



## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МЕДИЦИНА

УДК 611.7

### ИННОВАЦИИ В ПРИМЕНЕНИИ НАНОСТРУКТУРНЫХ МЕТОДОВ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ РЕГЕНЕРАЦИИ

**Л.А. ПАВЛОВА<sup>1</sup>**  
**А.И. ЩОГОЛЕВ<sup>2</sup>**  
**Т.В. ПАВЛОВА<sup>1</sup>**  
**А.В. НЕСТЕРОВ<sup>1</sup>**

*<sup>1</sup>Белгородский государственный  
национальный исследовательский  
университет*

*<sup>2</sup>Научный центр акушерства,  
гинекологии и перинатологии  
имени академика В.И. Кулакова,  
г.Москва*

*e-mail:pavlova@bsu.edu.ru*

В последнее десятилетие достижения нанотехнологий находят все более широкое применение в науке и технике. Область применения наноматериалов постоянно расширяется. Это диктует необходимость создания новых моделей взаимодействия в аспекте «современные наноструктурированные материалы – современное научное оборудование». Показаны собственные разработки кластеров в наноиндустрии.

Ключевые слова: нанопродукт, регенерация, имплант.

Расширение применения наноструктурированных материалов в медицине диктует использование новых методов исследования с целью их верификации. В доступной нам литературе не найдено сформулированных кластеров для изучения современных наноструктурированных материалов. При этом современные условия рыночных отношений диктуют необходимость перехода от научно-исследовательских и опытно-конструкторских работ в области нанотехнологий и наноматериалов к созданию конкурентоспособных продуктов наноиндустрии на региональном и общероссийском рынках [1, 2, 3, 4, 5]. В связи с этим, целью данного исследования явилось обобщение сочетанного опыта применения зондовой, сканирующей микроскопии, а также единовременного микроэлементного анализа для изучения регенерации костной ткани черепа на экспериментальной модели при применении различных видов наноимплантов.

Для эксперимента было взято 140 животных, которые были разделены на 4 группы по 35 особей: ложнооперированные (контрольная группа); крысы, которым был имплантирован композит из нанотитана Grey с пескоструйной обработкой без покрытия), животные, которым вставлен композит из нанотитана Grey с пескоструйной обработкой с одним слоем покрытия (композиционный препарат, в состав которого входил желатин и высокомолекулярный декстран), животные, которым имплантирован биокомпозит из нанотитана Grey с пескоструйной обработкой с двумя слоями покрытия (1-желатин, декстран, 2- гидроксипатит, коллаген, декстран). Проведено макроскопическое описание. Срезы, окрашенные гематоксилином и эозином, фотографировали в световом микроскопе «Topic-T» Ceti с применением морфометрического анализа. Образцы, обработанные флуоресцентным красителем родамином, фотографировали в флуоресцентном микроскопе "Микмед-6", вариант 119. Для электронной микроскопии пробы фиксировали в стандартном глутаровом фиксаторе, а затем фотографировали и проводили морфометрический анализ с использованием растрового микроскопа FEI Quanta 200 3D с приставкой для микроэлементного анализа (Na, Mg, Al, S, Fe, C, N, O, P, Ca). Содержание микроэлементов указана в объемных%. При атомно-силовой микроскопии образцы фотографировали и проводили морфометрический анализ на сканирующем зондовом микроскопе Ntegra-Aura с программным обеспечением для построения изображения «NOVA» (НТ-МДТ, Россия) и «ImageAnalysis» (НТ-МДТ, Россия).

