

УДК 616.71-003.93-089.843-092.9:615.463КФЦ(048.3)

DOI: <http://dx.doi.org/10.15674/0030-59872023141-48>

Регенерація кістки після імплантації цементів на основі метастабільного трикальційфосфату (експериментальне дослідження *in vivo*)

К. С. Поплавська, Н. О. Ашукіна

ДУ «Інститут патології хребта та суглобів ім. проф. М. І. Ситенка НАМН України», Харків

Calcium phosphate cement (CPC) is a material used to fill bone defects. Its advantages include being able to fill irregularly shaped spaces, its similarity to bone tissue, and ease of biodegradation. However, insufficient durability and unpredictable rate of resorption limit CPC use. Objective. Study the dynamics of morphological changes in rat femurs after implanting two types of CPC based on metastable α' -tricalcium phosphate (α' -TCP) into defects in the distal metaphysis. Methods. 42 male white rats were used in the study. In each rat, defects were created in the distal metaphysis of the left femur and filled with one of the two types of CPC. The animals were split into two groups: I ($n = 21$) — CPC based on α' -TCP powder; II ($n = 21$) — CPC based on α' -TCP powder reinforced with hydroxyapatite (HA) whiskers (4 % mass). Both varieties of CPC were developed and prepared at the Department of Solid-State Physics at the V. N. Karazin Kharkiv National University (Ukraine). 14, 30, and 60 days after the surgery, the animals were sacrificed, and histological analyses were performed. Results. For both types of CPC, inflammation was not observed in the region around the implant at 14, 30, or at 60 days. Bone tissue formed on the surface of the materials. The stages of bone repair were similar to the known stages of bone repair. As a result of the resorption of the CPC, 60 days after surgery the CPC comprised 26.83 % of the area of the defect in group I and 29.93 % in group II. The rest of the area was composed of lamellar bone. The two groups did not differ significantly in rate of CPC resorption or bone tissue formation. Conclusions. The two types of CPC studied, based on α' -TCP (group I) and α' -TCP reinforced with HA whiskers (group II), are biocompatible, osteoconductive, and osteoinductive. In addition, these materials are biodegradable and, with time, are replaced by bone tissue. Key words. Bone defect, bone repair, calcium phosphate cement, metastable α' -tricalcium phosphate, hydroxyapatite, rat femur, experiment.

Кальцій-фосфатні цементи (КФЦ) є перспективним матеріалом для заповнення дефектів кісток завдяки рідкому стану, який дає змогу заповнювати порожнини неправильної конфігурації, та спорідненості з кістковою тканиною й здатністю до біорезорбції. Проте недостатня міцність і непрогнозована біодеградація обмежують їхнє використання. Мета. Дослідити динаміку морфологічних змін стегнових кісток щурів після імплантації в дефект у дистальному метафізі двох видів цементів на основі метастабільного α' -трикальційфосфату (α' -ТКФ). Методи. У дослідженні використано 42 самці білих лабораторних щурів, яким моделювали дефект у дистальному метафізі лівої стегнової кістки і заповнювали одним із двох видів цементів. Залежно від цього тварин розподілили на групи: I ($n = 21$) — твердою фазою КФЦ був порошок α' -ТКФ; II ($n = 21$) — порошок α' -ТКФ, зміцнений голчастими кристалами гідроксилапатиту (ГА) (4 мас%). Обидва КФЦ розроблені та виготовлені на кафедрі фізики твердого тіла фізичного факультету Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна (Україна). Через 14, 30 і 60 днів після операції тварин виведено з експерименту та виконано гістологічні дослідження. Результати. Запальної реакції навколо обох видів КФЦ не зафіксовано на всі терміни спостереження. Кісткова тканина утворювалася безпосередньо на поверхні матеріалів, остеорепація перебігала відповідно до загальновідомих стадій. Унаслідок резорбції КФЦ через 60 днів після введення в ділянці дефекту залишилось 26,83 % (група I) і 29,93 % (II) кераміки, решту території займала кісткова тканина пластинчастої структури. Не встановлено відмінностей між групами за швидкістю біодеградації чи утворення кісткової тканини. Висновки. Досліджувані КФЦ, тверда фаза яких складається з α' -ТКФ або α' -ТКФ, армованого голчастими кристалами ГА, є біосумісними, мають остеоіндуктивні й остеокондуктивні якості. Матеріали є біорезорбтивними — поступово замінюються кістковою тканиною.

Ключові слова. Дефект кістки, регенерація кістки, кальцій-фосфатний цемент, метастабільний α' -трикальційфосфат, гідроксилапатит, стегнова кістка, експеримент, щури

Вступ

Сьогодні існує безліч матеріалів для заміщення дефектів кісток, кожен з яких має певні переваги та недоліки. Зокрема, кераміки на основі гідроксилапатиту ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) та трикальційфосфату (ТКФ, $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) застосовують в ортопедії, щелепно-лицьовій хірургії, стоматології завдяки їхньому складу, що є близьким до мінерального компонента матрикса кістки, а також таким властивостям, як біосумісність, остеокондукція, остеointegraція, здатність заміщуватися кістковою тканиною [1–3]. Перспективність використання ТКФ (β -ТКФ) як остеопластичного матеріалу пов'язана з його доведеною остеоіндукцією, тобто здатністю до стимуляції розвитку клітин в остеогенному напрямі [4, 5]. Клінічні спостереження протягом року навіть показали ідентичну ефективність застосування для реконструкції дефектів кістки гранул β -ТКФ (діаметр 1 мм, макропористість 400 мкм, мікропористість $(2,73 \pm 1,0)$ мкм) і автотрансплантатів [6]. На підставі нещодавно опублікованого метааналізу [7] визначено, що матеріали на основі β -ТКФ у поєднанні з використанням блокованих пластин можуть стати безпечною й ефективною альтернативною застосуванню автотрансплантатів під час виконання відкритої клиноподібної високої остеотомії великогомілкової кістки (щілина понад 10 мм) у пацієнтів із остеоартритом колінного суглоба, ураховуючи, зокрема, й відсутність необхідності додаткового хірургічного втручання, зайвої крововтрати, утворення гематоми й болючості. Проте автори зауважили на відмінностях фізико-хімічних властивостей промислових зразків кальцій-фосфатних керамік у різних виробників, що відбивається на їхній здатності до біодеградації зі заміщенням кістковою тканиною [4, 5, 7]. До того ж, складним завданням для розробників кальцій-фосфатних керамік є контрольована швидкість їхньої резорбції й необхідної для вимог ортопедії міцності та механічної надійності, що також визначається фізико-хімічною структурою.

