

ISSN 0039-1735

# СТОМАТОЛОГИЯ

Том 91



6'2012

Научно-практический журнал

Основан в 1922 г.



МедиаСфера

## Сравнительное исследование замещения дефектов костной ткани остеопластическими материалами на основе $\alpha$ - и $\beta$ -трикальцийфосфата

К.м.н. А.Н. ГУРИН<sup>1,3</sup>, д.т.н. В.С. КОМЛЕВ<sup>2</sup>, к.х.м. И.В. ФАДЕЕВА<sup>2</sup>, к.т.н. Н.В. ПЕТРАКОВА<sup>2</sup>, Н.С. ВАРДА<sup>1</sup>

### A comparative study of bone regeneration potency of alfa and beta-tricalcium phosphate bone substitute materials

A.N. GURIN, V.S. KOMLEV, I.V. FADEEVA, N.V. PETRAKOVA, N.S. VARDA

<sup>1</sup>Центральный научно-исследовательский институт стоматологии и челюстно-лицевой хирургии; <sup>2</sup>Институт металлургии и материаловедения им. А.А. Байкова РАН, Москва; <sup>3</sup>Первый МГМУ им. И.М. Сеченова

Представлены обзор литературы и собственные данные о структуре, синтезе и участии в процессах минерализации костной ткани керамических материалов на основе трикальцийфосфата с оригинальной поверхностной структурой.

Ключевые слова: трикальцийфосфат, остеопластический материал, кость.

Review of the literature and our own investigations describe structure, synthesis and participation in biomineralisation of bone of synthetic bone scaffold tricalcium phosphate with original surface.

Key words: tricalcium phosphate, bone scaffold, bone graft.

Восстановление костной ткани после хирургических вмешательств, особенно в стоматологии, является одним из быстро развивающихся направлений медицины. Для применения в клинической практике перспективны синтетические материалы на основе фосфатов кальция [1]. В настоящее время много внимания уделяется материалам на основе трикальцийфосфата (ТКФ), который существует в 2 основных кристаллических модификациях: высокотемпературный —  $\alpha$ -ТКФ и низкотемпературный  $\beta$ -ТКФ [3].

Теоретическая плотность  $\beta$ -ТКФ составляет 3,067 г/см<sup>3</sup>, температура разложения 1380 °С,  $\alpha$ -ТКФ — соответственно 2,18 г/см<sup>3</sup> и 1720 °С. Известны 4 модификации ТКФ —  $\alpha$ -ТКФ, устойчивый при температуре от 1120 °С до 1470 °С; метастабильный (1120 °С);  $\alpha$ -ТКФ, стабильный при температуре 1470 °С;  $\beta$ -ТКФ, стабильный при температуре 1120 °С [1, 6].  $\alpha$ -ТКФ имеет моноклинную сингонию с пространственной группой  $P2_1/a$  и параметрами решетки:  $a=12,887 \text{ \AA}$ ;  $b=27,280 \text{ \AA}$ ;  $c=15,219 \text{ \AA}$ ;  $z=24$ ;  $\beta$ -ТКФ — ромбоэдрическую сингонию с пространственной группой  $R3c$  и параметрами ячейки:  $a=10,439 \text{ \AA}$ ;  $c=37,375 \text{ \AA}$ ;  $z=21$  [2].

Биодеградация — одно из определяющих свойств остеопластических материалов. Показано, что керамические материалы на основе  $\alpha$ - и  $\beta$ -ТКФ имеют высокую начальную скорость растворения в течение первых 5 дней, затем процесс растворения замедляется и переходит в экспоненциальный режим, а далее — в стационарный ввиду достижения состояния насыщения раствора [13]. Большой растворимостью обладают материалы на основе  $\alpha$ -ТКФ [2], что согласуется с данными L. Chow [9].

Коммерческие изделия на основе ТКФ обозначаются по-разному (табл. 1).  $\beta$ -ТКФ применяют в стоматологии при синус-лифтинге [4, 5, 7, 17, 18, 20, 21], при лечении пародонтальных костных дефектов [15, 16, 19], в имплантологии [11], в качестве наполнителя для хитозановых губок [14], как неорганические матрицы для тканеинженерных конструкций [4].  $\alpha$ -ТКФ чаще используется в качестве порошка для кальций-фосфатных цемента [6] с коммерческим названием Вiorex (Япония),  $\beta$ -ТКФ — как коммерческий продукт, несмотря на его меньшую растворимость по сравнению с  $\alpha$ -ТКФ.

В данной работе сравнивали остеопластические свойства керамических материалов на основе  $\alpha$ - и  $\beta$ -ТКФ при замещении дефектов эпифиза бедренной кости крыс в разных условиях.