Было показано, что к 30 дням наблюдения фиброзная ткань в группах 3 и 4 в виде ободка наблюдалась на импланте. Постепенно (наиболее в группе 4) обнаруживались неравномерной величины поля хрящевой ткани, которые переходили в сеть костных трабекул. Балки расположены хаотично, и они вытесняли хрящевую ткань. Наиболее четко этот процесс прослеживался к 6 неделям экспозиции, особенно при наличии биокомпозитов (рис.1). Вновь образованная ткань снаружи начинала покрываться надкостницей, которая была хорошо контурирована и утолщена. Остеобласты клеточного слоя лежали преимущественно однорядно, последовательно, без больших промежутков между клетками. Компактное вещество костной ткани матрицовой кости имело обычное строение. Поверхность над имплантом к 9 неделям была заполнена костной тканью. Граница между старой и новообразованной костью визуализировалась только под микроскопом. Определялась компактная кость с грубоволокнистыми костными трабекулами, фрагменты пластинчатой кости. Отмечено формирование зрелой пластинчатой из губчатой кости. Выявлены новообразованные остеоны.

Расстояние между центром импланта и вновь образованной тканью через 9 недель в опытных группах составляло:  $450,09 \pm 28,7$ ,  $380,12 \pm 20,08$ ,  $300,02 \pm 9,98$   $\mu\text{m}$ . К 12 неделям оно соответственно уменьшалось, особенно в группе 4, до  $187,69 \pm 28,24$ ,  $150,08 \pm 19,87$ ,  $98,84 \pm 8,9$   $\mu\text{m}$  соответственно. При экспозиции 9 недель при ультрамикроскопическом изучении определено соединение имплантата с костью. Толщина вновь образованной ткани над центром композита составляла при 9 недельной экспозиции:  $497,08 \pm 29,51$ ,  $687,0 \pm 20,03$ ,  $905,0 \pm 9,62$   $\mu\text{m}$ ; при 12 недельной –  $1167,0 \pm 29,1$ ,  $1284,0 \pm 19,92$ ,  $1396,0 \pm 8,34$ , которая прогрессировала к дальнейшим срокам (рис. 2). При экспозиции 9 недель определено соединение имплантата с костью. Наблюдалось формирование Гаверсовых каналов. Был выявлен активный остеогенез, наличие остеогенных клеток – остеобластов. Выявлены процессы реваскуляризации в виде отдельных эндотелиоцитов в сети коллагеновых волокон. Центры кальцификации новообразованных костных трабекул в эндостальной части появлялись через 7 суток с момента операции и особенно были развиты к 14 суткам, что подтверждалось с помощью микро- и макроэлементного анализа и люминесцентной микроскопии.

