

СТОМАТОЛОГІЯ

© Маланчук В. О., Жуковцева О. І., *Кисельов В. С., **Алексеєва Т. А., Чепурний Ю. В.

УДК 616-018:615. 46:57. 086. 3

Маланчук В. О., Жуковцева О. І., *Кисельов В. С., **Алексеєва Т. А., Чепурний Ю. В.

ДОСЛІДЖЕННЯ ВЗАЄМОДІЇ БІОМОРФНОГО КАРБІДУ КРЕМНІЮ З ЖИВИМИ ТКАНИНАМИ МЕТОДОМ СКАНУЮЧОЇ ЕЛЕКТРОННОЇ МІКРОСКОПІЇ

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

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

****Інститут хімії поверхні імені О. О. Чуйка НАН України (м. Київ)**

80667788837@ukr.net

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

Вступ. Дослідження та впровадження в клінічну практику нового класу іmplантайних матеріалів, створених відповідно принципам біоміметики, на даний момент являється вкрай перспективним напрямком розвитку медичного матеріалознавства [4]. Дані матеріали синтезуються з біологічних тканин або мають властивості, аналогічні живим структурам чи біологічно активним продуктам їх життєдіяльності [7, 9]. Як приклад, рослинна сировина, зокрема деревина та її похідні, має складну структуру та відзначається значною механічною стійкістю, низькою щільністю, високою жорсткістю, еластичністю та витривалістю щодо пошкоджень. Зазначені переваги обумовлені генетично сформованою будовою, що розвивалась і вдосконалювалась в процесі еволюції.

В даному аспекті звертає на себе увагу функціональна подібність дерева та кістки, зокрема їх здатність до ремоделювання внутрішньої структури у відповідь на зовнішнє, частіше механічне, подразнення, наявність камбіального клітинного шару для периферичного збільшення об'єму, а також постійне самооновлення. Саме деревина як матриця для виготовлення вуглецевих матеріалів з природною архітектонікою все частіше привертає увагу дослідників з різних країн. Тому на основі даної природної сировини останнім часом виробляють нові види керамічних матеріалів [2, 5-7].

Виготовлення кераміки з біоморфними властивостями в більшості випадків передбачає два основних етапи: створення вуглецевої матриці із біологічної заготовки та безпосереднє її перетворення в кераміку. Використовуючи вуглецеву матрицю, можна отримати матеріал псевдоморфний вибраному об'єкту, який матиме аналогічну біологічному зразку структуру на мікро-, мезо- та макро рівнях. Такі природні ієрархічні пористі структури мають

високий рівень складності, який не доступний при інших сучасних технологіях виготовлення [3, 6, 8].

Потенційно перспективний матеріал даного класу розроблено в Інституті фізики напівпровідників імені В. Є. Лашкарьова НАН України, шляхом просочування кремнієм «канальних» вуглецевих матриць, що отримують внаслідок піролізу (обуглення) різних сортів деревини [1, 6].

Одночасно одним з актуальних питань сучасного медичного матеріалознавства є пошук і розробка нових іmplантайних матеріалів для розширення арсеналу лікувальних засобів при усуненні дефектів, деформацій тканин. Проведення хірургічних втручань часто вимагають застосування штучних матеріалів в якості фіксаторів кісткових фрагментів, бар'єрів між різними видами тканин, опор для утримання форми або здійснення певної специфічної функції.

Мета дослідження. Враховуючи перспективність кераміки на основі карбіду кремнію в якості іimplантайного матеріалу для вирішення різних задач реконструктивно-відновної хірургії, зокрема щелепно-лицевої ділянки, ми поставили за мету дослідити

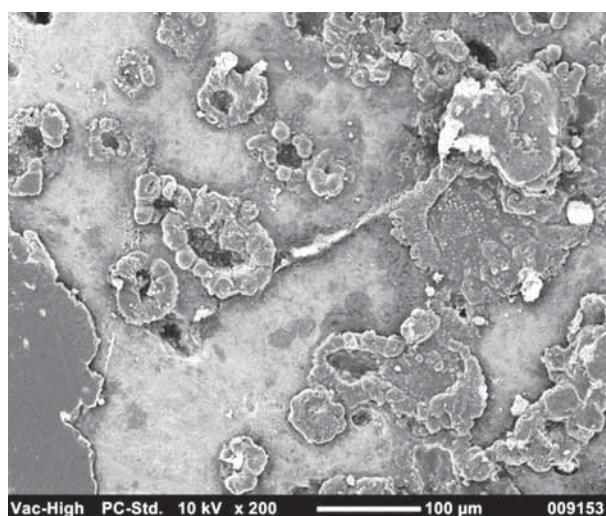


Рис. 1. СЕМ-знімки поверхні зразків карбіду кремнію через 7 днів після іmplантації.

