

Кремний-замещенный гидроксипатит, содержащий трикальций фосфат. Перспективы применения в хирургической стоматологии

А. Н. Гурин, В. С. Комлев

Si-doped hydroxyapatite-tricalcium phosphate scaffold. Perspectives in oral surgery.
Gurin A. N., Komlev V. S.

Кремний оказывает положительный эффект на метаболизм костной ткани. Остеопластические материалы, содержащие кремний могут быть с успехом использованы при лечении радикулярных кист челюстных костей. Методы. При помощи сканирующей электронной микроскопии и рентгенофазового анализа проведено сравнение материала на основе кремний-содержащего гидроксипатита (BoneMedik-DM), полученного из натурального коралла с синтетическим гидроксипатитом. В эксперименте на крысах линии Вистар оценены биологические свойства материалов. При клиническом исследовании проведена оценка osteoconductive свойств материала BoneMedik-DM. Результаты. По данным РФА выявлено сходство BoneMedik-DM и ГА. Экспериментальные и клинические данные подтверждают osteoconductive свойства BoneMedik-DM.

Si have a positive effect on bone turnover. Bioceramics that contains Si can be used in management of radicular cysts. Methods. SEM and X-ray analysis were used for comparing Si-doped HA (BoneMedik-DM) made of natural coral with synthetic HA. Experimental Wistar rats were used for histologic investigations of biological properties of the materials. Clinical findings of BoneMedik-DM osteoconductive properties were analysed. Results. X-Ray analysis detected similarity with HA. Histological and clinical data confirm osteoconductive properties of BoneMedik-DM.

Способность кремния (Si) играть определенную роль в процессах минерализации костной ткани была отмечена в 1970 г. Е. М. Carlisle [3]. Положительный эффект кремния на метаболизм костной ткани вызвал интерес многих ученых [2, 4, 5, 6, 7, 10, 18]. Отмечено, что Si-замещенные фосфаты кальция (Si-ФК) обладают выраженными остеопластическими свойствами по сравнению с обычными ФК [12, 13–17]. Авторы, занимающиеся Si-ФК, предполагали, что такие материалы активно резорбируются во время имплантации, тем самым приводя к высвобождению ионов кремния, за счет чего происходит положительное действие на клетки. Гранулы Si-ФК вводили в костные дефекты овцам. Было показано, что через 2 года образцы полностью резорбировались и заместились костной тканью [9]. На кроликах было показано, что гранулы Si-замещенных гидроксипатитов (Si-ГА) интенсивнее резорбируются и замещаются костной тканью, чем чистый ГА [11]. Однако недостаточная растворимость, а следовательно, скорость замещения новообразованной костной тканью перевела работы несколько в другую плоскость. Для повышения резорбции Si-ФК стали использовать кораллы, которые имеют развитую, пористую, адсорбционную поверхность. Путем гидротермальной обработки, применяя соответствующие компоненты, получали Si-ГА [8]. Так, например материал BoneMedik-DM (Корея), полученный из коралла, содержит 1 масс% Si, 60% ГА и 40% ТКФ.

Целью данной работы является исследование свойств и характеристик Si-ФК на примере материала BoneMedik-DM в сравнении с синтетическим гидроксипатитом при заполнении костных дефектов в эксперименте и клинике.

