

Bogdan BIAŁAS*, Bartłomiej KITA**, Maciej PAWLIKOWSKI***,
Wiesław POSPUŁA**

PRELIMINARY STUDIES OF SYNTHETIC HYDROXYAPATITES AND THEIR APPLICATION TO BONE GRAFTS

Abstract. The paper presents the results of synthesis of hydroxyapatites from which a substance was formed with macroscopic features similar to the natural mineral framework of bone. This substance was grafted into the shin-bone (tibia) and thigh-bone (femur) of four rabbits. During the healing of grafts the rabbits were under systematic radiologic control. After 6 weeks, 6 months and 13 months, the rabbits were killed and their bones with grafts were subjected to mineralogical and histological studies. It was found that synthetic apatite did not show any changes, while the mineral part of bone tissue surrounding the graft had an elevated Zn content. Zn originated from the admixture of phosphate cement that had been used as hardener for hydroxyapatites. Histological studies revealed that the graft was treated as a foreign body. The fibrous connective tissue enveloping the graft did not show any tendency to penetrate into the graft, nor did it show any evidence of bone metaplasia. It displayed, however, the histological features of chronic productive inflammation.

INTRODUCTION

Considering the facts that transplantation techniques are still imperfect, and that serious difficulties are encountered in procuring autografts and in their effective application to orthopaedic surgery, an attempt was made to produce a synthetic preparation capable of replacing the ones used to-date. It was assumed that such a substance should have high biological tolerance and osteoinductive properties. These conditions should be satisfied by synthetic apatite, which is an equivalent of natural apatite occurring in bones.

The studies of synthesis of bone apatites have a history of long standing (Freeman, Fenn 1953; Termine, Posner 1967; Blitz, Pellegrino 1977, and others). The synthesis of apatites of different types has been carried out for a long time with a view to investigating indirectly the natural mineral constituents of bones (Termine, Posner 1967; McConnel 1970; Posner, Betts 1975; Boskey, Posner 1976), and specifically to determining the position of PO_4^{3-} and CO_3^{2-} groups in the structure of bone

* Department II of Pathomorphology, Silesian Medical Academy, 40-751 Katowice, ul. Medyków 14.

** Orthopaedic Clinic, Medical Academy, 31-563 Kraków, ul. Kopernika 19a.

*** Institute of Geology and Mineral Deposits, Academy of Mining and Metallurgy in Cracow, 30-059 Kraków, al. Mickiewicza 30.

apatites (Brown 1966; Blitz, Pellegrino 1977). It is only a few years since attempts were made to use phosphate synthetic substances (Nanocollas, Mohan 1970; Francis, Webb 1971; Pokric, Pucar 1979; McLean, Nelson 1982; Boskey, Posner 1973; Eanes *et al.* 1973; Moreno *et al.* 1977) and various ceramic materials for bone grafts (Jarcho *et al.* 1979; Bieniek 1979, Akao *et al.* 1982). The latest scientific reports (Mittelmeier, Grabowski 1983 a, b) inform about excellent results of grafting fine-grained apatite mixed with synthetic collagen (Colapat).

EXPERIMENTAL

MINERALOGICAL STUDIES

The first step in the studies was to investigate the mineralogical and chemical compositions of bones derived from people deceased at different age. The results served as a basis for the synthesis of apatite, from which porous cubes were formed after mixing with phosphate cement. In the studies of both apatite and bones the following methods were used: X-ray diffractometry, infrared spectroscopy, and electron microprobe analysis. In addition, radiologic and histological investigations were performed.

X-ray diffraction patterns were obtained with a DRON 2.5 diffractometer, using monochromated $\text{CuK}\alpha$ radiation. Infrared absorption spectra were recorded with a Zeiss (Jena) UR-10 spectrometer, using KBr discs. Electron microprobe analysis was carried out with a Cameca S₄ X-ray probe on bone samples embedded in epidian, polished and coated with gold, from which soft tissue had been removed. Radiographs were obtained with a "Farum" Multax DX-60 apparatus.

HISTOLOGICAL STUDIES

After fixation in 10% solution of neutralized formalin, bone segments were dehydrated and then embedded in a mixture of n-methyl and n-butyl methacrylates using Oclert's method. The methacrylate blocks were sliced in the plane parallel to the long axis of bone with a Jung K-2 bone microtome. The obtained sections were dyed with haematoxylin and de Colle eosin using von Koss's method, with Goldner trichrome, and by toluidine method.

