthrodesis.

**Keywords:** implant, polylactide, shape memory effect, arthrodesis, osteoplasty

**For citation:** Kachalina P.M., Kovaleva P.A., Cheremnykh A.I. et al. Biological aspects of the polylactide-based composite materials application in orthopedics. *Rossijskij bioterapevticeskij zurnal = Russian Journal of Biotherapy* 2025;24(1):78–86. (In Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2025-24-1-78-86>

## Введение

Необходимость проведения реконструкции костей и суставов возникает вследствие целого ряда причин, к которым относят травмы, хроническую деформацию, врожденное недоразвитие или разрушение кости опухолью [1]. Наиболее частыми онкологическими заболеваниями, приводящими к разрушению костной ткани, являются остеосаркома [2, 3], саркома Юинга, хондросаркома, рецидивы или развитие метастазов иных видов злокачественных опухолей. Хирургическое лечение злокачественных опухолей костей включает резекцию образования и проведение реконструктивных операций [4]. Несмотря на широкое распространение в клинической практике имплантатов на основе нержавеющей стали или титановых сплавов, они не обеспечивают все возникающие потребности, особенно в тех случаях, когда требуется применение биodeградируемого имплантата [5].

К материалам, разрабатываемым для этих целей, предъявляется целый спектр требований. Например, проведение артродеза за счет использования достаточно жестких конструкций призвано обеспечить бездвиживание суставного сочленения, а оказываемая ими компрессия должна препятствовать сдвигу или изгибанию [6], обеспечивать плотное прилегание частей бывшего сустава, позволяя осуществлять опороспособность конечности без вовлечения патологического

сустава. Именно поэтому имплантируемая конструкция для артродеза, наряду с биосовместимостью и прочностью, должна по своей конфигурации быть конгруэнтной фиксируемому суставу или его фрагментам. Сложный дизайн конструкции может быть реализован за счет использования современных методов прототипирования, таких как 3D- и 4D-принтинг, позволяющих получать как стандартизированные, так и индивидуализированные изделия, разработанные по снимкам компьютерной/магнитно-резонансной томографии конкретного пациента [7, 8]. В последние годы разрабатывается новое направление получения таких конструкций за счет использования материалов с эффектом памяти формы. Данный подход позволяет упростить хирургический доступ для вводимой конструкции, которая может менять свою форму или размеры после введения в область дефекта под влиянием внешнего стимула (температуры, магнитного поля, pH и т.д.) [8–11].

В настоящее время исследователи в качестве оптимального кандидата для разработки изделий подобного рода используют полилактид (ПЛА), поскольку он широко применяется для 3D-печати, чувствителен к тепловому программированию, используется для тканевой инженерии, сердечно-сосудистой хирургии и ортопедии [12–14]. Как известно, ПЛА относится к биodeградируемым материалам, что перспективно для разработки на его основе погружных

изделий для артродеза и остеопластики. Объем изделия будет постепенно замещаться собственными тканями пациента, стимулируя остео- и хондрогенез. Для улучшения свойств медицинских изделий на основе ПЛА предложено использовать композиты с дисперсными наполнителями, что призвано увеличить чувствительность к термическому программированию, а также улучшить степень восстановления формы. Однако число работ, описывающих исследования по данной тематике, невелико, и пока нет доказательств успешного внедрения в рутинную клиническую практику биодеградируемых имплантатов с эффектом памяти формы для ортопедии и артродеза [13, 15].

В течение ряда лет на базе ФГАОУ ВО НИТУ «МИСиС» идут работы по разработке инновационных полимерных материалов для замещения костных и хрящевых дефектов, а также получению на их основе изделий со специфической активностью, перспективных для применения в ортопедии и онкологии [16, 17]. На данный момент получены и исследованы различные материалы на основе ПЛА для создания инновационных медицинских изделий [18, 19]. Перспективным направлением представляется разработка материалов с эффектом памяти формы на основе ПЛА с гидроксипапатитом (ГА) и диоксидом кремния ( $\text{SiO}_2$ ), однако еще не сформировалось единого мнения об их составе, обеспечивающем оптимальное сочетание прочностных характеристик, биосовместимости и биологической активности.

**Цель исследования** – оценка механических свойств, биосовместимости и биологической активности полимеров из ПЛА с добавлением ГА и  $\text{SiO}_2$ , произведенных методом экструзии и 3D-печати, для выявления перспектив разработки на их основе имплантатов для остеореконструктивных операций.

### Материалы и методы

Для проведения исследований использовали материалы на основе ПЛА с молекулярной массой 209 000 г/моль, наполненные 10, 15 и 20 % массовой доли примесей. ГА в виде частиц 5–50 нм (ПЛА/10 % ГА, ПЛА/15 % ГА и ПЛА/20 % ГА соответственно) и  $\text{SiO}_2$  в виде частиц 6–9 мкм (ПЛА/10 %  $\text{SiO}_2$ , ПЛА/15 %  $\text{SiO}_2$  и ПЛА/20 %  $\text{SiO}_2$  соответственно). Материалы получены методом экструзии при температуре 180 °С, после чего методом 3D-печати получены экспериментальные образцы.

Механические испытания на сжатие проводили на образцах ПЛА и композитов (по 4 образца каждого состава) согласно ГОСТ 4651–2014 «Пластмассы. Метод испытания на сжатие» на универсальной испытательной машине Zwick/Roell Z202 (Zwick GmbH & Co. KG, Германия). Испытание прекращали при достижении образцом деформации 50 % или при разрушении.

