

WPŁYW MIESZANINY ODBIAŁCZONA KOŚĆ LUDZKA+BIOSZKŁO+FOSFORAN TRÓJWAPNIOWY (TCP) NA GOJENIE RAN KOSTNYCH ZWIERZĄT DOŚWIADCZALNYCH – BADANIA WSTĘPNE

JACEK NOCOŃ¹, JAN RAUCH², MAGDALENA CIEŚLIK³,
MARIA ŁĄCZKA⁴, ANNA ŚLÓSARCZYK⁵, BENIAMIN RAUCH⁶,
TADEUSZ CIEŚLIK⁶

¹ PRYWATNA PRAKTYKA DENTYSTYCZNA,
46145 OBERHAUSEN, FINANZSTRASSE 8, NIEMCY

² NZOZ – SPEC. PRZYCH. STOM.,
UL. E. I K. WOJTYŁÓW 16, 34-100 WADOWICE

³ ZAKŁAD MATERIAŁOZNAWSTWA I PROPEDEUTYKI STOMATOLOGII,
ŚLĄSKA AKADEMIA MEDYCZNA, BYTOM

⁴ KATEDRA TECHNOLOGII SZKŁA I POWŁOK AMORFICZNYCH,
AKADEMIA GÓRNICZO-HUTNICZA, KRAKÓW

⁵ KATEDRA TECHNOLOGII CERAMIKI,
AKADEMIA GÓRNICZO-HUTNICZA, KRAKÓW

⁶ I KATEDRA I KLINIKA CHIRURGII SZCZĘKOWO-TWARZOWEJ,
ŚLĄSKA AKADEMIA MEDYCZNA, ZABRZE

Słowa kluczowe: naturalny hydroksyapatyt, odbiałczona kość ludzka, bioszko, fosforan trójwapniowy, regeneracja ubytków kostnych, badania in vivo na zwierzętach

[Inżynieria Biomateriałów, 69-72,(2007), 104-106]

Wprowadzenie

Wywodzące się ze źródeł naturalnych materiały implantacyjne stosowane są na szeroką skalę w różnych specjalnościach medycznych. Zalicza się do nich bioaktywne preparaty na bazie odbiałczonych kości zwierzęcych, w których całkowite usunięcie składników organicznych powoduje zniesienie ich właściwości immunogennych, co sprawia, że materiały takie są obojętne dla biorców i z powodzeniem mogą być wykorzystywane do regeneracji ubytków kostnych [1,2,3]. Swoją obecnością w organizmie niosą jednak ryzyko przeniesienia niektórych chorób odzwierzęcych, a ponadto zbyt szybka ich resorpcja nie zawsze korzystnie wpływa na odtworzenie prawidłowej struktury kostnej. Dlatego zastępowane są coraz częściej przez syntetyczne materiały bioaktywne oparte o ceramikę hydroksyapatytową, whitlockitową czy bioszko, które to charakteryzują się dużym podobieństwem chemicznym i mineralogicznym do żywych tkanek ludzkich [4,5]. Niewątpliwie najkorzystniejsze byłoby zastosowanie do celów kościostępujących preparatu na bazie odbiałczonej kości ludzkiej, gdzie ryzyko odrzucenia przez organizm i komplikacji pooperacyjnych byłoby zminimalizowane. Połączenie dodatkowo takiegoż materiału z ceramiką bioaktywną mogłoby pozwolić na stworzenie nowego biomateriału stymulującego proces osteogenezy.