### Материал и методы

**Синтез  $\alpha$ -ТКФ.**  $\alpha$ -ТКФ получали спеканием дикальцийфосфата дигидрата  $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  и карбоната кальция  $\text{CaCO}_3$  при 1300 °С в течение 5 ч в реакции:



**Синтез  $\beta$ -ТКФ.** Для получения  $\beta$ -ТКФ использовали растворы нитрата кальция  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  и гидрофосфата аммония  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ , взятые в стехиометрическом соотношении:



**Изготовление керамических блоков.** Высокопористую керамику получали методом наполнения ячеистого поли-

Таблица 1. Коммерчески доступные изделия из  $\alpha$ -ТКФ и  $\beta$ -ТКФ

ТКФ	Производитель
$\beta$ -ТКФ	«Kasios», Франция
Cerasorb	«Cutasan», Германия
Syntograft	«Bicon», США
ChronOs	«Synthes», США
Gem21S	«Osteohealth», США
Osferion	«Olympus Biomaterials», Япония
$\alpha$ -ТКФ	
Biorex	«Mitsubishi», Япония

мерного каркаса суспензией порошок/биополимер (инверсионный метод реплик) с последующей сушкой и термической обработкой. Данная технология позволяет получать материал с пористостью до 80 об.% с крупными взаимопроницаемыми порами размером 150–250 мкм, порами средних размеров (10–50 мкм), образующимися при выгорании неорганической части полимерного каркаса, с тонкими межкристаллическими порами, размером 0,1–5,0 мкм.

Суспензию порошок/биополимер готовили на основе водного раствора при соотношении 1/1 по массе. Пропитку полимерного каркаса осуществляли следующим образом: каркас заданной формы полностью погружали в керамический шликер, деформировали (сжатием) на 50%, после чего в результате восстановления объема каркаса шликер заполнял его свободное пространство. Образцы извлекали из суспензии и помещали в морозильную камеру с температурой  $-40^\circ\text{C}$  на 2 ч для фиксации структуры. Последующая термическая обработка приводит к выжиганию полимерного каркаса и спеканию керамики. Прочность при сжатии такой керамики — около 5 МПа.

Рентгенофазовый анализ  $\alpha$ - и  $\beta$ -ТКФ проводили на дифрактометре Shimadzu XRD 6000 (Япония), используя монокроматическую  $\text{CuK}\alpha$  радиацию при силе тока 30 мА и напряжении 40 кВ с размером шага  $0,01^\circ/\text{с}$  при длине волны  $\lambda=1,54 \text{ \AA}$ . Исследуемые образцы измельчали до порошкообразного состояния.

Образцы для ИК-спектроскопии готовили по стандартной методике на приборе MultiRAM (Германия). Навеску материала 0,02 мг растирали в агатовой ступке до порошкообразного состояния и прессовали в таблетки с 200 мг KBr. Исследование проводили в диапазоне  $400\text{--}4000 \text{ см}^{-1}$ .

Образцы для сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) клеили на токопроводящий скотч и изучали на приборе VEGA II Tescan (Чехия) при напряжении 15 кВ.

Объектом изучения являлся процесс заживления костных ран эпифиза бедренной кости крыс линии Вистар в разных условиях: в 1-й группе (группа сравнения) костные дефекты оставляли заживать под кровяным сгустком; во 2-й группе ( $\alpha$ -ТКФ) в костные дефекты имплантировали блоки  $\alpha$ -ТКФ, в 3-й группе (группа  $\beta$ -ТКФ) — пористые блоки  $\beta$ -ТКФ. Под гексеналовым наркозом производили линейный разрез с медиальной стороны эпифиза бедренной кости крыс, затем отслаивали мягкие ткани. С помощью портативной бормашины на малых оборотах (500 об/мин) создавали искусственный костный дефект, диаметром около 2 мм и глубиной 3–4 мм и вводили исследуемый материал. Операционную рану ушивали послойно кетгутум. Сроки оценки заживления кост-

ных дефектов составляли 30 сут по 3 животных на срок, включая контроль. Готовили серийные гистологические срезы по стандартной методике с окраской гематоксилином и эозином. Гистологические срезы изучали в проходящем свете на микроскопе Motic Inc. (Италия).

## Результаты и обсуждение

Рентгенофазовый анализ показал, что спектры  $\alpha$ - и  $\beta$ -ТКФ имеют различия, характерные для такого типа соединений. Дифрактограммы исследуемых образцов  $\alpha$ - и  $\beta$ -ТКФ имели четкие пики, указывающие на высокую степень кристалличности. На рис. 1 представлены электрограммы  $\alpha$ - и  $\beta$ -ТКФ.

ИК-спектры  $\alpha$ - и  $\beta$ -ТКФ имеют разные частоты в области поглощения по фосфатным группам ионов, входящих в апатит. На рис. 2 приведены ИК-спектры  $\alpha$ - и  $\beta$ -ТКФ, а в табл. 2 отражены частоты поглощения материалов. У  $\alpha$ -ТКФ основные полосы поглощения относятся к ортофосфатным группам, которые хорошо выражены для  $\nu_3(\text{PO}_4)^{3-}$  (1055, 1024);  $\nu_4(\text{PO}_4)^{3-}$  (597, 563);  $\nu_1(\text{PO}_4)^{3-}$  ( $961 \text{ см}^{-1}$ ), а у  $\beta$ -ТКФ — для  $\nu_3(\text{PO}_4)^{3-}$  ( $1021, 1116 \text{ см}^{-1}$ );  $\nu_4(\text{PO}_4)^{3-}$  (602, 543);  $\nu_1(\text{PO}_4)^{3-}$  ( $945 \text{ см}^{-1}$ ).

