

Разработка технологии субстанции для производства остеоиндуктивных материалов

Компанцев Дмитрий Владиславович¹, Иваницкая Яна Александровна¹

¹ *Пятигорский медико-фармацевтический институт филиал Волгоградского медицинского университета, 357532, Россия, Пятигорск, ул. Калинина 11*

Корреспонденция, касающаяся этой статьи, должна быть адресована Компанцеву Д.В., Пятигорский медико-фармацевтический институт филиал Волгоградского медицинского университета, 357532, Россия, Пятигорск, ул. Калинина 11, e-mail: d.v.kompancev@pmedpharm.ru

Разработана технология получения остеопластического материала, состоящего из порошка натуральной костной ткани, в составе препарата присутствуют гидроксиапатит и трикальцийфосфатные соединения, а также комплекс минеральных веществ. Одной из наиболее актуальных проблем травматологии и ортопедии, хирургической стоматологии и челюстно-лицевой хирургии, является проблема лечения пациентов с большими костными дефектами. Отличительная особенность таких дефектов – недостаточная выраженность естественных восстановительных процессов костной ткани. Актуальность работы проявляется в наличии острой проблемы разработки технологии получения костных блоков с целью дальнейшего использования в качестве конкурентно способного на мировом рынке остеоиндуктивного материала полностью биоинертного и биосовместимого с тканями организма для пластического возмещения костных дефектов челюстных костей. Полученный материал представлял собой сложную структурированную систему, состоящую из специально обработанной костной ткани, полученной от убойных животных (бычки возраст до 12-18 месяцев), содержащим биоусвояемый кремний и ряд биологически активных соединений, стимулирующих репаративные процессы в костной ткани. Разработана оптимальная технологическая схема получения остеиндуктивного материала. Оптимизирован состав и основные стадии разработанной технологии. Костный материал, полученный с использованием разработанной технологии, использован в дальнейших исследованиях по разработке сложных лекарственных форм, оказывающих остеиндуктивное действие.

Ключевые слова: остеогенез, костная пластика, остеопластический материал.

Введение

Проанализированные научные публикации, посвящённые костно-заместительным материалам, применяемым в челюстно-лицевой хирургии для регенерации костной ткани, показали, что остеиндуктивные материалы отечественного производства не в полной мере отвечают запросам врачебного сообщества, что определяет необходимость дальнейших разработок в этом направлении (Борисенко, 2017). Импортные аналоги эффективнее отечественных препаратов, но их стоимость значительно снижает финансовые возможности ЛПУ страны, а также не доступна большей части граждан, нуждающихся в подобного рода вмешательствах (Livada, 2017; Zhang, 2017). Актуальность разработки нового остеиндуктивного костного материала подтверждена тем, что несмотря на много-

образии остеопластических материалов различного содержания и свойств, на сегодняшний день среди них нельзя выделить универсального (Бычков и соавт., 2018; Павленко и соавт., 2018). Кроме того, отсутствие комплекса оптимальных пластических материалов с остеиндуктивным свойством определяет необходимость дальнейших исследований в этом перспективном направлении (Ешиев, 2016).

На сегодняшний день на рынке представлен ограниченный ассортимент остеозамещающих материалов, применяемых в челюстно-лицевой хирургии, хирургической стоматологии и травматологии в целом. Среди импортных материалов ведущее место занимают Bio-Oss (Швейцария), Osteo-Biol (Италия). Эти препараты имеют процент приживаемости на уровне 98% и выше, но стоимость их в разы превышает цену отечественных препаратов аналогичного профиля (Опанасюк, 2017).

Отечественные остеоиндуктивные материалы относительно недороги (500-1500 руб. доза), но имеют существенные недостатки:

- недостаточную пластичность;
- низкий уровень биосовместимости материала.

Таким образом, целью исследования была разработка технологии получения костных блоков для дальнейшего использования в технологии получения конкурентно способного на мировом рынке остеоиндуктивного материала полностью биоинертного и биосовместимого с тканями организма для пластического возмещения костных дефектов челюстных костей.

Материалы и методы

Материалы

Основным материалом для проведения исследований послужили трубчатые кости убойных бычков.