Материал и методы исследования

Материалом для изучения служил кремний-замещенный гидроксипатит (59% ГА, 40% ТКФ, 1% Si) BoneMedik-DM. Для определения структуры использовав рентгенофазовый анализ на приборе Shimadzu XRD 6000 (Япония), используя монохроматическую CuKa-радиацию при 30 мА 40 кВ с размером шага 0,01 с при длине волны $\lambda=1,54$ Е с дифракционным углом 2θ . Изучение структуры поверхности проводилось на сканирующем электронном микроскопе TeScan (Англия) при напряжении 5 и 10 кВ. Образцы приклеивали на токопроводящем столике, напыляя золотом на установке EiKo IB-3 (Япония). Для оценки остеопластических свойств материала объектом изучения являлся процесс заживления костных дефектов эпифиза бедренной кости крыс линии Вистар в различных условиях: 1-я группа (контроль), костные дефекты оставляли заживать под кровяным сгустком; в группе 2 (BoneMedik-DM) изучали влияние имплантируемого материала в костные дефекты; 3-я группа — сравнение с гидроксипатитом (ГА). Под гексеналовым наркозом производили линейный разрез с медиальной стороны эпифиза бедренной кости крыс. Тупым путем отслаивали мягкие ткани. Создавали искусственный костный дефект диаметром 2 мм и длиной 3–4 мм, в который вводили исследуемый материал. Операционную рану ушивали послойно кетгуттом. Сроки оценки заживления костных дефектов составляли 30 суток по 3-е животных на срок. Готовили серийные гистологические срезы по стандартной методике с окраской гематоксилин-эозином. Гистологические препараты изучали в проходящем свете на микроскопе Motic Digital (Китай).

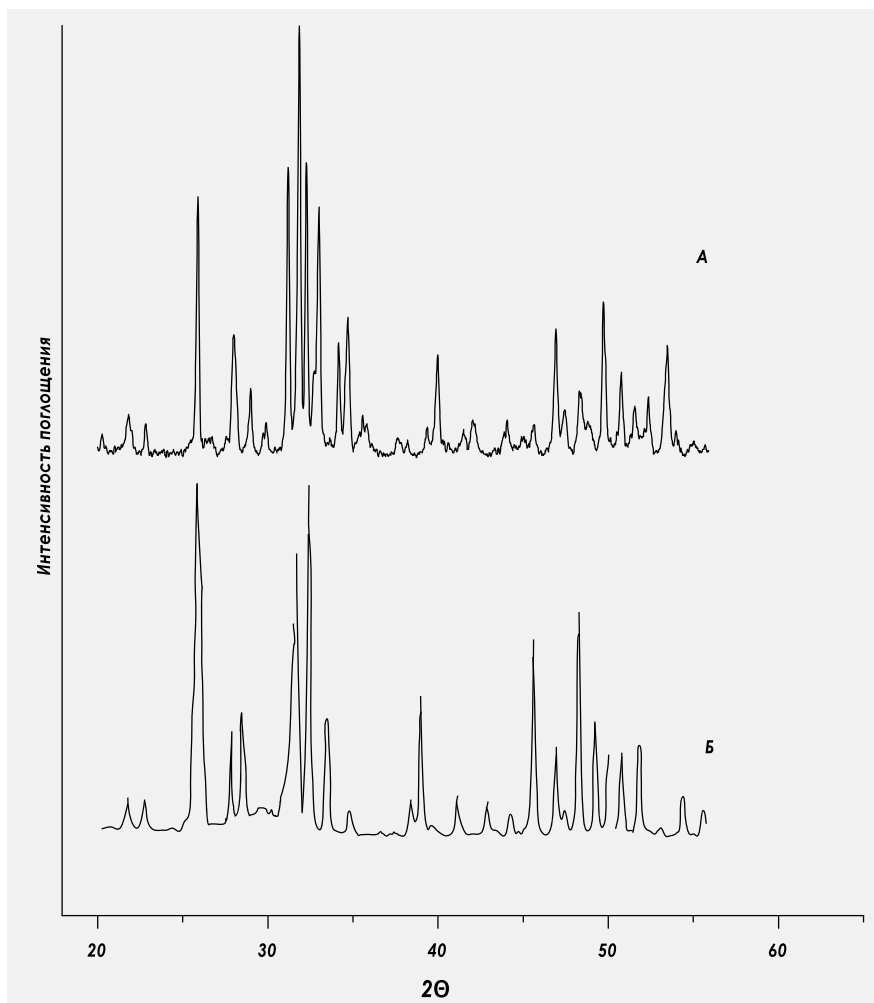


Рис. 1. а). Электронограмма BoneMedik-DM. Острые четкие пики указывают на высокую степень кристалличности материала и имеют углы отражения, характерные для ГА. б). Чистый ГА имеет сходство с BoneMedik-DM.

