

МЕТОДИКИ

© Кішук В.В., Стечишин О.О., Король А.П., Бондарчук О.Д., Шинкарук О.В.

УДК: 616.71:616-08.001

ВПЛИВ ВИЛУЖЕННЯ БІОКОМПЗИТУ "СИНТЕКІСТЬ" НА ФОРМУВАННЯ ОСТЕО-КЕРАМІЧНОГО КОМПЛЕКСУ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

Кішук В.В., Стечишин О.О., Король А.П., Бондарчук О.Д., Шинкарук О.В.

Вінницький національний медичний університет ім. М.І.Пирогова, кафедра оториноларингології (вул. Пирогова, 56, м.Вінниця, 21018, Україна)

Резюме. В експериментальному дослідженні морфологічними методами вивчені процеси регенерації кісткової тканини та перебудови трансплантату при імплантації двох зразків біокомпозиту "Синтекість" у кісткові дефекти, змодельовані на клубових кістках кролів. Отримані дані свідчать про те, що обидва варіанти біокомпозиту мають абсолютну біосумісність та піддаються резорбції, заміщуючись повноцінною кістковою тканиною.

Ключові слова: епімезотимпаніт, післяопераційна кісткова порожнина, біокомпозит "Синтекість", osteo-керамічний комплекс.

Вступ

Перебіг заживлення посттравматичних порожнин після сануючих операцій з приводу хронічного гнійного епімезотимпаніту тривалий і часто утворюються незрілі грануляції, рубці, або спостерігається ексудація та неповна епідермізація їх стінок. Однак, навіть при повній епідермізації у зв'язку з порушенням механізмів самоочищення у післяопераційній трепанаційній порожнині накопичуються продукти життєдіяльності клітин, злущений епідерміс, секрет залоз, мілкі сторонні тіла. Все це може призвести до рецидиву запального процесу та утворення холестеатоми [Кокоркин и др., 2007]. В отоларингології для пластики таких порожнин використовують м'якотканні, кісткові, хрящові ауто- та аллотрансплантати та штучні матеріали.

Аутоотрансплантати мають гарну біосумісність, однак, кількість їх, як правило, обмежена, а отримання пов'язане з додатковою травмою, м'якотканні аутоотрансплантати з часом зменшуються в розмірі, нерідко виникає їх некроз, утворення гематоми, розвиток міозиту, невралгія в місці травми [Диденко, 2000; Яшан, 2000]. Застосування донорських тканин несе в собі ризик передачі інфекцій, накопичених за період життя донорів важких металів, радіоактивних елементів, та виникнення тканинної несумісності [Проценко, 2007].

Із синтетичних матеріалів, які застосовуються для пластики післяопераційних порожнин, все більшу увагу привертають біоактивні матеріали, що резорбуються, зокрема біоактивний композит "Синтекість", який дозволений для клінічного використання в Україні (свідоцтво про державну реєстрацію №3653/2005, видане 28.01.2005). За складом він близький до мінералу природної кістки і призначений для вирішення різних задач її хірургічного відновлення. Матеріали із групи біокомпозитів "Синтекість" є біоактивними багатофазними неорганічними композиційними матеріалами, які містять суперпозицію практично всіх фазових і хімічних компонентів, які присутні у вітчизняних та закордонних матеріалах подібного призначення (на відміну від са-

мих цих матеріалів, кожен з яких містить лише 1-2 компонента), а також деякі нові фазові і хімічні компоненти та їх поєднання. Це надає можливість достатньо точно планувати взаємодію цих матеріалів з тканинами організму, передбачати утворення в матеріалі пор після імплантації, а також тип біодеградації імплантата, регулювати міцність, остеокондуктивні властивості, швидкість резорбції матеріалу чи окремих його компонентів, покращувати механічні властивості імплантатів і регулювати зміну цих властивостей в часі.