Методика исследования

Диафиз бедренной кости очищали от мышц, связок и отпиливали кортикальные слои, обнажая губчатую кость. Губчатую костную ткань измельчали до размера частиц 1-1,5 см³. Затем блоки костной ткани помещали в 2% раствор хлорида натрия на 24 часа, промывали водой, помещали для гидролиза в 0,4 н. раствор гидроксида натрия на 24 часа, затем гидролизат сливали, блоки промывали дистиллированной водой до полной нейтрализации гидроксида натрия. После отмывки блоков проводили обезжиривание в хлороформе и ацетоне в течение 48 часов, после чего блоки промывали вновь водой, очищенной при постоянном помешивании магнитной мешалкой. Выполняли промежуточный контроль – окрашивание блоков Суданом на наличие жира и липопротеинов. Критерием перехода к следующему технологическому этапу служило получения отрицательного результата реакции (Kompantsev, 2020).

Оборудование

Для измельчения костных блоков использовали молотковую мельницу. Отмывку полученных блоков проводили в реакторах снабженных магнитной мешалкой. Костные блоки после промывки прокачивали в муфельной печи, равномерно повышая температуру от 100 до 300°C в течение 5 часов. Финишное измельчение материала проводили на ультразвуковой мельнице.

Процедура исследования

Проводили промежуточный контроль – на белок по Лоури-Барнстеду. Критерием для перехода к следующему технологическому процессу служил отрицательный результат реакции.

Далее выполняли промежуточный качественный контроль на минеральный компонент. Для чего навеску полученных блоков в количестве 1 грамм помещали в пробирку с 10 мл 1% раствора H₂SO₄. Полученные блоки растворялись без остатка и без осадка.

Полученный таким образом полупродукт, удовлетворяющий требованиям, представлял собой блоки костного минерального компонента кремового цвета, состоящие из соединения природного гидроксиапатита с фосфатами и карбонатами.

Полученные блоки измельчали до порошкообразного состояния и стерилизовали при температуре 180°C – 30 минут (Kompantsev, 2020).

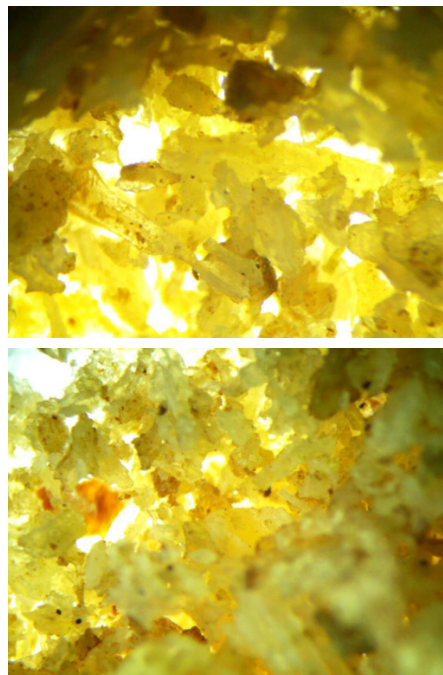
Результаты

Итог 1

Измельченный и стандартизированный костный порошок (рис.1) представлял собой мелкие кусочки губчатой ткани кости, белого или кремового оттенка.

