

© Маланчук В.О., Грабовий О.М., Жуковцева О.І., Кисельов В.С., Чепурний Ю.В.

УДК 615.464:666.597.001.365+546.82+546.28

Маланчук В.О., Грабовий О.М., Жуковцева О.І., Кисельов В.С., Чепурний Ю.В.

ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ БІОСУМІСНОСТІ БІОМОРФНОЇ КЕРАМІКИ НА ОСНОВІ КАРБІДУ КРЕМНІЮ та ТИТАНУ МЕДИЧНОГО ПРИЗНАЧЕННЯ: ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця (м. Київ)

***Національний інститут раку (м. Київ)**

****Інститут фізики напівпровідників імені В.Є. Лашкарьова НАН України (м. Київ)**

80667788837@ukr.net

Дана робота є фрагментом НДР «Обґрунтування реконструктивно-відновних операцій на щелепно-лицевій ділянці та методів дентальної імплантації на підставі етіо-патогенетичних, клініко-біологічних та структурно-функціональних параметрів», державний реєстраційний № 0111U000661.

Вступ. Хірургічне лікування дефектів та деформацій щелепно-лицевої ділянки практично завжди передбачає використання чужорідних матеріалів в якості фіксаторів кісткових фрагментів, бар'єрів між різними видами тканин, імплантатів для контурної пластики. Розробка нових імплантаційних матеріалів для розширення лікувальних можливостей залишається задачею сучасного медичного матеріалознавства.

Традиційно одним з найпоширеніших імплантаційних матеріалів в щелепно-лицевій хірургії являється медичний титан (Ti-4Al-6V). Його висока біосумісність та біоінертність є давно відомими, та доведені численними науковими дослідженнями. Разом з тим, для титану характерні ряд недоліків (високий коефіцієнт теплопровідності, виникнення металозу, здатність до корозії, тощо) [6-8, 10, 11], які змушують продовжувати пошук нових імплантаційних матеріалів, які їх позбавлені.

На даний момент перспективним напрямком медичного матеріалознавства є дослідження нового класу імплантаційних матеріалів, створених відповідно принципам біоміметики [9]. Дані матеріали синтезуються з біологічних тканин, або мають властивості, аналогічні живим структурам, тобто є біоморфними.

Потенційно перспективний вид біоморфної кераміки розроблено в Інституті фізики напівпровідників імені В.Є. Лашкарьова НАН України, шляхом просочування кремнієм «канальних» вуглецевих матриць, що отримують внаслідок піролізу (обвуглення) різних сортів деревини [1, 12].

Оцінка біосумісності будь-якого матеріалу ґрунтується на дослідженні тканинних реакцій на його імплантацію в організм експериментальних тварин. Навколо імплантату формується волокниста капсула, якою організм відмежовується від нього. Товщина та клітинний склад капсули є «мірою» біосумісності імплантаційного матеріалу [2].

Мета дослідження. В даній роботі ми ставили за мету порівняти біосумісність біоморфної кераміки

на основі карбїду кремнію (біо SiC) з титаном медичного призначення на основі аналізу тканинних реакцій на їх імплантацію в експерименті на лабораторних щурах.

Об'єкт і методи дослідження. Для досягнення поставленої мети нами виконано експеримент на 20 білих лабораторних щурах лінії «Вістар». Медико-біологічні дослідження на тваринах проводили в умовах асептики у відповідності до Європейської конвенції та Закону України щодо гуманного відношення до експериментальних тварин, а також згідно з загальноприйнятими міжнародними стандартами [3, 5].

В експерименті були використані статевозрілі лабораторні щури, масою 180-220 г. Тваринам під загальним знеболенням (розчин 10% кетаміну 0,2 мл внутрішньоочередно) в асептичних умовах проводили підшкірну імплантацію зразків біоморфної кераміки розміром 0,5x1,0x0,2 см., виготовленої в Інституті фізики напівпровідників імені В.Є. Лашкарьова НАН України та зразків медичного титану (фрагменти пластин для остеосинтезу). Жодна з тварин не загинула при проведенні даного експерименту.