Біоактивність композиту проявляється у властивості osteointegration - утворенні безпосередніх біохімічних зв'язків з прилеглою до них кістковою тканиною, остеокондуктивності і остеостимуляції - він служить провідником і стимулятором утворення на поверхні і в порях біокомпозита нової кісткової тканини, стає каркасом для новоутвореної кістки.

Після утворення osteo-керамічного комплексу в організмі він частково, або повністю резорбується в запланований час та заміщується кістковою тканиною [Добржанська, Белоусова, 2005; Дубок и др., 2005; Дубок и др., 2007; Проценко, 2007].

Крім відомих компонентів (гідроксиапатит 14-17 мас.%, трикальційфосфат, октакальційфосфат, сульфат кальцію, біоактивне скло 50-65 мас.% та біоактивні ситали: вітлокит 14-17 мас.%, воластоніт 7-9 мас.%) біокомпозит містить неорганічні сполуки найвищої біосумісності, які не провокують ніяких негативних імунних реакцій та бактеріцидні неорганічні домішки, які попереджують розвиток бактерій [Борисенко, Дудік, 2008; Дубок та ін., 1999]. Завдяки відсутності органічних компонентів можлива багаторазова стерилізація в сухожарових шафах без будь-яких змін властивостей кістково-пластичного матеріалу.

Біокомпозит "Синтекість" випускається у вигляді порошків, гранул різного розміру і пористості, а також у вигляді пористих і щільних блоків і фігурних імплантатів, які виготовляються за моделями кісткових де-

фектів, наприклад, дефектів черепа, розміром до 10-15 см. Біокомпозити "Синтекість" апробовані провідними ортопедами, стоматологами, щелепно-лицьовими хірургами та нейрохірургами України [Проценко, 2007].

Метою нашого дослідження стало визначити особливості формування кістково-керамічного комплексу, процесу кісткової регенерації та перебудови трансплантату при імплантації біокомпозиту "Синтекість" в експерименті.

Матеріали та методи

Експериментальне дослідження проводилось на 12 здорових кролях віком від 1 до 1,5 років, в клубові кістки яких було імплантовано пористі блоки біокомпозиту "Синтекість". Контрольну групу тварин склали 3 здорові кролі, яким оперативні втручання не проводили. Експериментальне дослідження проводили з дотриманням основних положень GLP (1981р.); правил проведення робіт з використанням експериментальних тварин (1977 р.); конвенції Ради Європи про охорону хребетних тварин, що використовують в експериментах на інших наукових цілях від 18.03.1986 р.; директиви ЄЕС № 609 від 24.11.1986 р. і наказу МОЗ України № 281 від 01.11.2000 р.

Дванадцять кролям після дом'язового введення розчину кетаміну (4 мг на 1 кг маси тіла) при додатковій інфільтраційній анестезії розчином ультракаїну 3-5 мл в гребні правої клубової кістки формували нішу, в яку було поміщено пористий блок контрольного зразку біокомпозиту "Синтекість", в сформовану нішу гребня лівої клубової кістки було поміщено прокалений до 400°C і вимочений у фізіологічному розчині зразок біокомпозиту "Синтекість". Рани пошарово ушивали. Післяопераційні рани загоювались первинним натягом, запальна

реакція, а також реакція відторгнення трансплантата були відсутні. Тварин виводили з експерименту шляхом передозування тіопенталу натрію в строки 3 та 6 міс.

Гребні клубових кісток видалялись одним блоком, серійні гістологічні зрізи, після попередньої декальцинації, забарвлювали гематоксиліном та еозином та здійснювали мікроскопічне дослідження препаратів. Морфометричне дослідження зрізів проводили з використанням планіметричної лінійки Автандилова для вимірювання площі їх структурних складових, визначали процентне співвідношення залишків біокомпозиту, пластинчатої та грубоволокнистої кісткової тканини [Автандилов, 2006].

