

А.А. Яновская^{1,2}, В.Н. Кузнецов¹, А.С. Станиславов¹, Е.В. Гусак²,
М.В. Погорелов², С.Н. Данильченко¹

СТРУКТУРИРОВАННЫЕ МАТЕРИАЛЫ НА ОСНОВЕ ГИДРОКСИАПАТИТА И ЖЕЛАТИНА ДЛЯ БИМЕДИЦИНСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ

¹ Институт прикладной физики Национальной академии наук Украины
ул. Петропавловская, 58, Сумы, 40000, Украина, E-mail: biophy@yandex.ru

² Сумский государственный университет Министерства образования и науки Украины
ул. Римского-Корсакова, 2, Сумы, 40007, Украина

В данной работе получены композитные материалы гидроксиапатит-желатин (ГА–Ж) и гидроксиапатит-желатин-серебро (ГА–Ж–Ag), проведена оценка пористости полученных образцов и их тестирование *in vivo*, исследована морфология поверхности полученных композитов, фазовый состав и особенности химического взаимодействия между компонентами материалов. Основной фазой в полученных композитах является гидроксиапатит (ГА). Анализ результатов ИК-спектроскопии показал наличие взаимодействий между ГА и Ж, а также между желатином и ионами Ag⁺ в композитных материалах, полученных в процессе соосаждения из водных растворов. Материалы, содержащие серебро, являются биосовместимыми, резорбируемыми, имеют высокий уровень пористости (75–80 %) и обладают остеокондуктивными свойствами.

Ключевые слова: гидроксиапатит, желатин, композитные материалы, биосовместимость

ВВЕДЕНИЕ

Лечение заболеваний и травм костной ткани приводит к суммарным мировым потерям более 40 миллиардов евро ежегодно [1]. Более 50 % данных расходов включает в себя использование остеопластических материалов, протезов и имплантатов. Основными требованиями к остеопластическим материалам является их биосовместимость, способность к проникновению остеопотентных клеток и дальнейшему образованию костной ткани (остеокондуктивность) а также наличие стимулирующего воздействия на образование костной ткани (остеостимуляция). Использование скаффолдов для восстановления костной ткани является достаточно популярным, поскольку они представляют собой стабильные структурированные 3D системы, в которые возможна миграция остеопотентных клеток с дальнейшим ростом костной ткани. В настоящее время в изготовлении пористых имплантатов используются различные металлы, керамики и материалы биологического происхождения (коллаген, хитозан). Использование природных материалов возможно в сочетании с

гидроксиапатитом и фосфатами кальция – естественными составляющими костной ткани, что повышает биосовместимость и остеоиндуктивные свойства материалов.

Желатин является природным полимером, образующимся при гидролизе коллагена. В отличие от последнего, он более стабилен и проявляет меньшую антигенность, вследствие чего может быть эффективно использован в качестве компонента биоматериалов [2]. Желатин содержит биологически активные функциональные группы аминокислот и является перспективным материалом для регенерации костной ткани, в том числе в комбинации с гидроксиапатитом [3].

Пористость является одной из важнейших микроструктурных характеристик биоматериалов, существенно влияющих на их свойства: модуль упругости, предел текучести. Твердые соединительные ткани являются пористыми, пористость губчатой кости составляет от 50 до 90 % (диаметр пор составляет около 1 мм) [4, 5], обладают малой массой и прочностью [6], следовательно, материалы для замещения костных дефектов должны быть пористыми и биорезорбируемыми [7]. Установлено, что пористость

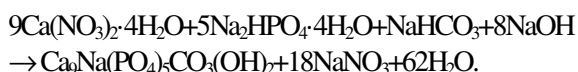
чистых желатиновых скаффолдов уменьшается при добавлении ГА [5].

В процессе взаимодействия материала имплантата и замещения его костной тканью происходят следующие стадии: клеточная фаза, волокнистая фаза и фаза зрелости [8]. Бактериальный воспалительный процесс часто имеет место на начальных стадиях внедрения имплантата в организм. Уменьшение воспаления на начальных стадиях имеет существенное влияние на последующее формирование костной ткани. В связи с этим целесообразно добавление антибактериальных компонентов в состав скаффолдов и других композитных материалов [9]. Антибактериальный эффект ионов серебра широко известен [10]. Поэтому в данной работе были синтезированы композитные материалы ГА–Ж и ГА–Ж–Ag, проведена оценка и сравнение их основных свойств и поведения *in vivo*.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Материалы и реактивы. В работе использованы реактивы $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, NaHCO_3 , NaOH , AgNO_3 квалификации «хч», а также фармацевтический желатин китайского производства (Zhengzhou Sino Chemical Co. Ltd).

