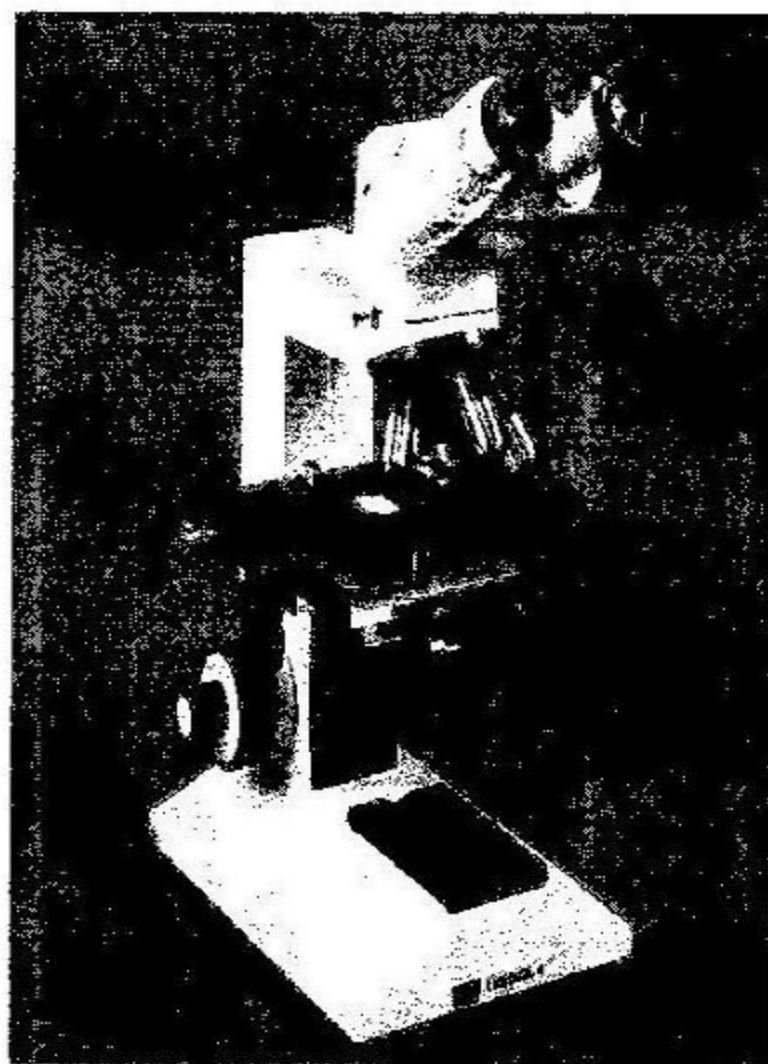


Горанчук / Чорткова

УКРАЇНСЬКА АКАДЕМІЯ НАУК НАЦІОНАЛЬНОГО ПРОГРЕСУ
ВІДДІЛЕННЯ МЕДИКО-БІОЛОГІЧНИХ, ХІМІЧНИХ ТА АГРАРНИХ
НАУК

ВІСНИК ПРОБЛЕМ БІОЛОГІЇ І МЕДИЦИНИ



ПОЛТАВА



ХАРКІВ

1998

РЕДАКЦІЙНА КОЛЕГІЯ:

КУРСЬКИЙ М.Д. - головний редактор (Київ)
ДАХНО Ф.В. - зам.головного редактора
(Київ)

ЗАГОРУЙКО Г.Є. - зам.головного редактора
(Полтава)

БОБІН В.В. (Харків),
ГРИЦАЙ Н.М. (Полтава),
ВЕЛИГОДСЬКИЙ М.М. (Харків),
ГУБСЬКИЙ Ю.І. (Київ),
МАГОМЕДОВ О.М. (Київ),
СКРИПНІКОВ М.С. (Полтава),
ФЕДОНЮК Я.І. (Тернопіль)

РЕДАКЦІЙНА РАДА:

БАРСУКОВ М.П. - (Сімферополь),
БЕЗШАПОЧНИЙ С.Б. - (Полтава),
ВОРОБЕЦЬ З.Д. - (Львів),
КЛИМЕНКО А.О. - (Івано-Франківськ),
МІШАЛОВ В.Д. - (Дніпропетровськ),
НАПХАНЮК В.Л. - (Одеса),
НІКІТЧИН Д.І. - (Запоріжжя),
РАДЗІНСЬКИЙ В.О. - (Москва),
САВРО В.О. - (Луганськ),
СЕМЕНОВА Т.В. - (Донецьк),
СИДОРЧУК І.Й. - (Чернівці),
СКЛЯРОВ О.Я. - (Львів),
ТОПКА Е.Г. - (Дніпропетровськ),
ТУГАЙ В.А. - (Київ),
ЧЕРНИХ В.П. - (Харків),
ЩЕРБАКОВА В.В. - (Харків).