Результати. Обговорення

При мікроскопічному вивченні зони імплантації контрольного (рис. 2) та прокаленого до 400°C і вимоченого у фізіологічному розчині (рис. 1) зразків керамічного матеріалу в строк 3 місяці спостерігали кісткові трабекули, які у вигляді тяжів вросли в синтетичний матеріал та утворювали широкопетлисту сітку і склали 27,3% та 31,4% відповідно. В порожнинах між цими новоутвореними трабекулами виявляли невеликі фрагменти біокераміки (7,4% та 7,7% відповідно), оточені грубоволокнистою незрілою кістковою тканиною (65,4% та 58,4% відповідно).

При вивченні зони імплантації обох зразків керамічного матеріалу в строк 6 місяців спостерігали достовірне збільшення процентного співвідношення трабекул як в контрольному (40,7%) (рис. 4) так і в прокаленому до 400°C і вимоченому у фізіологічному розчині (45,7%) (рис. 3) зразках біокомпозиту ($p < 0,05$). Процентний вміст грубоволокнистої кісткової тканини в цих зразках достовірно зменшився (56,2% та 51,3% відпо-

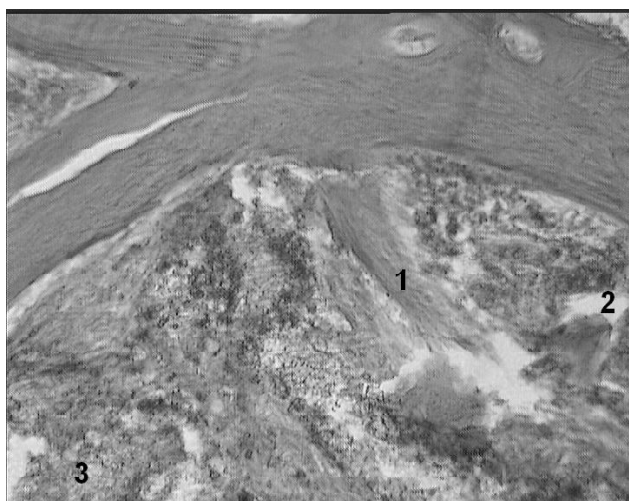


Рис. 1. Прокалений до 400°C і вимочений у фізіологічному розчині зразок керамічного матеріалу, строк 3 міс. 1 - кісткові трабекули, 2 - невеликі фрагменти біокераміки (світлого кольору), 3 - грубоволокниста кісткова тканина. Гематоксилін-еозин. x100.

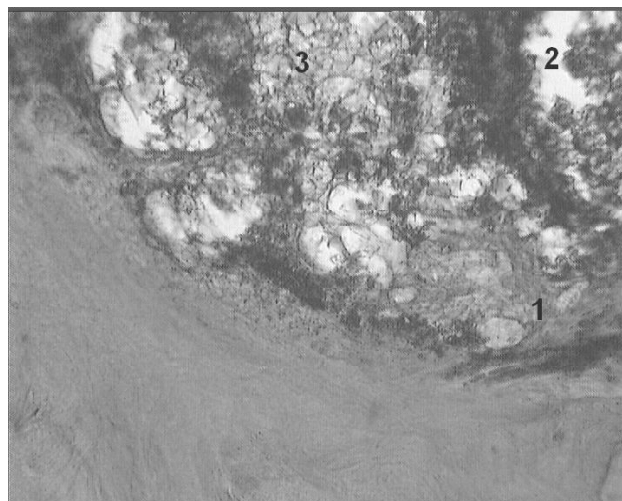


Рис. 2. Контрольний зразок керамічного матеріалу, строк 3 міс. 1 - кісткові трабекули, 2 - невеликі фрагменти біокераміки (світлого кольору), 3 - грубоволокниста кісткова тканина. Гематоксилін-еозин. x100.