Для исследования биологической активности использовали образцы материалов размером  $40 \times 5 \times 2$  мм, предварительно обработанные в 70-процентном растворе этилового спирта под действием ультразвука в течение 10 мин, высушенные при температуре 40 °С и подвергнутые ультрафиолетовому облучению в течение 2 ч. Исследовали также содержащие продукты биодеградации образцов экстракты. Для получения экстрактов образцы материалов инкубировали в фетальной телячьей сыворотке (HyClone, Thermo Fisher, Великобритания) при температуре 37 °С в атмосфере с 5 %  $\text{CO}_2$  в течение 30 сут. Смену среды инкубации проводили каждые 3 дня. Затем собирали супернатант, полученный после центрифугирования последних порций сыворотки при 5000 об/мин в течение 5 мин.

Для оценки биосовместимости производили оценку способности материалов на основе ПЛА индуцировать гемолиз и цитотоксичность. Исследования проводили с использованием эритроцитов и мононуклеарных лейкоцитов, выделенных из крови мышей линии C57Bl/6 и суспендированных в растворе Хенкса в концентрации  $6,2 \times 10^9$  кл/мл и в питательной среде на основе Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) с добавлением 4 мМ L-глутамин, 1 % пенициллина/стрептомицина («ПанЭко», Россия) и 10 % фетальной бычьей сыворотки (HyClone, Thermo Fisher, Великобритания) в концентрации  $6 \times 10^6$  кл/мл соответственно. Клетки инкубировали с экстрактами при соотношении объемов 9:1. В качестве контроля использовали клетки, инкубированные при соблюдении указанных условий в среде, дополненной фетальной бычьей сывороткой при соотношении объемов 9:1 без добавления экстрактов. Гемолиз оценивали через 2 ч инкубации, измеряя в триплетах оптическую плотность супернатантов при длине волны 540 нм с помощью планшетного ридера Spark (Tecan, Швейцария), с последующим расчетом уровня гемолиза, выраженного в процентах, как описано ранее [20]. Цитотоксичность определяли в триплетах через 1 сут инкубации по изменению уровня активности лактатдегидрогеназы клеток с использованием набора Pierce LDH Cytotoxicity Assay Kit (Thermo Scientific, США) в соответствии с рекомендациями производителя. Оптическую плотность измеряли при длине волны 492 нм с референсом при 620 нм с использованием планшетного ридера. Цитотоксичность рассчитывали как процент активности лактатдегидрогеназы клеток, совместно инкубированных с экстрактами образцов, по отношению к среднему значению в контроле.

Для изучения уровня оксидативного стресса лейкоциты мыши инкубировали с экстрактами, а затем анализировали концентрацию клеток с активными формами кислорода с помощью Muse® Oxidative Stress Kit (EMD Millipore, США) и клеточного анализатора Muse Cell Analyser (Millipore, Германия).

Адгезию клеток изучали в процессе инкубации мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток (ММСК) мышей (коллекция ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина») в полной питательной среде в концентрации  $5,8 \times 10^5$  кл/мл, содержащей экстракты композитов при соотношении объемов 9:1, с использованием системы анализа клеток в реальном времени Agilent (RTCA xCELLing, ACEA Biosciences, США). В контроле клетки инкубировали в среде без экстракта. Результаты оценивали в дуплетах, анализируя динамику изменения в течение 24-часовой инкубации клеточного индекса, рассчитанного с использованием программного обеспечения прибора. Документирование клеточной адгезии осуществляли через 2 ч инкубации. С этой целью клетки промывали свежей порцией среды, окрашивали красителем Calcein AM (Sigma-Aldrich, USA) в соответствии с инструкцией производителя и фиксировали наличие на дне лунок распластанных живых флуоресцирующих клеток с использованием микроскопа LionHeart FX (Perkin Elmer, USA).

Для изучения способности материалов стимулировать колонизацию клетками поверхности использовали ММСК. 20 мкл ММСК, суспендированных в питательной среде ( $6 \times 10^5$  кл/мл), высевали на поверхность образцов до начала и после 30 сут биodeградации в условиях, описанных выше. Через 5 сут инкубации образцы промывали, окрашивали и изучали клетки на их поверхности после окраски Calcein AM.