Синтез композитных материалов. В качестве неорганической составляющей композитного материала был синтезирован карбонатапатит, поскольку именно он является основной минеральной составляющей костной ткани [10], согласно следующему уравнению реакции:



Композитный материал готовили соединением двух растворов. Первый раствор был получен следующим образом: к 0.1 М раствору $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ добавляли 0.84 г NaHCO_3 и перемешивали до полного растворения. Второй раствор содержал полимер (желатин) и $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$. Желатин вводили в процессе синтеза карбонат-содержащего апатита следующим образом: 5 % раствор желатина ($t = 80^\circ\text{C}$) добавляли к 0.06 М раствору $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, перемешивая и поддерживая температуру на том же уровне. Полученный раствор по каплям добавляли к первому раствору при постоянном

перемешивании, затем вводили 10 М раствор NaOH до получения $\text{pH} = 8$.

Продуктом реакции является однородный мелкодисперсный композит: он был разделен на 2 части (по 500 мл), в одну из которых добавлено 5 мл раствора AgNO_3 с концентрацией 10 г/л, другая часть осталась без изменений. После промывки полученных композитов дистиллированной водой pH составил 7.3. Старение полученных композитов в растворе осуществлялось на протяжении 48 ч. Далее образцы высушивали лиофильно и для сравнения – при обычных условиях на воздухе.

Оценка пористости и плотности. Пористость оценивали, используя метод вытеснения жидкости [12]. Этанол был выбран как вытесняющая жидкость, поскольку он легко проникает в открытые поры, не вызывая набухания или деформации [13].

Образец с известной сухой массой W погружали в градуированный цилиндр, содержащий известный объем (V_1) этанола, прижимали образец для проникновения в его поры этанола и выдерживали 24 часа. Общий объем оставшегося этанола и пропитанного скаффолда обозначали как (V_2), определяя уровень жидкости в цилиндре. Разница объемов ($V_2 - V_1$) составляет объем скаффолда. Пропитанный этанолом скаффолд удаляли из градуированного цилиндра, оставшийся объем этанола отмечали как V_3 . Пористость вычисляли по уравнению [14]:

$$P(\%) = \frac{(V_1 - V_3)}{(V_2 - V_3)} \times 100. \quad (1)$$

Для расчета плотности полученных композитов использовали формулу [15]:

$$d = \frac{W}{(V_2 - V_3)}. \quad (2)$$

Результаты представлены со средне-квадратичным отклонением, рассчитанным для трех образцов каждого композита.

Методы исследования. Анализ морфологии полученных композитов проведен с помощью сканирующего электронного микроскопа РЭММА-102 (ОАО «SELMI», Сумы, Украина), оптического электронного микроскопа Karl Zeiss Primo Star (Karl Zeiss Microimaging, GMBH, Germany) и цифрового фотоаппарата Canon PowerShot A1400.

Рентгенодифракционные исследования структуры материала были выполнены на автоматизированном дифрактометре ДРОН-4-07 (НПП «Буревестник», Россия). При съемке использовалось излучение $\text{Cu K}\alpha$ ($\lambda = 0.154 \text{ нм}$), фокусировка по Брэггу-Брентано θ - 2θ . Значения тока и напряжения на рентгеновской трубке составляли 20 мА и 40 кВ. Съемку образцов проводили в режиме непрерывной регистрации (скорость $1^\circ/\text{мин}$) в диапазоне углов 2θ от 10° до 60° . Идентификацию кристаллических фаз проводили с помощью картотеки JCPDS (Joint Committee on Powder Diffraction Standards).

Для идентификации структурных компонентов молекул использовали метод ИК-спектроскопии (спектрометр «Spectrum One», Perkin-Elmer, США). Твердые пробы перед анализом прессовали в таблетки с бромидом калия.

Исследования *in vivo*. Перед имплантацией композитные материалы стерилизовали, выдерживая 1 час в 96 % этаноле. Оценка реакции костной ткани на имплантированный материал выполнена на 12 крысах 6-месячного возраста, которые содержались в условиях вивария Медицинского института Сумского государственного университета. Животные были разделены на две группы по 6 животных в каждой. Под общим наркозом (кетамин, 7 мг/кг) с медиальной поверхности средней трети большеберцовой кости наносили дырчатый дефект электродрелью со сверлом диаметром 1.1 мм с постоянным промыванием физиологическим раствором. У животных 1-й группы дефект заполняли композитным материалом ГА-Ж в виде порошка, а у крыс второй группы – губчатым пористым материалом ГА-Ж-Аg. После этого раны зашивали и животных возвращали в виварий. Все манипуляции выполняли в условиях стерильной операционной.