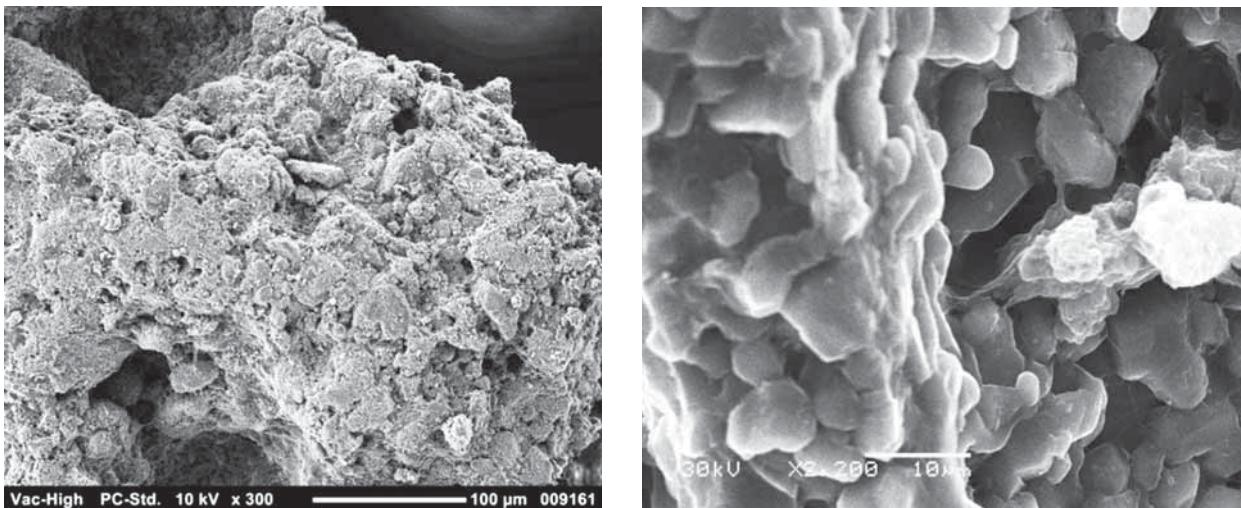


Рис. 2. СЕМ знімки поверхні імплантатів з біоморфного карбіду кремнію через місяць від початку експерименту.

в експерименті взаємодію зразків біоморфної кераміки на основі карбіду кремнію з кістковою тканиною методом скануючої електронної мікроскопії.

Об'єкт і методи дослідження. Для досягнення поставленої мети нами виконано експеримент на 20 білих лабораторних щурах-самцях масою 250-280 г, яким під внутрішньом'язовим кетаміновим наркозом, з дотриманням принципів медичної етики наносили дірчасті дефекти кістки нижньої щелепи бором діаметром 1,5 мм на глибину 3 мм. Після гемостазу в дефекти поміщали зразки карбіду кремнію однакових розмірів діаметром близько 1,5 мм, довжиною 2 мм, після ретельного гемостазу тканини пошарово ушивали. П'ять інтактних щурів слугували контрольною групою. Тварин утримували в звичайних умовах віварію і виводили з експерименту в терміни 7, 30, 90 діб після імплантації летальною дозою препарата для наркозу. Утримання тварин та експерименти проводилися відповідно до положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985), «Загальних етических принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001).