Виводилися з експерименту тварини в терміни 30 діб та 3 міс. шляхом введення летальної дози тіопенталу натрію. Фрагмент шкіри з підлеглими тканинами та імплантати єдиним блоком висікали, після чого фіксували у 10% забуференому формаліні протягом 24 годин. Шматочки заливалися у парафін. З отриманих блоків виготовлялися гістологічні зрізи товщиною 5 мкм, які забарвлювалися гематоксиліном і еозином, азур II-еозином, фосфорновольфрамовим гематоксиліном та за ван Гізона.

Результати досліджень та їх обговорення. Проведені дослідження показали, що через один місяць після імплантації навколо зразків з медичного титану формувалася сполучнотканинна капсула. На межі між прилеглою дермою та капсулою часто розташовувались тонкостінні кровоносні судини. На цей час вона вже була представлена щільною волокнистою сполучною тканиною, а її будова дещо відрізнялася в ділянках, де імплантат прилягав до дерми та в ділянці його контакту з гіподермою. Товщина капсули в середньому становила 64,5±21 мкм.

Забарвлення фосфорновольфрамовим гематоксиліном продемонстрував, що в ділянці капсули, яка безпосередньо прилягала до імплантату, через один

місяць після початку досліду, ще не відбувалося остаточної комплектації колагенових волокон у пучки та їх дозрівання (рис. 1). Це підтверджувалось їхньою базофілією, що було зумовлено високим вмістом глікозаміногліканів.

Серед клітин, що були присутні в капсулі м'яких тканин навколо імплантату, явно переважали фібробласти. Їх кількість виявилась найбільшою у шарі капсули, що безпосередньо прилягав до імплантату. Вони мали видовжену форму, були розташовані тангенціально та характеризувалися вираженою базофілією цитоплазми. Серед клітин капсули у невеликій кількості виявлялися макрофаги та лімфоцити.

Будова капсули навколо імплантатів з біо SiC через 1 місяць досліду в цілому виявилась аналогічною, що формувалася навколо зразків титану медичного призначення. Першою особливістю, що звернула на себе увагу, була наявність у складі капсули пилувидних часточок карбїду кремнію. За товщиною капсула статистично ($p \leq 0,05$) не відрізнялася від тієї,

що була характерною для титанових імплантатів, і становила $67,3 \pm 18$ мкм. Але між капсулою навколо біо SiC і прилеглою тканиною дерми виявлялось більше тонкостінних кровоносних судин. Масив колагенових волокон капсули виглядав порівняно гомогенним, що можна розцінювати як дещо уповільнений процес їх комплектації у пучки (рис. 2).

Серед клітин капсули також переважали фібробласти, і дещо частіше, ніж у капсулі титанового імплантату, виявлялися макрофаги та лімфоцити. В капсулі навколо імплантатів з біо SiC фібробласти виявляли дещо меншу базофілію цитоплазми.

Через 3 місяці після імплантації капсула навколо титанового зразка виявилась більш щільною за рахунок наявності масиву колагенових волокон, але її середня товщина зменшилась і становила $61,6 \pm 12,7$ мкм. Перш за все це стосувалося її частини, прилеглої до дерми. Колагенові волокна утворювали пучки, які практично не відрізнялися від таких, як у прилеглій дермі. На момент дослідження вони

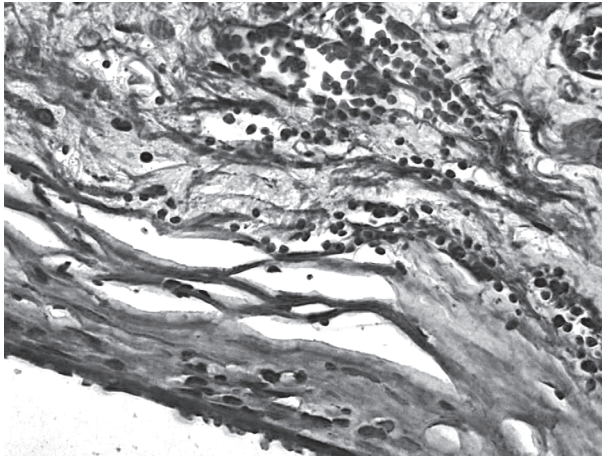


Рис. 1. Ділянка капсули м'яких тканин навколо титанового імплантату з боку прилягання дерми через 1 місяць після початку експерименту. Забарвлення фосфорновольфрамовим гематоксилином. Мікрофото. Об. 40, ок. 10.