Через 14 дней после нанесения травмы животных выводили из эксперимента путем передозировки наркотика. Эксперименты на крысах проводили согласно Закону Украины «О защите животных от жестокого обращения» (Закон Украины № 3447-IV от 21.02.2006), нормами «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемыми для экспериментов или в иных научных целях» (Страсбург, 1985). Зону трубчатой кости с

дефектом очищали от мягких тканей, выделяли и фиксировали в 10 % растворе нейтрального формалина, с дальнейшей декальцинацией в растворе Трилона Б и обезвоживанием в спиртах возрастающей концентрации. Далее препарат заливали парафином. Затем проводили нарезку гистологических срезов толщиной 7-мкм и окраску гематоксилин-эозином. Снимки гистологических препаратов получали на микроскопе Olympus. Проводили оценку морфометрических параметров с помощью программы SEO ImageLab.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Результаты измерений плотности и пористости полученных композитов на основе ГА и желатина представлены в таблице 1. Рассчитанная пористость композитов ГА-Ж и ГА-Ж-Аg находится в диапазоне 75–80 %, что соответствует пористости губчатой кости.

Таблица 1. Результаты измерений пористости и плотности полученных композитов

Образец	Плотность, d , г/см ³	Пористость, P , %
ГА-Ж	0,049±0,02	80±0,03
ГА-Ж-Аg	0,083±0,01	75±0,02

Плотность композитного материала при добавлении ионов Ag^+ в процессе синтеза увеличивается, что, вероятно, объясняется связыванием желатина с ионами серебра (рис. 1).

На рис. 1 представлены ИК-спектры синтезированных ГА-Ж и ГА-Ж-Аg композитов в сравнении со спектром ГА.

Характерные полосы при 1092, 1033, 961 и 603 см^{-1} относятся к валентным и деформационным колебаниям фосфатных групп: (ν_1 и ν_2) PO_4^{3-} – при 961 см^{-1} ; (ν_3) PO_4^{3-} при 562–566 см^{-1} и (ν_4) PO_4^{3-} при 603 см^{-1} [3]. Небольшая узкая полоса при 3573 см^{-1} соответствует валентным колебаниям OH^- ионов [17]. Полосы при 1416–1467 и 874 см^{-1} указывают на присутствие карбонатных групп [3, 18] и замещение ионами CO_3^{2-} групп PO_4^{3-} в кристаллической решетке гидроксипатита [17]. Карбонат-ионы могут появляться в структуре ГА в процессе синтеза благодаря поглощению CO_2 из окружающей среды [19, 20], однако в нашем случае они были целенаправленно введены в ходе синтеза. OH^-

связывание с ионами серебра отмечено на спектре ГА–Ж–Ag в области 2924 см^{-1} и N–H связывание при 1658 см^{-1} [21]. Основные

полосы поглощения структурных компонентов ГА и желатина представлены в табл. 2.

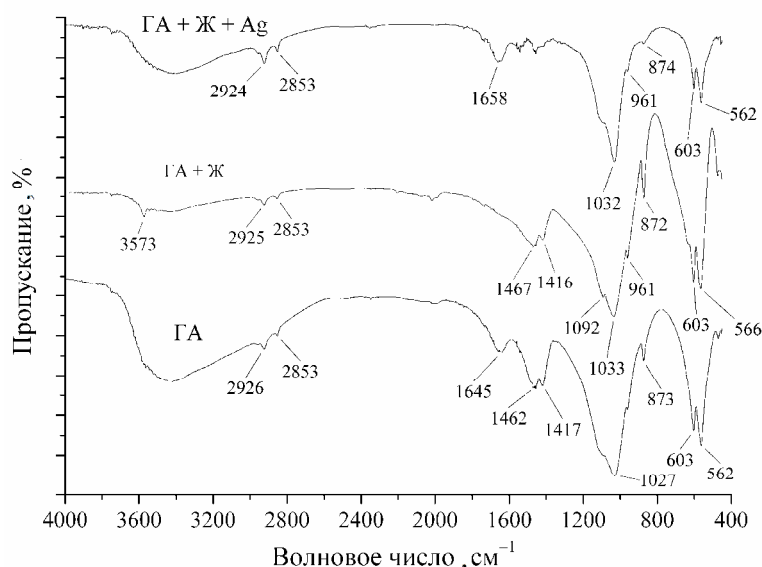


Рис. 1. ИК-спектры ГА и композитов ГА–Ж и ГА–Ж–Ag

Таблица 2. Характеристические волновые числа ГА, желатина и композита ГА-Желатин [22, 23]