Дослідження СЕМ зони контакту зразків біоморфної кераміки на основі карбіду кремнію з кістковою тканиною після вилучення їх з організму експериментальних тварин проводилися на приладі JEOL-100 (Японія) в Інституті електрозварювання імені Є. О. Патона НАН України, м. Київ. Після забору мікропрепаратору проводили знежирення та промивання фрагментів кістки в 96 % спирті з наступним їх висушуванням у вакуумі. З метою попередження накопичення поверхневого заряду на поверхні зразка, який потенційно може впливати на вторинну електронну емісію, методом катодного розпилення її покривали тонкою золотою плівкою, товщиною 100 Å. Товщину нанесення плівки перевіряли п'єзоелектричними кристалічними датчиками безпосередньо всередині

вакуумного випарника. Скануючу електронну мікроскопію проводили в різних полях зору, зі збільшенням від 1:40 до 1:10000, досліджуючи всю поверхню зразка біоморфної кераміки та прилеглі ділянки поверхневих шарів кістки в зоні її контакту з біо SiC.

Результати дослідження та їх обговорення. В результаті проведеного дослідження поверхні біоморфного карбіду кремнію методом СЕМ виявлено наявність комірчастої структури даного матеріалу, при цьому встановлено, що діаметр його пор становив від 10 до 100 мкм.

При проведенні скануючої електронної мікроскопії 5 зразків біоморфного карбіду кремнію, виданих з організму експериментальних тварин через тиждень після імплантації, виявлено заселення пор даного матеріалу живими клітинами (**рис. 1**). При цьому в усіх випадках спостерігалася колонізація матеріалу клітинами у вигляді їх скучень, що нагадують колонії. Їх переважне розташування відмічається в ділянці пор біоморфної кераміки.

Даний факт можна трактувати, як потенційну можливість матеріалу сприяти перебігу репаративного остеогенезу за рахунок наявності умов для адгезії клітин. Основною причиною даного явища ми бачимо в особливостях архітектоніки досліджуваного матеріалу, що проявляється в його певній структурній подібності кістковій тканині.

При аналізі знімків СЕМ поверхні карбіду кремнію в кістковій тканині, отриманих через місяць після вживлення імплантатів в організм експериментальних тканин, виявлено, що в усіх спостереженнях (5 препараторів) поверхня матеріалу повністю покрита суцільним шаром живих клітин без чіткої організації. При більшому наближенні виявлено, що дане покриття складається з багатьох шарів клітин, інтенсивно спаяних між собою міжклітинним матриксом (**рис. 2**).

Наявність прямого контакту живих клітин з поверхнею досліджуваного матеріалу, їх проліферація з відкладанням міжклітинного матриксу на його

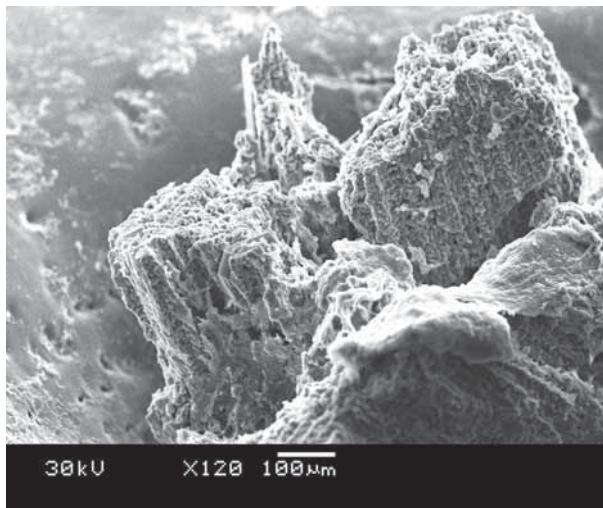


Рис. 3. СЕМ поверхні експериментального зразка біо-SiC в ділянці його контакту з кістковою тканиною.

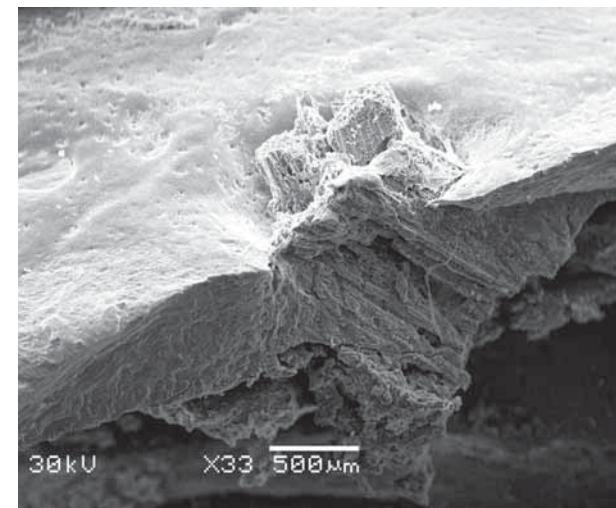


Рис. 4. СЕМ поверхні експериментального зразка біо-SiC в ділянці його контакту з кістковою тканиною.