RESULTS

SYNTHESIS OF APATITE

Apatite was synthesized with a modified method (Blitz, Pellegrino 1977) under thermostatic conditions (40°C), using a mixture of 1.5 M K_2HPO_4 and 1.0 M KHCO_3 solutions acidified with HCl. Then the mixture was treated with 1 M CaCl_2 and its pH was adjusted to 6.4, using 1 M KOH solution. At this value of pH gelatinous phosphate substance was precipitated, centrifuged in an ultracentrifuge (7.000 r.p.m.) and then left to dry at 40°C. After pulverization, the obtained apatite was subjected to X-ray and infrared spectroscopic analyses.

X-ray diffraction analysis (Fig. 1) has shown that the size of apatite crystallites forming in the gelatinous phosphate substance depends on the drying conditions. Short, intense drying resulted in the crystallization of apatite of a crystallite size and d_{hkl} values similar to those observed in natural bone apatites. Longer, less intense dehydration and crystallization of phosphate gel increased the size of crystallites.

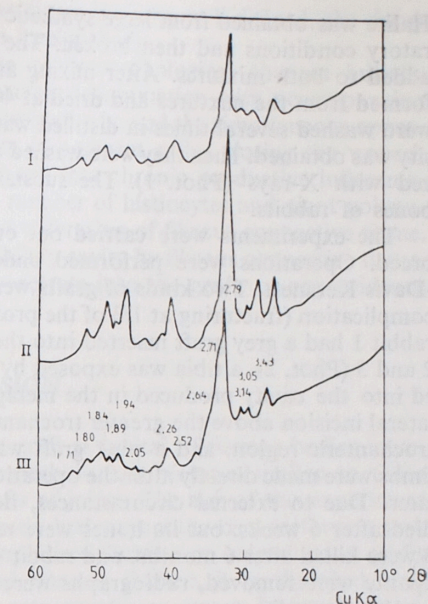


Fig. 1. X-ray diffraction patterns
I — synthetic apatite (48-hour crystallization, 40°C),
II — synthetic apatite (96-hour crystallization, 20°C),
III — natural apatite; femur of a boy aged 13

This was reflected in X-ray diffraction patterns as the sharpening and heightening of the respective d_{hkl} peaks of apatite.

Infrared spectroscopic analysis has revealed that the absorption bands of synthetic apatite are very similar to those of natural bone apatite (Fig. 2). The weak absorption between 1420 and 1450 cm^{-1} was attributed to a small amount of acid carbonates. The other absorption bands occurred in the regions characteristic of natural bone apatite.

To harden the synthetic substance and obtain suitable porosity, powdered apatite was mixed with phosphate cement of two types, a cement hardener and halite crystals. Pink and grey phosphate cements were used. After several tests, mixtures were made in the following proportions:

	apatite	cement	halite	hardener
I apatite + pink cement	16 g	8 g	10 g	10 cm^3
II apatite + grey cement	8 g	8 g	10 g	10 cm^3

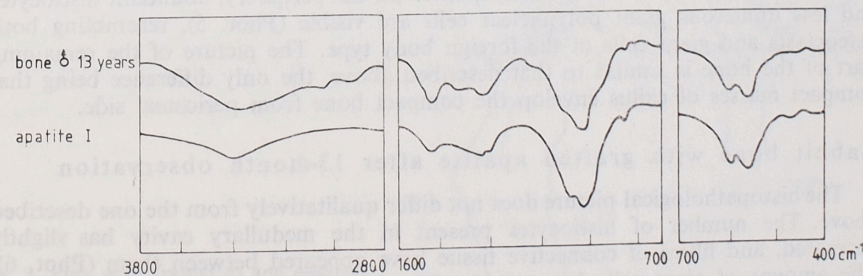


Fig. 2. Infrared absorption spectra
Lower curve — synthetic apatite, upper curve — natural apatite; femur of a boy aged 13

Halite was obtained from large synthetic crystals that were crystallized under laboratory conditions and then broken. The 0.2—0.4 mm fraction was separated and added to both mixtures. After mixing and treatment with a hardener, cubes were formed from the mixtures and dried at 40°C for 12 hours. On setting up, the cubes were washed several times in distilled water and in 0.5 N HCl until optimum porosity was obtained. Then they were washed again in redistilled water, dried and sterilized with X-rays (Phot. 1). The substance prepared in this way grafted into the bones of rabbits.

The experiments were carried out on 9-month-old rabbits (male) of the same breed. Operations were performed under intravenous anaesthesia with a Parke-Davis Ketanest. Two kinds of grafts were used: pink and grey. Because of surgical complication (fracturing at 1/3 of the proximal part of femur shaft during chiselling), rabbit 1 had a grey graft inserted into the medullary cavity of both chips. In rabbits 2 and 3 (Phot. 2), a tibia was exposed by medial incision, and grey grafts were pressed into the cavity produced in the metaphysis. In rabbit 4 a femur was exposed by lateral incision above the greater trochanter, a 3×5 mm hole was drilled in the intertrochanteric region, and a pink graft was pressed in. The radiographs of operated limbs were made directly after the operations, and control radiographs 3 and 6 months later. Due to external circumstances, not connected with the operation rabbit 1 died after 6 weeks, but its bones were recovered for further studies. Rabbits 2 and 3 were killed after 6 months, and rabbit 4 after 13 months. Their bones with grafted apatite were removed, radiographs were made (Phot. 4), and the bones were fixed in 10% formalin.