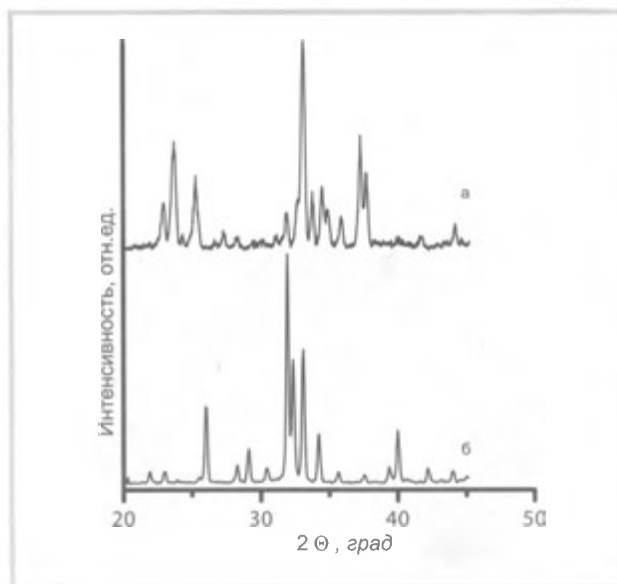


Рис. 1. Дифрактограммы образцов.

а —  $\alpha$ -ТКФ; б —  $\beta$ -ТКФ; различия рентгеновских спектров связаны с разной температурой спекания образцов; острые пики указывают на высокую степень кристалличности.

Таблица 2. Частоты поглощения ИК-спектров исследуемых материалов

Исследуемый материал	Частоты поглощения, $\text{см}^{-1}$		
	$(\text{PO}_4)^{3-}$		
$\alpha$ -ТКФ	$\nu_4$	961	597
			563
	$\nu_3$	961	1055
			1024
$\beta$ -ТКФ	$\nu_4$	945	602
			543
	$\nu_3$	945	1021
			1116

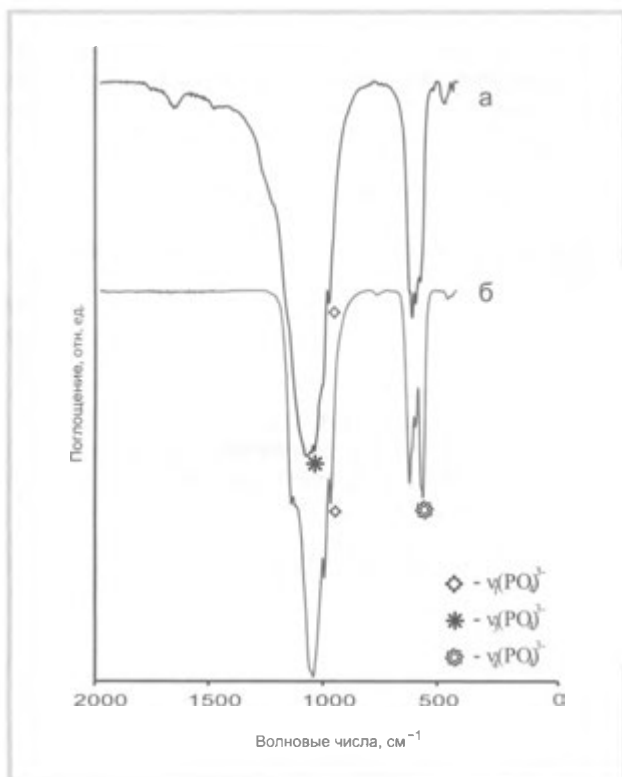


Рис. 2. ИК-спектры образцов.

а — α-ТКФ; б — β-ТКФ; материалы имеют разные частоты поглощения в области ортофосфатных групп.

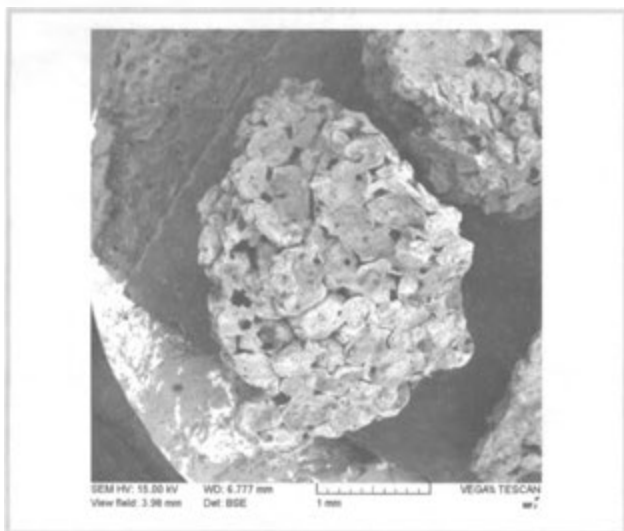


Рис. 3. СЭМ; α-ТКФ представлен конгломератом мелких пористых гранул, плотно соединенных друг с другом.