поверхні вказує на наявність сприятливих умов для інтеграції матеріалу в структуру кісткової тканини. На представлених СЕМ знімках відмічається перехід від колоніального характеру проліферації живих клітин в початковій фазі регенерації до формування суцільного покривного шару на поверхні матеріалу, що говорить про наявність умов для клітинної регенерації.

При аналізі СЕМ знімків ділянки контакту біоморфного карбіду кремнію з кістковою тканиною при малому збільшенні чітко видно кратероподібну перебудову поверхні прилеглої кісткової тканини в напрямку до поверхні імплантованого матеріалу (**рис. 3**). Даний факт можна пояснити тим, що при проведенні експерименту дефект кісткової тканини формувався бором, а введений матеріал не адаптувався до його форми.

Разом з тим на СЕМ знімках через 90 діб після операції спостерігається елімінація наслідків руйнування кісткової тканини, закінчення її перебудови та адаптації до поверхні імплантованого фрагменту біоморфного карбіду кремнію (**рис. 4**). Це засвідчує можливість нормального перебігу процесів репаративної регенерації кісткової тканини в присутності біоморфного карбіду кремнію та можливості адаптації кісткової тканини до особливостей рельєфу поверхні імплантованого матеріалу. Дані позиція підтверджує високу біосумісність досліджуваної біоморфної кераміки та відсутність негативного впливу з її боку на перебіг репаративної регенерації кісткової тканини.

На шліфі «матеріал-кісткова тканина» у площині, перпендикулярній по відношенню до поверхні нижньої щелепи експериментальних тварин, спостерігається щільне прилягання кісткової тканини до матеріалу. При цьому в багатьох містах вузька щілина контакту переривається або є нечіткою за рахунок вростання кісткової тканини в пори біоморфної кераміки. Особливо вузька щілина або її

візуальна відсутність спостерігається в ділянці контакту матеріалу з кортикальною кісткою. В багатьох місцях спостерігаються інвагінації кісткової тканини з її проростанням в пори досліджуваного матеріалу.

Дана картина дає підстави стверджувати можливість перебудови кісткової тканини, що межує з карбідом кремнію та її адаптації до його поверхні з вростанням кісткових балочок в пори матеріалу.

Отже, вище наведені результати дослідження підтверджують перспективність біоморфної кераміки на основі карбіду кремнію в якості матеріалу для виготовлення імплантатів різного призначення для використання в щелепно-лицевій хірургії.

Висновки. На підставі отриманих даних можна зробити висновок, що виявлено мікроархітектоніка даної кераміки, що нагадує структуру кісткової тканини, сприяє перебігу процесів репаративного оселеогенезу за рахунок забезпечення умов для колонізації на поверхні матеріалу живих клітин.

Доведено, що кісткова тканина та імплантати з біоморфного карбіду кремнію можуть контактно співіснувати без ознак відторгнення чи відмежування. Встановлено, що в ділянці контакту імплантованої біоморфної кераміки з кістковою тканиною остання здатна до адаптації та структурної перебудови, проростання в пори матеріалу зі щільним приляганням до його поверхні.