В клиническое исследование включали больных с размером костного дефекта после цистэктомии 10-15 мм в диаметре (10 человек). Из исследования исключались больные с общесоматической патологией, курильщики, больные с заболеваниями пародонта, женщины в периоде постменопаузы. Это объясняется существенным влиянием данных состояний на процессы репаративного остеогенеза. Данные динамического послеоперационного наблюдения анализировали на 2-е, 3-и, 5-е и 7-е сутки послеоперационного периода. Изучение течения послеоперационного периода осуществлялось по шести основным критериям — температурная реакция, отек области оперативного вмешательства, болевой синдром, экссудация, гиперемия слизистой оболочки в области вмешательства, наличие послеопера-

ционных осложнений. На 7-е сутки снимали швы. Основным методом диагностики деструктивных процессов в периапикальных тканях была компьютерная томография, которая проводилась при обращении пациентов в клинику, а также в послеоперационном периоде через 3 месяца.

Результаты исследования

Рентгенофазовый анализ BoneMedik-DM показал четкие острые пики, указывающие на высокую степень кристалличности (рис. 1 а) и на сходство с ГА (рис. 1 б).

СЭМ образцов при малом увеличении выявило различную конфигурацию с характерным для коралла большими сквозными отверстиями и порами, что и соответствует коралловым образованиям (рис. 2).

При большем увеличении поверхность представлена мелкими порами,

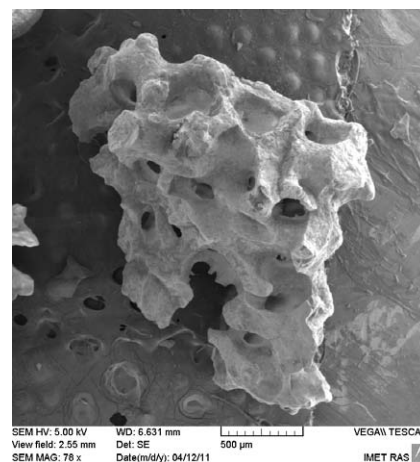


Рис. 2. СЭМ. Общий вид коралловой гранулы BoneMedik-DM с наличием больших сквозных отверстий и глубоких витиеватых ходов.

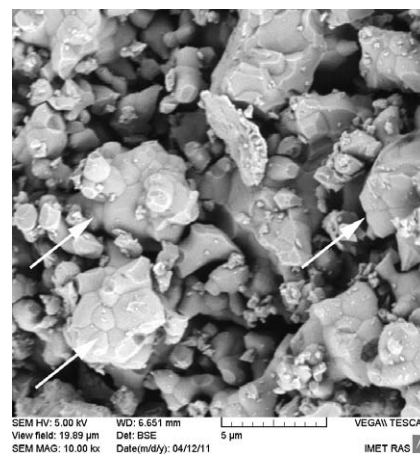


Рис. 3. СЭМ. Коралловая гранула BoneMedik-DM при большем увеличении. Поверхность состоит из мелких структурных зерен, имеющих круглую или кубовидную форму (одинарные стрелки). Четко видны границы между зёрнами.

через которые диффузно может проходить жидкость и клеточные элементы. Такая конфигурация способствует более тесному контакту тканевой жидкости с внутренней структурой, что должно приводить к более быстрой резорбции и замещению имплантата костной тканью. На поверхности встречаются небольшие участки, на которых видны зерна вещества, из которых частично и состоит этот материал (рис. 3).