Керамические материалы на основе α-ТКФ состоят из конгломерата мелких гранул (частиц), размером от 100 до 350 мкм. Некоторые из них имеют вид полых образований (рис. 3). При большем увеличении исследуемых образцов видны мелкие взаимосвязанные поры, размером около 2—4 мкм, между зернами — мелкие отверстия, размером около 0,5 мкм (рис. 4). Зерна — овально-кубоидальной формы, плотно связанные друг с другом, четко отграниченные друг от друга. Размер зерен от 2 до 4 мкм.

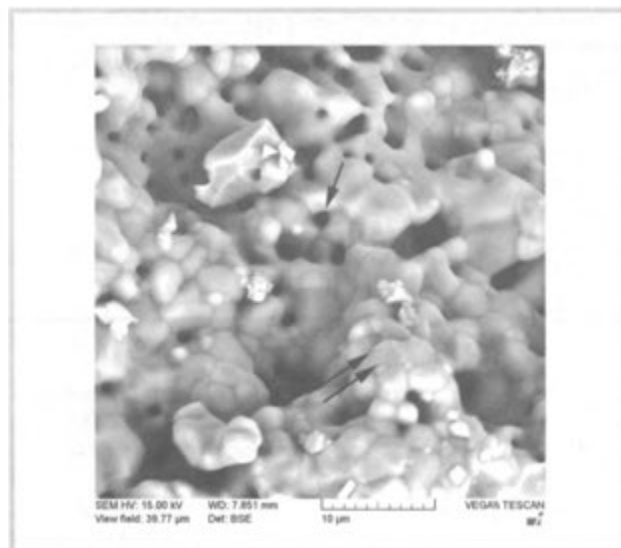


Рис. 4. СЭМ; α-ТКФ; при большем увеличении видны мелкие поры размером 2—4 мкм между зернами α-ТКФ (одиночные стрелки); зерна — чаще овально-кубоидальной формы, плотно соединены друг с другом (двойные стрелки).

Керамический материал на основе β-ТКФ также состоит из аналогичного конгломерата мелких гранул, размером 100—300 мкм (рис. 5). При большем увеличении (рис. 6) поверхность выглядит более пористой с мелко разветвленными отростками, которые представлены овально-кубоидальными зернами, размером 0,2—0,4 мкм (см. рис. 6, а). Зерна плотно соединены друг с другом, с четкими границами. Такая пористая поверхность должна способствовать активной адсорбции структурных белков и клеточных элементов [2].

По данным зарубежных авторов Cerasorb («Curasan», Германия), ChronOS («Synthes», США) и β-ТКФ («Karios», Франция) также имеют поверхность в виде мелкопористой зернистой структуры [7, 10, 12]. По микроструктурным характеристикам полученная β-ТКФ-керамика схожа с зарубежными материалами (табл. 1).

*Заживление костного дефекта под кровяным сгустком, 1-я группа.* Через 30 сут от начала опыта в костном дефекте сохранялись обширные территории, занятые грубоволокнистой соединительной тканью. В то же время по краям костного дефекта формировалась трабекулярная костная ткань с фиброзным матриксом. Местами по краям регенерата отмечались участки образования хондроподобной ткани, а также образовывались формирующееся костное вещество с хондронидной тканью и костно-хрящевые структуры (рис. 7).

*Заживление костных дефектов при имплантации пористых керамических блоков α-ТКФ, 2-я группа.* В костных дефектах после 1 мес наблюдения определяются депозиты α-ТКФ в виде мелких керамических частиц разных форм и размеров, которые образовались в результате распада блока из-за их небольшой прочности. Непосредственно к депозитам α-ТКФ в области входа в дефект прилегают тяжи грубоволокнистой фиброзной ткани с отложениями в некоторых из них базофильных частичек остеонидного вещества. Однако по направлению к центру дефекта удельный вес костной компоненты регенерата постепенно возрастает и становится доминирующим в характеристике

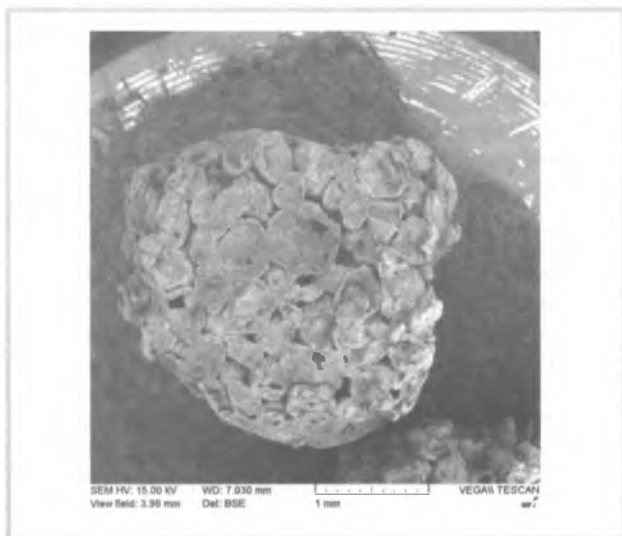


Рис. 5. СЭМ;  $\beta$ -ТКФ представлен конгломератом мелких гранул с большими пространствами между ними.