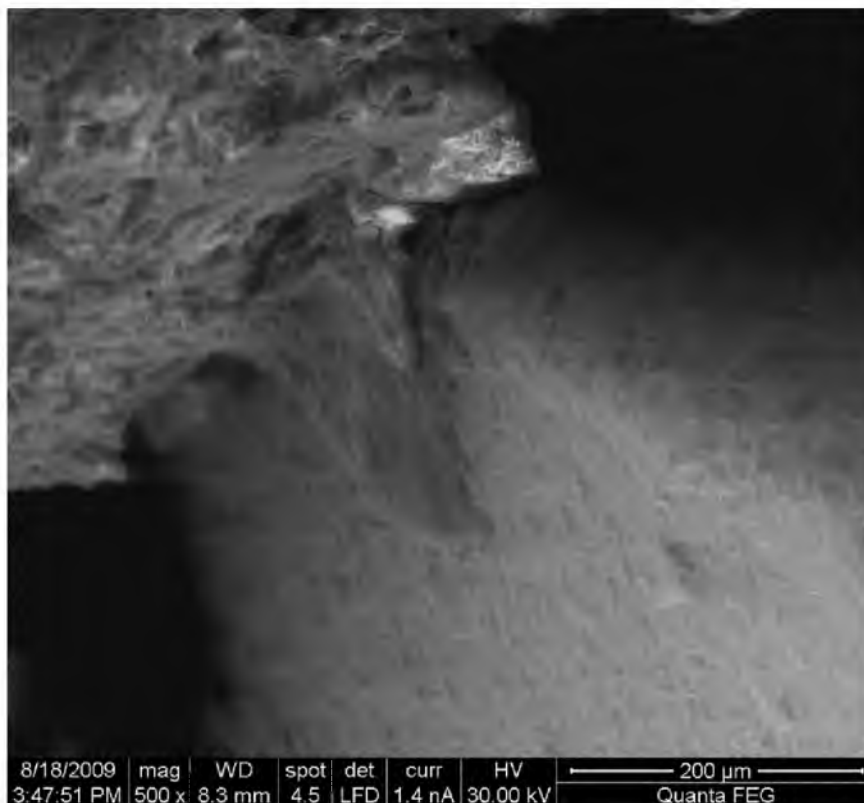


Рис. 1. Фрагмент костной ткани черепа крысы (теменная область) с композитом из нанотитана Grey с обработкой методом микродугового оксидирования с двумя слоями покрытия: 1- желатин, декстран, 2- гидроксиапатит, коллаген, декстрана, с добавлением костных морфогенетических белков. 6 недельной экспозиции. Скол ткани.

Биокомпозит частично окружен слоем формирующейся костной ткани.  
Растровая электронная микроскопия. Ув.х 500

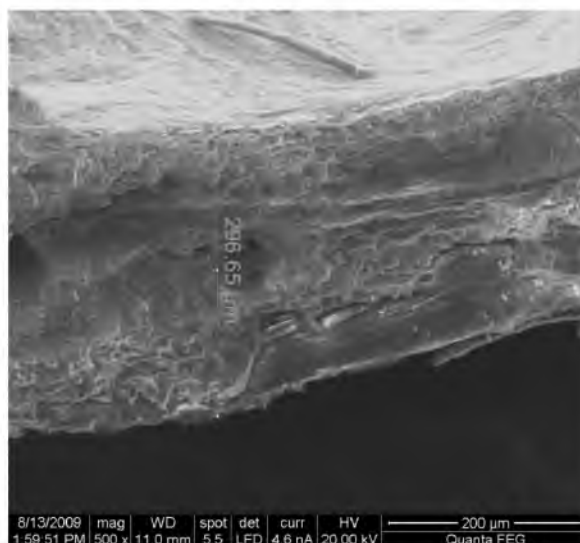


Рис. 2. Фрагмент костной ткани черепа крысы (теменная область) с композитом из нанотитана Grey с обработкой методом микродугового оксидирования с двумя слоями покрытия: 1- желатин, декстран, 2- гидроксиапатит, коллаген, декстрана, с добавлением костных морфогенетических белков. 12 недельной экспозиции. Скол ткани. Фрагмент сформировавшейся костной ткани, покрытый надкостницей. Растровая электронная микроскопия. Ув.х 500

При изучении микроэлементного состава было показано, что к 14 дням прогрессивно увеличивается содержание натрия в группах 3 ( $1,01 \pm 0,01$ ) и 4 ( $2,33 \pm 0,01$ ). Содержание магния также максимально в 4-й группе ( $9,69 \pm 0,02$  об%). Помимо этого, здесь отмечено максимальное количество фосфора ( $36,97 \pm 0,09$ ), кальция ( $30,35 \pm 0,08$  об%).

На сроке экспозиции 6 недель кальцификация по-прежнему наблюдалась преимущественно в 3-й группе ( $470,63 \pm 1,18$ ), при  $123,95 \pm 0,31$  в 1-й и  $114,5 \pm 0,29$  – во 2. Увеличение содержания натрия во 2 ( $1,65 \pm 0,01$ ) и 3 ( $3,49 \pm 0,01$ ) группах. Появляется железо ( $4,07 \pm 0,01$ ) ( $3,46 \pm 0,01$ ) ( $3,04 \pm 0,01$ ). Содержание фосфора в 3 группе также – максимально и составляло  $266,16 \pm 0,67$ . Содержание натрия прогрессивно возрастало, особенно при покрытии биокompозитом: 12 недель  $7,52 \pm 0,02$ . То же самое отмечено по концентрации магния:  $24,81 \pm 0,06$ . Отмечалось значительное увеличение кальция:  $966,46 \pm 2,42$  об%.