Характеристическая группа	nГА, см^{-1}	Желатин, см^{-1}	nГА-Желатин, см^{-1}
– PO_4^{3-}	602		624
	950		954
	1034		1033
	1092		1089
–OH	630		622
	3572		3563
– CO_3^{2-}	873		870
	1421		1419
	1457		1450
Адсорбированная вода	1631		1630
Вода в кристаллической решетке	3410		3415
–C=O CH-валентное колебание		1631	1635
		2767	2746
		2840	2853
		2930	2880
–NH - валентное колебание		3336	3334
		3449	3460
–OH- в –COOH		3217–3593	исчезает
– CH_3		1391	1352
		1448	1450

Небольшое расхождение между волновыми числами на ИК-спектрах и приведенными, согласно литературных данных [22, 23], в таблице 2, можно объяснить взаимодействием между компонентами композитных мате-

риалов, в ходе которого произошло смещение пиков.

Формирование композитов при совместном осаждении гидроксиапатита и желатина позволяет получить материалы, в которых

установлено наличие взаимодействий между его составляющими. Добавление серебра в ходе синтеза сопровождается его связыванием с молекулами полимера.

Существенные отличия в плотности полученных композитных материалов наблюдаются в зависимости от способа их высушивания. Так, при лиофильном

высушивании композитов они в основном напоминают пористую губку, плотную и мягкую (б), иногда распадаются в порошок (а), а после высушивания на воздухе представляют собой плотный и твердый материал, морфология которого представлена на рис. 2 д, е.