Рис. 3. Прокалений до 400°C і вимочений у фізіологічному розчині зразок керамічного матеріалу, строк 6 міс. 1 - кісткові трабекули, 2 - невеликі фрагменти біокераміки (світлого кольору), 3 - грубоволокниста кісткова тканина. Гематоксилін-еозин. x100.

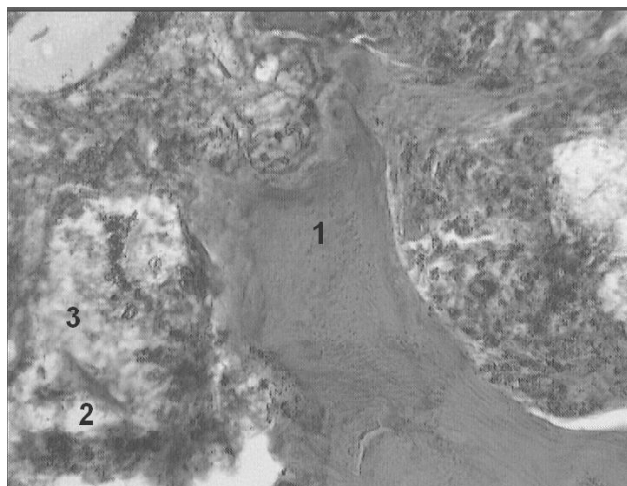


Рис. 4. Контрольний зразок керамічного матеріалу, строк 6 міс. 1 - кісткові трабекули, 2 - невеликі фрагменти біокераміки (світлого кольору), 3 - грубоволокниста кісткова тканина. Гематоксилін-еозин. x100.

відно) ($p < 0,05$). Фрагменти біокераміки, що залишились, склали (3,6% та 3,0% відповідно).

Для обох варіантів біокомпозиту і в 3, і в 6 місяців новоутворена пластинчаста та грубоволокниста кісткова тканина були розташовані рівномірно у всьому об'ємі імплантованого матеріалу, також спостерігали їх повну адгезію з кістковою тканиною гребня клубової кістки кроля поза зоною імплантації. Будова кісткової тканини гребня клубової кістки поза зоною імплантації була подібна до будови кісткової тканини інтактної контрольної групи тварин. Через 3 та 6 місяців поряд з активним остеогенезом в ділянці імплантованого біокомпозиту відмічали достовірне зменшення його кількості з 7,4%-7,7% до 3,6%-3% ($p < 0,05$). Дистрофічних змін кісткової тканини в зоні імплантації не спостерігали в

жодному випадку. Формування навколо трансплантата сполучнотканинної капсули, запальної реакції або реакції його відторгнення не спостерігали.

Аналіз отриманих даних експериментального дослідження показав, що в імплантованому матеріалі в строки 3-6 місяців відбувався активний остеогенез з формуванням кісткових трабекул та грубоволокнистої кісткової тканини, причому незріла кісткова тканина поступово заміщувалась пластинчастою, однак в прокаленому до 400°C і вимоченому у фізіологічному розчині зразку біокомпозиту цей процес відбувався швидше, ніж в контрольному зразку імплантованого матеріалу.

Достовірне зменшення об'єму імплантаційного матеріалу через 6 міс свідчить про активну біодеградацію обох зразків біокомпозиту "Синтекість". Біоактивність композиту проявляється у властивості утворювати безпосередні біохімічні зв'язки з оточуючою його кістковою тканиною. Наноструктурний синтетичний ГАП, який входить до складу біокомпозиту "Синтекість", є близьким аналогом мінеральної речовини кісткової тканини [Jager et al., 2006; Ning, Zhou, 2002], і, хоча до повної аналогії цих речовин досить далеко, навіть у досліджах *in vitro* спостерігали, що колаген приєднується кінцями своїх волокон до ГАП настільки міцно, що при їх роз'єднанні завжди рветься волокно колагену, але ніколи - місце з'єднання його з апатитом. Н.М.Кім зі співавторами [2005] у своїх дослідженнях довели, що це відбувається внаслідок утворення на поверхні синтетичного ГАП мікрокристалів, подібних біомінералу кістки, до котрих і приєднується колаген, причому чим вища температура спікання синтетичного ГАП і чим досконаліші його кристали, тим повільніше відбувається цей процес. Наші дані підтверджують висновки, зроблені вищевказаними авторами, оскільки ми спостерігали повну адгезію новоутвореної кісткової тканини з кістковою тканиною гребня клубової кістки кроля поза зоною імплантації.