Рисунок 1

Микроскопия полученного материала

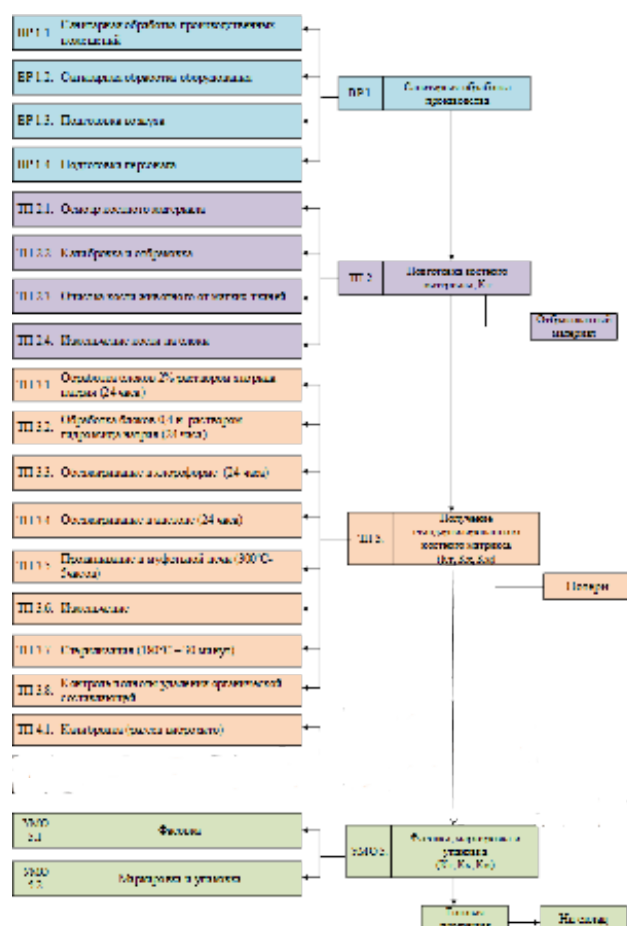


Итог 2

Разработана технология получения остеопластического материала на основе натурального костного материала бычков.

Схема 1

Технологическая схема получения стандартизированного костного материала



Результаты и их обсуждение

Для создания препарата использовали костный минеральный компонент в форме порошка, состоящего из костных блоков.

Участок бедренной кости убойных бычков очищали, промывали и освобождали от органических компонентов (белки, липиды) по методике, описанной выше. Далее выполняли качественную реакцию на минеральный компонент. Для чего растворяли навеску костного материала весом 1 грамм в 10 мл 1%-го H_2SO_4 .

Положительным результатом реакции являлось полное растворение костных блоков.

Полученные таким образом блоки костного минерального компонента – блоки кремового цвета, состоящие из соединения природного гидроксиапатита с фосфатами и карбонатами.

Полученные блоки измельчали на ультразвуковой мельнице до порошкообразного состояния и стерилизовали при температуре 180°C – 30 минут (рис.2).

Рисунок 3

Образец разработанного остеопластического материала на основе губчатой кости животных



Выводы

Разработана технология получения нового материала (схема 1). Это остеопластический материал, состоящий из порошка натуральной костной ткани молодых бычков (губчатая ткань), в составе препарата присутствуют гидроксиапатит и трикальцийфосфатные соединения, а также комплекс минеральных веществ и витаминов, стимуляторов регенерации. Разработанный материал является основной субстанцией для создания сложных структурированных препаратов для костнозамещающей терапии.

Финансовая поддержка

Финансирование работ осуществляется за счёт средств, выделяемых бюджетом института

Представленные в статье результаты научно-исследовательской деятельности являются отдельным этапом реализации плана научной работы кафедры фармацевтической технологии с курсом медицинской биотехнологии ПМФИ.

Литература

Борисенко, А. В., Кодлубовский, Ю. Ю., & Вит, В. В. (2017). Гистологическое исследование регенерации костной ткани нижней челюсти при

- воздействии трикальций фосфата и гиалуроновой кислоты. *Вестник Стоматологии*, 1(90), 6-10.
- Бычков, А. И., Долинер, М. Э., & Ситдикова, А. И. (2018). Изучение остеоиндуктивной активности рекомбинантного морфогенетического белка кости (rhbmp-2) в составе остеопластического материала на основе деминерализованного матрикса в эксперименте. *Врач-аспирант*, 59(4.2), 290-299.
- Ешиев, А. М., & Ешиев, Д. А. (2016). Влияние на репаративную регенерацию костной ткани челюстей остеорегенераторных материалов, синего света и электровибромассажа. *Фундаментальные исследования*, 2(ч.1), 61-64.
- Опанасюк, И. В., & Опанасюк, Ю. В. (2017). Костнопластические материалы в современной стоматологии. Алло-пластические материалы. *Современная стоматология*, 3, 101-105.
- Павленко, А. В., Горбань, С. А., Илык, Р. Р., & Штеренберг А. (2018). Остеопластические материалы в стоматологии: прошлое, настоящее, будущее. *Современная стоматология*, 4, 103-109.
- Скулан А., & Йенсен С. (2005). Биоматериалы для реконструктивного лечения внутрикостных пародонтальных дефектов. *Костные материалы и заменители кости*, 1, 21-31.
- Kompantsev, D., Chahirova, A., Yusupov, R., & Shabanova, N. (2020). Creating osteoplastic materials to repair jaw bones defects. *Archiv euromedica*, 10(4), 163-166.
- Livada, R., Fine, N., & Shiloah, J. (2017). Root amputation: a new look into an old procedure. *New York State Dental Journal*, 80(4), 24.
- Zhang, W., Zhang, Z., Chen, S., Macri, L., Kohn, J., & Yelick, P. C. (2016). Mandibular jaw bone regeneration using human dental cell-seeded tyrosine-derived polycarbonate scaffolds. *Tissue engineering. Part A*, 22(13-14), 985-993. <https://doi.org/10.1089/ten.TEA.2016.0166>