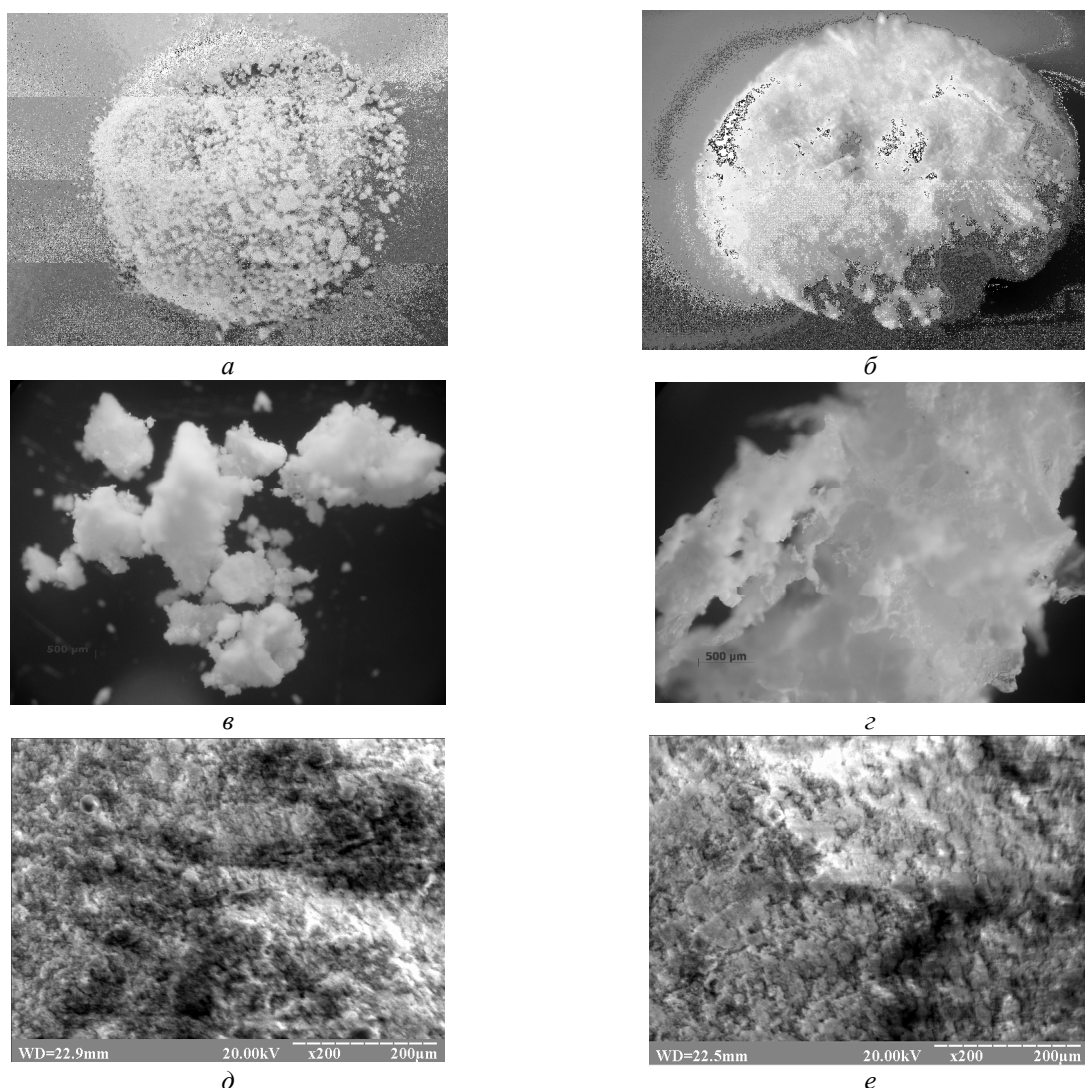


Рис. 2. Морфология субстратов ГА–Ж (а – общий вид, в – оптическая микроскопия, д – растровая электронная микроскопия) и ГА–Ж–Ag (б – общий вид, з – оптическая микроскопия, е – растровая электронная микроскопия)

Фазовый состав полученных композитов представлен ГА (карточка JCPDS 9-432) (рис. 3).

На нижнем рисунке приведена дифрактограмма желатина. Аморфное гало в районе $2\theta \sim 21.7^\circ$ соответствует непосредственно желатину [24], остальные пики отвечают примесям, присутствующим в реагенте.

Добавление желатина приводит к ухудшению кристалличности композитов, что прежде всего наблюдается по увеличению уширения, уменьшению интенсивности и ухудшению разрешаемости суперпозиции основных пиков ГА в районе $2\theta 30\text{--}35^\circ$, что подтверждается результатами, полученными в работе [24].

Гистологический анализ образцов костной ткани крыс проведен на 14 сутки после имплантации. Композитный материал ГА-Ж

имплантировали в виде порошка, а ГА-Ж-Аg – в виде пористого губчатого материала. Результаты представлены на рис. 4.

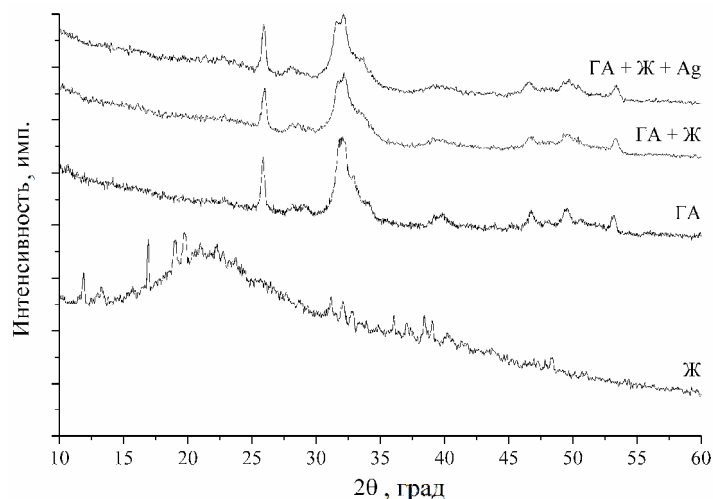


Рис. 3. Дифрактограммы желатина и гидроксиапатита, а также композитов ГА-Ж и ГА-Ж-Аg, полученных на их основе