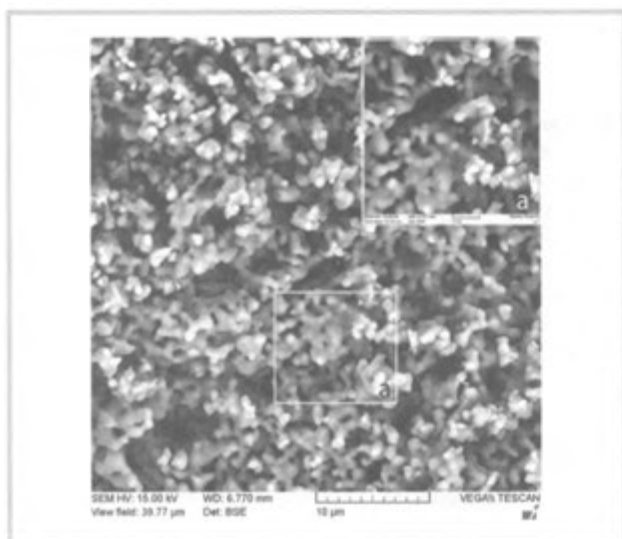


Рис. 6. СЭМ;  $\beta$ -ТКФ; при большем увеличении поверхность более пориста и представлена мелкими зернами.

а — видны мелкие зерна овально-кубoidalной формы, плотно соединенные друг с другом.

регенерата. Небольшое количество грубоволокнистой соединительной ткани определяется в некоторых участках центральной части дефекта. Отмечается прорастание в депозит клеточных элементов, преимущественно макрофагов. Непосредственно к имплантируемому материалу во внутренней части дефекта прилежат отложения остеоидного вещества, которые в виде базофильных включений находятся внутри биодеградируемого материала. Матрикс депозитов  $\alpha$ -ТКФ разрежен, что свидетельствует об активной биодеградации. Следует отметить, что непосредственно у краев депозита  $\alpha$ -ТКФ, помимо новообразованных костных структур с фибрино-остеоидным либо остеоидным матриксом, постоянно располагаются небольшие скопления кровеносных клеток. Важной чертой динамики костного регенерата в области депозитов  $\alpha$ -ТКФ является то, что костеобразовательный процесс

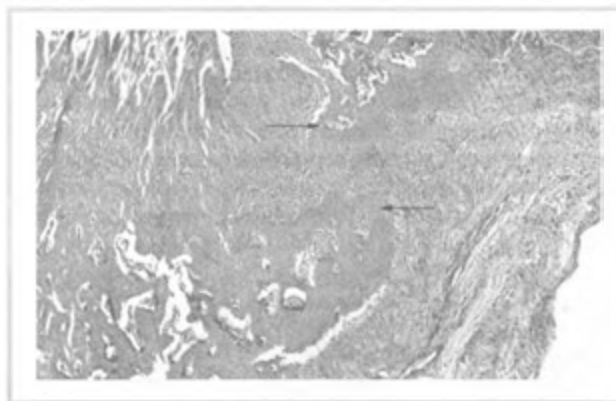


Рис. 7. Микрофотограмма. Группа сравнения, 30 сут.

Костный дефект заполнен грубоволокнистой соединительной тканью, отмечается построение молодой костной ткани, представленной трабекулярными структурами (стрелки). Ув. 25.