Оскільки біоактивні кераміки використовують як матеріал для заповнення дефектів кісток, які мають складну форму та довільні розміри, актуальним стало створення кальцій-фосфатних цементів (КФЦ) з необхідними в'язкістю та часом схоплювання за температури тіла, відповідною компресійною міцністю та передбачуваною в ідеалі швидкістю розчинності для утворення кісткової тканини [8, 9]. Як і будь-який цемент, КФЦ

складаються з твердої (порошок з одного чи суміші фосфатів кальцію) і рідкої (водний розчин) фаз, котрі після змішування набувають пастоподібної консистенції, а потім твердіють за короткий час. За кінцевим продуктом КФЦ класифікують як брушитові (дигідрат дікальційфосфату, DCPD) та апатитові [1, 10, 11]. Оскільки в результаті твердіння апатитних цементів утворюється слабокристалічна апатитна фаза, подібна до біоапатиту, їхнє застосування як кісткових заміників вельми перспективне. Виготовляють тверду фазу таких цементів шляхом гідролізу α -ТКФ, але порошок, отриманий в результаті високотемпературної трансформації, складається з відносно великих частинок із високою кристалічністю, що значно знижує його біоактивність. Необхідність подрібнення в кульковому млині та просіювання значно ускладнює процедуру одержання та збільшує собівартість КФЦ. Інший шлях отримання нанорозмірного порошку α -ТКФ — відпалення осаду аморфного фосфату кальцію із співвідношенням Ca/P — 1,5 за температур у діапазоні 500–700 °C [12]. Під час нагрівання такий α -ТКФ перетворюється у стабільний β -ТКФ, тому його називають метастабільним і позначають, як α' -ТКФ. Передбачається, що апатитні КФЦ на основі метастабільного α' -ТКФ матимуть такі самі біологічні властивості як КФЦ на основі високотемпературного α -ТКФ, але будуть значно простішими в отриманні та, відповідно, економічно вигіднішими.

Завдяки своїй пластичності КФЦ зручні у використанні, проте, незважаючи на багаточисельні дослідження, натепер залишаються певні обмеження, які перешкоджають їхньому широкому клінічному використанню. По-перше, це мало прогнозована біодеградація, по-друге, — низькі механічні якості [9, 13]. Дослідження щодо покращення властивостей твердої складової КФЦ пов'язані зі зміною розміру та форми частинок, їхньої взаємодії, збільшенням макропористості тощо [14]. Також використовують різні домішки, наприклад: стронцій — для надання анти-остеопоротичних властивостей і збільшення компресійної міцності [15]; нановолокна полімолочногліколевої кислоти (PLGA) з карбоксиметилцелюлозою (СМС) — для підвищення пористості, тривкості й остеointegraції [16] тощо. Одним із підходів для покращення характеристик міцності метастабільного α' -ТКФ без втрати його здатності до біодеградації є додавання до твердої складової з ТКФ нитчастих волокон GA [1].

Мета: дослідити динаміку морфологічних змін стегнових кісток щурів після імплантації в дефект у дистальному метафізі двох видів цементів на основі метастабільного α' -трикальційфосфату.

Матеріал і методи

Експерименти виконано з дотриманням вимог Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (ст. 26, 31) [17], Європейської конвенції про захист хребетних тварин, яких використовують для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986) [18] та Директиви 2010/63/EU. Дизайн експерименту обговорено та схвалено на засіданні комітету з біоетики при ДУ «ІПХС ім. проф. М. І. Ситенка НАМН України» (протокол № 194 від 08.07.2019).

Кальцій-фосфатний цементи

Порошок метастабільного α' -ТКФ отримували за допомогою швидкого нітратного синтезу, промивання, ліофілізації та подальшої термічної обробки осадів із співвідношенням Са/Р — 1 : 1. Промивання осадів за певних умов дало змогу збільшити співвідношення Са/Р до 1,5. Однофазний метастабільний α' -ТКФ оброблено шляхом термічної обробки гідролізованих осадів [19]. Як рідку фазу для приготування цементу застосовували 2,5 % розчин гідрофосфату натрію, Na_2HPO_4 , який додавали в порцію порошку α' -ТКФ, що забезпечувало співвідношення тверда фаза / рідка фаза — 1/1,25, безпосередньо перед застосуванням. Далі масу ретельно перемішували шпателем до отримання однорідної пасти та витримували її 3–5 хв [20]. Отриманою пастою пломбували кістковий дефект, ущільнюючи нові порції пасти шпателем, до повного заповнення дефекту та закінчення виділення з нього тілесної рідини.