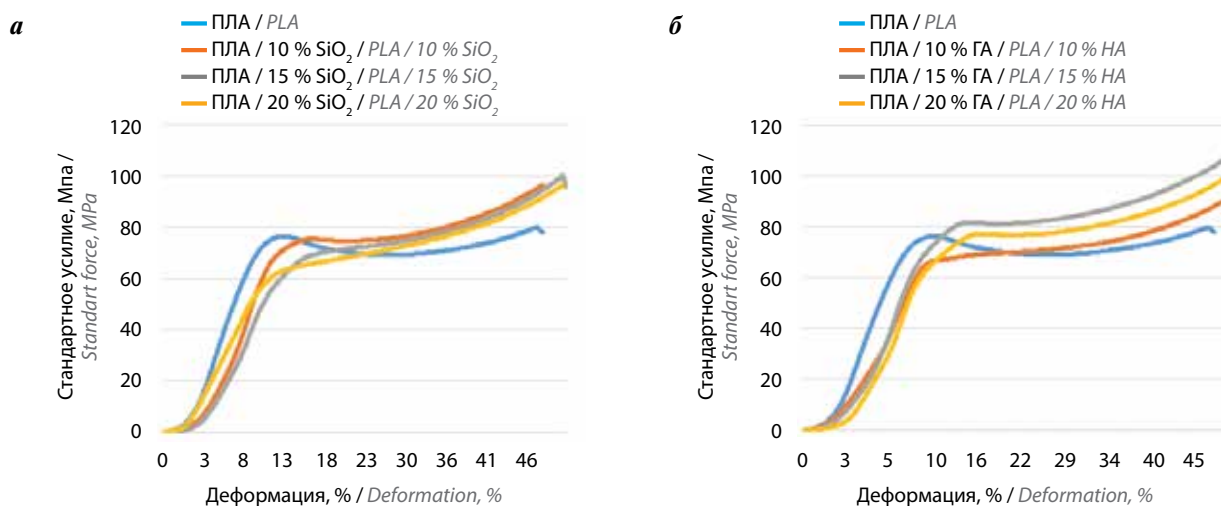
Измерения представлены как среднее значение  $\pm$  стандартное отклонение. Однофакторный дисперсионный анализ и *t*-критерий Стьюдента использованы для расчета значений *p*. Различия считались достоверными при  $p < 0,05$ .

## Результаты и обсуждение

Результаты механических испытаний на сжатие образцов ПЛА, а также ПЛА/SiO<sub>2</sub> и ПЛА/ГАП 10, 15 и 20 % массовой доли примесей наполнителя представлены на рис. 1. Из графиков видно, что добавление SiO<sub>2</sub> приводит к снижению нагрузки, которую образец способен выдержать упруго, в то время как добавление ГА приводит к возрастанию данного значения. Кроме того, при концентрации 15 % массовой доли примесей наблюдается наибольшее значение нагрузки, которую способен выдержать образец. Данное значение составляет ~100 МПа, что на 25 МПа больше, чем для чистого ПЛА.

Данные модуля Юнга исследованных материалов, полученные из графиков испытаний на сжатие, представлены в табл. 1. Можно заметить, что добавление наполнителя вызывает возрастание значений упругости. Для образцов ПЛА/SiO<sub>2</sub> данное значение достигает максимума при концентрации наполнителя 10 % массовой доли примесей, после чего оно постепенно снижается. Для ПЛА/ГА наблюдается плавный рост модуля Юнга, а максимум достигается при ГА 15 % массовой доли примесей. Исходя из полученных данных можно сделать вывод о том, что максимальная оптимизация свойств композитов наблюдается для ПЛА/ГА 15 % массовой доли примесей.

Для изучения биосовместимости разработанных материалов проведены исследования индуцированного гемолиза и цитотоксичности. Выполненный анализ показал, что после инкубации клеток крови со всеми образцами на основе ПЛА не отмечали достоверной разницы этих показателей в сравнении с контролями ( $p > 0,05$ ). Показано, что в сравнении с ПЛА активность образцов, содержащих различные



**Рис. 1.** Графики зависимости стандартных усилий от деформации при сжатии образцов из полилактида (ПЛА), а также композитов с 10, 15 и 20 % массовой доли примесей диоксида кремния (SiO<sub>2</sub>) (а) и гидроксиапатита (ГА) (б)

**Fig. 1.** Graphs of dependence of standard forces on strain during compression of polylactide (PLA) samples and composites with 10, 15 and 20 % mass fraction of impurities, of silicon dioxide (SiO<sub>2</sub>) (a) and hydroxyapatite (HA) (б)

**Таблица 1.** Значения модуля Юнга для полилактида (ПЛА) и композитов с 10, 15 и 20 % массовой доли примесей диоксида кремния ( $\text{SiO}_2$ ) и гидроксиапатита (ГА)

**Table 1.** Young's modulus for polylactide (PLA) and composites with 10, 15 and 20 % mass fraction of impurities of silicon dioxide ( $\text{SiO}_2$ ) and hydroxyapatite (HA)

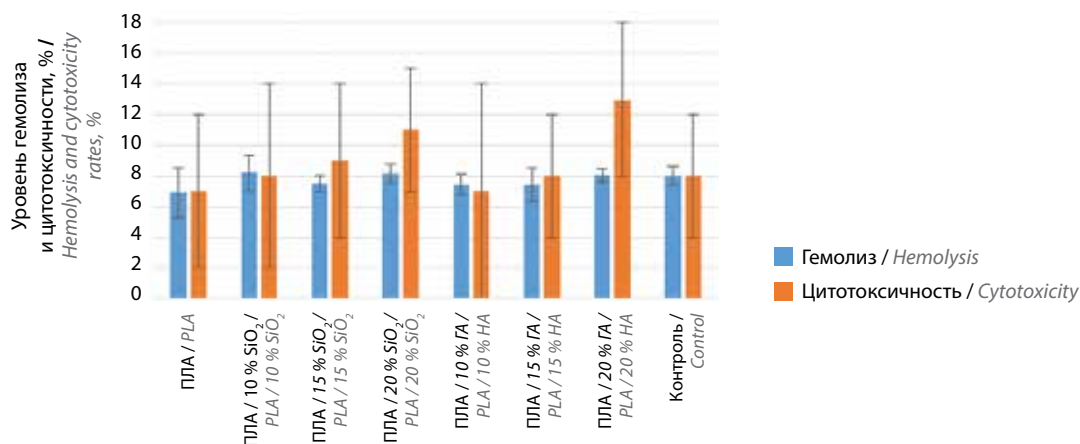
Материал Material	Модуль Юнга, МПа Young's modulus, MPa	Материал Material	Модуль Юнга, МПа Young's modulus, MPa
ПЛА PLA	870,66	ПЛА PLA	870,66
ПЛА/10 % $\text{SiO}_2$ PLA/10 % $\text{SiO}_2$	1154,46	ПЛА/10 % ГА PLA/10 % HA	961,66
ПЛА/15 % $\text{SiO}_2$ PLA/15 % $\text{SiO}_2$	1016,88	ПЛА/15 % ГА PLA/15 % HA	1124,73
ПЛА/20 % $\text{SiO}_2$ PLA/20 % $\text{SiO}_2$	1041,98	ПЛА/20 % ГА PLA/20 % HA	1123,46