Materiał i metody

Badaniom poddano mieszaninę składającą się z odbiałczonej kości ludzkiej, bioszka i fosforanu trójwapniowego (TCP) w proporcji 70:15:15% wag.. Użyte w mieszaninie składniki były w formie granulatu o średnicy od 0,3 do 0,5mm. Preparat odbiałczonej kości ludzkiej został zakupiony w Regionalnym Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa - Bank Tkanek w Katowicach. Bioszko zostało wytworzone

INFLUENCE OF MIXTURE DEPROTEINIZED HUMAN BONE + BIO-GLASS + TRICALCIUM PHOSPHATE (TCP) ON HEALING OF MADIBLE OSSEOUS WOUNDS IN THE EXPERIMENTAL ANIMALS – PRELIMINARY STUDY

JACEK NOCOŃ¹, JAN RAUCH², MAGDALENA CIEŚLIK³,
MARIA ŁĄCZKA⁴, ANNA ŚLÓSARCZYK⁵, BENIAMIN RAUCH⁶,
TADEUSZ CIEŚLIK⁶

¹ PRIVATE DENTISTRY PRACTICE,
46145 OBERHAUSEN, FINANZSTRASSE 8, GERMANY

² NZOZ – SPECIALISTIC DENTISTRY CLINIC,
UL. E. I K. WOJTYŁÓW 16, 34-100 WADOWICE, POLAND

³ SECTION OF MATERIALS TECHNOLOGY AND DENTISTRY PROPEDEUTICS, MEDICAL UNIVERSITY OF SILESIA, BYTOM, POLAND

⁴ DEPARTMENT OF GLASS TECHNOLOGY AND AMORPHOUS COATINGS, AGH UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY, CRACOW

⁵ DEPARTMENT OF CERAMIC TECHNOLOGY, AGH UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY, CRACOW, POLAND

⁶ I DEPARTMENT AND CLINIC OF ORAL AND MAXILLOFACIAL SURGERY, MEDICAL UNIVERSITY OF SILESIA, ZABRZE, POLAND

Keywords: natural hydroxyapatite, deproteinized human bone, bio-glass, tricalcium phosphate, osseous wounds regeneration, in vivo experiments on animals

[Engineering of Biomaterials, 69-72, (2007), 104-106]

Introduction

Grafting materials which originate from natural sources are now being used on a large scale in various fields of medicine. Among them are bioactive preparations based on deproteinized animals bone, in which total removal of organic components excludes their immunogenous properties, which makes such materials totally indifferent for the recipients and they can be use to bone defects regenerations [1,2,3]. Considering their absence in the human organism presents a hazard of certain epizootic diseases transmission. Besides their too fast resorption does not influence favorably on correct new bone tissue regeneration. That is why they are often replaced with bioactive synthetic materials on the basis of hydroxyapatite and whitlock ceramics or bio-glass, which characterized much chemical and mineralogical similarity to human tissues [4,5]. Undoubtedly using a deproteinized human bone as a bone-replacing material could be the most favorable, when the risk of little acceptance by human organism and post-operative complications was minimized. Additionally connection of this material with bioactive ceramic could allow to create a new biomaterials which could stimulate osteogenesis process.

Material and methods

In the examination it was used a mixture which consist of deproteinized human bone, bio-glass and tricalcium phosphate (TCP) in proportions 70:15:15% weight ratio. The components used in the mixture were in the form of granulate with the diameter from 0,3 to 0,5 mm. The preparation of deproteinized human bone was bought in the Regional Blood Donation and Blood Treatment Center – Tissue Bank in Katowice. Bio-glass was made with the use of the zol-gel

metodą żol-żel z układu $\text{CaO-SiO}_2\text{-P}_2\text{O}_5$ w laboratorium Katedry Szkła i Powłok Amorficznych AGH w Krakowie, a TCP pozyskano z Katedry Technologii Ceramiki AGH w Krakowie.

Doświadczenie wykonano na 12 świnkach morskich, w równej liczbie obojga płci o wadze od 500 do 600g. Wszystkie zabiegi przeprowadzono w Centralnej Zwierzętarni Doświadczalnej ŚAM w Katowicach za zgodą Komisji Bioetycznej ds. Badań na Zwierzętach.

W trzonie żuchwy po obu stronach głowy zwierząt wywiercono ubytki kostne o średnicy 6mm i głębokości 3mm. W tak przygotowane miejsca po stronie prawej wprowadzono badaną mieszaninę - grupa doświadczalna (grupa D). Natomiast ubytki kostne po stronie lewej pozostawiono do gojenia na bazie skrzepu krwi – grupa kontrolna (grupa K).

Pod względem klinicznym obserwowano przebieg gojenia ran zwierząt doświadczalnych. Wykonano także podstawowe badania krwi. Po ich zabiciu przeprowadzono badania makroskopowe i radiologiczne w 7, 14 i 21 dobie oraz w 4, 8 i 12 tygodniu doświadczenia. Dodatkowo, na podstawie tomografii komputerowej i densytometrii rentgenowskiej, we wszystkich okresach badawczych, oznaczano gęstość kości w miejscu wprowadzonego wszczepu oraz w jego otoczeniu (5 i 10mm od ogniska). W dalszym etapie eksperymentu zaplanowano badania histopatologiczne oraz histoenzymatyczne.

Wyniki badań

Obserwacje kliniczne przebiegu gojenia ran kostnych wykazały brak bólu pooperacyjnego zwierząt doświadczalnych. Przejawiało się to ich spokojnym zachowaniem. Picie wody i przyjmowanie karmy rozpoczęły w okresie od 2 – 6 godzin od zabiegu, a wraz z upływem czasu stawały się bardziej ruchliwe. Rany nie wykazywały w obu grupach oznak rozchodzenia się. Między 10 a 14 dobą eksperymentu usunięto szwy.

Pod kątem makroskopowym gojenie ran kostnych przebiegało w sposób prawidłowy. Stwierdzono brak odczynów zapalnych czy objawów chęłbotania. W grupie D wygojenie ran kostnych nastąpiło po 4 tygodniu badań, a w grupie K nowo powstała tkanka kostna nie różniła się od otoczenia dopiero po 12 tygodniu eksperymentu.

Wskaźniki oznaczone na podstawie pobranej od zwierząt krwi mieściły się swymi wartościami w granicach norm już od 14 doby eksperymentu. Wyjątek stanowiły granulocyty, które osiągnęły prawidłową liczbę we krwi dopiero po 8 tygodniu badań.

Z przeprowadzonych badań radiologicznych wynika, iż pierwsze wyraźne oznaki kościotworzenia były widoczne w grupie D już po 14 dobach. Pojawiły się bowiem liczne zacienienia w obrębie ubytku, których obszar powiększał się wraz z upływem czasu. Po 8 tygodniach w miejscu rany kostnej widoczne już było jednolite zacienienie, jedynie obecność punktowych przejaśnień mogła świadczyć o niezakończonym jeszcze procesie odbudowy tkanki kostnej. Dopiero po 12 tygodniach powierzchnia ubytku nie różniła się od otoczenia. W grupie K rozpoczęcie tworzenia nowej tkanki kostnej było nieznacznie zauważalne dopiero po 21 dobach badań, a jeszcze po 12 tygodniach w dalszym ciągu ujawniały się miejsca niewyapnione.

Wykonane przy użyciu tomografii komputerowej pomiary gęstości kości (jednostki Hounsfielda) wykazały już w pierwszym okresie badań znacznie większą jej wartość w grupie D. Świadczy to o szybszym procesie rozpoczęcia tworzenia się nowej tkanki kostnej w miejscu ran kostnych w obecności badanej mieszaniny. W okresach pomiędzy 14 dobą a 4 tygodniem badań różnice te nieco się zatarły. Dopiero po 8

technology from the $\text{CaO-SiO}_2\text{-P}_2\text{O}_5$ in the laboratory of the Glass and Amorphous Coatings Department of the AGH Science and Technology University in Cracow and the TCP was obtained from Department of Ceramic Technology the AGH Science and Technology University in Cracow.

The examination was carried out on a group of 12 guinea pigs, equal number of both genders, weighing from 500 to 600 grams. All the operations were performed at the Central Experimental Animal Farm of the Silesian University in Katowice and with the permission of the Bio-Ethical Board for Experimental Animals.

On the both sides of each animal's head, in the corpus of the mandible, a defect was made (6mm in diameter and 3mm in depth). In such prepared places on the right side the tested mixture was put in - experimental group (group D). However the bone defects on the left side was filled with blood clot – control group (group K).

All the animals underwent clinical observations of the wound healing, as well as basic blood analyses. After the sacrificing of the animals, macroscopic and radiological examinations were performed, which was done on the 7th, 14th and 21st day, and in the 4th, 8th and 12th week of the experiment. Additionally, in every period of the study, bone density was determined in the bone graft site and its surroundings (5 and 10 millimeters), with the use of computer tomography and X-ray densitometer. In the next stage of the experiment, histopathological examinations of the osseous issue have been planned.

Results

No post-operative pain was observed during the clinical observations of the wound healing process, which was proved by the animals' calm behaviour. They started to drink water and eat fodder after 2 – 6 hours after the operation and after a short period they became more active. In neither groups did the wounds slacken. The stitches were removed on the 10th–14th day of the experiment.

The macroscopic examination showed that the osseous wounds healing process was proceeding in a normal way in both groups. No inflammatory reactions and fluctuation symptoms were observed. In group D after the 4th and in group K after the 12th week of examination the osseous wounds were healed.

The indices determined during the laboratory analysis of the animals' blood remained within the standards limits starting from the 14th day of the experiment. An exception was the number of granulocytes in the blood, which reached its proper value after the 8th week of the experiment.

The radiological examination caused that first signs of a new osseous tissue formation in group D were visible already after 14th day of experiment. Because numerous shades within bone defect appeared and its area enlarged as the years went out. After 8 week a uniform shade was visible in place of bone wound, only absence of punctual clearing-ups could show about no finished osseous tissue regeneration. Not until after 12th week of examination the area of bone defect did not differ from surrounding tissues. In group K the beginning of a new osseous tissue formation was visible not before after 21st day of examination and places without full mineralization were still visible after 12th week of experiment.

Bone density measurements which were carried out with the use of computer tomography (measured in Hounsfield degrees) showed already in first period of examinations more its value in group D. It is evidence of faster process of regeneration of bone tissue in the place of bone wounds in absence of the tested material. In the periods between

tygodniu ponownie stwierdzono, iż powstająca w grupie D nowa tkanka miała dużo bardziej zbity strukturę niż w grupie K i była bardziej zbliżona wartością gęstości do tkanek otaczających. Podobne wyniki uzyskano podczas pomiarów gęstości kości przy użyciu densytometru rentgenowskiego (g/cm^2). Ujawniły one dla grupy D wyższe wartości gęstości kości i większą dynamikę kościotworzenia.

Wnioski

Ze wstępnych badań doświadczalnych wynika, iż mieszanina złożona z odbiałzonej kości ludzkiej, bioszklą i TCP nie wywołuje żadnych negatywnych reakcji u badanych zwierząt. Czas i efekt procesu gojenia tkanki kostnej w miejscach ubytków są w pełni zadawalające. Potwierdzeniem tego wniosku są głównie badania radiologiczne i badania gęstości kości, które wykazały, iż odbudowa tkanką kostną miejsc wypełnionych badaną mieszaniną następowała znacznie szybciej niż tych na bazie skrzepu krwi.

14th day and 4th week of examinations these differences slightly decreased. Just after 8th a new bone tissue in group D had denser structure than in group K and its density was more similar to density of surrounding tissues. During bone density examinations with the use of X-ray densitometer similar measurements were carried out. They showed for group D higher values of bone density and higher dynamics of a new bone regeneration.

Conclusion

The preliminary examinations show that the mixture which consist of deproteinized human bone, bio-glass and TCP do not cause any negative (harmful) effects with the animals under examination. The time and effect of healing of bone tissue in the places of bone defects are fully satisfying. Confirmation of this conclusion are mainly radiological and bone density examinations, which showed that bone tissue regeneration of places filled with the tested material was progressed significantly faster than these based on the blood clot.

Piśmiennictwo

- [1] Cieślak-Bielecka A., Sabat D., Cieślak T. i wsp.: Odbiałzona kość bydłowa w rekonstrukcji ubytków kostnych – badania in vivo. Inż. Biomat., 2002, 23-25, 54-56.
 [2] Haberkowicz K., Bućko M., Haberkowicz M. i wsp.: Hydroksyapatyt naturalny – preparatyka, właściwości. Inż. Biomat., 2003, 30-33, 32-37.
 [3] Markowska M., Radwan-Oczko M., Ziętek M.: Clinical and radiographic evaluation of Bio-Oss for the treatment of periodontal intra-bony defects-6 months study. Polim Med., 2005, 35(3), 67-74.

References

- [4] Niedzielski K., Synder M., S. Mazurkiewicz i wsp.: Badania biomechaniczne nowej generacji ceramiki Sz2 jako materiałów kośćco-zastępczych stosowanych w wypełnieniu ubytków kostnych wytworzonych doświadczalnie. Inż. Biomat., 2003, 28, 8-12.
 [5] Ślósarczyk A. Piekarczyk J.: Ceramic materials on the basis of hydroxyapatite and tricalcium phosphate. Ceramics International. 1999, 25(6), 561-565.

WSTĘPNE BADANIA NAD WYTWORZENIEM KOMPOZYTÓW GRADIENTOWYCH O STEROWANYM CZASIE RESORPCJI

M. ZIĄBKA*, E. STODOLAK, K. KILANOWICZ, J. CHŁOPEK

AKADEMIA GÓRNICZO-HUTNICZA, WYDZIAŁ INŻYNIERII MATERIAŁOWEJ I CERAMIKI, KATEDRA BIOMATERIAŁÓW
 AL. MICKIEWICZA 30, 30-059 KRAKÓW, POLSKA

*E-MAIL: ZIABKAMAGDALENA@OP.PL

Streszczenie

Celem pracy były wstępne badania nad wytworzeniem i scharakteryzowaniem biopolimerowego materiału, który stanowiłby jedną z faz modyfikujących resorbowalną osnowę. Tak wytworzony materiał wykorzystany został do otrzymania kompozytowych materiałów gradientowych różniących się trwałością w środowisku in vitro. Wyjściowym materiałem był alginian sodu (NaAlg), który poddawano kąpielom formującym w roztworach soli: CaCl_2 lub ZnCl_2 . W ten sposób otrzymano dwa rodzaje modyfikatora różniącego się średnicą (300-400 μm). Dla otrzymanego materiału określono: skurcz (ds), czas resorpcji (woda/37°C, płyn Ringera/37°C) oraz morfologię powierzchni (mikroskop stereoskopowy). W następnym

FABRICATION AND PRELIMINARY STUDY OF GRADED COMPOSITES WITH CONTROLLED RESORPTION TIME

M. ZIĄBKA*, E. STODOLAK, K. KILANOWICZ, J. CHŁOPEK

AGH UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY,
 FACULTY OF MATERIALS SCIENCE AND CERAMICS,
 DEPARTMENT OF BIOMATERIALS,
 30, MICKIEWICZA AL., 30-059 CRACOW, POLAND,

*E-MAIL: ZIABKAMAGDALENA@OP.PL

Abstract

The aim of this study was estimation of production a new biopolymeric material, which could be use as a modification phase for resorbable matrix. Such material was used to fabricate graded composites with various durability in in vitro conditions. An initial material was sodium alginate (NaAlg), which was put into shaping bath in saline solutions such as: CaCl_2 or ZnCl_2 . It allowed to produce two types of modifiers in form of spheres with different diameters (300-400 μm). For this material (air-dried) shrinkage (ds), resorption time in different media (water/37°C, Ringer solution/37°C) and the surface morphology were examined (stereoscopic microscope). In the next stage, biopolymeric material (alginate spheres with