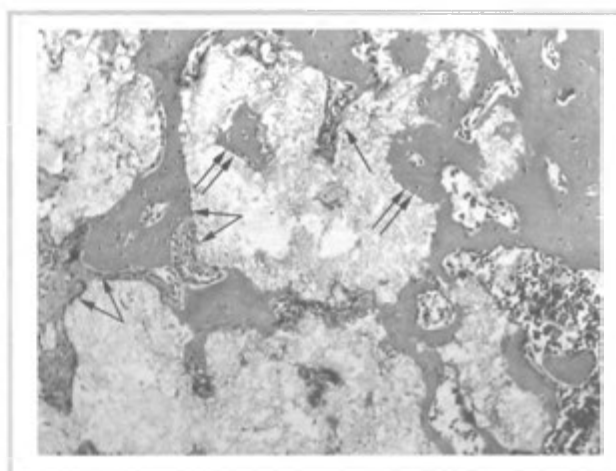


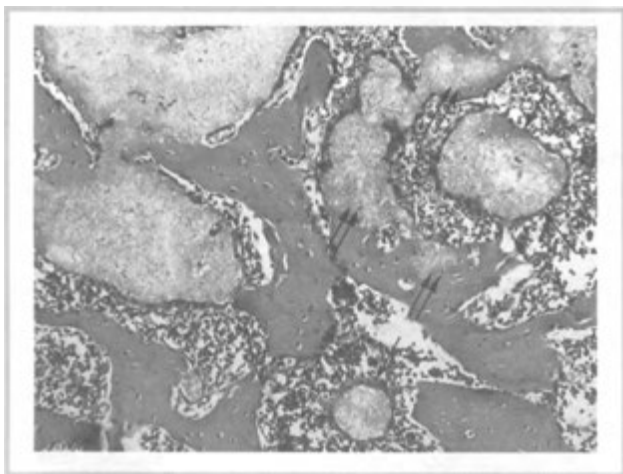
Рис. 8. Микрофотограмма. Имплантация  $\alpha$ -ТКФ, 30 сут.

Прорастание клеточных элементов, преимущественно макрофагов, в депозиты  $\alpha$ -ТКФ (одинарные стрелки); наблюдается формирование фибрино-остеоидного матрикса (стрелки углом); видны базофильные образования остеоидного типа внутри депозитов (двойные стрелки). Ув. 100.

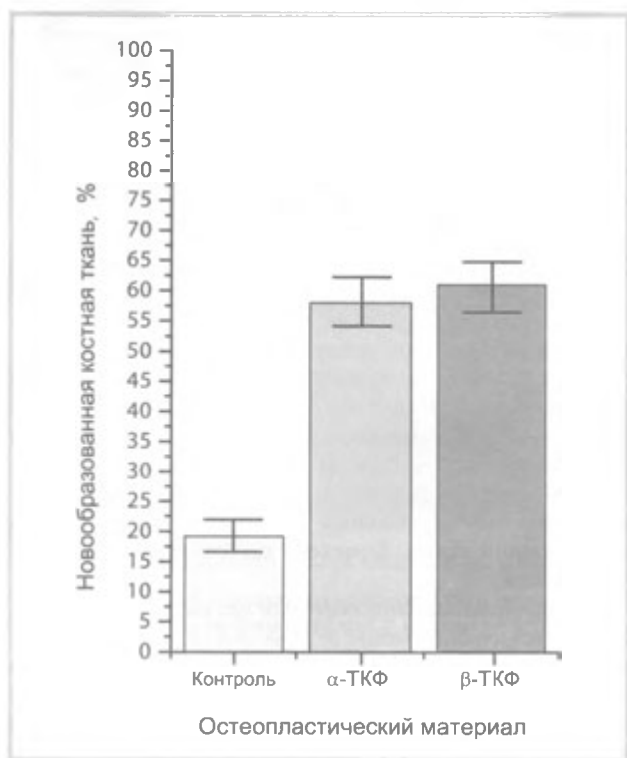
происходит не только между депозитами, но и в них самих, в результате чего их матрикс замещается новообразованным костным веществом фибрино-остеоидного типа. В глубоких отделах дефекта депозиты  $\alpha$ -ТКФ окружены костным матриксом (рис. 8). В участках новообразованной трабекулярной кости и в межтрабекулярных пространствах не наблюдалось интенсивного образования кровеносной ткани. Отмечено слабое развитие капиллярной сети.

*Заживление костных дефектов при имплантации пористых керамических блоков  $\beta$ -ТКФ, 3-я группа.* В костном дефекте через 1 мес наблюдения определяются депозиты  $\beta$ -ТКФ в виде небольших гранул, которые так же, как в случае с  $\alpha$ -ТКФ, образовались в результате распада блока из-за слабой прочности. Кнаружи дефекта имплантируемый материал окружен пучками клеточно-волоконистой соединительной ткани. Внутри гранул депозита можно наблюдать миграцию клеточных элементов с образованием оксифильной остеоидной ткани. Среди клеточно-волоконистых структур видно множество мелких капилляров. Однако в центральном отделе дефекта количество

новообразованного костного матрикса значительно возрастает. В некоторых участках биодеградируемые гранулы имеют ячеистую структуру. Наблюдается интенсивное прорастание в депозит клеточных элементов, преимущественно макрофагов, с образованием остеоидной ткани. Клеточные элементы, вставая в депозиты, формируют своеобразные перегородки, которые разделяют их на более мелкие фрагменты. Постепенно происходит транс-



**Рис. 9. Микрофотограмма. Имплантация β-ТКФ, 30 сут.**  
Клеточный «бордюр» макрофагов вокруг мелких гранул (одиночные стрелки); биодеградация матрикса депозита и замещение его костной тканью (двойные стрелки). Ув. 100.



**Рис. 10. Новообразование костной ткани через 30 сут эксперимента для материалов α-ТКФ и β-ТКФ относительно контроля (в %).**

По образованию костного матрикса α- и β-ТКФ достоверно не различались, но выявлено их статистически достоверное различие с контролем (заживление под кровяным сгустком);  $p < 0,05$ .

