

DOI: 10.26693/jmbs03.05.058

УДК 616.311.2-089.844:615.462].001.36

Черпак М. О.

## ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ВИВЧЕННЯ РЕПАРАТИВНОГО ОСТЕОГЕНЕЗУ У КІСТКОВИХ ДЕФЕКТАХ, ЗАПОВНЕНИХ КАЛЬЦІЙ-ФОСФАТНИМИ МАТЕРІАЛАМИ ТА ПОЛІМЕРНИМ КОМПОЗИТНИМ БІОМАТЕРІАЛОМ

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, Україна

alexmcherpak@gmail.com

Проблема заміщення дефектів щелепних кісток ще далека від остаточного вирішення. Перспективним напрямком досліджень є розробка та вивчення впливу на репаративний остеогенез аллопластичних (синтетичних) біоматеріалів на основі кальцій-фосфатних компонентів та біополімерів. Мета дослідження – порівняльне експериментальне вивчення ефективності застосування різних остеопластичних кальцій-фосфатних матеріалів та біополімерного композиту для відновлення втрачених кісткових структур у штучно створених дефектах склепіння черепа кролів. Досліджувалась динаміка процесів репаративного остеогенезу кісткових дефектів тим'яних кісток на 12 кролях впродовж 6 та 8 місяців. Репаративні процеси в ділянках імплантації остеопластичних матеріалів вивчали на гістологічних препаратах методом світлової мікроскопії.

За умов імплантації кальцій-фосфатних та біополімерного матеріалів спостерігалась позитивна динаміка закриття кісткових дефектів у порівнянні з контрольними випадками, що зберігалась протягом усього періоду проведення експериментального дослідження.

**Ключові слова:** кісткові дефекти, полілактид, кальцій-фосфатні матеріали

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Наукова робота виконана за планом наукових досліджень ЛНМУ ім. Данила Галицького та є фрагментом наукової теми кафедри ортопедичної стоматології «Розробка та удосконалення клінічних і технологічних заходів комплексного лікування хворих з дефектами та деформаціями зубо-щелепної системи», № держ. реєстрації 0109U000017.

**Вступ.** У зв'язку з проблемою вирішення завдань ефективного відновлення втрачених внаслідок екстракції зубів та процесів атрофії кісткових структур щелеп, необхідністю заміщення кісткових дефектів різної величини без достатньо травматичного використання власної кісткової тканини

пацієнта (аутологічного остеопластичного матеріалу), у медичному світі протягом тривалого часу відбувається активний пошук та розробка синтетичних (аллопластичних) матеріалів різного складу та властивостей. Матеріалів, що могли б відповідати усім необхідним вимогам для остеопластики, у тому числі і в стоматології. Однак на думку багатьох авторів проблема заміщення дефектів щелепних кісток ще далека від остаточного вирішення, а універсального матеріалу для проведення кісткової пластики на даний час не існує [1, 4, 7, 8].

Виходячи з даних про склад кістки, основними мінеральними компонентами якої є гідроксиапатит та бета-трикальційфосфат у кінці XX ст. в Україні, а саме в Інституті проблем матеріалознавства НАН був синтезований матеріал «Кергап». Імплантований у дефекти він виконує роль опорної матриці для утворення кісткових структур, а будучи включеним у регенерат має різний період резорбції, що може залежати у значній мірі від концентрації карбонату, як важливого компоненту мінералізованих тканин [2, 6]. На даний час розроблено і впроваджено у клінічне використання значний перелік різних кальцій-фосфатних матеріалів, таких як: «Гідроксиапол», «Остим», «Біогран», Osteograph/D, Calcibone, Cerasorb, Calcitite та інші, а також матеріалів, що додатково містять у своєму складі колаген та антибактеріальні компоненти (матеріали «Коллапан», «Гапкол», «Колапол», «Оссокол»).

Перспективним напрямком сучасних медичних досліджень є розробка та вивчення впливу на репаративний остеогенез різноманітних аллопластичних біоматеріалів на основі кальцій-фосфатних компонентів та високомолекулярних біополімерів [3, 5, 10].

**Мета дослідження.** Порівняльне експериментальне вивчення ефективності застосування остеопластичних кальцій-фосфатних матеріалів та біополімерного композиту для відновлення втрачених кісткових структур у штучно створених дефектах склепіння черепа кролів.