HISTOLOGICAL STUDIES

Rabbit bone with grafted apatite after 6-week observation

Partly preserved homogeneous masses of hydroxyapatite are visible inside the medullary cavity (Phot. 4). They are surrounded by necrotic masses and purulent inflammatory exudate. Among the remains of cancellous bone trabeculae, numerous thin-walled blood vessels and proliferating young fibrous connective tissue can be observed. The compact bone does not show any deviations, and liberal proliferation of fibrous connective tissue with bone metaplasia has been noticed around it.

Rabbit bone with grafted apatite after 6-month observation

The graft is surrounded by a thin layer of young fibrous connective tissue. The boundary between the graft and tissue is sharp, well-defined, the tissue showing no evidence of penetration into hydroxyapatite. On the periphery, abundant histiocytes and less numerous giant polynuclear cells are visible (Phot. 5), resembling both osteoclasts and giant cells of the foreign body type. The picture of the remaining part of the bone is similar to that described above, the only difference being that compact masses of callus envelop the compact bone from periosteal side.

Rabbit bone with grafted apatite after 13-month observation

The histopathological picture does not differ qualitatively from the one described above. The number of histiocytes present in the medullary cavity has slightly decreased, and fibres of connective tissue have appeared between them (Phot. 6). The amount of giant cells has considerably decreased. Fibrous connective tissue forms a broad band round the grafted hydroxyapatite (Phot. 7). The boundary bet-

ween apatite and the enveloping connective tissue is sharp, well-defined, the tissue showing no tendency to penetrate into the foreign body.

As appears from the observation, the pathomorphological changes initially involved the development of exudative purulent inflammation with accompanying necrosis in the medullary cavity round the foreign body, and the simultaneous appearance of compensatory reaction in the form of compact callus closing the wound. Subsequently the purulent inflammation turned into chronic productive inflammation consisting in the appearance of a large number of histiocytes and giant polynuclear cells round the foreign body, and the proliferation of fibrous connective tissue. The foreign body was isolated from the medullary cavity by fibrous connective tissue. The tissue did not show any tendency to penetrate into the graft, or any evidence of bone metaplasia.

DISCUSSION

The observed reaction to hydroxyapatite graft is typical of foreign bodies introduced into the medullary cavity. The histopathological pictures similar to those described have been observed round allografts of joints. The aim of this experiment was to find out whether the obtained synthetic hydroxyapatite can perform a task similar to that performed at present by lyophilized human or animal bone grafts in orthopaedic surgery. When a lyophilized bone is grafted, it is absorbed, and simultaneously the graft stimulates organic osteogenetic processes. In consequence, the lyophilized bone graft becomes a framework on the basis of which the organic tissue is restored. The graft of synthetic hydroxyapatite mixed with phosphate cement failed to act in this way. It was isolated from the bone by a connective tissue capsule. It is feasible that the poor porosity of hydroxyapatite, and especially the admixtures of dental cement and halite are responsible for this behaviour. Porous grafts of synthetic hydroxyapatite act, at least partly, as stimulators.

The mineralogical studies of the bones with grafts have revealed that the chemical composition of grafts does not show any significant changes. It has been found that the natural bone surrounding the pink graft (rabbit 4 after 13 months) has an increased Zn content due to the migration of this element from the graft (an admixture of dental cement — Zn phosphate) to the native bone tissue. The zone of ele-

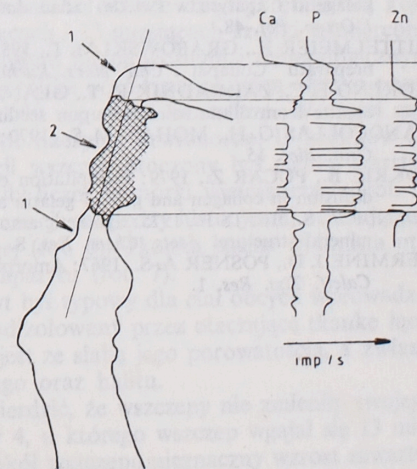


Fig. 3. Pink graft (rabbit 4) and electron microprobe analysis
1 — bone, 2 — graft

vated Zn content (about 0.1%) has a maximum thickness of 2 mm. At the same time, a slight increase in P content has been noted in this zone in the natural bone (Fig. 3). In bones in which the healing process was shorter, no significant changes have been observed.