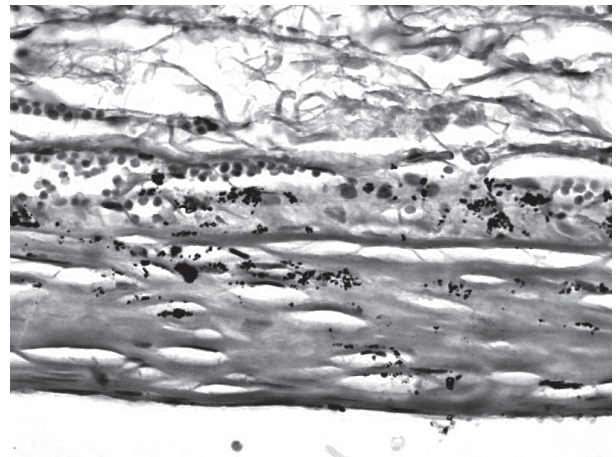


Рис. 2. Ділянка капсули навколо імплантату з біо SiC зі сторони прилягання дерми через 1 місяць після початку експерименту. Забарвлення фосфорновольфрамовим гематоксилином. Мікрофото. Об. 40, ок. 10.

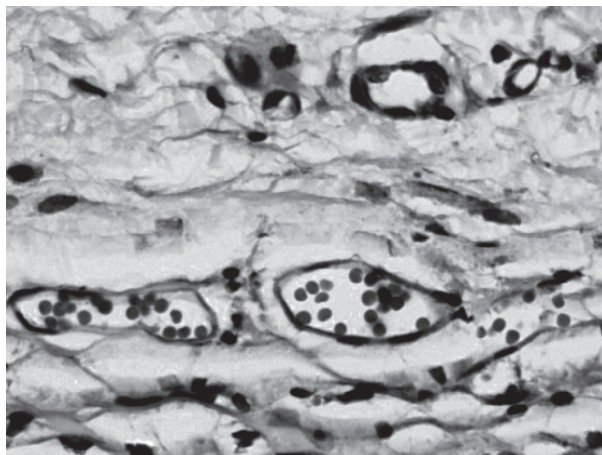


Рис. 3. Ділянка капсули навколо титанового імплантату з боку прилягання дерми через 3 місяці після початку експерименту. Забарвлення за ван Гїзон. Мікрофото. Об. 40, ок. 10.

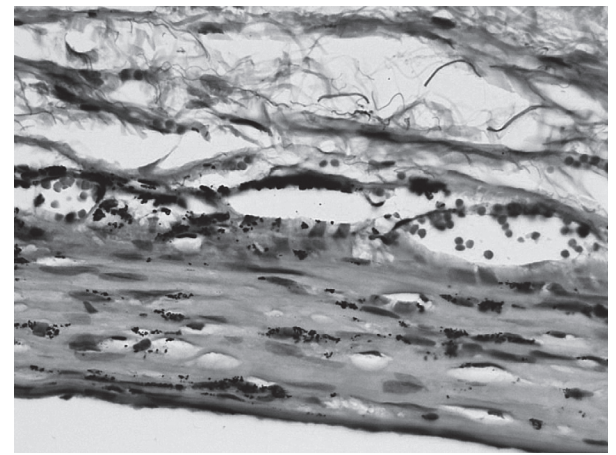


Рис. 4. Ділянка капсули навколо зразків біо SiC з боку прилягання дерми через 3 місяці після введення зразків матеріалу. Забарвлення за ван Гїзон. Мікрофото. Об. 40, ок. 10.