**Об'єкт і методи дослідження.** Об'єктом дослідження була динаміка репаративних процесів в кісткових дефектах при застосуванні різних синтетичних (аллопластичних) матеріалів, а саме кальцій-фосфатних матеріалів «Кергап» (Біомін-ГТ), «Коллапан» та біосумісного мінерал-полімерного остеопластичного композиту на основі резорбуючого полімеру полілактиду (PDLG 7507) та кальцій-фосфатного компоненту (гідроксиапатиту і бета-трикальційфосфату).

Для імплантації у дефекти склепіння черепа було відібрано 12 піддослідних кролів породи «Білий велетень», масою 2,9–3,5 кг, що перебували у 2-х експериментальних (піддослідних) групах, із урахуванням термінів запланованого виведення їх з проведених досліджень. Усі піддослідні тварини перебували на звичному харчовому раціоні та за однакових умов утримання віварію Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького. При виконанні експериментів дотримувались вимог Ванкуверської конвенції (1994) про біомедичні експерименти та Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин [9]. Під кетаміновим наркозом в асептичних умовах робили розріз м'яких тканин та створювали доступ до поверхні тім'яної кістки. Формування дірчастих наскрізних дефектів тім'яної кістки піддослідних тварин здійснювалось з використанням кулястих борів та трепанів. Дотримуючись анатомічних особливостей будови склепіння черепа кроля, механічно та вручну було утворено по 2 колових отвори діаметром 1,0 см у кожній з тварин. Утворені кісткові дефекти заповнювали кальцій-фосфатними остеопластичними матеріалами та біополімерним композитом. У контрольних дефектах загоєння проходило під кров'яним згустком, без використання кісткових замінників. Тварин виводили з експерименту відповідно через 6 (перша піддослідна група) та 8 міс. (друга піддослідна група) після втручання шляхом передозування кетаміну. Отриманий фрагмент тім'яної кістки з кістковими дефектами видаляли та після макроскопічного дослідження фіксували у 10% розчині нейтрального формаліну, проводили декальцинацію 10% розчином трилону-Б на боратному буфері, зневоднювали у спиртах зростаючої концентрації та заливали у парафін. З кожного парафінового блоку за допомогою мікротома виготовляли гістологічні зрізи товщиною близько 10 мкм, які фарбували гематоксилін-еозином.

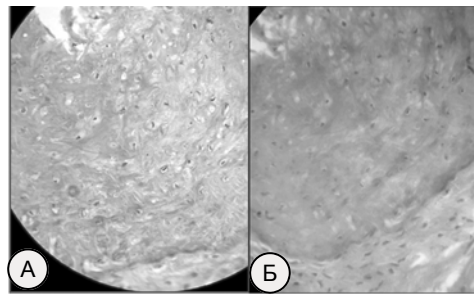
У подальшому проводилось гістоморфологічне вивчення отриманих мікропрепаратів для визначення динаміки процесів регенерації кісткової тканини у штучно створених дефектах склепіння черепа експериментальних тварин. Репаративні процеси в ділянках імплантації остеопластичних

матеріалів вивчали на гістологічних препаратах в динаміці методом світлової (оптичної) мікроскопії. Мікрофотознімки виконувались за допомогою цифрової фотокамери.

#### Результати дослідження та їх обговорення.

Були досліджені процеси репаративного остеогенезу кісткових дефектів тім'яних кісток у піддослідних тварин впродовж запланованих термінів дослідження – 6 міс. (180 діб) та 8 міс. (236 діб).

На 180 добу від початку експерименту – контрольний кістковий дефект був заповнений регенератом сформованим по типу енхондрального остеогенезу. Структура його була однорідна, хондро-фібробластного типу, що характерно для стадії тканинної організації регенерату. На 236 добу – спостерігалось заміщення дефектів м'якотканинним регенератом фібро-остеоїдного типу без ознак трабекулярної структури, а в окремих ділянках визначалось скупчення молодих клітин фібробластного та хондроїдного типу, що характеризує сповільнену регенерацію кісткової тканини по енхондральному типу (рис. 1).



**Рис. 1.** Гістологічні препарати. Контрольні дефекти. Терміни дослідження 180 діб (А) та 236 (Б). Забарвл. гематоксилін-еозином. Зб. 10x20

При мікроскопії препаратів тканинних структур через 180 діб у дефектах виповнених «Кергапом» (Біомін-ГТ) спостерігалися ділянки пластичного матеріалу пронизані тканиною фіброволокнистого типу з окремими скупченнями клітин еритроцитарного ряду. Слабо виражена базофільна реакція в новоутвореній тканині кісткового регенерату, що окутує незаміщений остеопластичний матеріал, а також молода трабекулярного типу остеоїдна тканина. Процес сповільненої остеорегенерації. Незріла кісткова тканина лише в окремих периферійних ділянках була спаяна з краями ложа остеогенезу. Відмічався незавершений процес компактизації з утворенням кісткових структур губчастого типу. На 236 добу дослідження спостерігається значне заміщення – звуження ділянок з імплантованим матеріалом. В дефекті місцями масивні молоді кісткові балки ще не повністю сформованої будови пластинчастого типу, що відрізняються по своїй структурі від країв дефекту, вони пронизують

і розділяють пластичний матеріал. Процеси заміщення для цього терміну спостереження мають в'ялотекучий характер (рис. 2).

