

УКРАЇНСЬКИЙ МОРФОЛОГІЧНИЙ АЛЬМАНАХ



Vivitur ingenio
sed altera
mortis erunt.

A. Vesalius

1'2008 науково-практичний журнал

ВИКОРИСТАННЯ ПОРИСТИХ НАНОКОМПОЗИТНИХ МАТЕРІАЛІВ ДЛЯ ЗАМІЩЕННЯ КІСТКОВИХ ДЕФЕКТІВ

Сікора В.З.², Суходуб Л.Ф.¹, Данильченко С.М.¹, Погорелов М.В.², Бумейстер В.І.², Ткач Г.Ф.², Калінкевич О.В.¹, Калініченко Т.П.¹, Павленко П.О.¹, Калінкевич А.Н.¹*Інститут прикладної фізики НАН України, м. Суми,² Медичний інститут Сумського державного університету, м. Суми, Ключові слова: кістка, дефекти, заміщення, нанокompозити***Сікора В.З., Суходуб Л.Ф., Данильченко С.М., Погорелов М.В., Бумейстер В.І., Ткач Г.Ф., Калінкевич О.В., Калініченко Т.П., Павленко П.О., Калінкевич А.Н.** Использование пористых нанокompозитных материалов для замещения костных дефектов // Украинский морфологический альманах. - 2008. - Том 6, №1. - С 155-156.

В работе изучены особенности наноструктурного пористого материала ChAp при использовании его для замещения костных дефектов. Экспериментально показано, что ChAp имеет выраженные остеокондуктивные и остеоинтеграционные свойства.

Ключевые слова: кость, дефекты, замещение, нанокompозиты.**Sikora V.Z., Suchodub L.F., Danilchenko S.M., Pogorelov M.V., Bumeyster V.I., Tkach G.F., Kalinkevich O.V., Kalinnichenko T.P., Pavlenko P.O., Kalinkevich A.N.** New nanocomposit material for bone replacement // Украинский морфологический альманах. - 2008. - Том 6, №1. - С. 155-156.

In article has been studied properties of a new material for bone replacement. We found that ChAp has good osteointegrative and osteoconductive characteristics.

Key words: bone, defects, replacement, nanocomposit material/

Для заміщення кісткових дефектів в онколога та ортопедії використовуються кальцій-фосфорні біоматеріали — гідроксилапатит, трикальційфосфат, біоскло тощо [4-6]. Великий попит на вищезгадані матеріали та наявність в них недоліків спонукає до пошуку ідеального біокompозита, що має наблизені до кістки фізичні та хімічні властивості.

В нашій роботі синтезовані та проведені дослідження нанокompозитних матеріалів на основі хітозану та апатиту кальція. Хітозан являє собою похідне хітину, що утворюється при його деацетилюванні. Будова хітину *утворює* передумови для успішного використання його похідних у різноманітних галузях [3]. Саме хітин є основою скелетної системи в панцерах ракоподібних, клітинній стінці грибів та бактерій. Завдяки біосумісності з тканинами людини, здатності підсилювати регенераторні процеси при загоюванні ран, бактеріостатичні властивості та біобезпечності хітин та хітозан являють собою великий інтерес для медицини, в тому числі при використанні у якості матриці для біокompозитів кісткової тканини. Нажаль, серед матеріалів на основі хітозана, повний цикл досліджень *in-vivo* не пройшов жоден зразок [3]. Тому визначення можливості використання біоматеріалів на основі хітозана являє собою сучасну науково-практичну задачу.

Мета дослідження. Нами, сумісно з лабораторією біофізики інституту прикладної фізики НАН України, проведене дослідження можливості використання нанокompозитного матеріалу Хітозан-апатит в якості матеріалу для заміщення кісткових дефектів.

Матеріали та методи дослідження. Матеріали отримували шляхом додавання водних розчинів CaCl_2 та NaH_2PO_4 (при співвідношенні $\text{Ca/P}=1,67$) в 0,2% розчин хітозану в уксусній кислоті (1%) [1]. Необхідний рівень рН підтримувався додаванням NaOH . Продукти синтезу піддавались старінню, інтенсивній промивці, сушці, для отримання пористих матеріалів використовувалась ліофільна сушка.