Зерна овальной или кубообразной формы тесно прилегают друг другу, четко видны границы между ними. Они, по-видимому, могут принадлежать как к трикальций фосфат (ТКФ) образованиям, так и ГА. Аналогичная форма и конфигурация этих структурных элементов наблюдается у препарата ChronOs (Synthez, Швей-

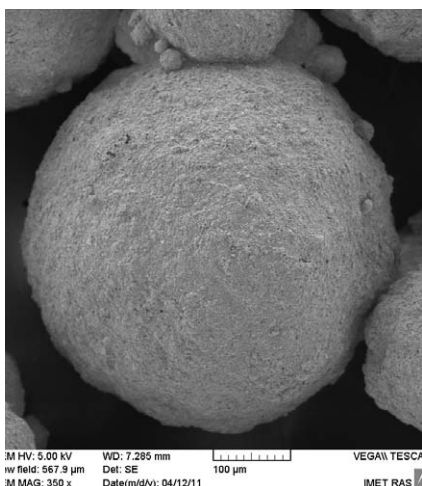


Рис. 4. СЭМ. Гранула ГА. Определяется мелкопористая поверхность.

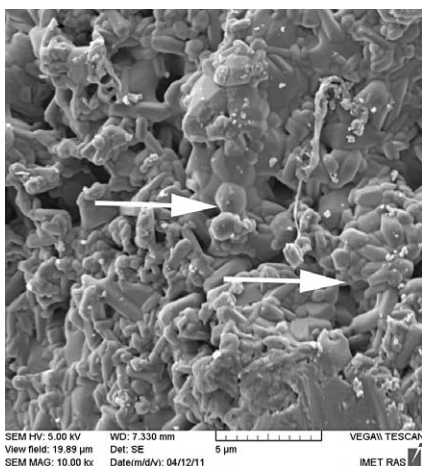


Рис. 5. СЭМ при большем увеличении гранулы ГА. Структура состоит из мелких зерен различных форм и размеров, которые тесно прилегают друг к другу (указано стрелками).

цария), который целиком состоит из ТКФ. Гранулы ГА круглой формы (рис. 4) представлены мелкопористыми образованиями, состоящими из мелких зерен (рис. 5), плотно спаянные друг с другом.

Отличить зерна ГА от Si-замещенного ГА, содержащего ТКФ, достаточно трудно, т. к. образцы имеют сходную химическую структуру. Однако гистологическая картина отличается разнообразием. Через 30 суток эксперимента при заживлении под кровяным сгустком в костном дефекте сохранились обширные территории, занятые грубоволокнистой соединительной тканью (рис. 6).

В тоже время по краям костного дефекта отмечалось формирование новой трабекулярной костной ткани с фиброзным матриксом. Местами

по краям регенерата отмечались участки образования хондроподобной ткани, а также появление вновь формирующегося вещества с хондронидной тканью и образованием костно-хрящевых структур.

Важным для оценки темпов и выраженности остеоинтеграции депозитов в новообразованный костный матрикс явились такие параметры как: а) топография распространения костного регенерата; б) структура костной ткани с точки зрения ее компактности; в) интенсивность развития кроветворной ткани; г) наличие капиллярной сети в области регенерата.

В костном дефекте через месяц наблюдений определяются депозиты материала BoneMedik-DM в виде небольших гранул различных форм и размеров. К наружной части дефекта имплантируемый материал окружен пучками клеточно-волоконистой соединительной ткани (рис. 7). Среди клеточно-волоконистых структур видно множество капилляров.

Внутри гранул депозита можно наблюдать редкую миграцию клеточных элементов с образованием остеоидной ткани по периферии материала (рис. 8).

В некоторых участках гранулы имеют пенный характер. Однако в центральных отделах дефекта количество новообразованного костного вещества значительно возрастает (рис. 9). Мелкие гранулы депозита BoneMedik-DM в центральных отделах окружены молодыми костными структурами. Материал находится в тесном контакте с кроветворной тканью.