Процедура підготовки армованого цементу була ідентичною з описаною, але в тверду фазу заздалегідь додавали 4 мас% голкоподібних кристалів ГА. Їх отримували шляхом гідротермального синтезу за оригінальною технологією, розробленою на кафедрі фізики твердого тіла фізичного факультету Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна (температура 235 °С, тиск 20 атм., час 1 год) [21].

Тварини

Дослідження проведено на 42 самцях білих лабораторних щурів популяції експериментально-біологічної клініки ДУ «ІПХС ім. проф. М. І. Ситенка НАМН України» (на початок експерименту вік тварин становив 5–6 міс., маса тіла 220–400 г),

яких утримували по 5 у клітці з вільним доступом до їжі та води, на стандартному раціоні харчування із температурою в приміщенні (22 ± 2) °С.

Усім щурам виконано хірургічні втручання з моделювання дірчастого дефекту в дистальному метафізі лівої стегнової кістки, який заповнювали досліджуваним КФЦ. Відповідно до його складу тварин випадковим чином розподілили на групи:

- 1 (n = 21) — твердою фазою КФЦ був порошок α' -ТКФ;
- 2 (n = 21) — твердою фазою КФЦ був порошок α' -ТКФ, зміцнений голчастими кристалами ГА.

Тварин виводили з експерименту шляхом введення летальної дози анестетику (кетамін, 120 мг/кг, внутрішньом'язово) через 14, 30 і 60 діб після операції.

Хірургічні втручання

Хірургічні втручання виконано в умовах асептики й антисептики під загальною анестезією (кетамін, 50 мг/кг живої маси, внутрішньовенно). Після підготування операційного поля (гоління шерсті на лівому коліні та стегні, оброблення антисептиком Кодан® форте (Schülke & Mayr GmbH, Німеччина)) через передньо-латеральний доступ відкривали дистальний метафіз стегнової кістки. Дефекти (глибина 3 мм, діаметр 2 мм) моделювали за допомогою стоматологічного бора, промивали антисептичним засобом, висушували та заповнювали керамічним матеріалом, який мав на цей час пастоподібну консистенцію та був підготовлений заздалегідь (перемішували 1 г керамічного порошку з 1 мл затворюючої рідини за 5 хв до введення в дефект) (рис. 1). Очікували затвердіння матеріалу протягом 5 хв. Потім рану місцево обробляли антибіотиком Біцилін®-3 (ПАТ «Київмедпрепарат», Україна), зашивали м'язи та шкірну рану. Шкіру в зоні хірургічного втручання обробляли антисептичним засобом Кодан® форте.

Гістологія

Для гістологічного аналізу в щурів виділили прооперовані стегнові кістки, очистили від м'яких тканин і помістили для фіксації на 4 доби в 10 % розчин нейтрального формаліну. Декальцинацію проводили в 10 % розчині мурашиної кислоти. Після цього відрізували дистальні метафізи з ділянкою імплантації, зневоднювали у спиртах зростаючої концентрації, просочували в парафіні зі ксилолом та заливали в парафін. Виготовлені фронтальні гістологічні зрізи 5–6 мкм завтовшки забарвлювали гематоксиліном та еозином й аналізували під світловим мікроскопом BX63 (Olympus, Японія).

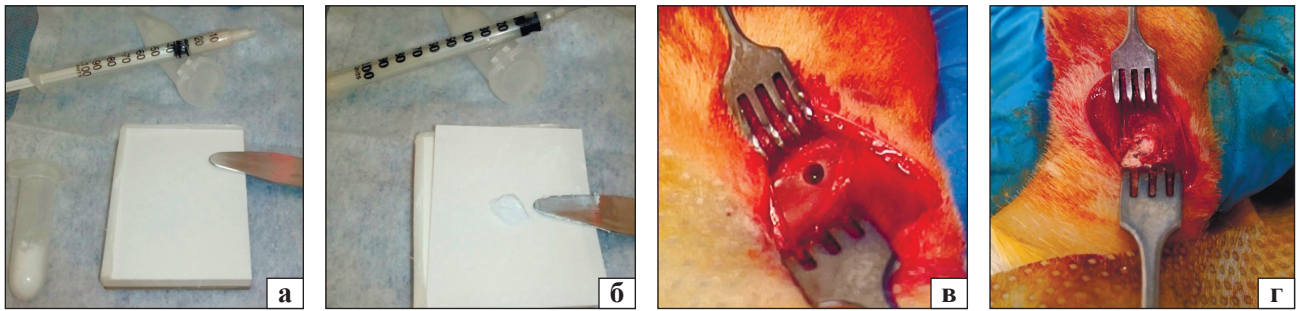


Рис. 1. Етапи хірургічного втручання: підготовки матеріалу (а, б), дефект у дистальному метафізі стегнової кістки щура (в), заповнений пастоподібним керамічним матеріалом (г)

Для отримання цифрових знімків використано камеру DP73 (Olympus) і програмне забезпечення Cell Sens Dimension 1.8.1 (Olympus, 2013).

Гістоморфометрія

У ділянці імплантації з використанням програмного забезпечення «Cell Sens Dimension 1.8.1» (Olympus, 2013) вимірювали площі новоутворених тканин (кісткової та сполучної) і керамічного матеріалу (на 5 центральних зрізах кожного дистального метафіза), потім розраховували їхній відносний вміст (bone tissue — В %, fibrous tissue — F%, Ceramics — С%) від загальної площі дефекту. За кісткову тканину вважали новоутворені кісткові трабекули разом із кістковим мозком.