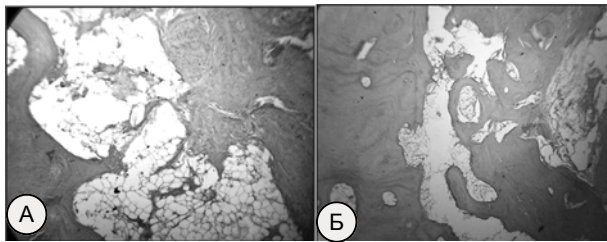


Рис. 2. Гістологічні препарати. Дефекти кістки заповнені «Кергапом» (Біомін-ГТ). Терміни дослідження 180 діб (А) та 236 (Б). Забарвл. гематоксилін-еозином. Зб. 10x20

Аналіз гістологічних препаратів на 180 добу від початку експерименту засвідчив, що у піддослідних тварин з імплантованим у дефекти склепіння черепа матеріалом «Коллапан», вони були заповнені незрілою губчастою остеοїдного типу кістковою тканиною поліморфної будови з характерними для кісткових балок тинкторіальними властивостями. Були наявні достатньо обширні ділянки незаміщеного пластичного матеріалу (рис. 3). На 236 добу дослідження у дефектах з «Коллапаном» продовжується перебудова новоутворених кісткових структур. Регенерат є чітко відділений від країв дефекту, що вирізняється базофільною реакцією у вигляді смужки клітин остеобластного типу.

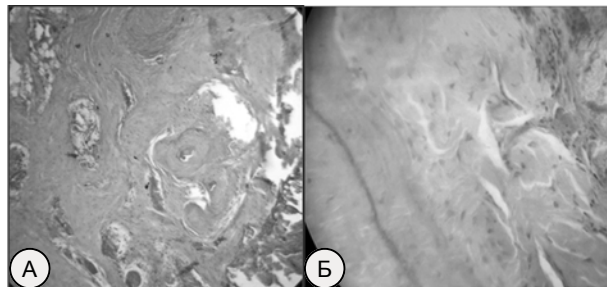


Рис. 3. Гістологічні препарати. Дефекти кістки заповнені «Коллапаном». Терміни дослідження 180 діб (А) та 236 (Б). Забарвл. гематоксилін-еозином. Зб. 10x20 (А) 8x20 (Б)

При проведенні мікроскопії препаратів тканинних структур через 180 діб у дефекті, виповненому біополімерним композитом – перебудова новоутвореної кісткової тканини кортикального типу. Поодинокі ніші остеокластичної резорбції. Завершується процес утворення зрілих кісткових трабекул. Спостерігається також вrostання кісткових балок від периферійних ділянок дефекту до центру регенерату, що дозволяє констатувати проостеокондуктивні властивості остеопластичного матеріалу. Виражена базофільна клітинна реакція.

Вивчення гістологічних препаратів на 236 добу від початку експерименту показало, що сформова-

на у дефектах склепіння черепа кісткова тканина має щільну пластинчасту структуру, як у периферичних, так і у центральних ділянках. Спостерігаються ще поодинокі невеликого розміру островці остеопластичного матеріалу, що пронизуються волокнистого типу фібро-ретикулярною тканиною. В кістковому дефекті сформована молода кісткова тканина кортикального типу, що не відрізняється за структурою від кістки країв дефекту (рис. 4).