The above studies indicate that further experimental work should aim at producing pure synthetic apatite with a structure showing better porosity.

Translated by Hanna Kisielewska

REFERENCES

- AKAO M., AKOI H., KATO K., SATO A., 1982: Dense polycrystalline β -tricalcium phosphate for prosthetic application. *J. Mat. Sci.* 7.
- BIENIEK J., 1979: Badania doświadczalne nad zastosowaniem porowatego materiału ceramicznego w chirurgii urazowo-ortopedycznej. Habilitation thesis. Medical Academy, Wrocław.
- BLITZ M., PELLEGRINO E. D., 1977: The nature of bone carbonate. *Clin. Orthop. Rel. Res.* 129.
- BOSKEY A. L., POSNER A. S., 1973: Kinetics of conversion of amorphous calcium phosphate to microcrystalline hydroxyapatite. *J. Phys. Chem.* 77.
- BOSKEY A. L., POSNER A. S., 1976: Formation of hydroxyapatite at low supersaturation. *J. Phys. Chem.* 80.
- BROWN W. E., 1966: Crystal growth of the bone mineral. *Clin. Orthop.* 44.
- EANES E. D., GILLESSEN J. H., POSNER A. S., 1965: Intermediate states in the precipitation of hydroxyapatite. *Nature* 208.
- EANES E. D., TERMINE J. D., NYLEN M. V., 1973: An electron microscope study of the formation of amorphous calcium sulphate and its transformation to crystalline apatite. *Calcif. Tiss. Res.* 12.
- FRANCIS E. D., WEBB N. C., 1971: Hydroxyapatite formation from hydrated calcium monohydrate phosphate precursor. *Calcif. Tiss. Res.* 6.
- FREEMAN F. H., FENN W. O., 1953: Changes in carbon dioxide stores due to atmospheres low in oxide or high carbon dioxide. *Am. J. Physiol.* 174.
- JARCHO M., SALSBURY R. L., THOMAS M. B., DOREMUS R. H., 1979: Synthesis and fabrication of β -tricalcium phosphate (whitlockite) ceramics for potential prosthetic application. *J. Mat. Sci.* 14.
- McCONNEL D., 1970: Crystal chemistry of bone mineral hydrated carbonate apatites. *Am. Miner.* 55.
- McLEAN J. D., NELSON D. G. A., 1982: High-resolution n-beam lattice images of hydroxyapatite. *Micron* 13.
- MITTELMEIER H., GRABOWSKI M. T., 1983: Wypełnianie ubytków kostnych mieszaniną kolagenu i apatytu w świetle badań doświadczalnych na zwierzętach. *Chir. Narz. Ruchu i Ortop. Pol.* 48.
- MITTELMEIER H., GRABOWSKI M. T., 1983: Gojenie się ubytków kostnych po zastosowaniu preparatu "Collapat". *Chir. Narz. Ruchu i Ort. Pol.* 48.
- MORENO E. C., ZAHRADNIK R. T., GLANZMAN A., HWU, 1977: Precipitation of hydroxyapatite from dilute solutions upon seeding. *Calcif. Tiss. Res.* 24.
- NANOCOLLAS G. H., MOHAN M. S., 1970: The growth of the hydroxyapatite crystal. *Arch. Oral. Biol.* 15.
- POKRIC B., PUCAR Z., 1979: Precipitation of calcium phosphates under conditions of double diffusion in collagen and gels of gelatin and agar. *Calcif. Tiss. Int.* 27.
- POSNER A. S., BETTS F., 1975: Synthetic amorphous calcium phosphate and its relation to bone mineral structure. *Accts. Chem. Res.* 8.
- TERMINE J. D., POSNER A. S., 1967: Amorphous crystalline interrelationship in bone mineral. *Calcif. Tiss. Res.* 1.

REZULTATY WSTĘPNYCH BADAŃ NAD SYNTEZĄ HYDROKSYAPATYTÓW I ICH ZASTOSOWANIEM W UZUPEŁNIANIU UBYTKÓW KOSTNYCH

Streszczenie

Po rozpoznaniu składu mineralnego i chemicznego kości ludzi zmarłych w wieku od 13 do 86 lat podjęto próbę syntezy apatytu w celu wytworzenia apatytowych, porowatych, kościopodobnych kształtek, które następnie wszczepiono królikom. Syntezę apatytu wykonano w roztworach wodnych K_2HPO_4 i $KHCO_3$ obniżając pH za pomocą HCl i zadając roztworem $CaCl_2$. Tak otrzymaną mieszaninę alkaliczowano wodnym roztworem KOH utrzymując strącanie żelu fosforanowego w pH 6,4. Otrzymany żel odwirowano i suszono, aby następnie sproszkować go i poddać badaniom rentgenowskim oraz spektroskopowym w podczerwieni.