Статистика

Отримані числові показники подано як середнє та стандартне відхилення. Для порівняння показників різних зразків на однаковий термін дослідження та площі сполучної тканини на різні терміни використано t-критерій Стьюдента для незалежних вибірок; відмінності вважали значущими за $p < 0,05$. Для порівняння показників однакового й того самого зразка на три терміни спостереження застосовано однофакторний дисперсійний аналіз ANOVA з поправкою Бонфероні, вважали значущими за $p < 0,017$.

Результати та їх обговорення

Тварини обох груп на всі терміни спостереження повністю навантажували оперовану кінцівку, характеризувалися нормальною руховою активністю, споживанням їжі та води. Ускладнень у післяопераційному періоді не спостерігали.

Макроскопічно ділянка дефекту виявлялася лише через 14 діб після операції за наявності порожнини в кортексі, заповненої білуватим вмістом.

Під час гістологічного дослідження через 14 діб після імплантації керамічний матеріал у щурів обох груп чітко визначався в дефекті та майже пов-

ністю заповнював його (рис. 2). По периметру матеріалу утворювалися сполучна та кісткова тканини в різних співвідношеннях. Новоутворені кісткові трабекули характеризувалися значною кількістю остеоцитів. У сполучній тканині густина клітин була високою. Переважали клітини остеобластичного та фібробластичного диференсів. На поверхні керамічного матеріалу виявлені багатоядерні клітини чужорідних тіл типу остеокластів (рис. 2, б; 2, г; вказано стрілками), які беруть участь у його біорезорбції.

За результатами гістоморфологічного дослідження С% і В% в дефектах стегнових кісток статистично значуще не відрізнялись у досліджуваних групах щурів, а F% була в 2,04 разу більшою ($p = 0,004$) у групі 2 (таблиця).

Через 30 діб після імплантації, як і на попередній термін дослідження, керамічний матеріал добре визначався на гістологічних препаратах у тварин обох груп, його відносна площа статистично значуще не змінилася порівняно з 14-ю добою (таблиця). Проте по всьому його периметру фіксували ознаки перебудови: простання кровоносних судин (рис. 3, б, позначено стрілкою) та новоутвореної кісткової тканини (рис. 3, г, nВ).

В% статистично значуще не відрізнялась порівняно з 14-ю добою у щурів обох груп і між групами (таблиця). Проте слід зауважити на утворення в них кісткової тканини в ділянці дефекту коркового шару. На цей термін спостереження це була губчаста кісткова тканина пластинчастої будови (рис. 3, а, позначено nСх; 3, в — nВ).

Подекуди в ділянці дефекту залишались осередки сполучної тканини. F% зменшилася порівняно з 14-ю добою в 9,38 разу ($p < 0,001$) у щурів групи 2 і була меншою порівняно з показником групи 1 в 5,77 разу ($p = 0,004$). У тварин групи 2 значущих відмінностей за цим показником не виявлено (таблиця).