формация соединительнотканых перегородок в молодую костную ткань, в результате чего мелкие фрагменты легче ассимилируются костными трабекулами. Депозиты, прилежащие к костным трабекулам в зоне контакта, формируют остеоидное вещество.

Керамические частицы, не вовлеченные в процесс биодеградации и находящиеся в среде кроветворной ткани, образуют своеобразный «бордюр» из крупных клеток с оксифильной цитоплазмой, преимущественно макрофагов (рис. 9). Такой ободок из клеток определяется на всех керамических частицах. В костном регенерате отмечается активное образование кроветворной ткани с наличием мелких капилляров и гигантских многоядерных клеток. Кроветворные элементы находятся в тесном контакте с имплантируемым материалом. Во многих депозитах встречаются пустоты, что свидетельствует об интенсивности процессов биодеградации и формирования костного матрикса.

Таким образом, при имплантации в костные дефекты керамики на основе β-ТКФ вокруг и внутри депозита происходят активные регенераторные процессы с присутствием капилляров. Для оценки темпов и выраженности остеоинтеграции депозита в новообразованный костный матрикс важны следующие характеристики костной ткани:

- топография распространения костного регенерата;
- структура костной ткани с точки зрения ее компактности;
- интенсивность развития кроветворной ткани, наличие капиллярной сети в области регенерата.

Костный регенерат развивался главным образом в области депозитов имплантируемого материала в центральных отделах костного дефекта, тогда как в области входа в дефект преобладали соединительнотканые структуры.

Отмечается компактизация костной ткани с преобладанием остеоидного типа строения. Новообразование костной ткани происходит эндесмальным путем, минуя хондронидную стадию развития, что указывает на высокую активность процесса.

В межтрабекулярных пространствах регенерата определяется интенсивное развитие кроветворной ткани с плотным прилеганием к депозитам β-ТКФ. В области регенерата присутствуют многочисленные капилляры.

Гистологический анализ показал, что репаративные процессы в материалах на основе α- и β-ТКФ и их интеграция в костный матрикс в значительной степени зависят от характера поверхности и его микрорельефа, что подтверждается данными СЭМ. Это, по-видимому, связано с тем, что оба материала были получены при разных температурных режимах, α-ТКФ — при высоких температурах, а β-ТКФ — при низких. Необходимо отметить, что α-ТКФ имеет большую растворимость, а β-ТКФ — меньшую [2]. Несмотря на то что характер упаковки зерен, их форма и размеры слабо различимы, явные перспективы имеет керамический материал с низкой температурой спекания, что находит отражение в остеоинтеграционных процессах.

Как отмечают S. Choi и соавт. (2012), решающее влияние на остеоинтеграционные процессы оказывают дизайн материала и архитектура поверхности [8]. Так, полученный ими материал β-ТКФ в форме тетрапода по количеству новообразованной костной ткани статистически достоверно превосходил β-ТКФ в гранулированном виде (Osferion).



В наших исследованиях дизайн образцов  $\alpha$ - и  $\beta$ -ТКФ не различался, но сильно различался характер поверхности.

Процесс биодеградации материала на основе  $\beta$ -ТКФ происходил с активным участием кроветворной ткани и капилляров, тогда как у  $\alpha$ -ТКФ эти процессы были выражены слабее. У депозитов с  $\alpha$ -ТКФ определялось наличие грубоволокнистой ткани в центральных отделах дефекта, тогда как у  $\beta$ -ТКФ она отсутствовала.

Важным фактором различия регенераторных процессов является то, что депозиты блока  $\alpha$ -ТКФ в глубоких отделах дефекта окружены со всех сторон костной тканью, тогда как депозиты блока  $\beta$ -ТКФ уже включены в костный матрикс.

*Гистологическая оценка остеопластических свойств исследуемых материалов. Морфометрический анализ.* Для оценки темпов остеointеграции депозитов  $\alpha$ - и  $\beta$ -ТКФ в новообразованный костный матрикс определяли указанные выше параметры. Как показал статистический анализ, по количеству новообразованной костной ткани во-

круг депозитов  $\alpha$ - и  $\beta$ -ТКФ достоверно не различались (рис. 10). Однако по сравнению с контролем (заживление под кровяным сгустком) количество новообразованной костной ткани при использовании  $\alpha$ - и  $\beta$ -ТКФ было статистически достоверно больше ( $p < 0,05$ ).

Таким образом, изучение пористых керамических блоков  $\alpha$ - и  $\beta$ -ТКФ показало, что различия в способе изготовления влияют на характер поверхности материала, что обуславливает различия в остеointеграционных процессах в костной ткани. Преимущество имеет материал с более низкой температурой спекания, в данном случае  $\beta$ -ТКФ, несмотря на то, что гистоморфометрический анализ не выявил его статистически достоверного отличия от  $\alpha$ -ТКФ. Следует добавить, что данные материалы, обладая такой пористой поверхностью, могут быть пригодными в качестве неорганических матриксов для тканеинженерных конструкций.