Вивчення властивостей та результатів імплантації синтетичного ГАП та подібних йому матеріалів в нашому експерименті та експериментальних дослідженнях інших авторів показало нетоксичність більшості цих матеріалів, відсутність імунних та інших негативних реакцій організму [Добржанська, Белоусова, 2005; Дубок и др., 2005, 2007; Проценко, 2007].

Біокомпозит "Синтекість" має остеокондуктивні та остеоіндуктивні властивості [Добржанська, Белоусова, 2005; Дубок и др., 2005; Дубок и др., 2007; Проценко, 2007], оскільки і в нашому дослідженні кісткові трабекули у вигляді тяжів вросли у всьому його об'ємі, утворюючи широкопетлисту сітку, а в порожнинах між цими новоутвореними трабекулами були виявлені невеликі фрагменти біокераміки, оточені грубоволокнистою кістковою тканиною.

Висновки та перспективи подальших розробок

1. Результати гістологічних досліджень при імплан-

тації контрольного та прокаленого до 400°C і вимоченого у фізіологічному розчині зразків біокомпозиту "Синтекість" в гребні клубових кісток кролів свідчать про біосумісність керамічного матеріалу та про високу ступінь його біоактивності.

2. Як у 3 так і в 6 місяців процентний вміст пластинчастої кісткової тканини у прокаленому до 400°C і вимоченому у фізіологічному розчині імплантованому матеріалу був достовірно вищий, ніж в контрольних зразках біокомпозиту.

В перспективі після клінічної апробації прокалений до 400°C і вимочений у фізіологічному розчині зразок біокомпозиту "Синтекість" може бути рекомендованим для використання в отоліній хірургії.

В перспективі після клінічної апробації прокалений до 400°C і вимочений у фізіологічному розчині зразок біокомпозиту "Синтекість" може бути рекомендованим для використання в отоліній хірургії.