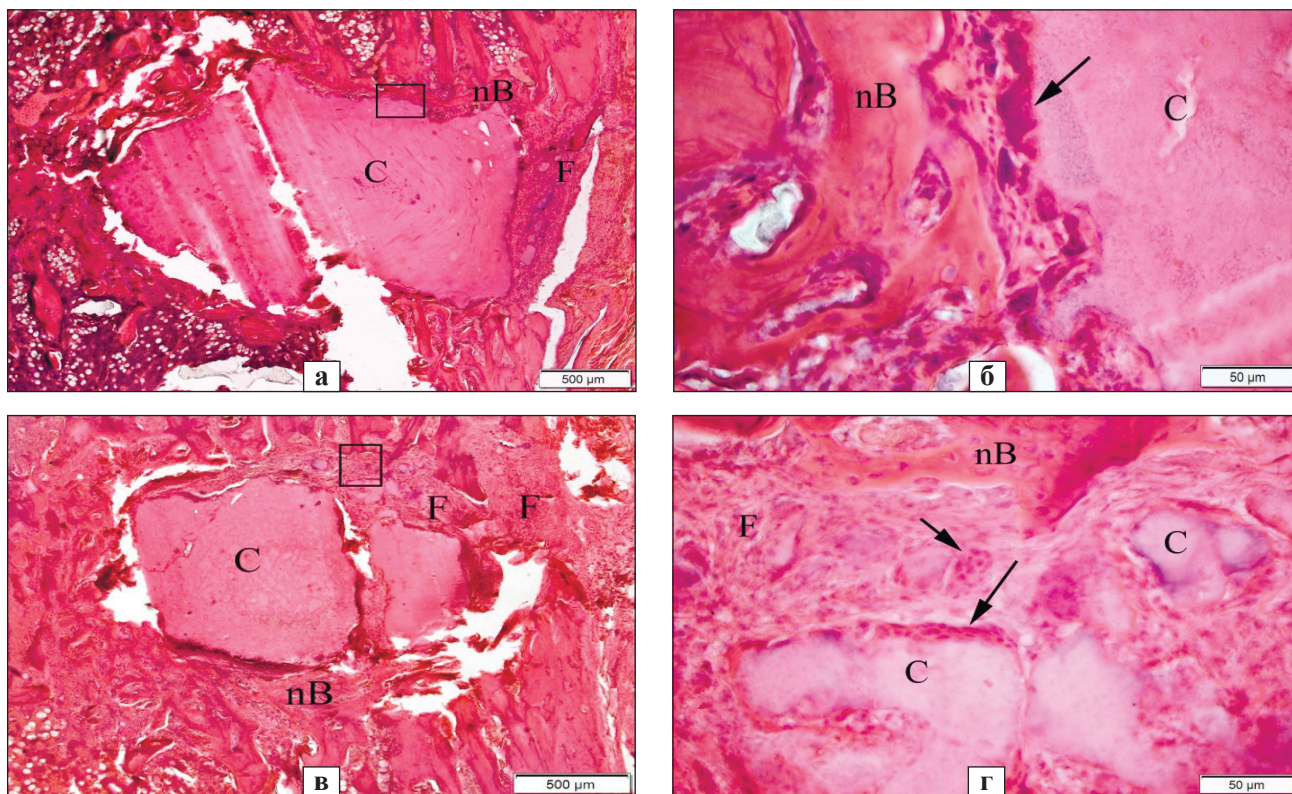


Рис. 2. Фрагменти дистальних метафізів стегнових кісток щурів через 14 діб після імплантації КФЦ, у складі якого α' -ТКФ (а, б) та α' -ТКФ, зміцнений голчастим ГА (в, г). С — кераміка, nB — новоутворена кісткова тканина, F — сполучна тканина, стрілки — багатоядерні клітини чужорідних тіл типу остеокластів. Рис. 2, б є фрагментом рис. 2, а; рис. 2, г — рис. 12, в. Гематоксилін та еозин

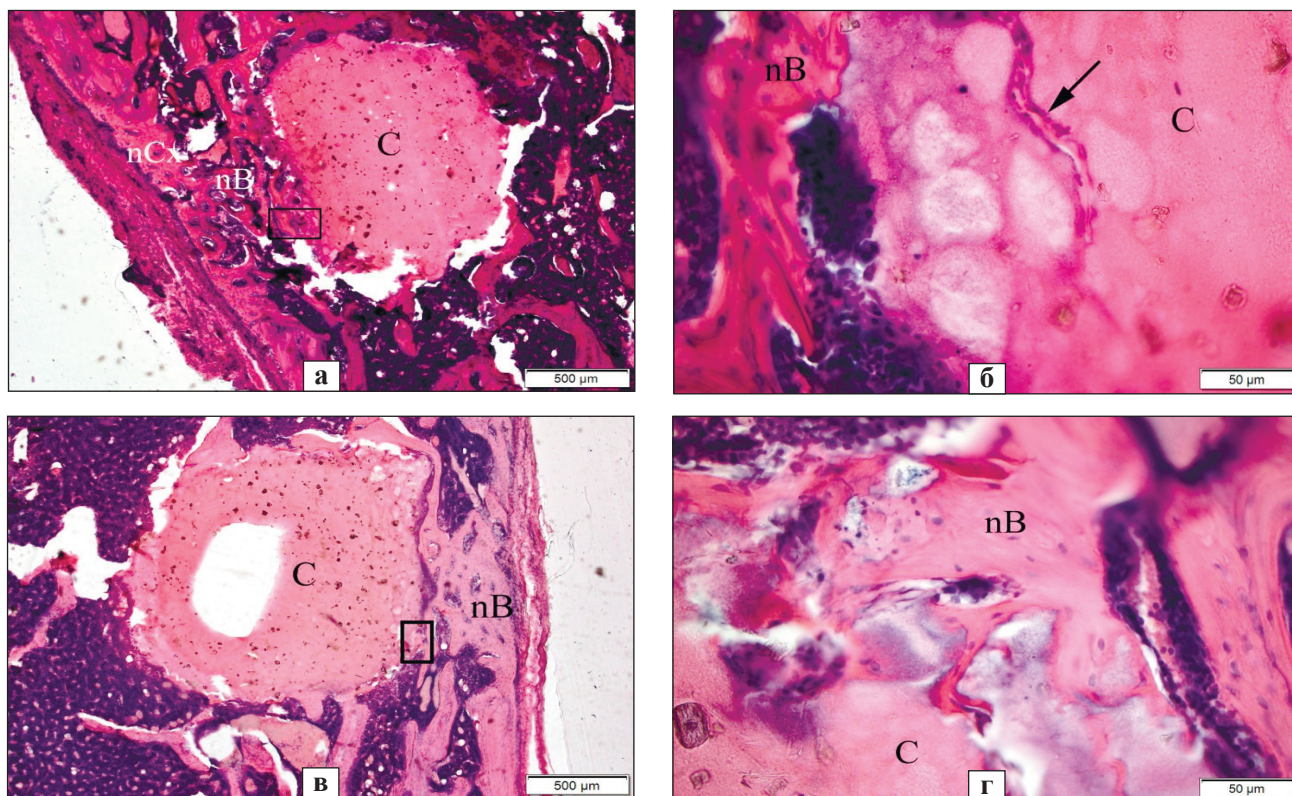


Рис. 3. Фрагменти дистальних метафізів стегнових кісток щурів через 30 діб після імплантації КФЦ, у складі якого α' -ТКФ (а, б) або α' -ТКФ, зміцнений голчастим ГА (в, г). С — кераміка, nB — новоутворена кісткова тканина, F — сполучна тканина, стрілка — проростання кровоносної судини в КФЦ. Рис. 3, б є фрагментом рис. 3, а; рис. 3, г — рис. 3, в. Гематоксилін та еозин