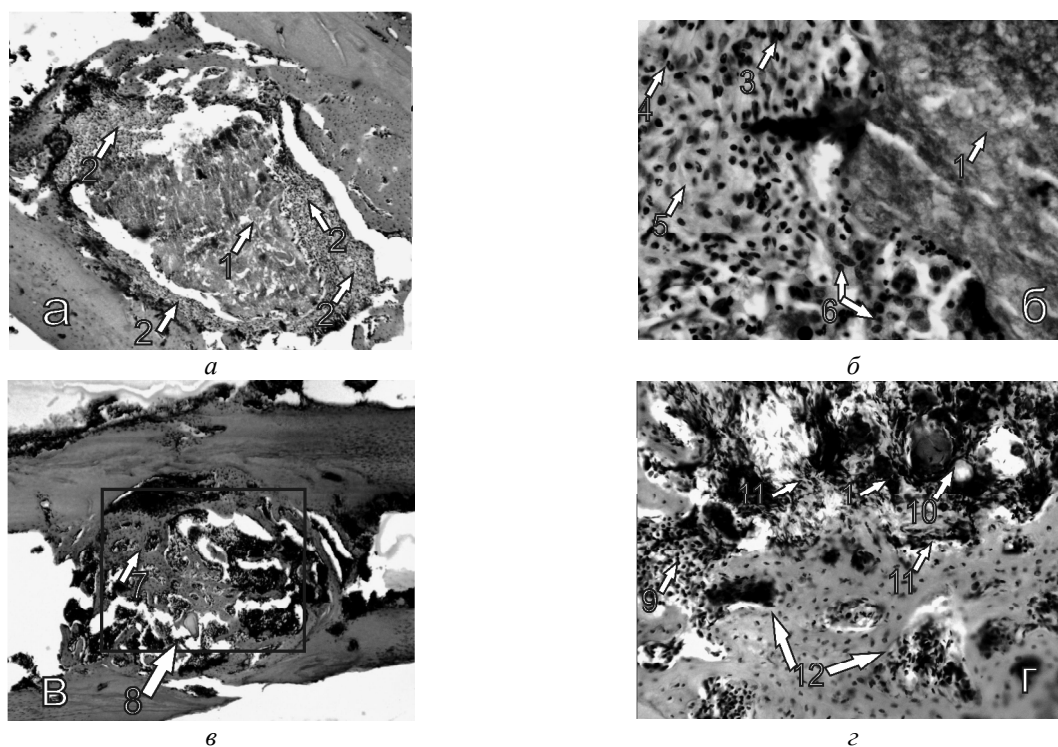


Рис. 4. Результаты гистологического исследования морфологии костной ткани с имплантированным композитным материалом: ГА-Ж (*а, б*) и ГА-Ж-Аg (*в, г*) на 14 сутки после имплантации (*а, в* – увеличение $\times 40$), (увеличение *а, в* – $\times 40$, *б* – $\times 200$, *г* – $\times 400$). Обозначения: 1 – материал имплантата, 2 – соединительнотканная капсула, 3 – лимфоцит, 4 – нейтрофил, 5 – соединительная ткань, 6 – клетки макрофагального ряда, 7 – грубоволокнистая костная ткань, 8 – зона регенерата, 9 – воспалительный инфильтрат, 10 – сосуд, 11 – соединительная ткань, 12 – грубоволокнистая костная ткань

Через 14 дней после операции вокруг имплантата ГА–Ж образуется соединительнотканная капсула толщиной $28,65 \pm 14,55$ мкм, сформированная хаотично ориентированными коллагеновыми волокнами. Кроме фибробластов, которые синтезируют волокна, клеточный состав капсулы представлен нейтрофилами и лимфоцитами, в области контакта капсулы с материалом визуализируются единичные макрофаги. В капсуле наблюдаются единичные сосуды. В данный срок наблюдения в порах имплантата рост тканевых структур и клеточных элементов не наблюдается, что свидетельствует об отсутствии остеокондуктивных свойств материала. Таким образом, композит ГА–Ж является инертным материалом и не стимулирует рост костной ткани.

На 14-е сутки после имплантации композитного материала ГА–Ж–Ag зона регенерата представлена остатками имплантата, что свидетельствует о его биодеградации. Поры материала и периферические отделы дефекта заполнены грубоволокнистой костной тканью, которая составляет 50 % от общей площади дефекта. Развитие костной ткани на месте имплантата свидетельствует о наличии остеокондуктивных свойств и возможной остеостимуляции. Поры грубоволокнистой костной ткани заполнены клетками красного костного мозга. Местами заметны скопления

лимфоцитов и нейтрофилов. По краям имплантата визуализируются остатки соединительнотканной капсулы, которая, возможно, была сформирована на первой стадии репаративной регенерации.

ВЫВОДЫ

Формирование композитов при совместном осаждении гидроксиапатита и желатина позволяет получить материалы, в которых установлено наличие взаимодействий между его составляющими. Добавление серебра в ходе синтеза сопровождается его связыванием с молекулами полимера.

При введении порошка ГА–Ж в костный дефект остеокондуктивные свойства отсутствуют, а вокруг имплантата образуется соединительнотканная капсула, в то время как для пористого композитного материала ГА–Ж–Ag с антибактериальным компонентом серебром биосовместимость и остеокондуктивные свойства существенно выше, о чем свидетельствует развитие костной ткани на месте имплантата и биодеградация композита на 14-й день имплантации.

БЛАГОДАРНОСТЬ

Авторы выражают благодарность к.ф.-м.н., доц. НТУ ХПИ Старикову В.В. за проведение ИК-спектроскопических исследований.