Для гистологического сравнения с Si-ГА использовали гранулы ГА. Результаты исследований показали, что через месяц наблюдений вначале костного дефекта определяются нерезорбировавшиеся гранулы ГА. Как и в группе BoneMedik-DM, они окружены пучками соединительнотканых волокон с наличием капиллярной сети (рис. 10).

Гранулы ГА практически не содержат клеточных элементов, но с обилием тканевой жидкости. К центру дефекта соединительнотканые структуры исчезают, и их

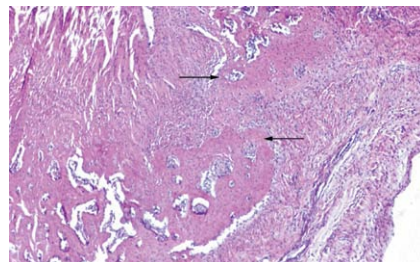


Рис. 6. Микрофотограмма. 30 суток эксперимента. Заживление под кровяным сгустком. Пустота заполнена грубоволокнистой соединительной тканью. Отмечается построение молодой костной ткани, состоящей из трабекулярных структур (одинарные стрелки). x25.

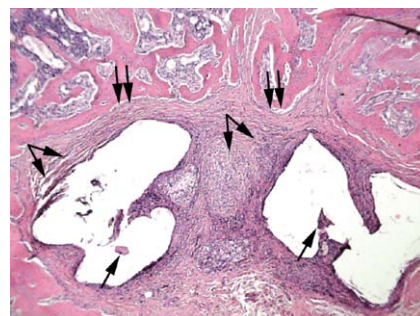


Рис. 7. Микрофотограмма. 30 суток. Имплантация BoneMedik-DM. У входа в костный дефект определяются гранулы, окруженные грубоволокнистой соединительной тканью (стрелки углом), содержащие обилие капилляров. В некоторых гранулах видны включения оксифильного вещества (одиночные стрелки). По периферии имплантируемый материал окружают молодые костные трабекулы (двойные стрелки). x100.

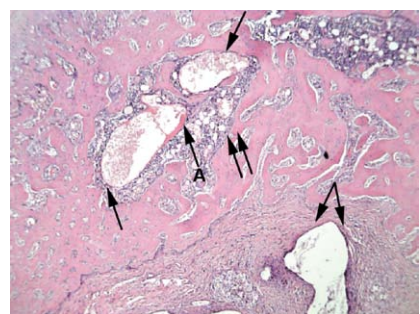


Рис. 8. Микрофотограмма. 30 суток. Имплантация BoneMedik-DM. У входа в костный дефект наряду с полями грубоволокнистой соединительной ткани, окружающей депозиты (стрелки углом), определяются участки костного матрикса, заключающие имплантируемый материал (одиночные стрелки), к которым прилегают клетки кроветворной ткани (двойные стрелки). По периферии гранул видны отложения остеоидного вещества (стрелка А). x25.

место занимает молодые костные трабекулы, тонким ободком окружающие гранулы (рис. 11).

Анализируя гистологическую картину имплантируемых материалов и сопоставляя оценки их интеграции в костный матрикс, следует отметить,

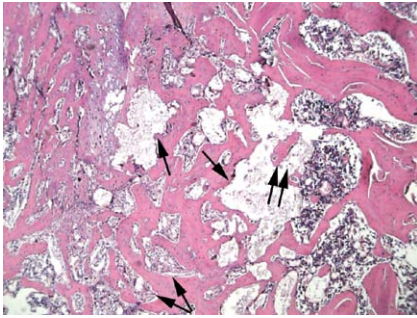


Рис. 9. Микрофотограмма. 30 суток. Имплантация BoneMedik-DM. В центральных отделах мелкие гранулы заключены в костный матрикс (одиночные стрелки), к которым прилегают поля кроветворной ткани, в других видны оксифильные включения остеоидной ткани (двойные стрелки). Наблюдается формирование костномозговых пространств (стрелки углом) рядом с имплантируемым материалом. x25.