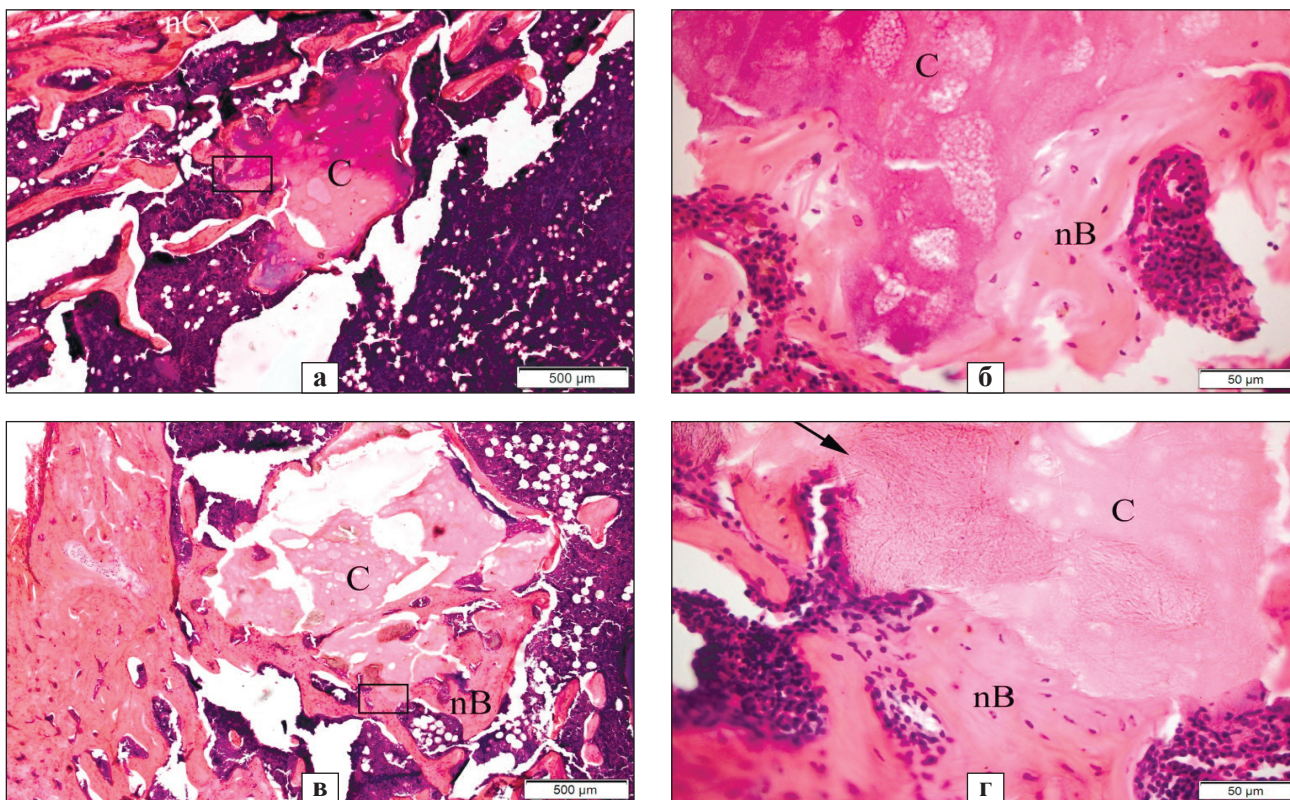


Рис. 4. Фрагменти дистальних метафізів стегнових кісток щурів через 60 діб після імплантації КФЦ, у складі якого α' -ТКФ (а, б) або α' -ТКФ, зміцнений голчастим ГА (в, г). С — кераміка, nB — новоутворена кісткова тканина, стрілка — голчастий ГА. Рис. 4, б є фрагментом рис. 4, а; рис. 4, г — рис. 4, в. Гематоксилін та еозин

Таблиця

Відносні площі тканин в дефектах дистального метафіза стегнової кістки щурів за термінами спостереження

Площа, %	Група щурів	Термін спостереження, доба		
		14	30	60
Кераміка	1	52,77 ± 14,74	51,93 ± 11,60 $p_2 = 1,000$	26,83 ± 7,07 $p_2 < 0,001$ $p_3 < 0,001$
	2	50,22 ± 11,13 $p_1 = 0,605$	54,39 ± 9,04 $p_1 = 0,473$ $p_2 = 0,621$	29,93 ± 8,37 $p_1 = 0,214$ $p_2 < 0,001$ $p_3 < 0,001$
Сполучна тканина	1	7,30 ± 4,07	9,18 ± 8,64 $p_2 = 0,448$	—
	2	14,91 ± 7,49 $p_1 = 0,004$	1,59 ± 2,22 $p_1 = 0,004$ $p_2 < 0,000$	—
Кісткова тканина	1	39,93 ± 14,41	38,89 ± 10,52 $p_2 = 1,000$	73,16 ± 7,07 $p_2 < 0,000$ $p_3 < 0,000$
	2	34,86 ± 11,67 $p_1 = 0,306$	44,01 ± 9,66 $p_1 = 0,135$ $p_2 = 0,029$	70,06 ± 8,37 $p_1 = 0,214$ $p_2 < 0,000$ $p_3 < 0,000$

Примітки: p_1 – порівняння відносної площини одного типу тканини або кераміки на однаковий термін між групами тварин; p_2 – порівняння відносної площини одного типу тканини або кераміки з 14-ю добою спостереження в межах однієї групи тварин; p_3 – порівняння відносної площини одного типу тканини або кераміки з 30-ю добою спостереження в межах однієї групи тварин.

Через 60 діб після імплантації у двох щурів групи 1 та у трьох групи 2 керамічний матеріал перебудувався повністю, кортекс був сформований компактною кістковою тканиною, а ділянку дефекту можна було визначити лише за неупорядкованим розташуванням кісткових трабекул.

У решти тварин виявлено залишки кераміки, відносна площа якої зменшилась порівняно з 30-ю добою спостереження в 1,94 раза в групі 1 ($p < 0,001$) і в 1,82 раза ($p < 0,001$) в групі 2. Значущих відмінностей за цим показником між групами не встановлено. В обох групах навколо КФЦ утворилася кісткова тканина пластинчастої структури. Вона також проростала всередину кераміки. Кортекс сформований компактною кістковою тканиною (рис. 4).

