



ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ ФУНДАМЕНТАЛЬНЫХ НАУК

Сборник научных трудов
XVII Международной конференции студентов, аспирантов
и молодых ученых

РОССИЯ, ТОМСК, 21 – 24 апреля 2020 г.

Том 4. Биология и фундаментальная медицина

PROSPECTS OF FUNDAMENTAL SCIENCES DEVELOPMENT

Abstracts
XVII International Conference of Students
and Young Scientists

RUSSIA, TOMSK, April 21 – 24, 2020

Volume 4. Biology and Fundamental Medicine

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ИОНОВ ЦИНКА НА БИОСОВМЕСТИМОСТЬ ГИДРОКСИАПАТИТА

Д.А. Федоришин, А.А. Гуцалова, Д.Н. Лыткина

Научный руководитель: профессор, д.ф.-м.н. И.А. Курзина

Национальный исследовательский Томский государственный университет,

Россия, г. Томск, пр. Ленина, 36, 634050

E-mail: strix187@vandex.ru

RESEARCH OF THE INFLUENCE OF ZINC IONS ON SYNTHESIS AND PROPERTIES OF HYDROXYAPATITE

D.A. Fedorishin, A.A. Gutsalova, D.N. Lytkina

Scientific Supervisor: Prof., Dr. I.A. Kurzina

Tomsk State University, Russia, Tomsk, Lenin str., 36, 634050

E-mail: strix187@vandex.ru

Abstract. *Hydroxyapatites modified with metal ions are the main inorganic components of bone tissue that are approved for use as components for biocomposites and coatings for surgical implants. This study examined prototypes of functional materials for bone implants based on hydroxyapatite modified with zinc ions. Antibacterial activity and biocompatibility have been established. The studied materials have antimicrobial activity, the samples did not cause significant changes both in the internal organs and in the general condition of laboratory animals during the entire experiment.*

Введение. В настоящее время особо актуальным направлением исследований является создание и изучение биосовместимых материалов для костных имплантатов. Ранее были разработаны новые биосовместимые материалы на основе модифицированного гидроксиапатита (ГА), который обладает всеми свойствами, необходимыми для применения его в качестве минерального компонента биокompозитов [1].

Модифицированные ионами металлов гидроксиапатиты являются основными неорганическими компонентами костной ткани, разрешенными для использования в качестве компонентов для биокompозитов и покрытий для хирургических имплантатов. Однако следует отметить, что влияние биосовместимого материала на живые ткани очень усложняется по причине того, что важным фактором является метаболизм каждого биорезорбируемого компонента и продуктов его разложения. На границе раздела ткань-материал происходят реакции организма на инородное тело. При этом, например, острое воспаление необходимо для заживления ран и восстановления гомеостаза в месте повреждения. Однако чрезмерные провоспалительные свойства материала могут становиться причиной разнообразных патологий, приводящих к отторжению имплантата. Поэтому проводить сравнение и делать однозначные выводы о биосовместимости того или иного материала для имплантации, основываясь только на результатах анализа *in vitro* или *in vivo*, затруднительно. Данные процессы следует рассматривать исключительно в комплексе [2].

Цель работы заключается в изучении влияния ионов цинка на биосовместимость цинк-модифицированного гидроксиапатита. Выбор данного иона для модифицирования гидроксиапатитов был

обусловлен тем, что цинк является важным микроэлементом, необходимым для нормального протекания многих биохимических процессов [2]. Также ионы цинка в определенных концентрациях обладают антибактериальной активностью.

Материалы и методика исследования. В качестве исходных компонентов СВЧ-синтеза цинк-модифицированного гидроксиапатита (Zn_xGA) использовали раствор нитрата кальция ($C_m = 0,5$ моль/л) и гидрофосфата аммония ($C_m = 0,3$ 1 моль/л), соблюдая мольное соотношения элементов $Ca/P = 5/3$, характерного для гидроксиапатита. Варьируя содержание нитрата цинка в ходе синтеза, получили линейку образцов с различным количеством моль цинка $Ca_{(10-x)}Zn_x(PO_4)_6(OH)_2$, где $x = 0,1; 0,5; 0,9$. Соотношение компонентов определяли с помощью элементного анализа на приставке для энергодисперсионного микроанализа Quantax-70. Элементный анализ проводился до и после эксперимента *in vivo*. Для определения антибактериальной активности применено определение количества клеток высевом на плотные питательные среды (метод Коха) по стандартной методике авторской модификации [1]. Для определения биосовместимости *in vivo* применялась методика, предусмотренная ГОСТ ISO 10993-1-2011 в авторской модификации [1].

Результаты. Элементный состав синтезированных порошков $ZnGA$ по результатам РСМА показывает, что мольное отношение элементов $(Ca+Zn)/P$ составляет 1,4-1,9, что соответствует отношению элементов Ca/P для костной ткани (1,4-2,0) [1]. Элементный анализ, проведенный после извлечения образцов из организма экспериментальных животных показал, что концентрация ионов цинка на поверхности имплантатов снижается примерно на 20-40%. При этом чем выше начальная концентрация цинка в образцах, тем выше его выход из них.