концентрации  $\text{SiO}_2$  и ГА, достоверно не нарастала (рис. 2). Однако можно заметить тенденцию нарастания цитотоксичности и гемолиза под воздействием продуктов биodeградации материалов, содержащих максимальную концентрацию  $\text{SiO}_2$  и ГА, соответствующую 20 % массовой доли примесей, хотя это и не было подтверждено результатами сравнительного статистического анализа ( $p > 0,05$ ).

Для углубленного исследования характера оказываемого на клетки потенциального негативного воздействия было изучено развитие окислительного стресса в культуре клеток под влиянием экстрактов указанных материалов. Полученные данные показали, что под воздействием продуктов биodeградации образцов на основе ПЛА, содержащих 20 % массовой

доли примесей  $\text{SiO}_2$  или ГА, наблюдали значимое (в 3–4 раза) увеличение содержания клеток с признаками индукции окислительного стресса в сравнении с контролем ( $p = 0,048$  и  $p = 0,020$  соответственно) (рис. 3). Статистически достоверно этот эффект был доказан только относительно экстракта ПЛА/20 %  $\text{SiO}_2$  ( $p = 0,044$ ). Как известно, накопление в клетках избыточных количеств активных форм кислорода вызывает повреждение белков, нуклеиновых кислот, липидов мембран и органелл, инициируя активацию апоптоза, опосредующего оставленную во времени гибель клеток [21].

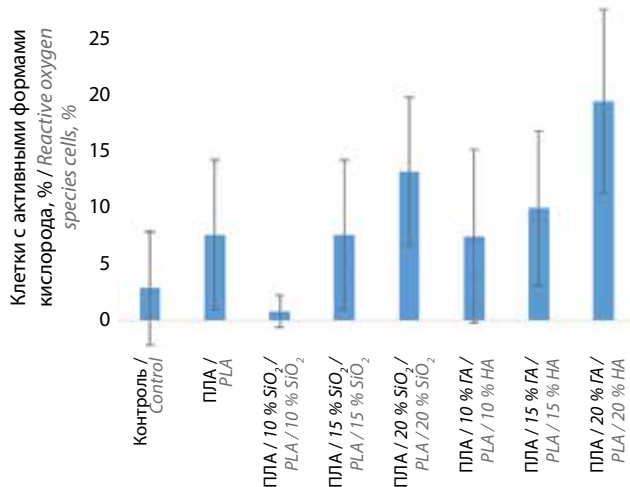
Поскольку под влиянием продуктов биodeградации исследованных образцов не обнаружено статистически достоверного повышения уровня гемолиза



**Рис. 2.** Индукция гемолиза и цитотоксичности под влиянием продуктов биodeградации материалов на основе чистого полилактида (ПЛА), а также композитов на его основе, содержащих диоксид кремния ( $\text{SiO}_2$ ) и гидроксиапатит (ГА) в концентрации 10, 15 и 20 % массовой доли примесей в сравнении с контролем

**Fig. 2.** Induction of hemolysis and cytotoxicity under the influence of biodegradation products of polylactide (PLA) based materials, as well as composites, containing silicon dioxide ( $\text{SiO}_2$ ) and hydroxyapatite (HA) at concentrations of 10, 15 and 20 % mass fraction of impurities in comparison with the control





**Рис. 3.** Стимуляция оксидативного стресса в культуре мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток под влиянием экстрактов материалов на основе чистого полилактида (ПЛА), а также его смеси с диоксидом кремния ( $\text{SiO}_2$ ) и гидроксиапатитом (ГА) в различной концентрации. \* $p < 0,05$

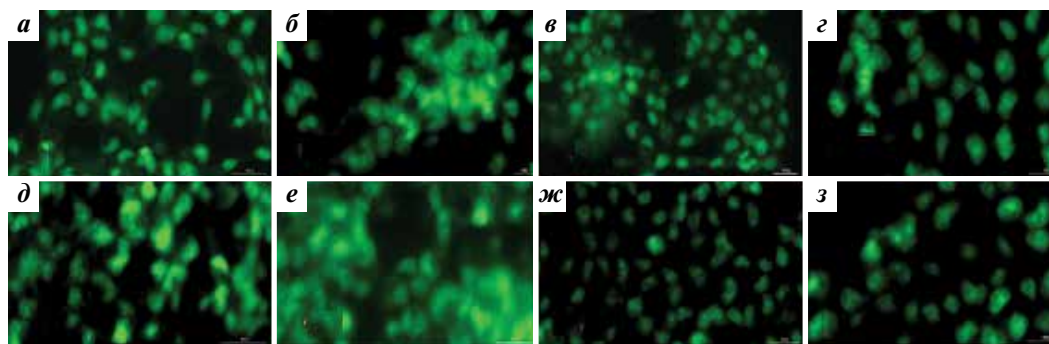
**Fig. 3.** Stimulation of oxidative stress in multipotent mesenchymal stromal cells culture under the influence of extracts of polylactide (PLA) based materials, as well as composites with silicon dioxide ( $\text{SiO}_2$ ) and hydroxyapatite (HA) at different concentrations. \* $p < 0.05$