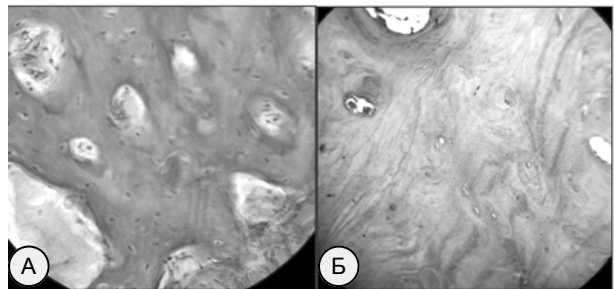


Рис. 4. Гістологічні препарати. Дефекти кістки заповнені біополімерним композитом. Терміни дослідження 180 діб (А) та 236 (Б). Забарвл. гематоксилін-еозином. Зб. 10x20

**Висновки.** Аналізуючи перебіг репаративного остеогенезу за умов імплантації кальцій-фосфатних та біополімерного матеріалів встановлено позитивну динаміку закриття дефектів, якщо порівнювати з контрольними випадками, що зберігається протягом усього періоду проведення експериментального дослідження. Це вказує на необхідність обов'язкового використання остеопластичних матеріалів для пластики дефектів черепа. Дефекти тім'яної кістки склепіння черепа не можуть загоїтися самостійно без застосування остеопластичних біоматеріалів навіть через 8 міс. після втручання.

На основі отриманих гістоморфологічних даних можна стверджувати, що характерними рисами остеорегенерації після заміщення штучно створених кісткових дефектів біополімерним композитом є ранній розвиток остеобластодної тканини і формування кістково-тканинного регенерату, швидші терміни остеорегенерації не тільки по периферії дефекту, але й у його центральній частині із більш вираженим диференціюванням та дозріванням структур новоутвореної кісткової тканини у порівнянні з контрольними та дослідними дефектами при імплантації «Кергапу» (Біомін-ГТ) та «Коллапану».

**Перспективи подальшого дослідження** полягають у необхідності проведення клінічного дослідження та апробації позитивних результатів експериментального вивчення біополімерного композиту. Одержані гістоморфологічні результати порівняльного експериментального дослідження вказують на перспективність застосування біорезорбуючого полімерного компоненту (полілактиду) у поєднанні з кальцій-фосфатним матеріалом.

## References

1. Bezrukov VM, Grygoryan AS, Zuev VP, Pankratov AS. Operativnoe lechenye kyst chelyustey s yspolzovaniem gidroksyapatyta ultravysokoy dispersnosti. *Stomatologiya*. 1998; 77 (1): 31-5. [Russian].
2. Bezrukov SG, Khomenko EV. Kliniko-laboratorne obgruntuvannya vykorystannya kombinovanoi biorezorbuyuchoyi pov'yazky na alveolyarnyy vidrostok pislya operatsiyi vydalennya zuba. *Visnyk stomatologiyi*. 2007; 4: 4-7. [Ukrainian].
3. Volozhyn AY, Byryukbaev TT, Doktorov AA. Yssledovanye osteoyntegratyvnykh svoystv polymetylmetakrylata, khymychesky svyazannogo s syntetycheskym gidroksyapatytom. *Rosсыyskyy stomatologichesky zhurnal*. 2001; 4: 4-8. [Russian].
4. Volozhyn AY, Zharkov AV, Krasnov AP, Grygorev AS, Losev FF. Fyzyko-mekhanicheskiye y osteoyntegratyvnye svoystva polylyaktyda, napolnennogo gidroksyapatytom, prednaznachenogo dlya osteoplastyky v chelyustno-lytsevoy oblasti. *Rosсыyskyy stomatologichesky zhurnal*. 2006; 3: 8-12. [Russian].
5. Grygoryan AS, Volozhyn AY, Kulakov AA, Popov VK, Losev VF, Krotova LY. Protsessy regeneratsyy v kostnykh defektakh pry ymplantatsyy v nykh kompozytsyonnoho materyala razlychnoy plotnosti na osnove polylyaktyda, napolnennogo gidroksyapatytom. *Stomatologiya*. 2009; 1: 17–23. [Russian].
6. Guryn AN, Guryn NA, Petrovych YuS. Karbonatgidroksyapatyt, kak faktor strukturno-funktsionalnoy organizatsyy myneralizovannykh tkaney v norme y pry patologiyi. Perspektivy prymerenyya v kostnoplachestvyy khirurgyyi. *Stomatologiya*. 2009; 2: 76-9. [Russian].
7. Fedorovskaya AN, Grygoryan AS, Kulakov AA, Khamryev TK. Sravnytelnyy analiz protsessa zazhyvleniya kostnykh defektov chelyusty pod vozdeystviem razlychnykh plachestvyykh materyalov (eksperymentalno-morfologicheskoye yssledovanye). *Stomatologiya*. 2001; 6: 4-7. [Russian].
8. Corsair A. A clinical evaluation of resorbable hydroxyapatite for the repair of human intra-osseous defects. *J Oral Implantology*. 1990; 16 (2): 125-8.
9. *European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes*. Council of Europe. 18.03.1986. Strasburg. 1986; 123: 52 p.
10. Ruffieux K. A New Syringe-Delivered, Moldable, Alloplastic Bone Graft Substitute. *Compendium of continuing education in dentistry*. 2014; 35 (4): 8-10.