Stwierdzono, że w zależności od warunków krystalizacji różna jest wielkość krystalitów tworzącego się apatytu. Szybkie suszenie żelu fosforanowego doprowadziło do powstania apatytu o wartościach d_{hkl} bardzo zbliżonych do apatytów kostnych (fig. 1). Równocześnie rozmycie poszczególnych refleksów wskazuje na to, że wielkość krystalitów syntetycznego apatytu jest zbliżona do wielkości krystalitów w apatycie kostnym. Z badań w podczerwieni wynika, że pasma absorpcji otrzymanego apatytu są bardzo zbliżone do pasm otrzymanych dla apatytu otrzymanego z kości człowieka (fig. 2).

Po wykrystalizowaniu i sproszkowaniu apatytu mieszano go w różnych proporcjach z dwoma rodzajami fosforanowego cementu dentystycznego oraz z kryształkami syntetycznego halitu (ziarna 0,2–0,4 mm). Otrzymano dwa typy porowatych substancji fosforanowych barwy szarej i różowej (fot. 11). Po odpłukaniu halitu i nadaniu kształtkom porowatości wysterylizowano je i wszczepiono czterem królikom tej samej rasy (fot. 2, 3). Operację wszczępienia wykonano w narkozie dożylnej Ketanestem firmy Parke-Devis. Pierwszemu królikowi założono wszczep do jamy szpikowej kości udowej. Królikom 2 i 3 wszczepu założono w rejon górnej przynasady piszczeli. Królikowi nr 4 wszczepu dokonano w okolicy międzykrętarzową kości udowej. Kolejno po 6 tygodniach, 6 miesiącach i 13 miesiącach króliki uśmiercono, a kości wraz z wszczepami poddano badaniom histologicznym i mineralogicznym.

Z badań histologicznych wynika, że u królika po 6-tygodniowym okresie obserwacji w okolicy wszczepu (fot. 4) wytworzyły się masy martwicze. W części gąbczastej wokół wszczepu pojawiły się cienkie naczynia krwionośne. U królików (nr 2, 3) po 6-miesięcznym okresie obserwacji wszczep otoczony był cienką warstwą tkanki łącznej zaś obwodowo widoczne były liczne komórki wielojądrzaste (fot. 5). U królika po 13-miesięcznym okresie obserwacji pomiędzy histocytami otaczającymi wszczep pojawiły się włókna tkanki łącznej (fot. 6). Tkanka łączna włóknista otaczała szerokim pasem wszczep hydroksyapatytu (fot. 7).

Odczyn na wszczępieniu hydroksyapatyt był typowy dla ciał obcych wprowadzonych do jamy szpikowej. Wszczep został odizolowany przez otaczającą tkankę łączną. Takie zachowanie wszczepu związane jest ze słabą jego porowatością, a zwłaszcza z domieszkami cementu fosforanowego oraz halitu.

Badania mineralogiczne pozwoliły stwierdzić, że wszczep nie zmieniły swojego składu chemicznego (fig. 3). U królika nr 4, u którego wszczep wgąjął się 13 miesięcy, obserwowano w strefie 2–3 mm wokół wszczepu nieznaczny wzrost zawarto-

ści Zn (do 0,1%), co związane jest z migracją tego pierwiastka z wszczeptu zawierającego fosforan Zn w postaci cementu dentystycznego.

Badania wykazały, że w dalszych pracach należy dążyć do wytworzenia syntetyku czysto apatytowego o znacznie większej porowatości.

OBJAŚNIENIA FIGUR

Fig. 1. Dyfraktogramy rentgenowskie

I — apatyt syntetyczny (krystalizacja 2 doby, temp. 40°C), II — apatyt syntetyczny (krystalizacja 4 doby, temp. 20°C), III — apatyt naturalny. Kość udowa chłopca 1. 13

Fig. 2. Krzywe absorpcji w podczerwieni

Dolna krzywa — apatyt syntetyczny, górna krzywa — apatyt naturalny. Kość udowa chłopca 1. 13

Fig. 3. Obraz wszczeptu różowego (królik nr 4) wraz z wynikami półilościowej analizy chemicznej wykonanej mikrosondą elektronową

1 — kość, 2 — wszczept

OBJAŚNIENIA FOTOGRAFII

Plansza I

Fot. 1. Kształtki wykonane z mieszaniny apatytu i cementu dentystycznego. A-typ I, B-typ II
Fot. 2. Rtg, rzut a-p. Królik nr 2 po sześciu miesiącach. Widoczny wszczept allogenny w okolicy bliższej przynasady piszczeli. Wokół widoczne lekkie rozrzedzenie struktury kostnej. Brak radiologicznych cech pełnego wgojenia wszczeptu. Obraz 1:1