и цитотоксичности в сравнении со спонтанным уровнем в контроле, то можно сделать вывод о биосовместимости всех материалов на основе ПЛА. Тем не менее следует учитывать возможность реализации последствий токсического воздействия на клетки продуктов деградации образцов, содержащих 20 % массовой доли примесей, при удлинении времени совместной инкубации без промежуточной смены среды.

Стимуляция клеточной адгезии является одним из наиболее изучаемых параметров, характеризующих биосовместимость и перспективы применения разрабатываемых для остеопластики материалов, поскольку

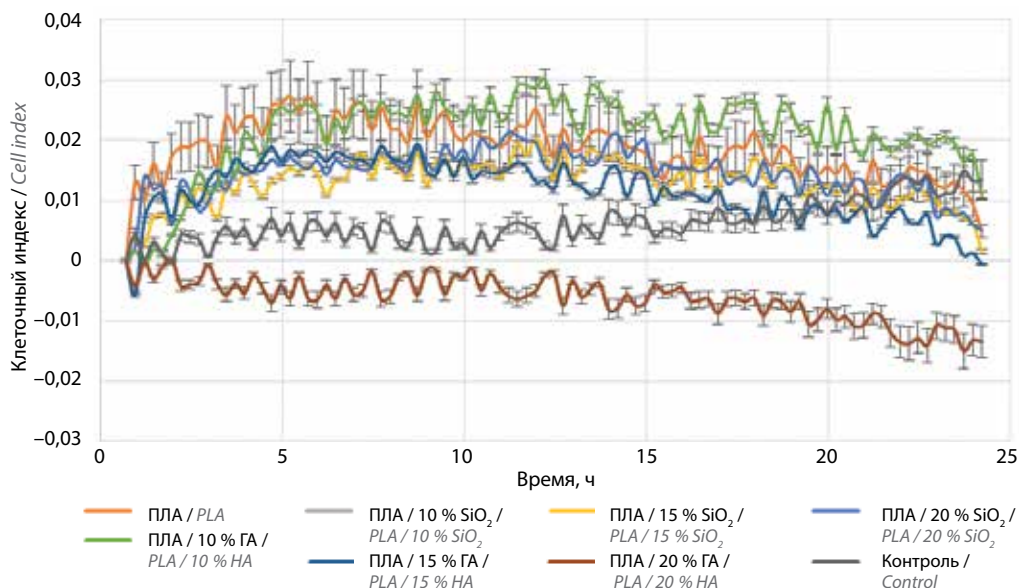
опосредует их колонизацию аутологичными клетками и возможность последующей интеграции имплантата в ткани. Изучение клеточной адгезии под влиянием экстрактов материалов, проведенное посредством флуоресцентной микроскопии распластанных клеток, позволило удостовериться в том, что через 2 ч коинкубации слабее всего клеточную активность стимулировали образцы ПЛА/20 %  $\text{SiO}_2$ , а ПЛА/10 % ГА и ПЛА/15 % ГА проявляли наиболее выраженную активность (рис. 4). Эффект остальных образцов был незначителен относительно контроля.

Более подробно кинетику адгезии клеток под воздействием продуктов биодеградации различных образцов на основе ПЛА можно проследить на графике, отображающем изменение клеточной реактивности относительно базового уровня в ходе 24-часовой коинкубации (рис. 5). Можно видеть, что почти сразу после внесения в среду инкубации экстракта ПЛА/20 %  $\text{SiO}_2$  начало проследиваться снижение уровня клеточного индекса, прямо коррелирующего с количеством адгезивных клеток и степенью их распластывания на дне лунки, характеризовавшееся интенсивным уменьшением показателя после 15 ч инкубации. Кинетика этого процесса может указывать на постепенное накопление негативного для клеточной активности эффекта воздействия данного экстракта, реализующегося либо за счет индукции апоптоза, либо за счет цитопатогенного воздействия, опосредованного реакцией поверхностных рецепторов, ведущего к ошариванию и откреплению клеток от подложки. В контроле наблюдали достаточно равномерное повышение клеточного индекса в ходе инкубации, что, вероятно, обусловлено нарастанием конфлюэнтности вследствие реализации пролиферативного клеточного потенциала. Остальные экстракты стимулировали достаточно быстрое нарастание



**Рис. 4.** Влияние экстрактов образцов полилактида (а), а также смеси полилактида с диоксидом кремния в концентрации 10 % (б), 15 % (в), 20 % (г) и гидроксиапатитом в концентрации 10 % (д), 15 % (е), 20 % (ж) на адгезию мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток через 2 ч после начала инкубации в сравнении с контролем (з)