вже були еозинофільними та виявили дещо меншу фуксинофілію (рис. 3).

Суттєво змінився розподіл клітин у цій частині капсули і, перш за все, за рахунок переважаючих за кількістю фібробластів. Вони були рівномірно розподілені у її товщі. Як і під час попереднього строку спостереження вони розташовувалися тангенціально, але виявляли значно меншу базофілію цитоплазми. Макрофаги та лімфоцити у складі капсули зустрічалися рідко.

Через 3 місяці після початку досліду капсула навколо зразків біо SiC принципово не відрізнялася від тієї, що сформувалася навколо титанових імплантів. Зі сторони дерми капсула мала у своєму складі щільну сітку з пучків колагенових волокон, аморфна речовина між якими практично не виявляла базофілії. Фібробласти, що значно переважали серед клітинного складу капсули, також рівномірно були розподілені у її товщі та виявляли помірну базофілію цитоплазми. При цьому в дані строки дослідження в капсулі зустрічались макрофаги і лімфоцити незначно в більшій мірі, ніж в капсулі навколо титанових імплантів (рис. 4). Середня товщина капсули становила $64,4 \pm 14,5$ мкм. При цьому статистично достовірної різниці в товщині капсули навколо біо SiC та титанових імплантів не виявлено.

Таким чином, виявлені однотипні тканинні реакції засвідчили високий рівень біосумісності біо SiC. Дана теза підтверджується здатністю формувати сполучнотканинну капсулу, схожу за будовою тій, що утворювалась навколо зразків титану медичного призначення, при цьому не виявлено статистично достовірної різниці в її товщині. При цьому, висока біосумісність титанових імплантів підтверджена численними експериментальними та клінічними дослідженнями [4]. Як і у випадку титанових імплантів, в капсулі навколо зразків біо SiC серед клітинних елементів переважали фібробласти. Разом з тим, незначно вищий рівень макрофагально-лімфоцитарної

інфільтрації та товщина капсули завжди були характерні для пористих імплантаційних матеріалів в порівнянні з полірованими матеріалами [2].

Ще одним свідченням на користь високої біосумісності досліджуваної біоморфної кераміки слід вважати низький рівень запальної інфільтрації капсули м'яких тканин в строки 30 днів після початку експерименту, що відповідає наявності явищ запалення низької інтенсивності.

Висновки.

На основі проведеного дослідження встановлено, що тканинні реакції на імплантацію зразків медичного титану та біо SiC виявились принципово подібними – навколо обох видів імплантів формувалася сполучнотканинна капсула, яка була вже добре вираженою на 30 добу, втім, її формування навколо біо SiC відбувалось повільніше, ніж навколо титану, але на 90 добу вона виявилась аналогічною за будовою тій, що виникла навколо зразків медичного титану, що свідчить про біосумісність цього матеріалу та принципово однотипну реакцію тканин на ці матеріали. Проведені дослідження свідчать, що біо SiC виявляється біосумісним імплантаційним матеріалом і може бути рекомендований для виготовлення імплантів медичного призначення, зокрема, для застосування в щелепно-лицевій хірургії з метою усунення дефектів кісток лицевого черепа.

Перспективи подальших досліджень.

Отримані результати являються основною передумовою для проведення подальших експериментальних та клінічних досліджень використання імплантів з біоSiC з метою усунення дефектів та деформацій щелепно-лицевої ділянки. Враховуючи механічні характеристики карбиду кремнію та потенційну можливість виготовлення імплантів будь-якої форми та розміру з легко доступних джерел сировини даний напрямок наукових досліджень в стоматології та щелепно-лицевій хірургії видається нам перспективним.