Структуровані матеріали на основі гідроксиапатиту і желатини для біомедичного застосування

Г.О. Яновська, В.М. Кузнєцов, О.С. Станіславов, Е.В. Гусак,
М.В. Погорєлов, С.М. Данильченко

*Інститут прикладної фізики Національної академії наук України
вул. Петропавлівська, 58, Суми, 40000, Україна, biophy@yandex.ru
Сумський державний університет Міністерства освіти і науки України
вул. Римського-Корсакова, 2, Суми, 40007, Україна*

В даній роботі одержано композитні матеріали гідроксиапатит-желатина (ГА–Ж) та гідроксиапатит-желатина-срібло (ГА–Ж–Ag), проведена оцінка пористості отриманих зразків та їх тестування in vivo, досліджена морфологія поверхні отриманих композитів, їх фазовий склад та особливості хімічної взаємодії між компонентами матеріалів. Основною фазою в одержаних композитах є гідроксиапатит (ГА). Аналіз результатів ІЧ-спектроскопії показав наявність взаємодії між ГА та желатиною, а також між іонами срібла та желатиною в композитних матеріалах, отриманих при спільному осадженні з водних розчинів. Отримані матеріали, що містять срібло, є біосумісними, піддаються біорезорбції та мають високий рівень пористості (75–80 %) та остеокондуктивні властивості.

Ключові слова: *гідроксиапатит, желатина, композитні матеріали, біосумісність*

Structured materials based on hydroxyapatite and gelatin for biomedical application

A.A. Yanovska, V.N. Kuznetsov, A.S. Stanislavov, E.V. Gusak,
M.V. Pogorelov, S.N. Danilchenko

*Institute of Applied Physics of National Academy of Sciences of Ukraine
58 Petropavlovskaya Str., Sumy, 40000, Ukraine, biophy@yandex.ru
Sumy State University, Medical Institute of Ministry of Education and Science of Ukraine
2 R. Korsakova Str., Sumy, 40007, Ukraine*

The composite materials hydroxyapatite-gelatin (HA-Gel) and hydroxyapatite-gelatin-Ag (HA-Gel-Ag) were obtained in this work. The estimation of porosity, in vivo testing, surface morphology and phase composition as well as the features of chemical interactions between material components were provided. The main phase in obtained composites is hydroxyapatite (HA). The analysis of IR-spectroscopy results reveals the interaction between hydroxyapatite and silver as well as between gelatin and silver ions in composite materials obtained by coprecipitation from aqueous solutions. The obtained silver-containing composite materials that contain silver are biocompatible and bio-resorbable with high level of porosity (75–85 %) and osteoconductive properties.

Keywords: hydroxyapatite, gelatin, composite materials, biocompatibility

ЛИТЕРАТУРА

1. Zethraeus N., Borgstorm F., Strom O. et al. Cost-effectiveness of the treatment and prevention of osteoporosis – a review of the literature and a references model // *Osteoporosis International*. – 2007. – V. 18. – P. 9–23.
2. Zhou Y., Zhao Y., Wang L. et al. Radiation synthesis and characterization of nanosilver/gelatin/carboxymethyl chitosan hydrogel // *Radiat. Phys. Chem.* – 2012. – V. 81. – P. 553–560.
3. Головань А.П., Ругаль А.А., Гунько В.М. и др. Моделирование костной ткани нанокомпозитными системами на основе гидроксиапатита-альбумина-желатина и их свойства // *Сб. Поверхность*. – 2010. – Т. 2, № 17. – С. 244–265.
4. Keaveny T.M., Morgan E.F., Niebur G.L., Yeh O.C. Biomechanics of trabecular bone // *Annual Rev. Biomedical Engineering*. – 2001. – V. 3. – P. 307–333.
5. Kailasanathan C., Selvakumar N., Vasant N. Structure and properties of titania reinforced nano-hydroxyapatite/gelatin bio-composites for bone graft materials // *Ceram. Int.* – 2012. – V. 38. – P. 571–579.
6. Mour M., Das D., Winkler T. et al. Advances in porous biomaterials for dental and orthopaedic applications // *Materials*. – 2010. – V. 3. – P. 2947–2974.
7. Сафронова Т.В., Путляев В.И. Медицинское неорганическое материаловедение в России: кальцийфосфатные материалы // *Наносистемы: физика, химия, математика*. – 2013. – Т. 4, № 1. – С. 24–47.
8. Хенч Л., Джонс Д. Биоматериалы, искусственные органы и инжиниринг тканей. – Москва: Техносфера, 2007. – 304 с.
9. Monteiro D.R., Gorup L.F., Takamiya A.S. et al. The growing importance of materials that prevent microbial adhesion: antimicrobial effect of medical devices containing silver // *Inter. J. Antimicrob. Agents*. – 2009. – V. 34. – P. 103–110.
10. Balazs D.J., Triandafillu K., Wood P. et al. Inhibition of bacterial adhesion on PVC endotracheal tubes by RF-oxygen glow discharge, sodium hydroxide and silver nitrate treatments // *Biomaterials*. – 2004. – V. 25. – С. 2139–2151.
11. Kikuchi M., Ikoma T., Itoh S. et al. Biomimetic synthesis of bone like nanocomposites using the self organization mechanism of hydroxyapatite and collagen // *Compos. Sci. Technol.* – 2004. – V. 64. – P. 819–825.
12. Guan J., Fujimoto K.L., Sacks M.S., Wagner W.R. Preparation and characterization of highly porous, biodegradable polyurethane scaffolds for soft tissue applications // *Biomaterials*. – 2005. – V. 26. – P. 3961–3971.
13. Han N., Johnson J.K., Bradley P.A. et al. Cell Attachment to Hydrogel-Electrospun Fiber Mat Composite Materials // *J. Funct. Biomater.* – 2012. – V. 3. – P. 497–513.
14. Maquet V., Boccaccini A.R., Pravata L. et al. Porous poly(α -hydroxyacid)/Bioglass® composite scaffolds for bone tissue engineering. I: preparation and in vitro characterisation // *Biomaterials*. – 2004. – V. 25, N 18. – P. 4185–4194.
15. Naghizadeh F., Sultana N., Kadir M.R. et al. The Fabrication and Characterization of PCL/Rice Husk Derived Bioactive Glass-Ceramic Composite Scaffolds // *J. Nanomater.* – 2014. – V. 2014. – P. 1–9.
16. Moldovan L., Craciunescu O., Oprita E.I. et al. Collagen-chondroitin sulfate-hydroxyapatite porous composites: preparation, characterization and in vitro biocompatibility testing // *Roum. Biotechnol. Lett.* – 2009. – V. 14, N 3. – P. 4459–4466.