**Fig. 4.** Effect of extracts of pure polylactide samples (a), as well as polylactide and silicon dioxide mixture at concentrations of 10 % (б), 15 % (в), 20 % (г) and hydroxyapatite at concentrations of 10 % (д), 15 % (е), 20 % (ж) on adhesion of multipotent mesenchymal stromal cells 2 h after the beginning of incubation compared to control (з)

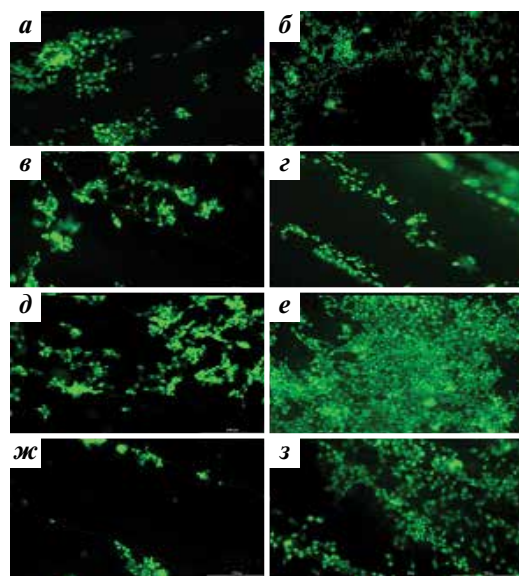


**Рис. 5.** Динамика клеточного индекса в процессе инкубации мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток в питательной среде, содержащей экстракты образцов чистого полилактида (ПЛА), а также смеси ПЛА с диоксидом кремния ( $\text{SiO}_2$ ) и гидроксиапатитом (ГА) в концентрации 10, 15 и 20 % массовой доли примесей в сравнении с контролем

**Fig. 5.** Cell index dynamics in the process of multipotent mesenchymal stromal cells incubation in nutrient medium containing extracts of pure polylactide (PLA) samples, as well as a mixture of PLA with silicon dioxide ( $\text{SiO}_2$ ) and hydroxyapatite (HA) at concentrations of 10, 15 and 20 % mass fraction of impurities in comparison with control

клеточного индекса уже в первые 20 мин после начала эксперимента с поддержанием заданного уровня в течение 13–15 ч с последующим плавным ослаблением реактивности ММСК. Учитывая остеогенный потенциал ММСК [22], можно констатировать, что полученные результаты указывают на наличие у всех материалов, кроме ПЛА/20 %  $\text{SiO}_2$ , остеокондуктивных свойств, проявляющихся в способности стимулировать адгезию остеогенных клеток. Такое свойство разрабатываемых материалов на основе ПЛА, дополненных ГА и  $\text{SiO}_2$ , позволяет надеяться на то, что изготовленные из них имплантаты с эффектом памяти формы будут активно стимулировать ускоренную фиксацию в области дефекта, а также его репарацию за счет неоостеогенеза.

Успешная колонизация клетками поверхности имплантата, с одной стороны, обусловлена активацией клеточной адгезии за счет экспрессии на поверхности мембраны рецепторов, опосредующих прикрепление к скаффолду. К таковым относят рецепторы интегринов, фибронектина, витронектина, ламинина [23]. С другой стороны, этот результат зависит от развитости рельефа имплантата, облегчающего сцепление с клеткой, а также обеспечивающего оптимальные условия для пролиферации [24]. Ожидается, что биodeградация ведет к модификации поверхности имплантата и образованию рельефа, однако конечный эффект стимуляции колонизации зависит от характера биodeградации материала его



**Рис. 6.** Результаты клеточной адгезии на поверхностях образцов после прохождения ими процесса биodeградации: а – полилактид (ПЛА); б – контроль; в – ПЛА с добавлением 10 % диоксида кремния ( $\text{SiO}_2$ ); г – ПЛА с добавлением 10 % гидроксиапатита (ГА); д – ПЛА с добавлением 15 %  $\text{SiO}_2$ ; е – ПЛА с добавлением 15 % ГА; ж – ПЛА с добавлением 20 %  $\text{SiO}_2$ ; з – ПЛА с добавлением 20 % ГА

**Fig. 6.** Results of cell adhesion on the surfaces of the samples after they undergo biodegradation process: а – polylactide (PLA); б – control; в – PLA with addition of 10 % silicon dioxide ( $\text{SiO}_2$ ); г – PLA with addition of 10 % hydroxyapatite (HA); д – PLA with addition of 15 %  $\text{SiO}_2$ ; е – PLA with addition of 15 % HA; ж – PLA with addition of 20 %  $\text{SiO}_2$ ; з – PLA with addition of 20 % HA

основы. Очевидно, что если биодеградация поверхности имплантата протекает слишком бурно, то клетки будут элиминированы с поверхности вместе с частями разрушающейся основы. В нашем исследовании было проведено сравнительное изучение эффекта стимуляции колонизации ММСК поверхности интактных образцов до начала биодеградации и образцов после 30 сут биодеградации в фетальной телячьей сыворотке. Полученные данные, представленные на рис. 6, показали нарастание интенсивности клеточной колонизации на поверхности образцов, предварительно подвергнутых деградации в биоактивной среде. В сравнении с чистым ПЛА образцы, содержащие 10 и 15 % массовой доли примесей наполнителей, показали более выраженный эффект. Наименьшее количество клеток детектировали на поверхности образцов ПЛА/20 % ГА и ПЛА/20 % SiO<sub>2</sub>, а наибольшее – на образцах ПЛА/10 % ГА и ПЛА/15 % ГА как интактных, так и подвергнутых предварительной деградации в биоактивной среде.