**ВЕСТНИК ПРОБЛЕМ БИОЛОГИИ И
МЕДИЦИНЫ**

СПІВЗАСНОВНИКИ: Українська Академія Наук
Національного

прогресу

Порядковий номер випуску і дата його виходу в світ:

№25 20.12.1998 р.

Адреса редакції: 310022, м.Харків, пр.Леніна, 4 ХГМУ
314024, м.Полтава, вул.Шевченка, 23, УМСА

Свідоцтво про державну реєстрацію: ХК №179 від
21.04.1994

Відповідальний за випуск: Г.Є.Загоруйко

Комп'ютерний набір: Артюх Е.В.

Комп'ютерна верстка: Калініченко А.В.

Художнє оформлення та тиражування: Красніков А.В.

Секретар інформаційної служби:

Ю.В.Загоруйко, тел.увечері (0572)23-27-23

© 1998 УАННП

Підписано до друку **15.12.1998 р.** Формат 60×60 1/16.
Бум.тип. 1. Замовлення 326/98

Українська академія
наук національного
прогресу
Відділення медико-
біологічних, хімічних
та аграрних наук

**Вісник
проблем
біології
і
медицини**

**Журнал засновано
у 1993 році ака-
деміком
УАННП
Іванковим Є.Я.**

ВИПУСК 25

Рецензенти:

1. Громова А.М. - д.м.н.,
професор,
академік УАННП,
(м.Полтава)
2. Мішалов В.Д. -
д.м.н., професор,
(м.Дніпропетровськ)

Полтава - Харків,
1998 р.

ОЦЕНКА ЦИТОТОКСИЧНОСТИ ИМПЛАНТАТОВ ИЗ ТИТАНА С КОМПОЗИТНЫМИ ПОКРЫТИЯМИ КЕРАМИЧЕСКИМ МАТЕРИАЛОМ

ПОТАПЧУК А.М.

Керамические материалы, рекомендуемые для имплантации в костную ткань, требуют всесторонней оценки. Исследования в культуре ткани помогают экспериментаторам в максимально короткое время определить цитотоксичность образцов и отобрать нетоксичные для последующих исследований на животных [2, 4, 5]. Метод культуры клеток является высокочувствительным и, в зависимости от использования различных клсток, дает возможность прогнозировать поведение имплантата в тканях организма [1, 6].

Ц е л ь исследования – провести оценку цитотоксических свойств титановых штифтов с различными керамическими покрытиями в культурах ткани костного мозга и мезенхимальных клеток.

Материал и методы исследования. Использованы штифты из титана с композиционными керамическими покрытиями (алюмооксидная и гидроксипатитная), нанесенных на штифт в различных композициях: смесь керамик, двухслойное покрытие и градиентное покрытие. В связи с тем, что имплантаты с керамическими покрытиями разработаны для костной ткани, использованы два вида культур: монослойная культура костного мозга (позволяющая клонировать стромальные клетки-предшественники) и мезенхимальных клеток (культура высокой плотности, клетки формируют узелки).

У 3-х месячных крыс после декапитации вычленили бедренные кости и с помощью пастеровской пипетки питательной средой 199 вымывали костный мозг. Клетки считали в камере Горяева. Вводили $1,5 \times 10^5$ клеток в 1 мл среды 199, содержащей 10% телячьей сыворотки, антибиотиков (пенициллин и стрептомицин) из расчета 5 тыс. ед. на 100 мл 199 сре-

ды). Суспензию клеток в виде капли помещали на покровное стекло рядом со штифтом с керамическим покрытием.

Клетки скелетогенной мезенхимы были получены из зачатков конечностей куриных эмбрионов на 23-24 стадии развития по методу Hadhazy Ch. [3]. Культивирование (10^9 клеток) проводили при 37°C, 95% влажности и 5% CO₂ на покровном стекле с рядом расположенным штифтом. В качестве контроля использовали культуры без штифтов. Конечный срок культивирования – 5 дней. Смену среды проводили через день.

По окончании срока культивирования клетки на покровном стекле фиксировали спиртом и окрашивали азур-эозином по Романовскому. Узелки, извлеченные из культуры мезенхимальных клеток высокой плотности, дополнительно были исследованы с помощью методов стандартной гистологии после окраски гематоксилином и эозином. Анализ проводили под микроскопом Биолам (ЛОМО) (окуляр 10, объективы 3,8; 8; 40).