Plansza II

Fot. 3. Rtg, rzut a-p. Królik nr 4 po 13 miesiącach. Widoczny wszczept allogenny w okolicy międzykrętarzowej. Radiologiczne cechy wgojenia. Obraz 1:1
Fot. 4. Przekrój przez kość udową. Królik nr 1 po 6 tygodniach. Wszczept typu II w jamie szpikowej. U dołu podziałka milimetrowa

Plansza III

Fot. 5. 6-miesięczny okres obserwacji. Obfity odczyn histiocytarny oraz komórki olbrzymie wielojądrowe. Pow. 40×6,3. Barwienie h+e de Colle
Fot. 6. Przekrój przez okolicę międzykrętarzową. Królik nr 4 po 13 miesiącach. Wszczept typu I (zaznaczony strzałką). U dołu podziałka milimetrowa

Plansza IV

Fot. 7. 13-miesięczny okres obserwacji. W lewej części mikrofotografii widoczny jest hydroksyapatyt, na prawo — otaczająca tkanka łączna. Pow. 40×10. Barwienie h+e de Colle

Богдан БЯЛАС, Бартоломей КИТА, Мацей ПАВЛИКОВСКИ, Веслав ПОСПУЛА

РЕЗУЛЬТАТЫ ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ В ОБЛАСТИ СИНТЕЗА ГИДРОКСИЛАПАТИТОВ И ИХ ПРИМЕНЕНИЯ В ДОПОЛНЕНИИ УБЫТКОВ КОСТЕЙ

Резюме

После изучения минерального и химического составов костей людей, скончавшихся в возрасте от 13 до 86 лет, предпринято попытку синтеза апатита с целью получения апатитовых, пористых костеподобных фасонных форм, которые затем имплантированы кроликам. Синтез апатита проведен в водных растворах K_2HPO_4 и $KHCO_3$, уменьшая pH с помощью HCl и добавляя раствор $CaCl_2$. Так полученная смесь подщелачивалась водным раствором KOH, удерживая выпадение фосфатного геля при pH=6,4. Полученный гель центрифугировался и просушивался, чтобы затем превратить его в порошок и подвергнуть рентгеновским и ИК-спектроскопическим исследованиям.

Обнаружено, что в зависимости от условий кристаллизации получают разные размеры кристаллитов образующегося апатита. Быстрая просушка фосфатного геля привела к образованию апатита с значением d_{hkl} весьма близким апатитам костей (фиг. 1). Одновременно размытие отдельных отражений указывает на то, что размеры кристаллитов синтетического апатита сближены к размерам кристаллитов в костном апатите. Из ИК исследований следует, что полосы поглощения полученного апатита близки полосам, полученным для апатита человеческих костей (фиг. 2).

После кристаллизации и измельчения апатит смешивался в разных пропорциях с двумя родами фосфатного зубного цемента, а также с кристалликами искусственного галита (зерна 0,2—0,4 мм). Были получены два типа пористого фосфатного вещества серого и розового цвета (фото 1). После удаления галита промывкой и придания фасонным формам пористости они стерилизовались а затем были имплантированы четырем кроликам такой же самой породы (фото 2, 3). Операции имплантации предшествовало проведение внутривенного наркоза кетанестом фирмы Парк-Девис. Первому кролику имплантат внедрен в костно-мозговую полость бедренной кости. Кроликам 2 и 3 имплантаты внедрены в район верхнего приэпифиза большой берцовой кости. Кролику № 4 имплантат внедрен в межвертлужную окрестность бедренной кости. Спустя 6 недель, 6 и 13 месяцев кролики поочередно умерщвлялись, а кости вместе с имплантатами подвергались гистологическим и минералогическим исследованиям.

Из гистологических исследований следует, что у кролика после 6-недельного периода наблюдения в окрестности имплантата образовалась омертвевшая зона (фото 4). В ноздреватой части вокруг имплантата появились тонкие кровеносные сосуды. У кроликов (№ 2, 3) после 6-месячного срока наблюдения имплантат окружен был тонким слоем соединительной ткани, а по периметру заметны были многочисленные многоядерные клетки (фото 5). У кролика после 13-месячного срока наблюдения между обрамляющими имплантат гистоцитами появились волокна соединительной ткани (фото 6). Волокнистая соединительная ткань широкой полосой окаймляла имплантат гидроксилапатита (фото 7).