Таблица 1

Результаты элементного анализа образцов группы $ZnGA$

Образец x (Zn^{2+} , mol)	Содержание элементов, %				
	О	Са	Р	Zn	$\frac{Ca+Zn}{P}$
До эксперимента <i>in vivo</i>					
0.1	67.47	18.76	13.69	0.18	1.38
0.5	67.84	18.57	12.99	0.72	1.64
0.9	70.94	18.08	9.93	1.06	1.93
После эксперимента <i>in vivo</i>					
0.1	64.90	22.59	12.15	0.12	1.86
0.5	64.58	22.87	12.17	0.36	1.90
0.9	65.04	21.70	12.41	0.83	1.81

Исследованные образцы проявили антибактериальную активность различной интенсивности. При этом образец $Zn_{0,1}GA$ не оказал подавляющего воздействия на численность кишечной палочки. Численность бактерий в жидкой среде с этим образцом несколько меньше, чем в контрольной пробе, но статистически достоверность различий не установлена ($p > 0,05$).

Образцы $Zn_{0,5}GA$ и $Zn_{0,9}GA$ проявили антибактериальную активность, уменьшив численность бактерий по сравнению с контрольной пробой. Образец $Zn_{0,9}GA$ проявил самую высокую антибактериальную активность среди всех исследованных образцов, уменьшив численность бактерий почти на порядок ($p < 0,001$). Немодифицированный гидроксиапатит (GA) также обладал антимикробной активностью ($p < 0,05$). Его антимикробная активность и цитотоксичность в исследованиях *in vivo*

примерно равна образцу $Zn_{0,1}ГА$. Следовательно, образец $Zn_{0,1}ГА$ приблизительно по своему биологическому действию приблизительно равен ГА.

Таблица 2

Результаты изучения антимикробной активности образцов группы ZnГА

№	Образец	КОЕ/мл
1	Контроль	$(3.96 \pm 0.62) \times 10^7$
2	$Zn_{0,1}ГА$	$(3.40 \pm 0.30) \times 10^7$
3	$Zn_{0,5}ГА$	$(2.15 \pm 0.28) \times 10^7$
4	$Zn_{0,9}ГА$	$(8.31 \pm 0.91) \times 10^6$

Таблица 3

Результаты изучения антимикробной активности ГА

№	Образец	КОЕ/мл
1	Контроль	$(1.98 \pm 0.91) \times 10^{10}$
2	ГА	$(1.01 \pm 0.49) \times 10^{10}$

В результате эксперимента *in vivo* обнаружено, что все исследованные материалы вызывали локальную реакцию отторжения различной интенсивности. Реакция местных тканей на все образцы группы ZnГА носила воспалительный характер, но не была некротической. Это подтверждается наличием интенсивного процесса васкуляризации и образованием выраженных фиброзных капсул. Локальный ответ на имплантаты группы ГА был аналогичен реакции группы $Zn_{0,1}ГА$, следовательно, уровни их цитотоксичности схожи. Средняя масса имплантатов перед началом эксперимента составляла 170-200 мг, а после завершения эксперимента – 175-210 мг ($p > 0.05$). Изменение массы имплантатов связано с вращением фиброзной ткани в их поверхность. Резорбции имплантатов во время нахождения в организме экспериментальных животных не обнаружено. Небольшое изменение массы может быть связано с небольшим выходом ионов из имплантатов. Низкая гемодиффузия на месте установки также может быть причиной отсутствия резорбции имплантатов.

Обнаружена связь между концентрацией цинка в образце и его токсическими эффектами. Образцы с высоким содержанием ионов цинка вызывали более сильные токсические эффекты, чем образцы с низким содержанием цинка.

Заключение. Модифицированные ионами цинка гидроксиапатиты обладают существенной антимикробной активностью. Несмотря на некоторую цитотоксичность, данные образцы не вызывали существенных изменений как во внутренних органах, так и в общем состоянии лабораторных животных в течение всего эксперимента.

Работа выполнена в рамках научного проекта при поддержке Программы повышения конкурентоспособности ТГУ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Lytkina D. Gutsalova A., Fedorishin D. [et al.]. Synthesis and Properties of Zinc-Modified Hydroxyapatite // Journal of Functional Biomaterials. – 2020. – V. 11. – № 10. – P. 1-12.
2. Cox, S.C.; Jamshidi, P.; Grover, L.M.; Mallick, K.K. Preparation and characterisation of nanophase Sr, Mg, and Zn substituted hydroxyapatite by aqueous precipitation. Mater. Sci. Eng. C Mater. Biol. Appl. – 2014, – № 35. – P. 106–114.