Таблица 1

**Микроэлементы ткани черепа на сроке 12 недель погрешность измерений  $\pm 0,2-0,25\%$  по концентрации**

Element	Матриксостная кость 12 недель об%	ПСО без покрытия 12 нед. об%	ПСО 1 слой 12 нед об%	ПСО 2 слоя 12 нед об%
NaK	$0,46 \pm 0,01$	$1,17 \pm 0,01^*$	$4,13 \pm 0,01^*$	$7,52 \pm 0,02^*$
MgK	$5,08 \pm 0,01$	$7,04 \pm 0,02^*$	$15,08 \pm 0,04^*$	$24,81 \pm 0,06^*$
AlK	$11,57 \pm 0,03$	0	0	0
S K	$24,56 \pm 0,06$	$13,57 \pm 0,03^*$	$9,61 \pm 0,02^*$	$6,49 \pm 0,02^*$
FeK	$2,91 \pm 0,01$	$p > 0,053, 17 \pm 0,01$	$8,74 \pm 0,02^*$	$14,16 \pm 0,04^*$
p > 0,05				

Итак, наличие покрытия из коллаген-гидроксиапатитно-декстранового соединения увеличивает скорость процессов регенерации за счет создания депо ионов кальция, фосфора и выполняет опорную функцию для вновь образованной ткани за счет коллаген-декстранового компонента. Продолжительность фазы энхондрального окостенения уменьшается от группы с использованием нанотитана к группе с использованием нанобиокompозитов. Увеличение концентрации кальция, фосфора, натрия, магния во вновь образованной ткани на сроке 12 недель по сравнению с матриксостной костью свидетельствует об активных регенераторных процессах в зоне регенерации.

Таким образом, показано высокоинформативное применение зондовой и растровой электронной микроскопии для изучения наноструктур и нанопродуктов при репаративных процессах.



### Литература

1. Козырева, Т.Г. Усовершенствование системы санитарно-гельминтологического надзора за почвой в условиях Московского региона // Эпидемиологические основы разработки единого комплекса оздоровления населения РФ от геогельминтозов / Т.Г. Козырева // Вестник Российской академии медицинских наук. – 2003. – № 2. – С. 68-72.
2. Романенко, Н.А. Методы санитарно-гельминтологических исследований почвы и воды / Н.А. Романенко // Учебное пособие. – Медицина. – 2005. – 190С.
3. Романенко, Н.А. Медико-биологические аспекты профилактики гельминтозов человека / Н.А. Романенко, Г.И. Новосильцев // Вестник Российской академии медицинских наук. – 2005. – № 3. – С. 86-89.
4. Скрипова, Л.В. Санитарно-паразитологическая оценка сточных вод // Окружающая среда и здоровье: Материалы Международной научно-практической конференции / Л.В. Скрипов- Пензен. ГМА. – Пенза, 2002. – С. 110-113.
5. Цыбина, Т.Н. Эколого-гельминтологическое описание речного бассейна Костромской области / Т.Н. Цыбина // Экология и безопасность жизнедеятельности: Материалы VIII Междунар. научно-практической конференции. – Курск, 2003. – С.257-260.

## INNOVATION IN THE USE OF NANOSTRUCTURAL METHODS TO STUDY REGENERATION

**L.A. PAVLOVA<sup>1</sup>**  
**A.I. SCHOGOLEV<sup>2</sup>**  
**T.V. PAVLOVA<sup>1</sup>**  
**A.V. NESTEROV<sup>1</sup>**

<sup>1)</sup> *Belgorod National  
Research University*

<sup>2)</sup> *Research Center for Obstetrics,  
Gynecology and Perinatology  
n.a V.I. Kulakov*

*e-mail:pavlova@bsu.edu.ru*

In the past decade, nanotechnology achievements are becoming more widely used in science and technology. Scope of nanomaterials is constantly expanding. This necessitates the creation of new models of cooperation in the aspect: the modern nanostructured materials – modern scientific equipment. It is shown that the development of their own clusters in nanotechnology.

Key words: nanostructure materials, regeneration, implant.