Реакция на имплантированный гидроксилапатит была типична для инород-

ных тел, введенных в костно-мозговую полость. Имплантат был изолирован окружающей соединительной тканью. Такое сохранение имплантата связано со слабой его пористостью, в частности с примесью фосфатного цемента, а также галита.

Минералогические исследования позволили выявить, что имплантаты не изменили свой химический состав (фиг. 3). У кролика № 4, у которого имплантат заживал 13 месяцев, в зоне 2—3 мм вокруг имплантата наблюдалось незначительное увеличение содержания Zp (до 0,1%), что связано с миграцией этого элемента из имплантата, содержащего фосфат Zp в виде зубного цемента.

Исследования показали, что в дальнейших работах следует стремиться к созданию чисто апатитового синтетического продукта значительно большей пористости.

ОБЪЯСНЕНИЯ К ФИГУРАМ

Фиг. 1. Рентгеновские дифрактограммы

I — искусственный апатит (кристаллизация 2 суток, темп. 40°C), *II* — искусственный апатит (кристаллизация 4 суток, темп. 20°C), *III* — естественный апатит. Бедренная кость подростка 13-летнего возраста

Фиг. 2. ИК-кривые поглощения

Нижняя кривая — искусственный апатит, верхняя кривая — естественный апатит. Бедренная кость подростка 13-летнего возраста

Фиг. 3. Изображение розового имплантата (кролик № 4) вместе с результатами полуколичественного анализа на микрозонде

1 — кость, *2* — имплантат

ОБЪЯСНЕНИЯ К ФОТОГРАФИЯМ

Таблица I

Фото 1. Фасонные формы, сделанные из смеси апатита и зубного цемента. *A* — тип I, *B* — тип II

Фото 2. Рентгеновский снимок, проекция *a-p*. Кролик № 2 шесть месяцев спустя. Заметен аллогенный имплантат в окрестности ближнего эпифиза большой берцовой кости. Вокруг заметно небольшое разрежение костной структуры. Отсутствие радиологических признаков полного заживления имплантата. Изображение 1:1

Таблица II

Фото 3. Рентгеновский снимок, проекция *a-p*. Кролик № 4 13 месяцев спустя. Заметен аллогенный имплантат в межвертлужной окрестности. Налицо радиологические признаки заживления. Изображение 1:1

Фото 4. Разрез бедренной кости. Кролик № 1 шесть недель спустя. Имплантат типа II в костно-мозговой полости. Внизу масштаб в миллиметрах

Таблица III

Фото 5. 6-месячный период наблюдения. Обильная гистоцитарная реакция, а также огромные многоядерные клетки. Увел. 40 × 6,3. Окраска h + e de Colle

Фото 6. Разрез через межвертлужную окрестность. Кролик № 4 13 месяцев спустя. Имплантат типа I (отмечен стрелкой). Внизу масштаб в миллиметрах

Таблица IV

Фото 7. 13-месячный период наблюдения. В левой части микрофотографии заметен гидроксилapatит, на право — окружающая соединительная ткань. Увел. 40 × 10. Окраска h + e de Colle

EXPLANATIONS OF PLATES

Plate I

Phot. 1. Cubes made from a mixture of apatite and dental cement. *A* — type I, *B* — type II

Phot. 2. Radiograph, *a-p* view. Rabbit 2 after 6 months. Visible is allograft in the metaphysial region of tibia. Slight demineralization of bone texture visible all around. Lack of radiologic traits of complete healing of graft. Full size scale

Plate II

Phot. 3. Radiograph, *a-p* view. Rabbit 4 after 13 months. Visible is allograft in the intertrochanteric region. Radiologic traits of healing. Full size scale

Phot. 4. Section through femur. Rabbit 1 after 6 weeks. Type II graft in the medullary cavity. Millimetre scale at the bottom