Development of Substance Technology for the Production of Osteoinductive Materials

Dmitry V. Kompantsev¹, Yana A. Ivanitskaya¹

¹ Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – branch of Volgograd State Medical University, 11, Kalinin ave., Pyatigorsk, Russia, 357532

Correspondence concerning this article should be addressed to Dmitry V. Kompantsev, Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – branch of Volgograd State Medical University, 11, Kalinin ave., Pyatigorsk, Russia, 357532, e-mail: d.v.kompancev@pmedpharm.ru

A technology has been developed for obtaining an osteoplastic material consisting of a powder of natural bone tissue, the preparation contains hydroxyapatite and tricalcium phosphate compounds, as well as a complex of minerals. One of the most urgent problems of traumatology and orthopedics, surgical dentistry and maxillofacial surgery is the problem of treating patients with large bone defects. A distinctive feature of such defects is the insufficient severity of the natural regenerative processes of bone tissue. Thus, the development of a technology for obtaining bone blocks for further use as a fully bioinert and biocompatible osteoinductive material on the world market that is fully bioinert and biocompatible with body tissues for plastic compensation of bone defects of the jaw bones is relevant. The resulting material was a complex structured system consisting of specially treated bone tissue obtained from slaughter animals (bulls up to 12-18 months of age), containing bioavailable silicon and a number of biologically active compounds that stimulate reparative processes in bone tissue. An optimal technological scheme for obtaining an osteoinductive material has been developed. The composition and main stages of the developed technology have been optimized. Bone material accumulated using the developed technology was used in further research on the development of complex dosage forms that have an osteoinductive effect.

Key words: osteogenesis, bone grafting, osteoplastic material.

References

- Borisenko, A. V., Kodlubovsky, Yu. Yu., & Vit, V. V. (2017). Histological study of the regeneration of the bone tissue of the lower jaw under the influence of tricalcium phosphate and hyaluronic acid. *Vestnik Stomatologii* [Bulletin of Dentistry], 1(90), 6-10.
- Bychkov, A. I., Doliner, M. E., & Sitdikova, A. I. (2018). Experimental study of the osteoinductive activity of the recombinant bone morphogenetic protein (rhbmp-2) as part of an osteoplastic material based on a demineralized matrix. *Vrach-aspirant* [PhD student], 59(4.2), 290-299.
- Eshiev, A. M., & Eshiev, D. A. (2016). Influence on the reparative regeneration of the bone tissue of the jaws of osteoregenerator materials, blue light and electric vibration massage. *Fundamental'nye issledovaniya* [Basic Research], 2(part 1), 61-64.
- Opanasyuk, I. V., & Opanasyuk, Y. V. (2017). Osteoplastic materials in modern dentistry. Alloplastic materials. *Sovremennaya stomatologiya* [Modern Dentistry], 3, 101-105.
- Pavlenko, A. V., Gorban, S. A., Ilyk, R. R., & Shterenberg A. (2018). Osteoplastic materials in dentistry: past, present, future. *Sovremennaya stomatologiya* [Modern Dentistry], 4, 103-109.
- Sculan A., & Jensen S. (2005). Biomaterials for reconstructive treatment of intraosseous periodontal defects. *Kostnye materialy i zameniteli kosti* [Bone materials and bone substitutes], 1, 21-31.
- Kompantsev, D., Chahirova, A., Yusupov, R., & Shabanova, N. (2020). Creating osteoplastic materials to repair jaw bones defects. *Archiv euromedica*, 10(4), 163-166.
- Livada, R., Fine, N., & Shiloah, J. (2017). Root amputation: a new look into an old procedure. *New York State Dental Journal*, 80(4), 24.
- Zhang, W., Zhang, Z., Chen, S., Macri, L., Kohn, J., & Yellick, P. C. (2016). Mandibular jaw bone regeneration using human dental cell-seed tyrosine-derived polycarbonate scaffolds. *Tissue Engineering. Part A*, 22(13-14), 985-993. <https://doi.org/10.1089/ten.TEA.2016.0166>