мання пористих матеріалів використовувалась ліофільна сушка.

В експерименті було задіяно 48 лабораторних шурів 4-х місячного віку. Всім тваринам наносився дірчастий дефект діаметром 2 мм в середній третині великогомілкової кістки. Першій серії тварин в місце травми імпантовували циліндричні штифти ChAp, одо за діаметром дорівнювали просвіту раньового каналу. Контрольній серії наносився аналогічний дефект, який не заповнювався досліджуваним матеріалом. Тварин виводили з експеримента через 5, 10, 15 та 24 доби після нанесення дефекту для визначення особливостей репаративного остеогенезу в усі його стадії. Для приготування гістологічних препаратів виділяли місце дефекту, яке фіксували в 10% розчині нейтрального формаліну, проводили декальцинацію в розчині Трилону Б протягом двох місяців, зневоднювали в спиртах зростаючої концентрації та заливали в паоасфін. Готували гістологічні зрізи товщиною 10-12 мкм та забарвлювали їх гематоксилін-еозином. Отримані препарати вивчали за допомогою світлового мікроскопа "OLIMPUS".

Результати дослідження. На 5 добудосить чітко проявляється межа між ChAp та материнською кісткою, проте реакції, що свідчать про відторгнення імпланту відсутні. Пори ChAp заповненні клітинним скелетом, що свідчить про виражені остеокондуктивні якості матеріалу. Серед клітин переважають фібробласти та лімфоцити, у достатній кількості виявляються плазмоцити, нейтрофіли та макрофаги. Відсотковий склад клітин аналогічний контрольній серії, що свідчить про оптимальний перебіг репаративного процесу. В середині дефекту відмічається проростання капілярів в макропори ChAp, які оточені периваскулоштами. В периферичній частині імпланту на поверхні пор розміщені остеокласт, що вказує на їх участь у біобезпечності матеріалу.

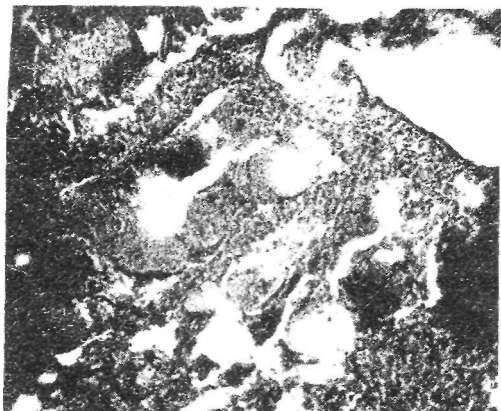


Рис. 1. Ділянка дефекту через 5 днів після нанесення травми - наявність клітинних елементів та капілярів в порах ChAp. Забарвлення гематоксилін - еозин. Zoom X 400

Через 10 днів відмічається прискорена біодеградація ChAp та початок утворення тканинних структур. Основну частину пор займає молода фіброретикулярна тканина з високою щільністю клітин серед яких переважають фіброласти, макрофаги та остеобласти. По периферії імпланту визначається формування грубоволокнистої кісткової тканини, що інтегрується в структуру ChAp. Новоутворена тканина формує великопетлисту сітку трабекул, між якими розташовуються ділянки фіброретикулярної та залишки грануляційної тканини. На данному етапі помітні зв'язки материнської кістки з речовиною ChAp на поверхні якого розташовуються чисельні остеокласти.

Через 15 днів відбувається подальша біодеградація та остеointegraція ChAp, залишки якого знаходяться між балочками грубоволокнистої кісткової тканини. Остання відрізняється від контролю більш рівномірним забарвленням, що може свідчити про прискорену кальцифікацію, джерелом якої є фосфат кальцію ChAp. По периферії дефекту помітні інтеграція кісткових балочок в материнську тканину. В даний термін стрімко зменшується кількість остеокластів на межі материнської кістки та імпланту.