Обговорення

У фокусі проведеного дослідження був аналіз перебудови кісткової тканини та двох КФЦ, імплантованих у дірчасті дефекти, виконані в дистальних метафізах стегнових кісток щурів. КФЦ відрізнялись за складом твердої фази: один містив порошок α' -ТКФ (група 1), інший — порошок α' -ТКФ, зміцнений голчастими кристалами ГА (4 мас%). Порошок α' -ТКФ виготовляли за однаковою технологією [20], голчасті кристали ГА додавали в нього заздалегідь. Обидва КФЦ розроблені та надані для дослідження одним виробником (кафедра фізики твердого тіла фізичного факультету Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна, Україна, керівник — проф. Зиман З. З.). Це дало змогу уникнути різниці фізико-хімічних характеристик матеріалу, що могли б вплинути на його поведінку в біологічному середовищі *in vivo* — кістці [4, 5, 7].

КФЦ є перспективним матеріалом для заповнення дефектів кісток: по-перше, рідка форма дає змогу заповнювати порожнини неправильної конфігурації, по друге, — є спорідненими з кістковою тканиною, здатні до біорезорбції [1, 9, 14, 16]. Ми встановили, що обидва досліджувані КФЦ (α' -ТКФ та α' -ТКФ, зміцнений голчастими кристалами ГА) є біосумісними, про що свідчить відсутність запальної реакції на всі терміни спостереження. Також матеріали мають остеоіндуктивні якості: кісткова тканина утворювалася безпосередньо на їхній поверхні, остеорепація перебігала відповідно до загальновідомих стадій [22] з утворенням кісткової тканини пластинчастої структури на кінцевий термін дослідження (60 діб). Обидва КФЦ підлягають резорбції зі заміщенням кістковою тканиною: через 60 діб після

введення в ділянці дефекту залишилось 26,83 і 29,93 % кераміки в групі 1 і групі 2 відповідно. Незважаючи на те, що α' -ТКФ характеризується більшою швидкістю резорбції, ніж ГА [23, 24], ми не встановили суттєвої різниці між групами за вмістом керамічного матеріалу в зоні імплантації. Також не зафіксовано значущих відмінностей між групами щодо відносної площі кісткової тканини через 60 діб після операції.

Висновки

У результаті експериментального дослідження *in vivo* з використанням методів гістології встановлено, що досліджувані кальцій-фосфатні цементи, тверда фаза яких складається з α' -ТКФ або α' -ТКФ, армованого голчастими кристалами ГА, є біосумісними, мають остеоіндуктивні й остеокондуктивні якості. Обидва матеріали є біорезорбтивними — поступово заміщуються кістковою тканиною. Не встановлено відмінностей між ними за швидкістю біодеградації чи утворення кісткової тканини.

Подяка: автори статті висловлюють подяку співробітникам кафедри фізики твердого тіла фізичного факультету Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна (Україна) проф. Зиману З. З., доктору філософії Гончаренку А. В. за надані для дослідження кальцій-фосфатні цементі.

Конфлікт інтересів. Автори декларують відсутність конфлікту інтересів.

Список літератури

1. Zyman Z. Z. Calcium-phosphate biomaterials. Textbook / Z. Z. Zyman. — Kharkiv, 2018. — 285 p. (in Ukrainian)
2. The use of modern biomaterials for the plasty of bone defects of the acetabulum in hip arthroplasty / V. Filippenko, S. Bondarenko, V. Mezentsev, N. Ashukina // Orthopedics, Traumatology and Prosthetics. — 2012.— No. 4. — P. 24–28. — DOI: 10.15674/0030-59872011424-28. (in russian)
3. Eliaz N. Calcium phosphate bioceramics: a review of their history, structure, properties, coating technologies and biomedical applications / N. Eliaz, N. Metoki // Materials (Basel, Switzerland). — 2017. — Vol. 10 (4). — Article ID: 334. — DOI: 10.3390/ma10040334.
4. Samavedi S. Calcium phosphate ceramics in bone tissue engineering: a review of properties and their influence on cell behavior / S. Samavedi, A. R. Whittington, A. S. Goldstein // Acta Biomaterialia. — 2013. — Vol. 9 (9). — P. 8037–8045. — DOI: 10.1016/j.actbio.2013.06.014.
5. Bohner M. β -tricalcium phosphate for bone substitution: Synthesis and properties / M. Bohner, B. Santoni, N. Döbelin // Acta biomaterialia. — 2020. — Vol. 113. — P. 23–41. — DOI:10.1016/j.actbio.2020.06.022.
6. Beta-tricalcium phosphate for orthopedic reconstructions as an alternative to autogenous bone graft / P. Hernigou, A. Dubory, J. Pariat [et al.] // Morphologie : Bulletin de l'Association des Anatomists. — 2017. — Vol. 101 (334). — P. 173–179. — DOI: 10.1016/j.morpho.2017.03.005.