Перспективи подальших досліджень. Отримані результати являються основною передумовою для проведення подальших експериментальних та клінічних досліджень використання імплантатів з даного матеріалу з метою усунення дефектів та деформацій щелепно-лицевої ділянки. Враховуючи механічні характеристики карбіду кремнію та потенційну можливість виготовлення імплантатів 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. Карбид кремнія: технологія, властивості, застосування / [Агеев О. А., Беляєв А. Е., Болтовець Н. С. і др.]; під ред. Беляєва А. Е., Конакової Р. В. – Х. : «ІСМД». 2010. – 532 с.
2. Aho A. J. Natural composite of wood as replacement material for osteochondral bone defects / A. J. Aho, J. Rekola, J. Matilainen [et al.] // J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater. – 2007. – Vol. 83 (1). – P. 64-71.
3. Angelescu A. Porous silicon matrix for applications in biology / A. Angelescu, I. Kleps, M. Mihaela [et al.] // Rev. Adv. Sci. – 2003. – Vol. 5. – P. 440-449.
4. Chakrabarti O. P. Biomimetic synthesis of cellular SiC based ceramics from plant precursor / O. P. Chakrabarti, H. S. Maiti, R. Majumdar // Bull. Mat. Sci. – 2007. – Vol. 5 (27). – P. 467-470.
5. Coletti C. Biocompatibility and wettability of crystalline SiC and Si surfaces / C. Coletti, M. J. Jaroszeski, A. Pallaoro [et al.] // IEEE EMBS Proceedings. – 2007. – P. 5849-5852.
6. Kiselov V. S. Mechanical Properties of Biomorphous Ceramics. Semiconductor Physics / V. S. Kiselov, Yu. S. Borisov, M. Tryus [et al.] // Quantum Electronics & Optoelectronics. – 2012. – Vol. 145, № 4. – P. 386-392.
7. Li Xi. Micro/nanoscale mechanical and tribological characterization of SiC for orthopedic applications / Xi Li, X. Wang, R. Bondokov [et al.] // J. Biomed. Mater. Res. B. Appl. Biomater. – 2005. – Vol. 72(2). – P. 353-361.
8. Rekola J. The effect of heat treatment of wood on osteoconductivity / J. Rekola, A. J. Aho, J. Gunn [et al.] // Acta. Biomater. – 2009. – Vol. 5 (5). – P. 1596-1604.
9. Sanchez C. Biomimicry and bioinspiration as tools for the design of innovative materials and systems / C. Sanchez, H. Arribart, M. M. Guille // Nat. Mater. – 2005. – Vol. 4 (4). – P. 277-288.

УДК 616-018:615. 46:57. 086. 3

ДОСЛІДЖЕННЯ ВЗАЄМОДІЇ БІОМОРФНОГО КАРБІДУ КРЕМНІЮ З ЖИВИМИ ТКАНИНАМИ МЕТОДОМ СКАНУЮЧОЇ ЕЛЕКТРОННОЇ МІКРОСКОПІЇ

Маланчук В. О., Жуковцева О. І., Кисельов В. С., Алексеєва Т. А., Чепурний Ю. В.

Резюме. В даній статті представлені результати дослідження взаємодії біоморфної кераміки на основі карбіду кремнію з кістковою тканиною в експерименті методом скануючої електронної мікроскопії. Даний матеріал розроблено в Інституті фізики напівпровідників імені В. Є. Лашкарьова НАН України, шляхом просочування кремнієм «канальних» вуглецевих матриць, що отримують внаслідок піролізу (обуглення) різних сортів деревини. Для досягнення поставленої мети в експерименті на 20 лабораторних щурах проведено імплантацію зразків досліджуваного матеріалу в кісткову тканину нижньої щелепи. Тварини виводились з експерименту в строки 7, 30 та 90 діб після початку експерименту з наступним дослідженням поверхні та зони контакту матеріалу з кістковою тканиною. На основі отриманих результатів, установлено, що мікроархітектоніка досліджуваної кераміки сприяє протіканню процесів регарративного остеогенезу за рахунок забезпечення умов для колонізації поверхні матеріалу живими клітинами. Доведена можливість контактного співіснування кісткової тканини та імплантатів з біоморфного карбіду кремнію без ознак його відторгнення чи відмежування. При аналізі результатів СЕМ ділянки контакту біоморфного карбіду кремнію з кістковою тканиною виявлено адаптацію та структурну перебудову кісткової тканини в присутності карбіду кремнію та її проростання в пори матеріалу зі щільним приляганням до його поверхні.

Ключові слова: біоморфна кераміка, карбід кремнію, скануюча електронна мікроскопія, імплантаційний матеріал.