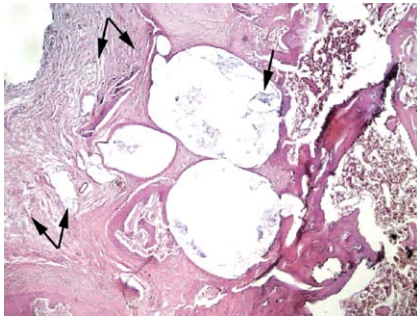


Рис. 10. Микрофотограмма. 30 суток. Имплантация гранул ГА. У входа в костный дефект определяются депозиты материала, окруженные соединительной тканью с наличием слабой капиллярной сети (стрелки углом). В гранулах наблюдаются редкие оксифильные включения (одиночные стрелки). x25.

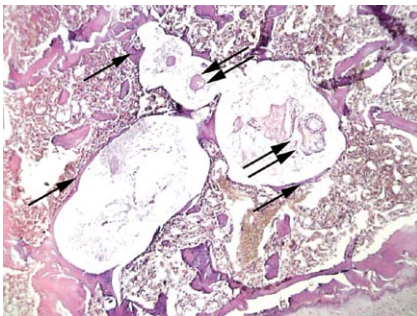


Рис. 11. Микрофотограмма. 30 суток. Имплантация гранул ГА. В центральных отделах дефекта депозиты окружены полями кроветворной ткани, видны включения красных кровяных телец. По периферии гранул тонкий ободок формирующейся остеоидной ткани (одиночные стрелки), в некоторых гранулах видны включения оксифильных образований (двойные стрелки). x25.

что в начале дефекта оба депозита окружены грубоволокнистой соединительной тканью с наличием капилляров. Однако в центральных отделах они сильно отличаются друг от друга. Для BoneMedik-DM характерна активная интеграция в костный матрикс

фиброзно-остеоидного типа (рис. 9), тогда как у ГА он едва заметен (рис. 11). Следует отметить в обоих случаях обилие кроветворной ткани вокруг них и прилегающих участках, но для BoneMedik-DM наблюдается формирование костно-мозговых пространств, в то время как у ГА они отсутствуют.

Таким образом, кремний-замещенные ГА (BoneMedik-DM) с морфологической точки зрения является материалом с большим потенциалом интеграции в костный матрикс и может успешно применяться при заполнении костных дефектов.

Экспериментальные данные *in vivo* показали преимущество BoneMedik-DM по сравнению с ГА. Следующей задачей стояло исследование BoneMedik-DM при заполнении костных дефектов при лечении периапикальных деструктивных процессов челюстных костей. Ход операции: проводили выкраивание и отслаивание полнослойного слизисто-надкостничного лоскута, цистэктомию, резекцию верхушки корня зуба, ретроградное пломбирование по необходимости. Костный дефект заполняли материалом BoneMedik-DM (6 пациентов). В послеоперационном периоде проводили клиническую оценку наличия гиперемии слизистой оболочки в области оперативного вмешательства, отека, объема сукровичного отделяемого, изменения температуры тела, степени выраженности болевого синдрома. Швы снимали через 7–10 дней. Через 3 месяца проводили контрольный осмотр, рентгенодиагностику.

Клинический пример

Больная П. (а/к 78 909) обратилась в клинику ЦНИИС с жалобами на периодическую припухлость в области верхней челюсти справа. При осмотре полости рта обнаружена припухлость и болезненность при пальпации в области верхушек 11, 12 зубов. 11, 12 зубы под мостовидным протезом. Перкуссия слабо болезненна. На прицельной рентгенограмме имеется очаг разрежения костной ткани в области 11–12 зубов размером 20x15 мм (рис. 12). Диагноз: 11, 12 — корневая киста.

Проведена операция цистэктомии с резекцией верхушек корней



Рис. 12. Прицельная рентгенограмма в области 11, 12 зубов.