*Работа поддержана Программой Президента РАН.*

## ЛИТЕРАТУРА

1. Баринов С.М., Комлев В.С. Биокерамика на основе фосфатов кальция. М: Наука 2005; 308.
2. Комлев В.С. Формирование микроструктуры и свойства кальций-фосфатной керамики для инженерии костной ткани: Автореф. дис. ... д-ра тех. наук. М 2011; 258.
3. Чиссов В.И., Сергеева Н.С., Свиридова И.К. и др. Глава из книги «Стволовые клетки и регенеративная медицина». М: Макс пресс 2011; 53—72.
4. Antoun H., Bouk H., Ameer G. Bilateral Sinus Graft With Either Bovine Hydroxyapatite or [beta] Tricalcium Phosphate, in Combination With Platelet-rich Plasma: A Case Report. *Implant Dentistry* 2008; 17: 3: 350—359.
5. Araújo M.G., Liljenberg B., Lindhe J.  $\beta$ -tricalcium phosphate in the early phase of socket healing: an experimental study in the dog. *Clinical Oral Implants Research* 2010; 21: 445—454.
6. Bohner M., Gbureck U., Barralet J. Technological issues for the development of more efficient calcium phosphate bone cements: a critical assessment. *Biomaterials* 2005; 26: 6423—6439.
7. Chappard D., Guillaume B., Mallet R. et al. Sinus lift augmentation and  $\beta$ -TCP: A microCT and histologic analysis on human bone biopsies. *Microscop* 2010; 41: 321—326.
8. Choi S., Liu I., Yamamoto K. et al. Development and evaluation of tetrapod-shaped granular artificial bones. *Acta Biomaterialia* 2012; doi:10.1016/j.actbio.2012.02.019
9. Chow L.C. Solubility of calcium phosphates. In: Chow L.C., Eanes E.D. Octacalcium Phosphate. *Monogr Oral Sci Basel: Karger* 2001; 18: 94—111.
10. Ghanaati S., Barbeck M., Orth C. et al. Influence of  $\beta$ -tricalcium phosphate granule size and morphology on tissue reaction in vivo. *Acta Biomaterialia* 2010; 6: 4476—4487.
11. Horowitz R.A., Mazar Z., Foitzik C. Beta-Tricalcium Phosphate as Bone Substitute Material: Properties and Clinical Applications. *Titanium* 2009; 1: 1—5.
12. Kasten P., Beyen I., Niemeyer P. et al. Porosity and pore size of  $\beta$ -tricalcium phosphate scaffold can influence protein production and osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells: An in vitro and in vivo study. *Acta Biomaterialia* 2008; 4: 1904—1915.
13. Komlev V.S., Mastrogiacomo M., Pereira R.C. et al. Biodegradation of porous calcium phosphate scaffolds in an ectopic bone formation model studied by x-ray computed microtomography. *European Cells and Mater* 2010; 19: 136—146.
14. Lee Y.-M., Park Y.-J., Lee S.-J. et al. Tissue Engineered Bone Formation Using Chitosan/Tricalcium Phosphate Sponges. *Journal of Periodontology* 2000; 71: 410—417.
15. McGuire M.K., Scheyer E.T. Comparison of recombinant human platelet-derived growth factor-BB plus beta tricalcium phosphate and a collagen membrane to subepithelial connective tissue grafting for the treatment of recession defects: a case series. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2006; 26: 127—133.
16. Stavropoulos A., Windisch P., Szendrői-Kiss D. et al. Clinical and Histologic Evaluation of Granular Beta-Tricalcium Phosphate for the Treatment of Human Intrabony Periodontal Defects: A Report on Five Cases. *Journal of Periodontology* 2009; 81: 325—334.
17. Suba Z., Takács D., Matusovits D. et al. Maxillary sinus floor grafting with  $\beta$ -tricalcium phosphate in humans: density and microarchitecture of the newly formed bone. *Clinical Oral Implants Research* 2006; 17: 102—108.
18. Uckan S., Deniz K., Dayangac E. et al. Early Implant Survival in Posterior Maxilla With or Without  $\beta$ -Tricalcium Phosphate Sinus Floor Graft. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* 2010; 68: 1642—1645.
19. Weijs W.L.J., Siebers T.J.H., Kuijpers-Jagtman A.M. et al. Early secondary closure of alveolar clefts with mandibular symphyseal bone grafts and  $\beta$ -tricalcium phosphate ( $\beta$ -TCP). *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* 2010; 39: 424—429.
20. Wiltfang J., Schlegel K.A., Schultze-Mosgau S. et al. Sinus floor augmentation with  $\beta$ -tricalciumphosphate ( $\beta$ -TCP): does platelet-rich plasma promote its osseous integration and degradation? *Clinical Oral Implants Research* 2003; 14: 213—218.
21. Zorzano L.A.A., Tojo M.J.R., Urizar J.M.A. Maxillary sinus lift with intra-oral autologous bone and beta-Tricalcium Phosphate: Histological and histomorphometric clinical study. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2007; 12: 532—536.