УДК 616-018:615. 46:57. 086. 3

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЗАЙМОДЕЙСТВИЯ БІОМОРФНОГО КАРБИДА КРЕМНИЯ С ЖИВЫМИ ТКАНИНАМИ МЕТОДОМ СКАНИРУЮЩЕЙ ЭЛЕКТРОННОЙ МІКРОСКОПІЇ

Маланчук В. А., Жуковцева А. И., Киселев В. С., Алексеева Т. А., Чепурной Ю. В.

Резюме. В данной статье представлены результаты исследования взаимодействия биоморфной керамики на основе карбида кремния с костной тканью в эксперименте методом сканирующей электронной микроскопии. Данный материал разработан в Институте физики полупроводников имени В. Е. Лашкарьева НАН Украины, путем пропитки кремнием «канальных» углеродных матриц, которые получают в результате пиролиза (обугливания) различных сортов древесины. Для достижения поставленной цели в эксперименте на 20 лабораторных крысах проведено имплантацию образцов исследуемого материала в костную ткань нижней челюсти. Животные выводились из эксперимента в сроки 7, 30 и 90 суток после начала эксперимента с последующим исследованием поверхности и зоны контакта материала с костной тканью. На основе полученных результатов, установлено, что микроархитектоника исследуемой керамики способствует протеканию процессов регаративного остеогенеза за счет обеспечения условий для колонизации живых клеток на поверхности материала. Доказана возможность контактного существования костной ткани и имплантатов из биоморфного карбида кремния без признаков его отторжения или ограничения. При анализе результатов СЭМ участка контакта биоморфного карбида кремния с костной тканью выявлено адаптацию и структурную перестройку костной ткани в присутствии карбида кремния и ее прорастание в поры материала с плотным прилеганием к его поверхности.

Ключевые слова: биоморфная керамика, карбид кремния, сканирующая электронная микроскопия, имплантационный материал.

UDC 616-018:615. 46:57. 086. 3

Study of Interaction between Biomorphic Silicon Carbide and Live Tissues by Scanning Electron Microscopy

Malanchuk V., Zhukovtceva E., Kiselyov V., Aleksyeyeva T., Chepurnii Yu.

Abstract. This article presents the study's results of the interaction biomorphic ceramics based on silicon carbide with bone tissue in the experiment by scanning electron microscopy. This material has been developed at the V. E. Lashkarev Institute of Semiconductor Physics NAS by silicon infiltration of the "channel" carbon matrix, which is obtained by pyrolysis (carbonization) of different types of wood.

The aim of the study was to investigate the interaction of experiment samples biomorphic ceramics based on silicon carbide with bone tissue by scanning electron microscopy.

To achieve this goal in a laboratory experiment 20 rats underwent implantation of test material samples in the lower jaw bone tissue. Animals were removed from the experiment in terms of 7, 30 and 90 days after the start of the experiment and the subsequent investigation of the material surface and area of its contact with the bone tissue.

Scanning electron microscopy of the samples 5 biomorphic silicon carbide removed from the body of experimental animals a week after implantation revealed a settlement of the material pores by living cells. Thus in all cases it was observed a colonization of the material pores by cells in the form of accumulations that resemble colonies.

Scanning electron microscopy of silicon carbide surface in bone obtained one month after the implantation revealed that in all observations (5 samples) material surfaces were completely covered with a continuous layers of living cells without a clear organization. With greater approximation it was found that these coatings consisted of many cells layers intimately soldered together by intercellular matrix.

However, in the SEM images at 90 days after surgery there is elimination of the bone destruction consequences, ending its adjustment and adaptation to the surface of implanted silicon carbide ceramic. This picture allows to assert the possibility of bone restructuring bordering on silicon carbide and its adaptation to its surface with bone ingrowth into the pores of the material.

Based on these results, it was found that the investigated ceramic microarchitectonics promotes the process of reparative osteogenesis by providing conditions for colonization of living cells on the surface of the material. It was proved the possible to contact the coexistence of bone and implants of biomorphic silicon carbide with no signs of rejection or its delimitation. Analyzing results of SEM revealed bone adaptation and bone restructuring in the presence of silicon carbide and its germination pores close fit to the material to its surface.

Keywords: biomorphic ceramics, silicon carbide, scanning electron microscopy, implant material.

Рецензент – проф. Новіков В. М.

Стаття надійшла 05. 03. 2015 р.