Рис. 13. Выполнена операция цистэктомии с резекцией и ретроградным пломбированием 11, 12 зубов.



Рис. 14. Костный дефект заполнен материалом BoneMedik-DM.

11, 12 зуба. Заслуживает внимания особенность исполнения мостовидной конструкции. Опорами являются 11 и 12 зуб, между ними фасетка. Визуально конструкция выглядит как 11, 12, 13 зуб. Из-за этого иначе распределяется нагрузка на 11 и 12 зубы, что могло стать одной из причин возникновения корневой кисты (рис. 13, 14, 15).

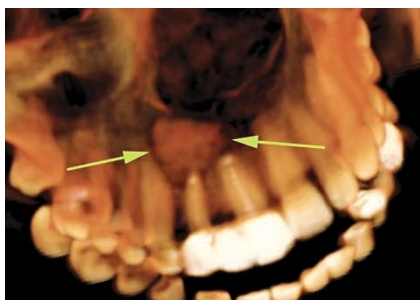


Рис. 15. Компьютерная томограмма через 1 неделю после операции. Стрелками показан материал BoneMedik-DM.

Послеоперационный период проходил без осложнений. На томограмме через 1 неделю после операции виден рентгеноконтрастный остеопластический материал. Через 3 месяца на компьютерной томограмме видно начало процессов резорбции материалов и начало новообразования костной ткани (рис. 16).

Таким образом, исследования показали, что наличие костных структур для кремний-замещенного ГА значительно выше, чем для чистого ГА, что связано с различной пористостью материала, наличием βТКФ, который активно резорбируется, что может являться основным преимуществом при сравнении этих двух материалов. Как показали исследования А.Е. Porter et al. (2004), Si-ГА, содержащие βТКФ — более резорбируемый материал, который обладает выраженными остеопластическими свойствами, чем чистый ГА. Для BoneMedik-DM присутствие в составе Si-замещенного ГА βТКФ и пористая структура коралла способствует более активной регенерации костной ткани.

Список литературы

1. Balas F., Perez-Pariente J., Vallet-Regi M. In vitro bioactivity of silicon substituted hydroxyapatites // *J. Biomed. Mater. Res. A.* – 2003. – Vol.66. – P.364–367.
2. Bohner M., Lemaître J. Can bioactivity be tested in vitro with SBF solution? // *Biomaterials.* – 2009. – Vol.30. – P.2175–2179.

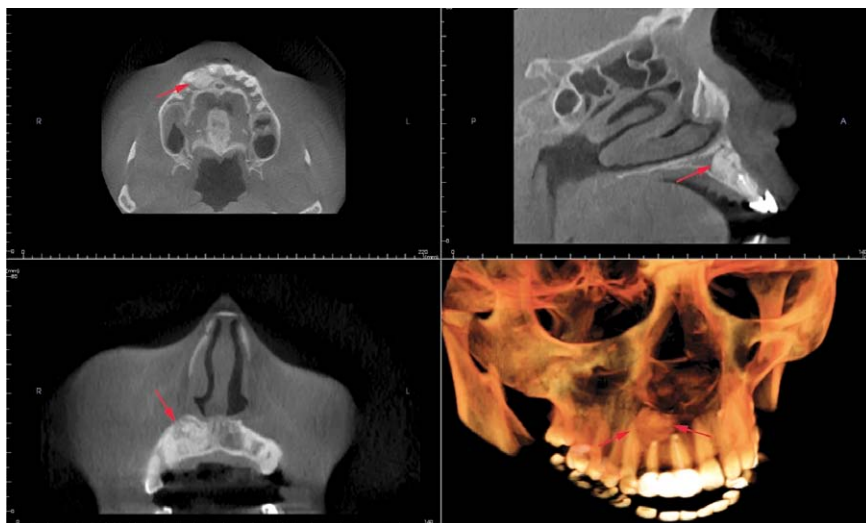


Рис. 16. Компьютерная томограмма через 3 месяца после операции. Начало процессов резорбции материала и замещения новообразованной костной тканью (показано стрелками).