УДК 616.311.2-089.844: 615.462] .001.36

**ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ РЕПАРАТИВНОГО ОСТЕОГЕНЕЗА В КОСТНЫХ ДЕФЕКТАХ, ЗАПОЛНЕННЫХ КАЛЬЦИЙ-ФОСФАТНЫМИ МАТЕРИАЛАМИ И ПОЛИМЕРНЫМ КОМПОЗИТНЫМ БИОМАТЕРИАЛОМ**  
Черпак М. О.

**Резюме.** Проблема замещения дефектов челюстных костей еще далека от окончательного решения. Перспективным направлением исследований является разработка и изучение влияния на репаративный остеогенез аллопластичных (синтетических) биоматериалов на основе кальций-фосфатных компонентов и биополимеров.

Цель исследования – сравнительное экспериментальное изучение эффективности применения различных остеопластических кальций-фосфатных материалов и биополимерного композита для восстановления утраченных костных структур в искусственно созданных дефектах черепа кроликов. Исследовалась динамика процессов репаративного остеогенеза костных дефектов теменных костей у 12 кроликов в течение 6 и 8 мес. после имплантации. Репаративные процессы в участках имплантации остеопластических материалов изучали на гистологических препаратах методом световой микроскопии.

В условиях имплантации кальций-фосфатных и биополимерного материалов наблюдается положительная динамика закрытия костных дефектов по сравнению с контрольными случаями, сохраняющаяся в течение всего периода проведения экспериментального исследования.

**Ключевые слова:** костные дефекты, полилактид, кальций-фосфатные материалы.

UDC 616.311.2-089.844: 615.462] .001.36

**Experimental Study of Reparative Osteogenesis of Bone Defects Filled with Calcium-Phosphate Materials and with Polymeric Composite Biomaterial**  
Cherpak M. O.

**Abstract.** The problem of replacing the defects of the jaw bones is still far from the final solution, since there is no universal material for osteoplasty at present. There is a problem of the search for synthetic materials for the effective recovery of the lost bone after teeth extraction and processes of atrophy of the jaws bone structures, the need to replacement bone defects of various sizes without sufficiently traumatic use of the patient's own bone tissue. A promising area of research is the development and study of the effect of alloplastic biomaterials on the basis of calcium-phosphate components and high-molecular biopolymers on reparative osteogenesis.

*The purpose of the study* was to compare the effectiveness of various osteoplastic calcium-phosphate materials and biopolymer composites for the restoration of lost bone structures in skulls defects.

*Material and methods.* We studied the dynamics of the processes of reparative osteogenesis of bone defects from the parietal part skull in the experimental animals during the planned terms of the study during 6 months (180 days) and 8 months (236 days). We applied such synthetic (alloplastic) materials as: calcium-phosphate material Kergap (Biomin-GT), Collapan and biocompatible mineral-polymer osteoplastic composite based on resorbing polymer (polylactide) and calcium-phosphate component (hydroxyapatite and beta-tricalcium phosphate). Implantation in the skulls defects was performed on experimental rabbits in two experimental groups. The resulting bone defects were filled with calcium-phosphate osteoplastic materials and a biopolymer composite. In control defects, healing was carried out under a blood clot and without using bone substitutes. Reparative processes in the sites of implantation of the osteoplastic materials were studied in dynamics by light microscopy on histological preparations.

*Results and discussion.* There was a positive dynamics of defects closure when performing implantation of calcium-phosphate and biopolymer materials if compared with control cases. That persisted throughout the period of experimental study indicating the need for using osteoplastic materials for replacing the skull defects. Defects of the parietal part of the skull bone cannot be healed without using osteoplastic biomaterials even after 8 months after intervention.

*Conclusions.* On the basis of the obtained histomorphological data, it can be argued that the characteristic features of osteoregeneration after the replacements of artificial bone defects with a biopolymer composite are the early development of osteoblastoid tissue formation, mature bone tissue regeneration, and faster osteoregeneration process (reparative osteogenesis) not only along the periphery of the defect, but also in its central part with more pronounced differentiation and maturation of structures of newly formed bone tissue in comparison with control and experimental defects in the implantation of Kergap "(Biomin-GT) and "Collapan".

**Keywords:** bone defects, polylactide, calcium-phosphate materials.

Стаття надійшла 20.04.2018 р.

Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування