

ISSN 1561-8331 (Print)

ISSN 2524-2342 (Online)

УДК 661.842.455 : 612.398.[12+133]

<https://doi.org/10.29235/1561-8331-2019-55-3-299-308>

Поступила в редакцию 11.06.2019

Received 11.06.2019

В. К. Крутько¹, Р. А. Власов², О. Н. Мусская¹, И. Е. Глазов¹, А. И. Кулак¹

¹*Институт общей и неорганической химии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь*

²*Республиканский госпиталь Департамента финансов и тыла Министерства внутренних дел Республики Беларусь, Минск, Беларусь*

ГИБРИДНЫЕ БИОМАТЕРИАЛЫ НА ОСНОВЕ ГИДРОКСИАПАТИТА И КОМПОНЕНТОВ КРОВИ

Аннотация. Разработаны гибридные биоматериалы на основе аморфизированного гидроксиапатита и компонентов крови (фибрин, цитратная плазма) химическим осаждением гидроксиапатита в биополимерной матрице (pH 11; соотношение Ca/P 1,67) и путем смешивания 6–14 мас.% геля гидроксиапатита (pH 7,0–7,2) с биполимерами. Химически осажденный в биополимерных матрицах гидроксиапатит является однофазным либо с примесью трикальцийфосфата до 30 %, преимущественно α -модификации в фибриновой матрице и β -модификации в цитратной плазме. Взаимодействие геля гидроксиапатита с фибрином приводит к значительной аморфизации гидроксиапатита и повышению его биорезорбируемости. Выдерживание композитов с гидроксиапатитом, полученным химическим осаждением, в модельном растворе Simulated Body Fluid в течение 75 сут приводит к их частичной резорбции и одновременному нарастанию биомиметического апатита, с большим его приростом по массе на композитах с фибрином. Гибридные биоматериалы на основе фибрина, полученного из крови пациента, и геля гидроксиапатита показали положительный результат при имплантации, позволяя сформировать адекватную конфигурацию дефекта, расширяя возможности ЛОР-хирургии.

Ключевые слова: аморфизированный гидроксиапатит, биополимер, фибрин, цитратная плазма, гибридные биоматериалы

Для цитирования. Гибридные биоматериалы на основе гидроксиапатита и компонентов крови / В. К. Крутько [и др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. хім. навук – 2019. – Т. 55, № 3. – С. 299–308. <https://doi.org/10.29235/1561-8331-2019-55-3-299-308>

V. K. Krut'ko¹, R. A. Vlasov², O. N. Musskaya¹, I. E. Glazov¹, A. I. Kulak¹

¹*Institute of General and Inorganic Chemistry of National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus*

²*Republican Hospital of Department of Finance and Logistics of the Ministry of Internal Affairs of Republic of Belarus, Minsk, Belarus*

HYBRID BIOMATERIALS BASED ON HYDROXYAPATITE AND BLOOD COMPONENTS

Abstract. Hybrid biomaterials based on amorphous hydroxyapatite and blood components (fibrin, citrate plasma) were developed by chemical precipitation of hydroxyapatite in a biopolymer matrix (pH 11; Ca/P ratio 1.67) and by mixing 6–14 wt.% of hydroxyapatite gel (pH 7.0–7.2) with bipolymers. Chemically precipitated hydroxyapatite in biopolymer matrices is single phase or contains ticalcium phosphate impurity up to 30 %, mainly α -modification in fibrin matrix and β -modification in citrate plasma. The interaction of hydroxyapatite gel into the fibrin leads to significant amorphization of hydroxyapatite and an increase in its bioresorbability. Holding the composites with hydroxyapatite obtained by chemical precipitation in the Simulated Body Fluid model solution for 75 days leads to their partial resorption and simultaneous increase of biomimetic apatite, with its greater weight gain on composites with a fibrin. Hybrid biomaterials based on a fibrin obtained from the patient's blood and hydroxyapatite gel showed positive result during implantation, allowing to form an adequate configuration of the defect, expanding the possibilities of ENT surgery.

Keywords: amorphized hydroxyapatite, biopolymer, fibrin, citrated plasma, hybrid biomaterials

For citation. Krut'ko V. K., Vlasov R. A., Musskaya O. N., Glazov I. E., Kulak A. I. Hybrid biomaterials based on hydroxyapatite and blood components. *Vesti Natsyynal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya khimichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Chemical series*, 2019, vol. 55, no. 3, pp. 299–308 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8331-2019-55-3-299-308>

Введение. Остеопластические материалы, применяемые для лечения костных дефектов и повреждений, в зависимости от их влияния на процесс регенерации костной ткани разделяют на остеокондуктивные – матриксы для остеосинтеза и остеоиндуктивные – инициаторы остеогенеза. В качестве остеокондуктивных материалов используют имплантаты естественного происхождения и синтетические, биоактивные либо биоинертные и биотолерантные. Применение

костных аутотрансплантатов позволяет достичь хороших результатов, но является затруднительным при необходимости закрытия обширных костных дефектов. Для восстановления больших дефектов кости используют искусственные биоматериалы на основе костной стружки пациента в смеси с гидроксипатитом (ГА), деминерализованный костный матрикс, коллагеновые губки, кальцийфосфатную керамику в виде трехмерных конструкций, гранул [1–6], пористых матриксов из резорбируемых остеокондуктивных фосфатов кальция [7–9].

Однофазные биоматериалы в ряде случаев не позволяют обеспечить в полной мере функции поврежденных костей, поэтому существует потребность в создании многофазных биоматериалов со структурой и составом, имитирующим костную ткань. Перспективным направлением в создании таких материалов является комбинирование фосфатов кальция (в первую очередь ГА – основного неорганического компонента кости) с биополимерами [1–3, 10]. Примером такого гибридного биоматериала является фибриновый клей с инкорпорированными частицами пористых гранул ГА [11, 12], имплантация которого приводит к формированию губчатой и компактной кости с твердостью, сопоставимой с аналогичными показателями нативной кости [13–15]. Наряду с фибриновым клеем в качестве биополимерной матрицы гибридных материалов могут применяться и другие компоненты крови, в частности плазма крови, обогащенная факторами роста [16, 17].

Разработка новых способов формирования гибридных биоматериалов на основе фибрина и его аналогов с инкорпорированными наночастицами ГА является актуальной задачей при создании композиционных материалов для регенерации костной ткани. Фибриновая матрица, полученная строго из собственной крови пациента, содержит большое количество факторов роста и является иммунобезопасной. В гибридных биоматериалах фибрин, являясь природным биоактивным полимером, будет стимулировать ангиогенез и пролиферацию клеток, а ГА обеспечит остеокондуктивность, необходимую для ускоренной регенерации костной ткани. До настоящего времени широкое внедрение в медицинскую практику биоматериалов на основе фибрина (его аналогов) и фосфатов кальция сдерживается рядом нерешенных проблем, касающихся способов формирования таких композиций, оптимизации их состава и структуры.

Цель работы – разработка и исследование гибридных материалов, состоящих из биополимерной матрицы (фибрин, цитратная плазма) и бионеорганической составляющей в виде аморфизированного ГА и других фосфатов кальция. Бионеорганическую составляющую непосредственно формировали внутри биополимерной матрицы путем химического взаимодействия ионов кальция с фосфат-ионами при контролируемом значении pH либо вводили в форме геля ГА. Полученные гибридные биоматериалы апробированы в виде пластичной массы и пленок для устранения дефектов различной сложности и деформаций наружного носа при ЛОР-операциях.

Экспериментальная часть. Фибрин получали многократным встряхиванием 20 мл крови в течение 15 мин с последующим отделением и отмыванием фибринового сгустка холодной проточной водой. Цитратную плазму выделяли в виде верхней фракции после центрифугирования при 3000 об/мин в течение 15 мин 20 мл крови с добавлением 3,5%-ного раствора цитрата натрия. Синтез фосфатов кальция в биополимерной матрице фибрина либо цитратной плазмы проводили взаимодействием растворов 1,23–1,30 М CaCl_2 и 0,30 М $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ при pH 11, стехиометрическом соотношении Ca/P 1,67 (соответствует ГА) и комнатной температуре. Композиты промывали дистиллированной водой до достижения pH 7 и высушивали на воздухе при 60 °С до постоянной массы. Контроль качества отмывания композитов проводили с помощью pH-метра HI 221 (HANNA, Венгрия). Точную концентрацию раствора CaCl_2 определяли титриметрически с использованием трилона Б и индикатора эрихром черный Т. Биоактивность композитов оценивали при их выдерживании в модельном растворе Simulated Body Fluid (SBF) при pH 7,3 [18]. Образцы композитов массой 150 мг выдерживали в 50 мл SBF в течение 75 сут, определяли изменение величины pH и их массы.

Рентгенофазовый анализ проводили на дифрактометре ADVANCE D8 (Bruker, Германия) при $\text{CuK}\alpha = 1,5405 \text{ \AA}$. Инфракрасные спектры получали на ИК-Фурье спектрометре Tensor-27 (Bruker, Германия) в диапазоне 400–4000 cm^{-1} с использованием таблеток KBr. Термический анализ проводили на совмещенном термическом анализаторе STA 409 PC LUXX (NETZSCH, Германия) на воздухе при скорости нагревания 10 °С/мин; масса навески 40–50 мг. Для сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) применяли электронный микроскоп LEO 1420 (Carl Zeiss, Германия), поверхность образцов напыляли золотом на установке K550X (Emitech, Англия).

Образцы композитов для медико-биологических испытаний получали на основе геля ГА, содержащего 9–14 мас.% биоактивного ГА, синтезированного по разработанной нами методике [4, 5], и крови пациента. Стерильный гель ГА в виде изделия медицинского назначения «Гель гидроксиапатита» производится на заводе РУП «Белмедпрепараты» (ТУ ВУ 100 049 731.090-2006). Исследование гибридного материала фибрин/гель ГА проведено в оториноларингологическом отделении ГУ «Республиканский госпиталь МВД РБ» с участием 43 пациентов, из них 22 пациента при септопластике и 21 пациент при ринопластике. Пациенты были с заведомо большим риском послеоперационных перфораций носовой перегородки. Композит готовился непосредственно при операции в стерильных условиях путем смешивания фибринового сгустка пациента (около 1 мл) с гелем ГА при объемном соотношении 1 : 1. Композит интраоперационно укладывался в область гребня носовой перегородки или на спинку носа при ринопластике [19, 20].

Результаты и их обсуждение. Композиты с ГА, химически осажденным в матрице фибрина либо цитратной плазмы. При взаимодействии ионов кальция с фосфат-ионами и поддержании щелочной среды (рН 11) в биополимерных матрицах осаждается аморфизированный ГА, характеризующийся широкими линиями на дифрактограммах в области основных углов 2θ при 30,8–34,5°, с размером кристаллитов 12–15 нм (рис. 1, а). После высушивания композитов входящий в их состав ГА $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ и сопутствующая примесь трикальцийфосфата (ТКФ) $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ имеют идентичные дифрактограммы [4, 5]. Поэтому для идентификации фосфатов кальция образцы композитов термообработывали на воздухе при 800 °С в течение 5 ч. После термообработки полностью выгорала биополимерная матрица, а ГА и примесь ТКФ переходили в кристаллическое состояние (рис. 1, а). Причем в фибриновой матрице формировалась преимущественно модификация α -ТКФ, а в цитратной плазме – β -ТКФ (рис. 1, а). Следовательно, кальцийфосфатный состав композитов определяется не только условиями осаждения, но и природой биополимера.

ИК-спектры композитов после высушивания (рис. 1, б) содержат полосы, характерные для ГА – колебания связи О–Н при 3570 cm^{-1} , интенсивная полоса связи Р–О при 1040 cm^{-1} , колебаний тетраэдров PO_4 при 600 и 560 cm^{-1} . Широкая полоса при 3500–3000 cm^{-1} свидетельствует о наличии кристаллизационной воды и системы водородных связей, которая накладывается на полосы колебаний О–Н, С–Н и N–H групп фибрина и цитратной плазмы. Исчезновение этой полосы происходит после термообработки композитов при 800 °С вследствие удаления воды и выгорания биополимера (рис. 1, б). При этом снижается интенсивность полосы колебания связи Р–О и выравниваются по интенсивности полосы колебаний тетраэдров PO_4 , что свидетельствует об образовании ТКФ (рис. 1, б, кривые 2, 3). Таким образом, данные ИК-спектроскопии подтверждают установленный методом рентгенофазового анализа факт преимущественного образования α -ТКФ в матрице фибрина и β -ТКФ в цитратной плазме.

По данным термического анализа прогрев в интервале температур 50–170 °С индивидуального ГА и композита фибрин/ГА сопровождается дегидратацией с уменьшением их массы до 4,2 и 5,8 % соответственно (рис. 1, с, кривые 1, 2). Термические эффекты, обусловленные выгоранием фибрина, на термограммах практически не видны, однако, масса композита фибрин/ГА уменьшается постепенно еще на 4,4 % при отжиге до 1000 °С. Такая тенденция может быть связана с гидролизом фибрина в сильно щелочной среде (рН 11 необходим для осаждения ГА) и частичным его удалением при длительной многократной декантации композита. В ходе термической обработки композита цитратная плазма/ГА вначале происходит дегидратация (рис. 1, с, кривые 3), а в диапазоне температур 300–400 °С разложение и выгорание цитратной плазмы при уменьшении массы композита еще на 9 %. Дальнейший отжиг композита цитратная плазма/ГА до 1000 °С приводит к постепенному изменению массы до 4,7 %.

На электронно-микроскопических изображениях матрица фибрина представлена волокнистой структурой (рис. 2, а), а цитратная плазма – однородной пленкой (рис. 2, д), причем у высушенных композитов (ксерогелей) биополимерные матрицы практически не просматриваются. В ксерогеле композита на основе фибрина частицы ГА представлены как крупными конгломератами неправильной формы до 100 мкм, так и более мелкими частицами размером около 1–10 мкм (рис. 2, б). В композите на основе цитратной плазмы преобладают более мелкие частицы ГА размерами от 40 нм до 30 мкм (рис. 2, е). Установлено, что присутствие примеси ТКФ

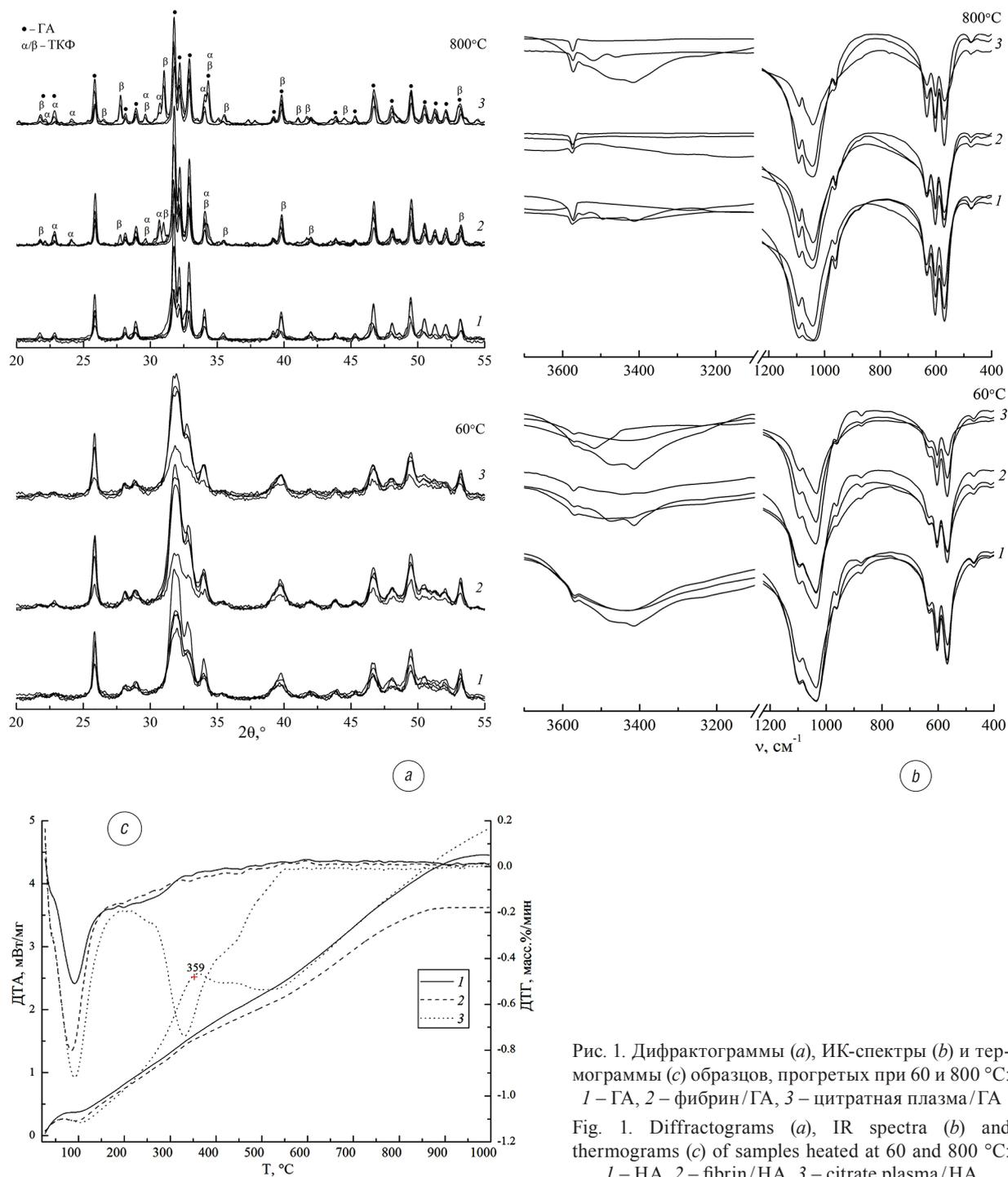


Рис. 1. Дифрактограммы (a), ИК-спектры (b) и термограммы (c) образцов, прогретых при 60 и 800 °С: 1 – ГА, 2 – фибрин/ГА, 3 – цитратная плазма/ГА
 Fig. 1. Diffractograms (a), IR spectra (b) and thermograms (c) of samples heated at 60 and 800 °С: 1 – HA, 2 – fibrin/HA, 3 – citrate plasma/HA

в таких композитах приводит к разрушению структуры ксерогеля и уменьшению размера крупной фракции частиц от 100 до 20 мкм и мелкой фракции частиц до 0,1 мкм (рис. 2, c, f).

Выдерживание образцов композитов в растворе SBF приводит к изменению их массы вследствие частичного гидролиза как биополимера, так и аморфизированного ГА. С другой стороны, происходит адсорбция ионов Ca^{2+} , HPO_4^{2-} , PO_4^{3-} , OH^- из раствора SBF с образованием слоя биомиметического апатита. В течение первых 30 сут происходит некоторое повышение величины pH раствора с последующей ее стабилизацией на уровне 7,6 в связи с завершением процесса образования биомиметического апатита. Характерно, что композиты на основе фибрина с аморфизированным ГА обладают большей биоактивностью (приростом биомиметического апатита) по сравнению с композитами на основе цитратной плазмы.

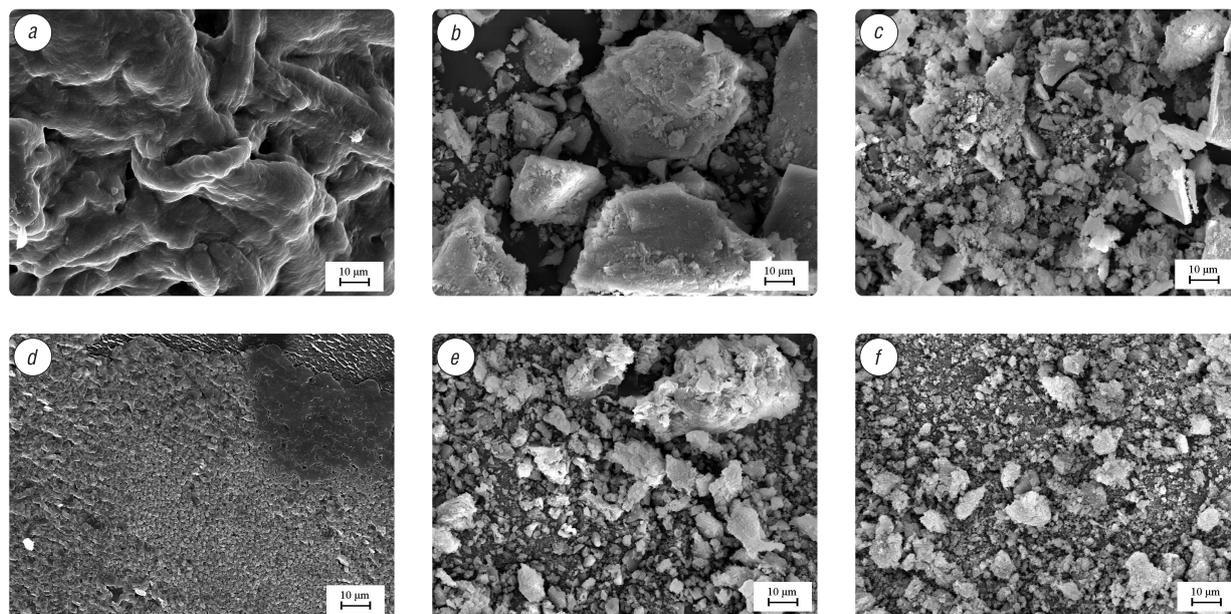


Рис. 2. СЭМ-изображения поверхности фибрина (а), композитов фибрин/ГА (b), фибрин/ГА + α -ТКФ (c), цитратной плазмы (d), цитратная плазма/ГА (e), цитратная плазма/ГА + β -ТКФ (f)

Fig. 2. SEM images of the surface of fibrin (a), composites of fibrin/HA (b), fibrin/HA + α -TCP (c), citrate plasma (d), citrate plasma/HA (e), citrate plasma/HA + β -TCP (f)

Композиты на основе фибрина либо цитратной плазмы и геля ГА. В отличие от рассмотренных выше гибридных материалов, содержащих кальцийфосфаты, синтезированные непосредственно в среде биополимеров композиты аналогичного состава могут быть получены смешиванием геля ГА с фибрином либо цитратной плазмой. После высушивания смеси геля ГА с фибрином формируется однородный композит, в то время как высушивание смеси геля ГА с цитратной плазмой вызывает расслаивание композита с концентрированием слоя цитратной плазмы на его поверхности.

На дифрактограммах исходных компонентов проявляются основные рефлексы ГА и два аморфных гало фибрина в области углов 2θ при $14\text{--}27^\circ$ и $32\text{--}45^\circ$ (рис. 3, а, дифрактограммы 1 и 5). Композит фибрин/ГА характеризуется меньшей интенсивностью рефлексов, по сравнению с исходным ГА, при этом наблюдается аморфизация ГА, характеризующаяся уширением его рефлексов. Кроме того, сдвигается рефлекс при 2θ $39,98^\circ$ (рис. 3, а, дифрактограмма 2), что обуславливает взаимодействие наночастиц ГА с фибрином. В композите цитратная плазма / ГА преобладающей фазой является ГА, а рентгеноаморфное гало биополимера выражено слабо (рис. 3, а, дифрактограмма 3). Введение в состав композита фибрин / ГА 1 мл тромбина (8 ед.) приводит к максимальной аморфизации ГА (рис. 3, а, дифрактограмма 4). Значительная степень аморфизации ГА наблюдается на дифрактограммах композитов фибрин / ГА и фибрин+ тромбин / ГА, что может быть связано со взаимодействием компонентов фибрина с наночастицами ГА, приводящим, возможно, к химическому связыванию, а в композитах с цитратной плазмой взаимодействия между частицами ГА и матрицей не происходит.

ИК-спектр исходного ГА после высушивания (рис. 3, b, кривая 1) содержит ряд полос – валентные и деформационные колебания воды при $3656\text{--}3040$ и 1640 см^{-1} , валентные колебания ОН-группы при 3650 см^{-1} и связи Р–О при $1130\text{--}1010$ см^{-1} , деформационные колебания тетраэдров PO_4^{3-} при $670\text{--}540$ см^{-1} . На ИК-спектре фибрина присутствуют полосы поглощения (рис. 3, b, кривая 5): комплекса железа при 482 см^{-1} , деформационные колебания —NH_2 -групп при 624 см^{-1} и —CH_2 -групп, симметричные колебания связи С–О при $1480\text{--}1430$ см^{-1} , валентные колебания связи С=О при 1618 см^{-1} и NH_2 -, N–N-групп при 3553 , 3478 , 3414 , 3236 см^{-1} . Валентные колебания связей С–Н и —CH_2 в области $3000\text{--}2800$ см^{-1} перекрываются с валентными колебаниями связи О–Н. На ИК-спектрах композитов (рис. 3, b, кривые 2–4) исчезает узкая полоса валентных колебаний свободных ОН-групп ГА, искажаются полосы поглощения тетраэдров PO_4^{3-} и колебаний О–Н, N–Н в области $2700\text{--}3700$ см^{-1} , что свидетельствует об их

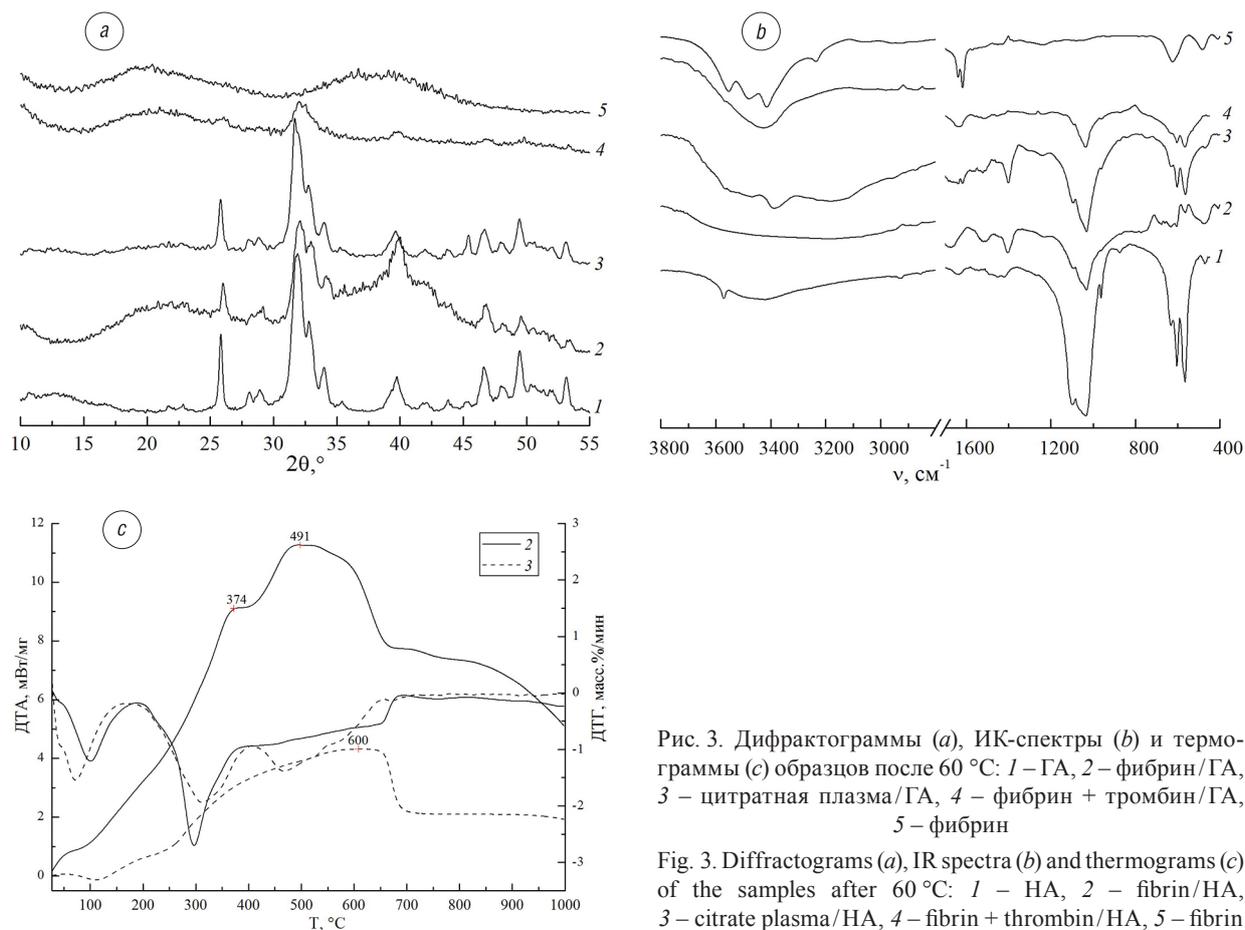


Рис. 3. Дифрактограммы (a), ИК-спектры (b) и термограммы (c) образцов после 60 $^{\circ}\text{C}$: 1 – ГА, 2 – фибрин/ГА, 3 – цитратная плазма/ГА, 4 – фибрин + тромбин/ГА, 5 – фибрин

Fig. 3. Diffractograms (a), IR spectra (b) and thermograms (c) of the samples after 60 $^{\circ}\text{C}$: 1 – HA, 2 – fibrin/HA, 3 – citrate plasma/HA, 4 – fibrin + thrombin/HA, 5 – fibrin

аморфизации. У максимально аморфизированного композита на основе фибрина и геля ГА с добавлением тромбина полосы поглощения валентных колебаний связи Р—О и деформационных колебаний тетраэдров PO_4^{3-} очень слабо выражены.

Термические превращения композитов на основе фибрина либо цитратной плазмы и геля ГА протекают более интенсивно и в две стадии (рис. 3, c) по сравнению с композитами, содержащими аморфизированный ГА, синтезированный в среде биополимеров. На первой стадии эндотермический эффект при 100 $^{\circ}\text{C}$ сопровождается уменьшением массы на 7–9 % и соответствует удалению связанной воды из ГА. Вторая стадия свидетельствует о выгорании биополимера и сопровождается значительным уменьшением массы вплоть до 50 %. Выгорание фибрина в композите фибрин/ГА сопровождается двумя экзоэффектами при 374 и 491 $^{\circ}\text{C}$. Стадийность процесса выгорания фибриновой матрицы можно объяснить, более сложным по сравнению с цитратной плазмой, составом фибринового сгустка и возможным влиянием связанных наночастиц ГА. В случае композита цитратная плазма/ГА выгорание матрицы проходит в одну стадию с максимумом при 600 $^{\circ}\text{C}$.

Наряду с гибридными материалами в виде пластичной массы и пленок значительный интерес представляет фибриновый клей для фиксации имплантатов, получаемый с использованием фибрина, стрептокиназы (коммерческий препарат) и геля ГА. При добавлении 3 мл стрептокиназы в 1 cm^3 отмытого фибринового сгустка (рис. 4, a) после перемешивания в течение 15 мин фибрин становится прозрачным и распадается на фрагменты (рис. 4, b). Дальнейшее добавление стрептокиназы приводит к полному растворению фибриновых фрагментов. Пластичный клей фибрин/стрептокиназа/ГА получали из свежесывленного фибрина, который обрабатывали стрептокиназой, промывали проточной холодной водой и добавили 6 мас.% гель ГА до образования гелеобразной консистенции (рис. 4, c). Сэндвич-копозит фибрин/ГА/фибрин получали на основе двух отмытых фибриновых слегка подсушенных пленок, между которых помещали 30 мас.% пасту ГА (рис. 4, d).

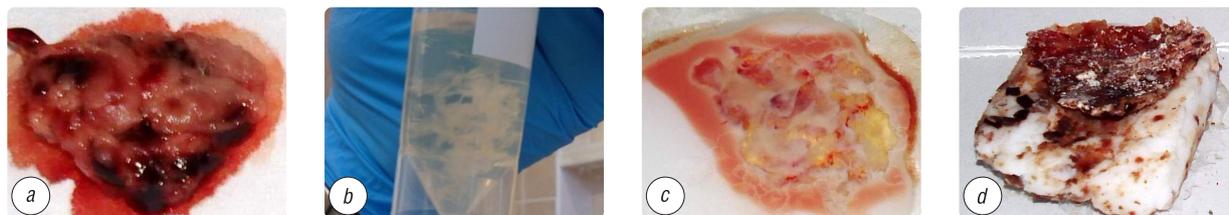


Рис. 4. Фибриновый сгусток до (a) и после (b) разрушения стрептокиназой, композит фибрин/стрептокиназа/ГА (c), сэндвич-композит фибрин/ГА/фибрин (d)

Fig. 4. Fibrin clot before (a) and after (b) destruction by streptokinase, fibrin/streptokinase/HA composite (c), fibrin/HA/fibrin sandwich composite (d)

Клей на основе цитратной плазмы получали при добавлении к ней катализатора тромбопластина (коммерческий, выделенный из крови) и геля ГА при соотношении цитратная плазма/катализатор 1 : 2 (рис. 5, a). Для повышения коагулирующей способности клеевого композита использовали катализатор в виде тромбоцитарной смеси с адреналином либо цитратную плазму с гелем ГА нагревали при 40–60 °С до формирования устойчивого студня. Установлен эффект существенного повышения коагулирующей способности клеевого композита в присутствии тромбоцитарной смеси на воздухе при комнатной температуре, так как за 5–10 мин образуется устойчивый студень (рис. 5, b). Выявлено, что необходимо соблюдать порядок соединения компонентов клея: к цитратной плазме добавлять гель ГА, а затем катализатор. Надежная и безопасная технология получения фибринового сгустка оказалась при применении цитратной плазмы с повышенным содержанием тромбоцитов и добавлением адреналина.



Рис. 5. Схема получения фибринового клея из цитратной плазмы (a) и устойчивый фибриновый клей (b): 1 – цитратная плазма, 2 – цитратная плазма/катализатор 1 : 2, 3 – начало ретракции, 4 – ретракция сгустка, 5 – сгусток, 6 – без тромбоцитов, 7 – с тромбоцитами

Fig. 5. Scheme for obtaining fibrin glue from citrate plasma (a) and stable fibrin glue (b): 1 – citrate plasma, 2 – citrate plasma/catalyst 1 : 2, 3 – start of retraction, 4 – clot retraction, 5 – clot, 6 – without platelets, 7 – with platelets

Введение тромбоцитов в состав гибридного материала способствует повышению скорости коагуляции в 6–15 раз с формированием эластичного материала, клиническое исследование которого показало высокую эффективность без признаков аллергических реакций и послеоперационных осложнений при устранении дефектов перегородки и наружного носа. Такой способ получения гибридного биоматериала позволяет формировать плотный сгусток с инкорпорированными частицами ГА в течение 15–20 мин непосредственно в ходе проведения операции. Фибриновый клей на основе цитратной плазмы с повышенным содержанием тромбоцитов с добавлением адреналина и раствора хлорида кальция использован для фиксации трансплантата. В качестве источника тромбопластина использовалась фибриновая пленка. Композит на основе фибринового сгустка (пленки) и геля ГА использовался при мирингопластике на небольших перфорациях и после травматических перфораций с хорошим результатом (рис. 6). Успешно применен аналогичный композит у пациента при пластике гаймороорального свища; при контрольном осмотре через год рецидива свища не было. Использован двухслойный композит на основе двух фибриновых пленок, между которыми находился гель ГА, при закрытии дефекта передней стенки верхнечелюстной пазухи после эндоскопической микрогайморотомии.

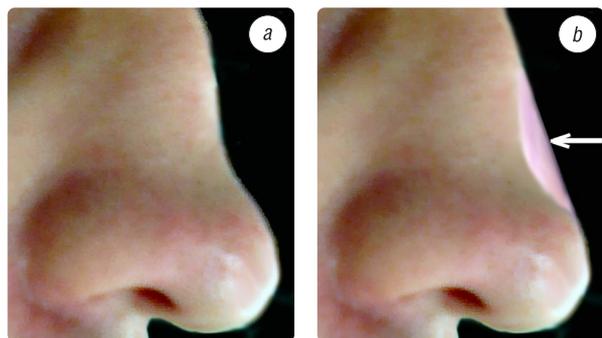


Рис. 6. Контур носа до (а) и после (б) ринопластики композита на основе фибрина и геля ГА

Fig. 6. Nose view before (a) and after (b) rhinoplasty of a composite based on fibrin and HA gel

С использованием композитов на основе фибрина, обогащенного тромбоцитами плазмы крови и геля ГА, было прооперировано 43 пациента, в том числе 22 при септопластике и 11 при ринопластике. В послеоперационном периоде у всех пациентов наблюдалась нормальная температура тела или незначительный субфебрилитет. После риносептопластики носовое дыхание пациентов восстанавливалось на третьи сутки после операции. Признаков воспаления, аллергических реакций после операции не выявлено; осложнений не наблюдалось. Гибридные биоматериалы на основе фибринового сгустка и геля ГА позволяют сформировать адекватную конфигурацию дефекта.

Таким образом, гибридные биоматериалы на основе фибринового сгустка, обогащенного тромбоцитами плазмы крови и ГА, расширяют возможности ЛОР-хирургии. В биоматериале на основе плазмы крови, обогащенной фибрином и тромбоцитами, смешанной с гелем ГА, ионы кальция ускоряют организацию сгустка, что позволяет сформировать адекватную конфигурацию дефекта. За счет сочетания остеоиндуктивных и остеокондуктивных свойств таких гибридных биоматериалов можно достичь увеличения объема и придания определенной формы дефекта за счет образования кости и окружающих тканей *de novo*.

Выводы. Получены гибридные материалы, состоящие из биополимерной матрицы (фибрин, цитратная плазма) и аморфизированного ГА, который непосредственно формировали в биополимерной матрице путем химического осаждения либо вводили в форме геля. Кальцийфосфатный состав композитов определяется условиями осаждения и природой биополимера, кроме аморфизированного ГА в фибриновой матрице преимущественно формировалась примесь α -ТКФ, а в цитратной плазме – β -ТКФ. Присутствие примеси ТКФ в композитах приводило к разрыхлению структуры ксерогеля и уменьшению размера крупной фракции частиц от 100 до 20 мкм и мелкой фракции частиц до 0,1 мкм. Выдерживание композитов в растворе SBF показало, что композиты на основе фибрина обладают большей биоактивностью по сравнению с композитами на основе цитратной плазмы. При введении геля ГА в матрицу фибрина происходит значительная его аморфизация, в отличие от ГА с цитратной плазмой.

Разработан клеевой композит на основе цитратной плазмы, тромбопластина и геля ГА, у которого в присутствии тромбоцитарной смеси при комнатной температуре существенно повышается коагулирующая способность. Успешно проведены клинические исследования гибридного биоматериала на основе фибринового сгустка пациента и геля ГА для устранения дефектов и деформаций перегородки либо наружного носа.

Список использованных источников

1. Review. Biodegradable and biocompatible systems based on hydroxyapatite nanoparticles / P. Turon [et al.] // Appl. Sci. – 2017. – Vol. 7, N 60. – P. 2–27. <https://doi.org/10.3390/app7010060>
2. Использование препарата «Гель гидроксиапатита» в медицине / О. Н. Мусская [и др.] // Медицина. – 2015. – № 3. – С. 70–74.
3. Композиционные биоматериалы и покрытия на основе нанокристаллического гидроксиапатита / В. К. Крутько [и др.] // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. хім. навук. – 2008. – № 4. – С. 100–105.
4. Influence of the dehydration procedure on the physicochemical properties of nanocrystalline hydroxylapatite xerogel / V. K. Krut'ko [et al.] // Russian J. General Chemistry – 2007. – Vol. 77, N 3. – P. 336–342. <https://doi.org/10.1134/S1070363207030036>
5. Synthesis, identification and determination of impurities in bioactive hydroxyapatite / V. K. Tsuber [et al.] // Pharmaceutical Chemistry J. – 2006. – Vol. 40, N 80. – P. 455–458. <https://doi.org/10.1007/s11094-006-0151-2>
6. Preparation of bioactive mesoporous calcium phosphate granules / O. N. Musskaya [et al.] // Inorganic Materials. – 2018. – Vol. 54, N 2. – P. 117–124. <https://doi.org/10.1134/S0020168518020115>
7. Синтетический гидроксиапатит – основа костнозамещающих биоматериалов / В. К. Крутько [и др.] // София. – 2017. – № 1. – С. 50–57.

8. Krut'ko, V.K. Thermal transformations of composites based on hydroxyapatite and zirconia / V.K. Krut'ko, A.I. Kulak, O.N. Musskaya // *Inorganic Materials*. – 2017. – Vol. 53, N 4. – P. 429–436. <https://doi.org/10.1134/S0020168517040094>
9. Кальцийфосфатная пенокерамика на основе порошковой смеси гидроксиапатит–брушит / В.К. Крутько [и др.] // *Стекло и керамика*. – 2019. – №3. – С. 38–44.
10. Injectable shear-thinning hydrogels for delivering osteogenic and angiogenic cells and growth factors / E. Alarcin [et al.] // *Biomater. Sci.* – 2018. – Vol. 6, N 6. – P. 1604–1615. <https://doi.org/10.1039/c8bm00293b>
11. A review of fibrin and fibrin composites for bone tissue engineering / A. Noori [et al.] // *Intern. J. Nanomed.* – 2017. – Vol. 12. – P. 4937. <https://doi.org/10.2147/IJN.S124671>
12. Bagot d'Arc, M. Micro macroporous biphasic ceramics and fibrin sealant as a mouldable material for bone reconstruction in chronic otitis media surgery. A 15 years experience / M. d'Arc Bagot, G. Daculsi // *J. Mater. Sci. Mater. Med.* – 2003. – Vol. 14. – P. 229–233. <https://doi.org/10.1023/A:1022828606312>
13. Fibrin glue sealant as an osteoinductive protein in a mouse model / S. Abiraman [et al.] // *Biomaterials*. – 2002. – Vol. 23. – P. 3023–3031. [https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(02\)00064-9](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(02)00064-9)
14. Nihouannen, D. Micro-architecture of calcium phosphate granules and fibrin glue composites for bone tissue engineering / D. Le. Nihouannen [et al.] // *Biomaterials*. – 2006. – Vol. 27. – P. 2716–2722. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2005.11.038>
15. Le Guehennec, L. MBCP biphasic calcium phosphate granules and tissucol fibrin sealant in rabbit femoral defects: the effect of fibrin on bone ingrowth / L. Le Guehennec [et al.] // *J. Mater. Sci. Mater. Med.* – 2005. – Vol. 16, N 1 – P. 29–35. <https://doi.org/10.1007/s10856-005-6443-3>
16. Intini, G. The use of platelet-rich plasma in bone reconstruction therapy / G. Intini // *Biomaterials*. – 2009. – Vol. 30, N. 28. – P. 4956–4966. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2009.05.055>
17. The impact of plasma rich in growth factors on clinical and biological factors involved in healing processes after third molar extraction / M. Mozzati [et al.] // *Biomed. Mater. Res. A*. – 2010. – Vol. 95, N 3. – P. 741–746.
18. Jalota, S. Effect of carbonate content and buffer type on calcium phosphate formation in SBF solutions / S. Jalota, S.B. Bhaduri, A.C. Tas // *J. Mater. Sci. Mater. Med.* – 2006. – Vol. 17, N 8. – P. 697–707. <https://doi.org/10.1007/s10856-006-9680-1>
19. Использование композиционных материалов на основе фибрина и гидрогеля гидроксиапатита в риносепто-пластике / Р.А. Власов [и др.] // *Оториноларингология. Восточная Европа*. – 2013. – №3. – С. 29–32.
20. Неспецифическая резистентность эпителиальных клеток к гидроксиапатиту / Р.А. Власов [и др.] // *Оториноларингология. Восточная Европа*. – 2016. – №4. – С. 579–586.

References

1. Turon P., Del Valle L. J., Alemán C., Puiggali J. Review. Biodegradable and biocompatible systems based on hydroxyapatite nanoparticles. *Applied Sciences*, 2017, vol. 7, no. 60. pp. 2–27. <https://doi.org/10.3390/app7010060>
2. Musskaya O. N., Krut'ko V. K., Shchemelyov A. V., Vlasov R. A. Application of “Hydroxyapatite gel” medication in medicine. *Medicina = Medicine*, 2015, no. 3, pp. 70–74 (in Russian).
3. Krut'ko V. K., Kulak A. I., Lesnikovich L. A., Musskaya O. N., Trofimova I. V. Composite biomaterials and coatings based on nanocrystalline hydroxyapatite. *Vesci Natsyonal'nai akademii navuk Belarusi. Serya chim. navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus, Chemical Series*, 2008, no. 4, pp. 100–105 (in Russian).
4. Krut'ko V. K., Kulak A. I., Lesnikovich L. A., Trofimova I. V., Musskaya O. N., Zhavnerko G. K., Paribok I. V. Influence of the dehydration procedure on the physicochemical properties of nanocrystalline hydroxyapatite xerogel. *Russian Journal of General Chemistry*, 2007, vol. 77, no. 3, pp. 336–342. <https://doi.org/10.1134/S1070363207030036>
5. Tsuber V. K., Lesnikovich L. A., Kulak A. I., Trofimova I. V., Petrov P. T., Trukhacheva T. V., Kovalenko Yu. D., Krasil'nikova V. L. Synthesis, identification and determination of impurities in bioactive hydroxyapatite. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 2006, vol. 40, no. 80, pp. 455–458. <https://doi.org/10.1007/s11094-006-0151-2>
6. Musskaya O. N., Kulak A. I., Krut'ko V. K., Lesnikovich Yu. A., Kazbanov V. V., Zhitkova N. S. Preparation of bioactive mesoporous calcium phosphate granules. *Inorganic Materials*, 2018, vol. 54, no. 2, pp. 117–124. <https://doi.org/10.1134/S0020168518020115>
7. Krut'ko V. K., Kulak A. I., Musskaya O. N., Lesnikovich Yu. A. Synthetic hydroxyapatite – the basis of bone-substituting biomaterials. *Sofia = Sofia*, 2017, no. 1, pp. 50–57 (in Russian).
8. Krut'ko V. K., Kulak A. I., Musskaya O. N. Thermal transformations of composites based on hydroxyapatite and zirconia. *Inorganic Materials*, 2017, vol. 53, no. 4, pp. 429–436. <https://doi.org/10.1134/S0020168517040094>
9. Krut'ko V. K., Kulak A. I., Musskaya O. N., Safronova T. V., Putlaev V. I. Calcium phosphate foam ceramics based on hydroxyapatite-brushite powder mixture. *Steklo i keramika = Glass and ceramics*, 2019, no. 3, pp. 38–44 (in Russian).
10. Alarcin E., Lee T. Y., Karuthedom S., Mohammadi M., Brennan M. A., Lee D. H., Marrella A., Zhang J., Sylva D., Zhang Y. S., Khademhosseini A., Jang H. L. Injectable shear-thinning hydrogels for delivering osteogenic and angiogenic cells and growth factors. *Biomaterials Science*, 2018, vol. 6, no. 6. pp. 1604–1615. <https://doi.org/10.1039/c8bm00293b>
11. Noori A., Ashrafi S. J., Vaez-Ghaemi R., Hatamian-Zaremi A., Webster T. J. A review of fibrin and fibrin composites for bone tissue engineering. *International journal of nanomedicine*, 2017, vol. 12, pp. 4937–4961. <https://doi.org/10.2147/IJN.S124671>
12. Bagot d'Arc M., Daculsi G. Micro macroporous biphasic ceramics and fibrin sealant as a mouldable material for bone reconstruction in chronic otitis media surgery. A 15 years experience. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 2003, vol. 14, pp. 229–233. <https://doi.org/10.1023/A:1022828606312>

13. Abiraman S., Varma H.K., Umashankar P.R., Annie John. Fibrin glue as an osteoinductive protein in a mouse model. *Biomaterials*, 2002, vol. 23, pp. 3023–3031. [https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(02\)00064-9](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(02)00064-9)
14. Le Nihouannen D., Guehenec L.L., Rouillon T., Pilet P., Bilban M., Layrolle P., Daculsi G. Micro-architecture of calcium phosphate granules and fibrin glue composites for bone tissue engineering. *Biomaterials*, 2006, vol. 27, pp. 2716–2722. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2005.11.038>
15. Le Guehenec L., Goyenvalle E., Aguado E., Pilet P., Bagot D'Arc M., Bilban M., Spaethe R., Daculsi G. MBCP bi-phasic calcium phosphate granules and tissucol fibrin sealant in rabbit femoral defects: the effect of fibrin on bone ingrowth. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 2005, vol. 16, no. 1, pp. 29–35. <https://doi.org/10.1007/s10856-005-6443-3>
16. Intini G. The use of platelet-rich plasma in bone reconstruction therapy. *Biomaterials*, 2009, vol. 30, no. 28, pp. 4956–4966. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2009.05.055>
17. Mozzati M., Martinasso G., Pol R., Polastri C., Cristiano A., Muzio G., Canuto R. The impact of plasma rich in growth factors on clinical and biological factors involved in healing processes after third molar extraction. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 2010, vol. 95, no. 3, pp. 741–746. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.32882>
18. Jalota S., Bhaduri S.B., Tas A. C. Effect of carbonate content and buffer type on calcium phosphate formation in SBF solutions. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 2006, vol. 17, no. 8, pp. 697–707. <https://doi.org/10.1007/s10856-006-9680-1>
19. Vlasov R. A., Mel'nik V. F., Merkulova E. P., Krut'ko V. K., Musskaya O. N., Kulak A. I., Lesnikovich L. A., Ulasevich S. A. Application of composite materials on the basis of fibrin and hydrogel of hydroxyapatite for rhinoseptoplasty. *Otorinolaringologija. Vostochnaja Evropa = Otorhinolaryngology. Eastern Europe*, 2013, vol. 12, no. 3, pp. 29–32 (in Russian).
20. Vlasov R. A., Krut'ko V. K., Mel'nik V. F., Kulak A. I., Musskaya O. N., Moskaleva N. V. Non-specific resistance of epithelial cells to hydroxyapatite. *Otorinolaringologija. Vostochnaja Evropa = Otorhinolaryngology. Eastern Europe*, 2016, vol. 6, no. 4, pp. 579–586 (in Russian).

Информация об авторах

Крутько Валентина Константиновна – канд. хим. наук, доцент, вед. науч. сотрудник, Институт общей и неорганической химии, Национальная академия наук Беларуси (ул. Сурганова, 9/1, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: tsuber@igic.bas-net.by

Власов Роман Алексеевич – ЛОР-врач, Республиканский госпиталь Департамента финансов и тыла Министерства внутренних дел Республики Беларусь (ул. Золотая горка, 4, 220005, Минск, Республика Беларусь). E-mail: rvalekseevich@mail.ru

Мусская Ольга Николаевна – канд. хим. наук, доцент, ст. науч. сотрудник, Институт общей и неорганической химии, Национальная академия наук Беларуси (ул. Сурганова, 9/1, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: muskaja@igic.bas-net.by

Глазов Илья Евгеньевич – мл. науч. сотрудник, Институт общей и неорганической химии, Национальная академия наук Беларуси (ул. Сурганова, 9/1, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: che.glazov@mail.ru

Кулак Анатолий Иосифович – член-корреспондент, д-р хим. наук, профессор, директор Института общей и неорганической химии, Национальная академия наук Беларуси (ул. Сурганова, 9/1, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: kulak@igic.bas-net.by

Information about the authors

Valentina K. Krut'ko – Ph. D. (Chemistry), Associate professor, Leading researcher, Institute of General and Inorganic Chemistry, National Academy of Sciences of Belarus (9/1, Surganov Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: tsuber@igic.bas-net.by

Roman A. Vlasov – ENT specialist, Republican Hospital of Department of Finance and Logistics of the Ministry of Internal Affairs of Republic of Belarus (4, Zolotaya gorka Str, 220005, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: rvalekseevich@mail.ru

Olga N. Musskaya – Ph. D. (Chemistry), Associate professor, Senior researcher, Institute of General and Inorganic Chemistry, National Academy of Sciences of Belarus (9/1, Surganov Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: muskaja@igic.bas-net.by

Ilya E. Glazov – Junior researcher, Institute of General and Inorganic Chemistry, National Academy of Sciences of Belarus (9/1, Surganov Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: che.glazov@mail.ru

Anatoly I. Kulak – Corresponding Member of the National Academy of Sciences of Belarus, D. Sc. (Chemistry), Professor, Director of the Institute of General and Inorganic Chemistry, National Academy of Sciences of Belarus (9/1, Surganov Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: kulak@igic.bas-net.by