Література

- Автандилов Г.Г. Основы количественной патологической анатомии / Г.Г.Автандилов.- М.: Медицина, 2006.- 240с.
- Борисенко А.В. Антибактериальні властивості пломбувального матеріалу на основі біоактивної кераміки "Синтекість" /А.В.Борисенко, О.П.-Дудік //Современная стоматология.- 2008.- №1 (41).- С.7-13.
- Диденко В.И. Холестеатома уха и реконструктивно-пластическая хирургия полостей после санирующих операций с использованием губчатой аутокости и костного мозга /В.И.Диденко //Журн. вушних, носових і горлових хвороб.- 2000.- №5.- С.106-109.
- Добржанська І.А. Експериментальне використання біоактивного керамічного композиту "Синтекість" в мастоїдопластиці /І.А.Добржанська, А.О.Белоусова //Журн. вушних, носових і горлових хвороб.- 2005.- №1.- С.20-24.
- Дубок В.А. Усовершенствование биокерамических материалов, используемых для восстановления костной ткани /В.А.-Дубок, Г.Я.Костюк, А.Т.Бруско и др. /Biomedical and biosocial anthropology.- 2005.- №4.- P.125-132.
- Дубок В.А. Современные неорганические материалы для пластики кости - пути и результаты усовершенствования /В.А.Дубок, Г.В.Гайко, А.Т.-Бруско и др. //Акт. пробл. сучасної медицини.- 2007.- Т.7, Вип 1-2.- С.271-280.
- Кокоркин Д.Н. Эффективность мастоїдопластики у детей и подростков с эпителимпанитами /Д.Н.Кокоркин, А.Д.Гусаков, В.Й.Диденко //Журнал вушних, носових і горлових хвороб.- 2007.- №6.- С.59-60.
- Регулювання параметрів синтетичного керамічного гідроксилапатиту для різних застосувань в ортопедії і травматології /В.А.Дубок, Н.В.Ульянич, Б.О.Толстопятов та ін. //Тр. Крымского гос. унив.- 1999.- Т.135, Ч.2.- С.129-132.
- Проценко В.В. Новый пластичный материал для заполнения костных дефектов. /В.В.Проценко //Акт. пробл. сучасної медицини.- 2007.- Т.7, Вип.1-2.- С.280-283.
- Яшан О.І. Порівняння двох технік мастоїдопластики за матеріалами однієї клініки /О.І.Яшан //Вісник наук. досліджень.- 2000.- №3.- С.48-49.
- Jager C.A solid-state NMR investigation of the structure of nanocrystalline hydroxyapatite /Jager C.T.Welzel, W.Meyer-Zaica, M.Epple Magn. Reson //Chem.- 2006.- 44:573-580.
- Kim H.M. Process and kinetics of bone like apatite formation on sintered hydroxyapatite in a simulated body fluid /H.M.Kim, T.Himeno, T.Kokubo, T.Nakamura //Biomaterials.- 2005.- 26(21): 43. 66-73.
- Ning C.Q. In vitro bioactivity of a biocomposite fabricated from HA and Ti powders by powder mttslurgy method /C.Q.Ning, Y.Zhou // Biomaterials.- 2002.- Vol.23.- P.2909-2915.

ВЛИЯНИЕ ВЫЩЕЛАЧИВАНИЯ БИОКОМПОЗИТА "СИНТЕКОСТЬ" НА ФОРМИРОВАНИЕ ОСТЕО-КЕРАМИЧЕСКОГО КОМПЛЕКСА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Кишук В.В., Стечишин Е.А., Король А.П., Бондарчук А.Д., Шинкарук О.В.

Резюме. В экспериментальном исследовании морфологическими методами изучены процессы регенерации костной ткани и перестройки трансплантата при имплантации двух образцов биокомпозита "Синтекість" в костные дефекты, смоделированные на подвздошных костях кролей. Полученные данные свидетельствуют о том, что оба варианта биокомпозита имеют абсолютную биосовместимость и поддаются резорбции, замещаясь полноценной костной тканью.

Ключевые слова: эпимезотимпанит, послеоперационная костная полость, биокомпозит "Синтекість", osteo-керамический комплекс.

INFLUENCE OF DEALKALIZATION OF BIOCOMPOSITE "SYNTEBONE" ON THE FORMATION OF OSTEO-CERAMIC COMPLEX IN THE EXPERIMENT

Kischuk V.V., Stechyshyn E.A., Korol A.P., Bondarchuk A.D., Shinkaruk O.V.

Summary. In experimental research by morphological methods the processes of regeneration of bone tissue and alteration to the transplant during implantation of two standards of biocomposite "Syntebone" in bone defects, modelled on the iliac bones of rabbits were studied. It was found that both variants of biocomposite have absolute biocompatibility and undergo resorption, being substituted by a valuable bone tissue.

Key words: epimesotympanitis, postoperative bone cavity, biocomposite "Syntebone", osteo-ceramic complex.

© Мельник О.П., Костюк В.В., Мельник М.В., Дідаш К.В.

УДК: 619:616-091.7:57.082

ВИГОТОВЛЕННЯ АНАТОМІЧНИХ ПРЕПАРАТІВ МЕТОДОМ ПЛАСТИНАЦІЇ

Мельник О.П., Костюк В.В., Мельник М.В., Дідаш К.В.

Національний університет біоресурсів і природокористування України (вул. Полковника Потехіна, 16, м.Київ, 03041, Україна)