3. Carlisle E. M. Silicon: a possible factor in bone calcification // *Science.* – 1970. – Vol.167. – P.279–280.
4. Gibson I. R., Best S. M., Bonfield W. Chemical characterization of silicon-substituted hydroxyapatite // *J. Biomed. Mater. Res.* – 1999. – Vol.44. – P.422–428.
5. Gibson I. R., Best S. M., Bonfield W. Effect of silicon substitution on the sintering and microstructure of hydroxyapatite // *J. Am. Ceram. Soc.* – 2002. – Vol.88. – P.2771–2777.
6. Hench L. L., Hench J. W., Greenspan D. C. Bioglass: a short history and bibliography // *J. Aust. Ceram. Soc.* – 2004. – Vol.40. – P.1–42.
7. Hing K. A., Revell P. A., Smith N., Buckland T. Effect of silicon level on rate, quality and progression of bone healing within silicate-substituted porous hydroxyapatite scaffolds // *Biomaterials.* – 2006. – Vol.27. – P.S014–S026.
8. Kim Y. H., Song H., Riu D. H et al. Preparation of porous Si-incorporated hydroxyapatite // *Current Applied Physics.* – 2005. – Vol.5. – P.538–541.
9. Mastrogiacomo M., Corsi A., Francioso E. et al. Reconstruction of extensive long bone defects in sheep using resorbable bioceramics based on silicon stabilized tricalcium phosphate // *Tissue Eng.* – 2006. – Vol.12. – P.1261–1273.
10. Patel N., Best S. M., Bonfield W. Characterisation of hydroxyapatite and substituted hydroxyapatites for bone grafting // *J. Aust. Ceram. Soc.* – 2008. – Vol.41. – P.1–22.
11. Patel N., Best S. M., Bonfield W. et al. A comparative study on the in vivo behaviour of hydroxyapatite and silicon substituted hydroxyapatite granules // *J. Mater. Sci. Mater. Med.* – 2002. – Vol.13. – P.1199–1206.
12. Pietak A. M., Reid J. W., Stott M. J., Sayer M. Silicon substitution in the calcium phosphate bioceramics // *Biomaterials.* – 2007. – Vol.28. – P.4023–4032.
13. Porter A. E., Best S. M., Bonfield W. Ultrastructural comparison of hydroxyapatite and silicon-substituted hydroxyapatite for biomedical applications // *J. Biomed. Mater. Res. A.* – 2004. – Vol.68. – P.133–141.
14. Porter A. E., Buckland T., Hing K. et al. The structure of the bond between bone and porous silicon-substituted hydroxyapatite bioceramic implants // *J. Biomed. Mater. Res. A.* – 2006. – Vol.78. – P.28–33.
15. Porter A. E., Patel N., Skepper J. N. et al. Comparison of in vivo dissolution processes in hydroxyapatite and silicon-substituted hydroxyapatite bioceramics // *Biomaterials.* – 2003. – Vol.24. – P.4609–4620.
16. Porter A. E., Patel N., Skepper J. N. et al. Effect of sintered silicate-substituted hydroxyapatite on remodelling processes at the bone-implant interface // *Biomaterials.* – 2004. – Vol.28. – P.3303–3314.
17. Porter A. E., Botelho C. M., Lopes M. A. et al. Ultra structural comparison of dissolution and apatite precipitation on hydroxyapatite and silicon-substituted hydroxyapatite in vitro and in vivo // *J. Biomed. Mater. Res. A.* – 2004. – Vol.69. – P.670–679.
18. Vallet-Regi M., Arcos D. Silicon substituted hydroxyapatites. A method to upgrade calcium phosphate based implants // *J. Mater. Chem.* – 2008. – Vol.18. – P.1809–1816.