Література

1. Беляев А.Е. Карбид кремния: технология, свойства, применение / А.Е. Беляев; под ред. Р.В. Конакова. – Х. : «ИСМА», 2010. – 532 с.
2. Биосовместимость / [С. Л. Васин, Е. А. Немец, Н. В. Перова и др.; под ред. В.И. Севастьянова]. – М., 1999. – 368 с.
3. Європейська конвенція про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей. Страсбург, 18 березня 1986 року: офіційний переклад [Електронний ресурс] / Верховна Рада України. – Офіц. Веб-сайт. – (Міжнародний документ Ради Європи). Режим доступу до документа: http://zakon3.rada.gov.ua/laws/show/994_137.
4. Параскевич В.Л. Дентальная имплантология: Основы теории и практики: Науч.-практ. пособие / В.Л. Параскевич. – МН. : «Юнипресс», 2002. – 368 с.
5. Про захист тварин від жорстокого поводження: Закон України № 3447-IV від 21.02.2006 р. [Електронний ресурс] / Верховна Рада України. – Офіц. Веб-сайт. – Режим доступу до документа: <http://zakon4.rada.gov.ua/laws/show/3447-15>.
6. Acero J. The behaviour of titanium as a biomaterial: microscopy study of plates and surrounding tissues in facial osteosynthesis / J. Acero, J. Calderon, J.I. Salmeron [et al.] // J. Craniomaxillofac. Surg. – 1999. – Vol. 27, № 2. – P. 117-123.
7. Adya N. Corrosion in titanium dental implants: literature review / N. Adya, M. Alam, T. Ravindranath [et al.] // The Journal of Indian Prosthodontic Society. – 2005. – Vol. 5, № 3. – P. 126-131.
8. Evrard L. Allergies to dental metals. Titanium: a new allergen / L. Evrard, D. Waroquier, D. Parent // Rev. Med. Brux. – 2010. – Vol. 31, № 1. – P. 44-9.
9. Paris O. Biomimetics and Biotemplating of Natural Materials / O. Paris, I. Burgert, P. Fratzl // Mrs. Bulletin. – 2010. – Vol. 35, № 3. – P. 219-225.
10. Siddiqi A. Titanium allergy: could it affect dental implant integration? / A. Siddiqi, A.G. Payne, R.K. De Silva [et al.] // Clin. Oral Implants Res. – 2011. – Vol. 22, № 7. – P. 673-80.
11. Wang Y. Structural basis of metal hypersensitivity / Y. Wang, S. Dai // Immunol Res. – 2013. – Vol. 55. – P. 83-90.
12. Yukhymchuk V.O. Synthesis, morphological and structural properties of bio-SiC ceramics / V.O. Yukhymchuk, V.S. Kiselov, A.E. Belyaev [et al.] // Functional materials. – 2010. – Vol. 17, № 4. – P. 520-527.

УДК 615.464:666.597.001.365+546.82+546.28

ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ БІОСУМІСНОСТІ БІОМОРФНОЇ КЕРАМІКИ НА ОСНОВІ КАРБІДУ КРЕМНІЮ ТА ТИТАНУ МЕДИЧНОГО ПРИЗНАЧЕННЯ: ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ

Маланчук В.О., Грабовий О.М., Жуковцева О.І., Кисельов В.С., Чепурний Ю.В.

Резюме. В даній статті представлені результати порівняльного аналізу тканинних реакцій на імплантацію зразків біоморфної кераміки на основі карбіду кремнію та титану медичного призначення. Для досягнення поставленої мети проведено експеримент на 20 лабораторних щурах лінії «Вістар», яким проводилась підшкірна імплантація зразків досліджуваних матеріалів. Проведено морфологічний аналіз тканинних реакцій на імплантацію в строки 30 та 90 діб, при цьому оцінювали товщину, клітинний склад, структуру колагенових волокон капсули. На основі проведеного дослідження встановлено принципово однотипну реакцію тканин на ці матеріали, що свідчить про біосумісність біоморфного карбіду кремнію.

Ключові слова: біоморфна кераміка, карбід кремнію, біосумісність, імплантаційний матеріал, титан медичного призначення.