Результаты исследования. *Культура клеток костного мозга.* Установлено, что на все сроки исследования вокруг штифтов с керамическими покрытиями (градиентное покрытие, смесью керамик и двухслойное) в тесном контакте располагались клетки костного мозга. Деструктивных клеток, находящихся в клеточной среде в свободном состоянии, очагов просвета между штифтами и культивируемыми клетками не выявлено. В зависимости от срока культивирования в контрольной серии (культивирование клеток без имплантатов) и опытных сериях обнаруживалась сходная картина развития культуры клеток.

На 1-2 сутки отмечено уменьшение количества дифференцированных клеток костного мозга (мегакариоцитов, клеток эритроидно-

го и гранулоцитарного рядов) и увеличение стромальных клеток макрофагов и клеток фибробластического ряда. Эта тенденция прослеживалась и на последующие сроки наблюдения. Обнаруживались крупные макрофаги, содержащие в цитоплазме мелкие плотные частицы керамического материала. Количество таких клеток было увеличено вокруг имплантатов с двухслойным покрытием. Малые и средние лимфоциты равномерно располагались по всему стеклу и в области контакта с имплантатами.

На 3-4 сутки в культуре отмечено незначительное повышение плотности фибробластов, имеющих крупные извитые ядра и удлиненную цитоплазму, а также клеток с овоидными ядрами и эллипсоидной по форме цитоплазмой, что свидетельствует о различной степени зрелости фибробластов.

Плотность макрофагов и зрелых клеток костного мозга на эти сроки исследования снижалась.

На 5 сутки наблюдения плотность фиброб-

ластов была высокой, эти клетки доминировали как в контрольной, так и в опытной культуре.

Культура клеток скелетогенной мезенхимы. Вокруг имплантатов с исследуемыми покрытиями формировались колонии клеток в виде узелков. На 1-е сутки в световом микроскопе определялись клетки, имевшие сферическую форму, крупные ядра с сетчатым хроматином, окруженные небольшим ободком цитоплазмы.

На 2-3 сутки клеточные узелки состояли преимущественно из округлых и овоидных клеток хондроидного ряда, различающихся размером ядра и объемом цитоплазмы. Лишь в краевых отделах узелков определялись клетки фибробластического ряда с плотными вытянутыми ядрами.

На 4-5 сутки площадь, занимаемая хрящевыми узелками, возрастала, а в самих узелках увеличивалось количество хрящевых клеток, формирующих капсулу, что свидетельствует об их зрелости. Хрящевые клетки обнаруживались в непосредственной близости к материалу покрытия (рис. 1 а, б).