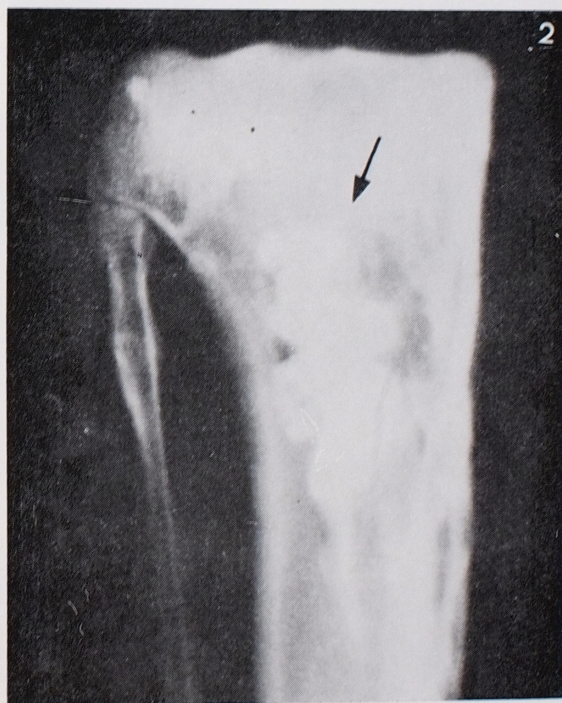
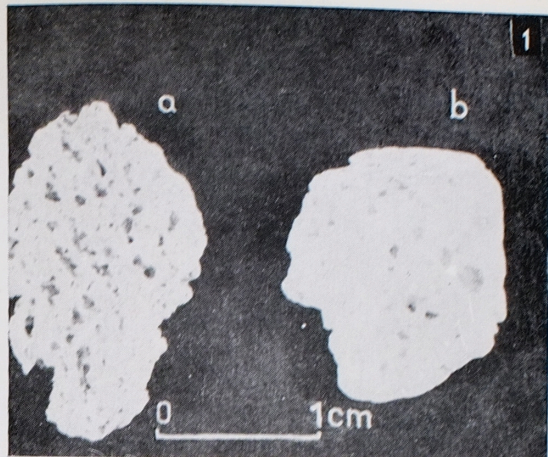
Plate III

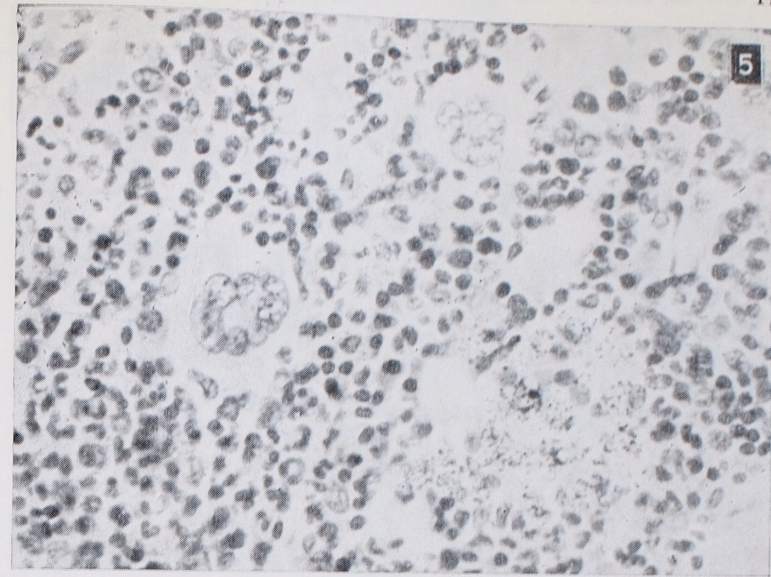
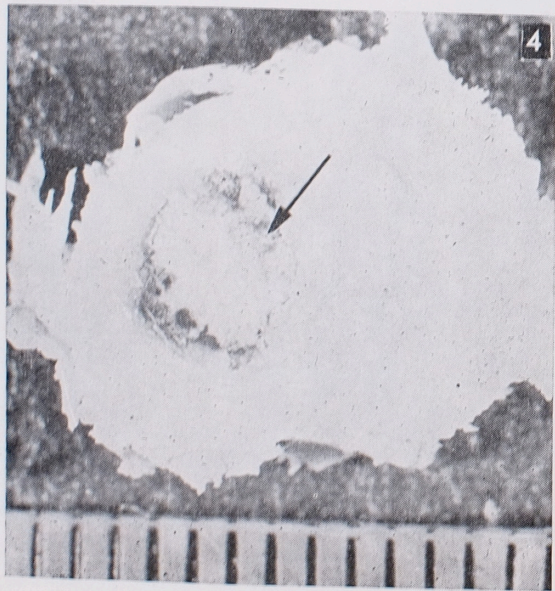
Phot. 5. 6-month observation. Abundant histiocytes and giant polynuclear cells. 40 × 6.3. Dyeing with haematoxylin and de Colle eosin

Phot. 6. Section through intertrochanteric region. Rabbit 4 after 13 months. Type I graft (marked with an arrow). Millimetre scale at the bottom

Plate IV

Phot. 7. 13-month observation. Hydroxyapatite is visible on the left-hand side, the enveloping connective tissue on the right. 40 × 10. Dyeing with haematoxylin and de Colle eosin





Bogdan Białas, Bartłomiej Kita, Maciej Pawlikowski, Wiesław Pospuła — Preliminary studies of synthetic hydroxyapatites and their application to bone grafts

Bogdan Białas, Bartłomiej Kita, Maciej Pawlikowski, Wiesław Pospuła — Preliminary studies of synthetic hydroxyapatites and their application to bone grafts