7. Effectiveness of bone substitute materials in opening wedge high tibial osteotomy: a systematic review and meta-analysis / T. Bei, L. Yang, Q. Huang [et al.] // *Annals of medicine*. — 2022. — Vol. 54 (1). — P. 565–577. — DOI: 10.1080/07853890.2022.2036805.
8. Ambard A. J. Calcium phosphate cement: review of mechanical and biological properties / A. J. Ambard, L. Mueninghoff // *Journal of Prosthodontics*. — 2006. — Vol. 15 (5). — P. 321–328. — DOI: 10.1111/j.1532-849X.2006.00129.x.
9. Materials based on tricalcium phosphate as bone defects substitute (literature review) / M. O. Korzh, V. A. Filipenko, K. S. Poplavska, N. O. Ashukina // *Orthopaedics, Traumatology and Prosthetics*. — 2021. — No. 2 (623). — P. 100–107. DOI: 10.15674/0030-598720212100-107.
10. Calcium phosphate cements as drug delivery materials / M. P. Ginebra, C. Canal, M. Espanol [et al.] // *Advanced Drug Delivery Reviews*. — 2012. — Vol. 64 (12). — P. 1090–1110. — DOI: 10.1016/j.addr.2012.01.008.
11. Yousefi A. M. A review of calcium phosphate cements and acrylic bone cements as injectable materials for bone repair and implant fixation / A. M. Yousefi // *Journal of Applied Biomaterials & Functional Materials*. — 2019. — Vol. 17 (4). — Article ID : 2280800019872594. — DOI: 10.1177/2280800019872594.
12. Carrodeguas R. G. α -Tricalcium phosphate: synthesis, properties and biomedical applications / R. G. Carrodeguas, S. De Aza // *Acta biomaterialia*. — 2011. — Vol. 7 (10). — P. 3536–3546. — DOI: 10.1016/j.actbio.2011.06.019.
13. Biological and mechanical performance and degradation characteristics of calcium phosphate cements in large animals and humans / L. Schröter, F. Kaiser, S. Stein [et al.] // *Acta biomaterialia*. — 2020. — Vol. 117. — P. 1–20. — DOI: 10.1016/j.actbio.2020.09.031.
14. Critical review: Injectability of calcium phosphate pastes and cements / R. O'Neill, H. O. McCarthy, E. B. Montufar [et al.] // *Acta Biomaterialia*. — 2017. — Vol. 50. — P. 1–19. — DOI: 10.1016/j.actbio.2016.11.019.
15. Strontium-doped apatitic bone cements with tunable antibacterial and antibiofilm ability / M. Dapporto, M. Tavoni, E. Restivo [et al.] // *Frontiers in bioengineering and biotechnology*. — 2022. — Vol. 10. — Article ID : 969641. — DOI: 10.3389/fbioe.2022.969641.
16. Injectable nanofiber-reinforced bone cement with controlled biodegradability for minimally-invasive bone regeneration / P. Cai, S. Lu, J. Yu [et al.] // *Bioactive materials*. — 2022. — Vol. 21. — P. 267–283. — DOI: 10.1016/j.bioactmat.2022.08.009.
17. On protection of animals from cruel treatment: Law of Ukraine №3447-IV of February 21, 2006. The Verkhovna Rada of Ukraine. (In Ukrainian). URL: <http://zakon.rada.gov.ua/cgi-bin/laws/main.cgi?nreg=3447-15>
18. European Convention for the protection of vertebrate animals used for research and other scientific purposes. Strasbourg, 18 March 1986: official translation. Verkhovna Rada of Ukraine. (In Ukrainian). URL: http://zakon.rada.gov.ua/cgi-bin/laws/main.cgi?nreg=994_137.21.
19. Crystallization of metastable and stable phases from hydrolyzed by rinsing precipitated amorphous calcium phosphates with a given Ca/P ratio of 1:1 / Z. Zyman, A. Goncharenko, O. Khavroniuk, & D. Rokhmistrov // *Journal of Crystal Growth*. — 2020. — Vol. 535. — DOI: 10.1016/j.jcrysgro.2020.125547.
20. Structure-property relationships in a reinforced calcium phosphate cement based on metastable α' -tricalcium phosphate / A. Goncharenko, Z. Zyman, M. Epple [et al.] // *Joint Polish-German Crystallographic Meeting, Book of abstracts, 24–27 February 2020*. — Wroclaw, Poland, 2020. — P. 29.
21. Hydroxyapatite whiskers by hydrothermal synthesis / Z. Zyman, M. Epple, V. Glushko [et al.] // *Biomaterialen*. — 2006. — Vol. 7 (3). — P. 252.
22. Popsuyshapka O. K. Clinical and morphological stages of bone fragments fusion / O. K. Popsuyshapka, V. O. Litvishko, N. O. Ashukina // *Orthopaedics, traumatology and prosthetics*. — 2015. — No. 1. — P. 12–20. — DOI: 10.15674/0030-59872015112-20. (in Ukrainian)
23. Evaluation of the osteoconductivity of α -tricalcium phosphate, β -tricalcium phosphate, and hydroxyapatite combined with or without simvastatin in rat calvarial defect / H. Roj bani, M. Nyan, K. Ohya, S. Kasugai // *Journal of biomedical materials research. Part A*. — 2011. — Vol. 98 (4). — P. 488–498. — DOI: 10.1002/jbm.a.33117.
24. Tronco, M. C., Cassel, J. B., & Dos Santos, L. A. (2022). α -TCP-based calcium phosphate cements: A critical review // *Acta biomaterialia*. — 2022. — Vol. 151. — P. 70–87. — DOI: 10.1016/j.actbio.2022.08.040.

Стаття надійшла до редакції 27.01.2023

BONE REGENERATION AFTER IMPLANTATION OF CALCIUM PHOSPHATE CEMENTS BASED ON METASTABLE TRICALCIUM PHOSPHATE (IN VIVO EXPERIMENTAL STUDY)

K. S. Poplavska, N. O. Ashukina

Sytenko Institute of Spine and Joint Pathology National Academy of Medical Sciences of Ukraine, Kharkiv

✉ Karolina Poplavska, MD: karolina.krivoru@gmail.com

✉ Nataliya Ashukina, PhD in Biol. Sci: natalya.ashukina@gmail.com