УДК 615.464:666.597.001.365+546.82+546.28

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ БИОСОВМЕСТИМОСТИ БИОМОРФНОЙ КЕРАМИКИ НА ОСНОВЕ КАРБИДА КРЕМНИЯ И ТИТАНА МЕДИЦИНСКОГО НАЗНАЧЕНИЯ: ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Маланчук В.А., Грабовой А.Н., Жуковцева Е.И., Киселёв В.С., Чепурной Ю.В.

Резюме. В данной статье представлены результаты сравнительного анализа тканевых реакций на имплантацию образцов биоморфной керамики на основе карбида кремния и титана медицинского назначения. Для достижения поставленной цели проведен эксперимент на 20 лабораторных крысах линии «Вистар», которым проводилась подкожная имплантация образцов исследуемых материалов. Проведено морфологический анализ тканевых реакций на имплантацию в сроки 30 и 90 суток, при этом оценивали толщину, клеточный состав, структуру коллагеновых волокон капсулы. На основе проведенного исследования установлено принципиально однотипную реакцию тканей на эти материалы, что свидетельствует о биосовместимости биоморфного карбида кремния.

Ключевые слова: биоморфная керамика, карбид кремния, биосовместимость, имплантационный материал, титан медицинского назначения.

UDC 615.464:666.597.001.365+546.82+546.28

Comparative Analysis of Biocompatibility of Biomorphic Ceramics based on Silicon Carbide and Titanium Medical Purpose: an Experimental Study

Malanchuk V., Grabovoy O., Zhukovtceva O., Kiselov V., Chepurnii Yu.

Abstracst. One of the pressing issues of modern medical materials science is the search and development of new implant materials to expand the arsenal of treatment measures for defects and deformities elimination. Modern surgery often requires the use of synthetic materials as bone fragments fixators, barriers between different types of tissues, and so on.

Research and introduction into clinical practice a new class of implant materials created in accordance with the principles of biomimetics at the moment is extremely promising area of medical materials science. Potentially promising type of biomorphic ceramic have developed at the Lashkaryov Institute of Semiconductor Physics NAS of Ukraine, by impregnating silicon «channel» carbon matrices obtained as a result of wood pyrolysis.

The purpose of the given article was to evaluate the biocompatibility of the new material, biomorphic ceramics based on silicon carbide (bio SiC), an analyzing of tissue reactions to its implantation in an experiment on laboratory rats.

To achieve this goal we performed a study on 20 white laboratory rat, line «Wistar», which were held subcutaneous implantations of biomorphic ceramics samples. Animals taken out of the experiment after 30 days and 3 months, with following morphological study of tissues, surrounding the implants.

The study showed that connective tissue capsule formed around the bio SiC implants, which was already well marked at 30 days after surgery. At that time it was characterized by more incomplete maturation framework of collagen fibers and a relatively high number of fibroblasts. Inflammatory infiltration of the capsule was expressed very weakly. Particular attention the difference attracted in the structure of the capsule around the SiC implant, fit the part of the dermis and hypodermis. From the dermis it was detected a formation of dense fibrous connective tissue.

From the hypodermis formed capsules also looked like as the dense fibrous connective tissue. But the process of it formation has been slow, primarily due to the low rate of formation of the fibrous framework and its maturation. Even after 3 months of the experiment it, by its density, concedes to that formed by the dermis. Thus, in this part of the capsule turned over cellular elements, especially macrophages and lymphocytes.

Evidence in favor of high biocompatibility of studied biomorphic ceramics should be considered a low level inflammatory infiltration of capsules in terms of 30 days after the start of the experiment, corresponding to the presence of low intensity inflammation.

Conclusions. Based on of the study it was found, that a thin connective tissue capsule formed around of bio SiC samples after implantation in the soft tissue of experimental animals with predominance in the structure of collagen fibers arranged in parallel and fibroblasts, indicating the biocompatibility of the studied material.

Keywords: biomorphic ceramics, silicon carbide, biocompatibility, implantation material, medical titanium.

Рецензент – проф. Аветіков Д.С.

Стаття надійшла 04.08.2015 р.