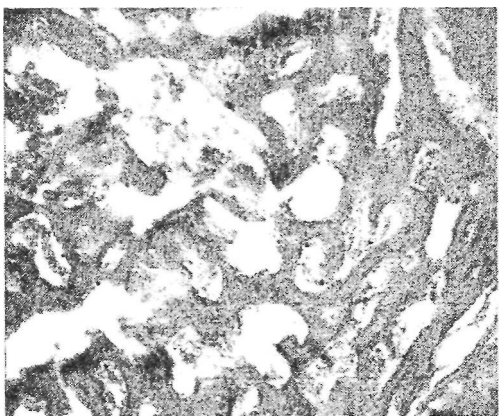


Рис. 2. Ділянка дефекту через 15 днів після нанесення травми - формування дрібнопетлястої сітки трабекул в периферійній зоні. В центральних ділянках помітні залишки ChAp, інтегровані в грубоволокнисту кісткову тканину. Забарвлення гематоксилін-еозин. Zoom X 400

Па 24 добу у тварин основна площа дефекту виконана мілкопетлястою сіткою грубоволокнистих трабекул з численними остеокцитами та залишками синтетичного ChAp. Забарвлення балок більш рівномірне та наближається по інтенсивності до материнської кістки, що свідчить про нормалізацію осифікації остеюіда. На поверхні трабекул розташовується невелика кількість остеобластів, що свідчить про припинення процесів утворення нового матриксу. Кортикальна пластинка в основному відновлена за рахунок формування пластинчастої кісткової тканини та відрізняється від материнського кортексу більшою кількістю судинних та остеокцитарних лакун. Останні мають овальну форму, складаються з 3-5 концентричних пластинок та за характеристиками наближають до первинних. На межі з материнською кісткою відмічаються лінії склеювання. Подекуди, між новоутвореними трабекулами, зустрічаються ділянки остеогенної фіброретикулярної тканини та червоний кістковий мозок. Зона мсткоутворення добре васкуляризована, що є сприяючим фактором для репаративного процесу.

Висновки. Таким чином, ChAp як матеріал для заміщення кісткових дефектів має виражені остеокондуктивні та остеоінтеграційні властивості. Відсутність патологічної реакції з боку материнської кістки свідчить про біоінертність матеріалу. Використання ChAp не вплинуло на стадійність процесів регенерації та навіть прискорило процеси кальцифікації органічного матриксу.

Перспективи подальших досліджень. В рамках сумісного дослідження планується всебічне вивчення нового синтетичного нанокомпозитного матеріалу з використанням біохімічних, гістологічних та електронномікроскопічних методів дослідження.

ЛІТЕРАТУРА:

1. Rusu V.M., Ng C.H., Wilke M, Tiersch B., Fratzi P., Peter M.G. Size-controlled hydroxyapatite nanoparticles as self-organized organic-inorganic composite materials // *Biomaterials*. - 2005. - 26. - P. 5414-5426.
2. Elliott J.C Calcium Phosphate // *Biomaterials* / In Kohn M.J., Rakovan J., Hughes J.M. (eds) *Phosphates: geochemical, geobiological and materials importance. Series: Reviews in mineralogy and geochemistry, vol. 48. Mineralogical Society of America, Washington, DC, 2002.*- P. 427-454.
3. Ge Z., Bagnard S., Lim L.Y. et al. Hydroxyapatite-chitin materials as potential tissue engineered bone substitutes // *Biomaterials*. - 2004. - 25. - P. 1049-1058.
4. Anselm K. Osteoblasts adhesion on biomaterials // *Biomaterials*. - 2000. - №21. - P.667-681
5. Корж Н.А., Радченко В.А., Кладенко Л.А., Малышкина С.В. Имплантационные материалы и остеогенез. Роль индукции и кондукции в остеогенезе // *Ортопед, травматол.* - 2003. - №2. - С.150-157
6. Арин В.И., Новоскольцева И.Г., Стрий В.В. Минеральная насыщенность различных отделов костного скелета при имплантации в большеберцовую кость "остеоапатита керамического" - 015 // *Український морфологічний альманах.* - 2007. - Том 5, №2. - С.113-114