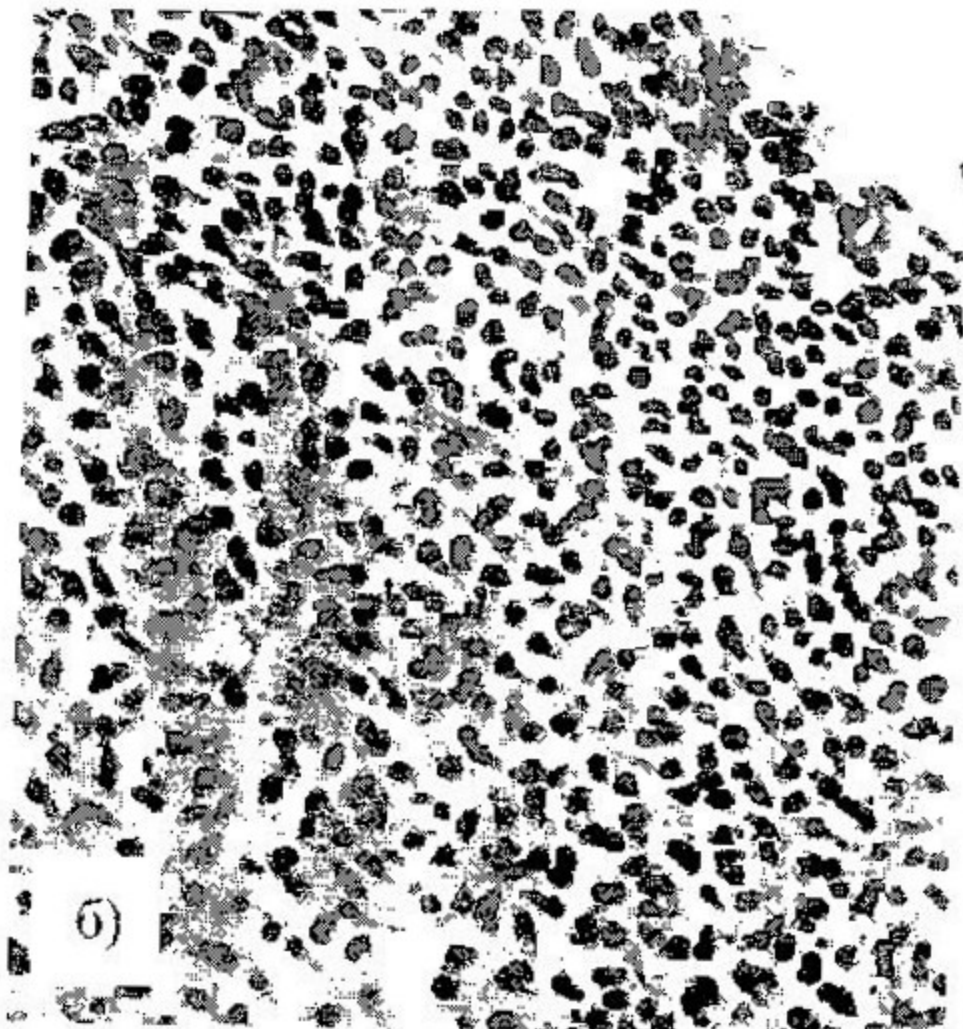


Рис. 1 Культура клеток скелетогенной мезенхимы на 5 сутки культивирования: а) хрящевые узелки вокруг штифта с градиентным покрытием. Окраска по Романовскому. Ув. 38; б) клетки хондроидного и фибробластического рядов в узелке вблизи штифта. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 80.

Вне материала покрытия в краевых отделах узелков выявлялись пласты фибробластов.

Деструкции и дистрофии клеток не было зафиксировано.

Следовательно, полученные данные свидетельствуют о том, что рост клеток костного мозга и скелетогенной мезенхимы *in vitro* при нахождении в культуральной среде имплантатов характеризовался, в целом, такими же особенностями, как и рост клеток в контрольных

культурах. Эти данные свидетельствуют о том, что при культивировании штифтов с керамическим покрытием в течение 5 суток не обнаружено токсического действия на костный мозг и скелетогенную мезенхиму.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1.Beiterswijk C.A., Grote J.J., Kuijpers W.C., Bioreactions at the tissue-hydroxylapatite interface// *Biomaterials*. -1985. -P. 243-251.

2.Guenther K., Sehart H.P., Puhl W. Cytotoxicity testing in cell culture of bone substitute materials and ceramics. *J.Bone Jt.Surg.* -1993. -Vol. -75-B. -№ 2. -P.106-107.

3.Hadhazy Cs., Laszlo B., Kostenszky K. Cartilage differentiation in micro-mass culture of chicken limb buds// *Acta Morphol. Acad.Sci. Hung.* -1992. -Vol.31. -№ 1. -P.65-78.

4.Howlett C.R., McCartney E. *Ceram F.I.*

Ching W. The effect of silicon nitride ceramic on rabbit skeletal cells and tissue. *Clin. Orthop.* -1989. -Vol. -244. -P. 293-304.

5.Kotoura Y., Yamamuro T., Shikata J., Kakutani Y. A method for toxicological evaluation of biomaterials based on colony formation of cells. *Arch Orthop.Trauma Surg.* -1985. -Vol. 79. -№ 104. -P. 15-19.

6.Meryon S.D., Browne R.M. Test methods for assessing the cytotoxicity of dental restorative materials using an *in vitro* model cavity system// *Ceramics in Surgery*. -1983. -P.127-135.

Ужгородский медицинский институт

Статья поступила
15.09.1998 г.

УДК 611-018.3:576.344+547.258.15

ОЦІНКА ЦИТОТОКСИЧНОСТІ ІМПЛАНТАТІВ ІЗ ТИТАНУ З КОМПОЗИЦІЙНИМИ КЕРАМІЧНИМИ ПОКРИТТЯМИ

ПОТАПЧУК А.М.

У роботі проведена оцінка цитотоксичності титанових імплантатів з різними композиційними керамічними покриттями (алюмооксидна кераміка та гідроксиапатит). У зв'язку з тим, що штифти розроблені для імплантації у губчасту кісткову тканину було використано дві моделі – культуру клітин кісткового мозку та культуру клітин скелетогенної мезенхіми. Стів культури клітин оцінювався на 1-5 добу.

Встановлено, що у всі терміни дослідження нашкодо імплантатів з керамічними покриттями (двощарове, суміш керамік, градієнтне) у повному контакті розташовувалися клітини досліджуваних культур – кісткового мозку та

скелетогенної мезенхіми. Клітин у стані деструкції, які б вільно розташовувалися у клітинному середовищі, розривів між імплантатом та культивованими клітинами не було зареєстровано. В залежності від терміну дослідження в контрольній серії (культивування клітин без імплантатів) та трьох дослідних серіях визначалася подібна картина розвитку культури клітин. Одержані дані свідчать про те, що керамічні матеріали (гідроксиапатитна та алюмооксидна кераміка), з яких виготовлені покриття на імплантати, не справляють токсичної дії на кістковий мозок та скелетогенну мезенхиму, як не чинить її й титан.