### Заключение

По результатам проведенных экспериментов можно сделать вывод о том, что введение в ПЛА наполнителя в виде 20 % ГА и SiO<sub>2</sub> способствовало нарастанию токсичности образцов, вероятно, за счет накопления в среде продуктов биодеградации, что опосредовало нарастание уровня окислительного стресса, потенцирующего инициацию апоптоза.

Образцы имплантатов с поверхностью, измененной вследствие предварительной биодеградации

в сыворотке крови, более активно стимулировали колонизацию ММСК на поверхности. В ходе последующих исследований предполагается изучение эффективности предварительной инкубации имплантатов в биоактивной среде для усложнения рельефа подложки с целью стимуляции остеокондуктивности *in vivo*. Быстрая фиксация клеток на ложе имплантата в ранний постоперационный период способствует стабильности остеосинтеза и артродеза, ускоренной фиксации имплантата в конструкции и окружающих тканях и даже может снизить риск развития местных инфекционных осложнений, поскольку будет препятствовать развитию бактериальной пленки на поверхности имплантата [25].

Поскольку оптимальное сочетание прочностных свойств и биосовместимости наряду с эффективной остеокондуктивностью обеспечивает введение в ПЛА 10 и 15 % ГА, эти материалы можно рекомендовать для изготовления имплантатов для проведения остеосинтеза и артродеза с последующим изучением свойств изделий *in vivo*. Описанные медицинские изделия представляют интерес для использования при лечении широкого контингента пациентов с проблемами опорно-двигательной системы в целом и онкологических больных в частности. В дальнейшем ценность этой разработки для лечения пациентов со злокачественными опухолями, поражающими кости и суставы, может быть еще более усилена за счет модификации имплантатов противоопухолевыми препаратами с целью достижения местного циторедуктивного эффекта и предотвращения рецидива заболевания.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Гуди С.М., Епишин В.В., Пахомов И.А. и др. Проксимальный межфаланговый артродез в комплексе лечения пациентов с молоткообразной деформацией малых пальцев стопы. Современные проблемы науки и образования 2018;6. URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=28341>. Godi S.M., Epishin V.V., Pakhomov I.A. et al. Proximal interphalangeal arthrodesis in the complex treatment of patients with hammer-shaped deformity of the small toes. *Sovremennye problemy nauki y obrazovaniya* = Modern Problems of Science and Education 2018; 6. (In Russ.). URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=28341>.
2. Bielack S., Carrle D., Casali P.G. et al. Osteosarcoma: ESMO clinical recommendations for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2009;20(Suppl. 4):137–9. DOI: 10.1093/annonc/mdn102
3. Allison D.C., Carney S.C., Ahlmann E.R. et al. A meta-analysis of osteosarcoma outcomes in the modern medical era. *Sarcoma* 2012;2012(4):704872. DOI: 10.1155/2012/704872
4. Li Y., Yang Y., Huang Z. et al. Bone defect reconstruction with autologous bone inactivated with liquid nitrogen after resection of primary limb malignant tumors: An observational study. *Medicine* 2020;99(24):20442. DOI: 10.1097/MD.0000000000020442
5. Tapscott D.C., Wottowa C. Orthopedic Implant Materials. 2023. In: StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2024.
6. Benjamin B., Ryan P., Chechel'nitskaya Y. et al. Intraosseous device for arthrodesis in foot and ankle surgery: review of the literature and biomechanical properties. *World J Orthop* 2021;12(12):1036–44. DOI: 10.5312/wjo.v12.i12.1036
7. Ngo T.D., Kashani A., Imbalzano G. et al. Additive manufacturing (3D printing): a review of materials, methods, applications and challenges. *Compos B Eng* 2018;143:172–96. DOI: 10.1016/j.compositesb.2018.02.012
8. Gisario A., Kazarian M., Martina F. et al. Metal additive manufacturing in the commercial aviation industry: a review. *J Manuf Syst* 2019;53:124–49. DOI: 10.1016/j.jmsy.2019.08.005
9. Khoo Z.X., Teoh J.E.M., Liu Y. et al. 3D printing of smart materials: a review on recent progresses in 4D printing. *Virtual Phys Prototyp* 2015;10(3):103–22. DOI: 10.1080/17452759.2015.1097054
10. Huang W.M., Zhao Y., Wang C. et al. Thermo/chemo-responsive shape memory effect in polymers: a sketch of working mechanisms, fundamentals and optimization. *J Polym Res* 2012;19(9):9952. DOI: 10.1007/s10965-012-9952-z



11. Mehrpouya M., Vahabi H., Janbaz Sh. et al. 4D printing of shape memory polylactic acid (PLA). *Polymer* 2021;230:124080. DOI: 10.1016/j.polymer.2021.124080
12. Sun L., Wang T.X., Chen H. et al. A brief review of the shape memory phenomena in polymers and their typical sensor applications. *Polymers* 2019;11(6):1049. DOI: 10.3390/polym11061049
13. Radjabian M., Kish M., Mohammadi N. Structure–property relationship for poly (lactic acid)(PLA) filaments: physical, thermomechanical and shape memory characterization. *J Polym Res* 2012;19(6):9870. DOI:10.1007/s10965-012-9870-0
14. DeStefano V., Khan S., Tabada A. Applications of PLA in modern medicine. *Engineered Regeneration* 2020;1:76–87. DOI:10.1016/j.engreg.2020.08.002
15. Zhang Q., Yan D., Zhang K.T. et al. Pattern transformation of heat-shrinkable polymer by three-dimensional (3D) printing technique. *Sci Rep* 2015;5:8936. DOI: 10.1038/srep08936
16. Zalepugin D.Y., Maksimkin A.V., Kiselevsky M.V. et al. Impregnation of ultrahigh-molecular-weight polyethylene with amoxicillin in subcritical freon R22 media. *Russ J Phys Chem B* 2017;11:1215–22. DOI: 10.1134/S1990793117080152
17. Сенатов Ф.С., Баранов А.А., Максимкин А.В. и др. Перспективный нанокompозитный материал на основе сверхвысокомолекулярного полиэтилена для замещения дефектов хрящевой ткани. *Российский биотерапевтический журнал* 2012;11(2):47. Senatov F.S., Baranov A.A., Maksimkin A.V. et al. A promising nanocomposite material based on ultrahigh molecular weight polyethylene for the replacement of cartilage tissue defects. *Rossiiskij bioterapevticeskij jurnal = Russian Journal of Biotherapy* 2012;11(2):47.
18. Zimina A., Senatov F., Choudhary R. et al. Biocompatibility and physico-chemical properties of highly porous PLA/HA scaffolds for bone reconstruction. *Polymers* 2020;12:2938. DOI: 10.3390/polym12122938
19. Senatov F.S., Zadorozhnyy M.Yu., Niaza K.V. et al. Shape memory effect in 3D-printed scaffolds for self-fitting implants. *Europ Polym J* 2017;93:222–31. DOI: 10.1016/j.eurpolymj.2017.06.011
20. Rybalchenko O.V., Anisimova N.Yu., Kiselevsky M.V. et al. Effect of equal-channel angular pressing on structure and properties of Fe–Mn–C alloys for biomedical applications. *Mater Today Commun* 2022;30:103048. DOI: 10.1016/j.mtcomm. 2021.103048
21. Redza-Dutordoir M., Averill-Bates D.A. Activation of apoptosis signalling pathways by reactive oxygen species. *Biochim Biophys Acta* 2016;1863(12):2977–92. DOI: 10.1016/j.bbamcr.2016.09.012
22. Анисимова Н.Ю., Копылов А.Н., Сенатов Ф.С. и др. Мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки для создания биоимплантов. *Российский биотерапевтический журнал* 2012;11(2):5. Anisimova N.Yu., Kopylov A.N., Senatov F.S. et al. Multipotent mesenchymal stromal cells for creating bioimplants. *Rossiiskij bioterapevticeskij jurnal = Russian Journal of Biotherapy* 2012;11(2):5.
23. Wang F., Cai X., Shen Y., Meng L. Cell-scaffold interactions in tissue engineering for oral and craniofacial reconstruction. *Bioact Mater* 2022;8(23):16–44. DOI: 10.1016/j.bioactmat.2022.10.029
24. Tudoreanu R., Handrea-Dragan I.M., Boca S., Botiz I. Insight and recent advances into the role of topography on the cell differentiation and proliferation on biopolymeric surfaces. *Int J Mol Sci* 2022;23(14):7731. DOI: 10.3390/ijms23147731
25. Fritsche A., Luethen F., Nebe B. et al. Bone cell adhesion: an important aspect of cell biomechanics in the development of surface modifications for orthopaedic implants. In: *Biomechanics: Principles, Trends and Applications*. Ed. J.H. Levy. 2011:305–13.

#### Вклад авторов

П.М. Качалина: получение данных для анализа, написание текста рукописи;  
 П.А. Ковалева, А.И. Черемных: анализ данных, написание текста рукописи;  
 В.А. Львов: получение данных для анализа, редактирование текста рукописи;  
 Н.Ю. Анисимова: разработка дизайна исследования, редактирование текста рукописи.

#### Author's contributions

P.M. Kachalina: data acquisition for analysis, manuscript writing;  
 P.A. Kovaleva, A.I. Cheremnykh: data analysis, manuscript writing;  
 V.A. Lvov: data acquisition for analysis, manuscript editing;  
 N.Yu. Anisimova: research design development, manuscript editing.

#### ORCID авторов / ORCID of authors

П.М. Качалина / P.M. Kachalina: <http://orcid.org/0009-0008-4344-7757>  
 П.А. Ковалева / P.A. Kovaleva: <http://orcid.org/0000-0002-7046-173X>  
 А.И. Черемных / A.I. Cheremnykh: <http://orcid.org/0000-0001-8980-3755>  
 В.А. Львов / V.A. Lvov: <http://orcid.org/0000-0001-5626-3932>  
 Н.Ю. Анисимова / N.Yu. Anisimova: <http://orcid.org/0000-0002-4370-6578>

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

**Финансирование.** Исследование было выполнено при поддержке Российского научного фонда (грант № 24-23-00442).

**Funding.** The work was supported by the Russian Science Foundation (grant No. 24-23-00442).

Статья поступила: 14.09.2024. Принята в печать: 13.11.2024. Опубликовано онлайн: 00.00.2025.

Article received: 14.09.2024. Accepted for publication: 13.11.2024. Published online: 00.00.2025.