17. Wei W., Sunb R., Jina Z. et al. Hydroxyapatite–gelatin nanocomposite as a novel adsorbent for nitrobenzene removal from aqueous solution // *Appl. Surf. Sci.* – 2014. – V. 292. – P. 1020–1029.
18. Danilchenko S.N., Pokrovskiy V.A., Bogatyrov V.M. et al. Carbonate location in bone tissue mineral by X–ray diffraction and temperature–programmed desorption mass spectrometry // *Cryst. Res. Technol.* – 2005. – V. 40, N 7. – P. 692–697.
19. Shu C., Xianzhu Y., Zhangyin X. et al. Synthesis and sintering of nanocrystalline hydroxyapatite powders by gelatin–based precipitation method // *Ceram. international.* – 2007. – V. 33. – P. 193–196.
20. Gun'ko V.M., Turov V.V., Shpilko (Golovan) A.P. et al. Relationships between characteristics of interfacial water and human bone tissues // *Coll. Surf.* – 2006. – V. 53. – P. 29–36.
21. Mallikarjuna K., Narasimha G., Dillip G.R. et al. Green synthesis of silver nanoparticles using ocimum leaf extract and their characterization // *Digest J. Nanomater. Biostruct.* – 2011. – V. 6. – P. 181–186.
22. Kailasanathan C., Selvakumar N., Naidu V. Structure and properties of titania reinforced nano-hydroxyapatite/gelatin bio-composites for bone graft materials // *Ceram. International.* – 2012. – V. 38, N 1. – P. 571–579.
23. Kailasanathan C., Selvakumar N. Comparative study of hydroxyapatite/gelatin composites reinforced with bio-inert ceramic particles // *Ceram. International.* – 2012. – V. 38. – P. 3569–3582.
24. Wang F., Guo E., Song E. et al. Structure and properties of bone-like-nanohydroxyapatite/gelatin/polyvinyl alcohol composites // *Adv. Biosci. Biotechnol.* – 2010. – V. 1. – P. 185–189.

REFERENCES

1. Zethraeus N., Borgstorm F., Strom O., KAnis J., Jonsson B. Cost-effectiveness of the treatment and prevention of osteoporosis – a review of the literature and a references model. *Osteoporosis International.* 2007. **18**: 9.
2. Zhou Y., Zhao Y., Wang L., Xu L., Zhai M., Wei S. Radiation synthesis and characterization of nanosilver/gelatin/carboxymethyl chitosan hydrogel. *Radiat. Phys. Chem.* 2012. **81**: 553.
3. Golovan A.P., Rugal A.A., Gun'ko V.M., Barvinchenko V.N., Skubiszewska-Zięba Ya., Leboda R., Krupska T.V., Turov V.V. Modeling of bone tissue by nanocomposite systems on the basis of hydroxyapatite – albumin – gelatine and their properties. *Surface.* 2010. **2**(17): 244. [in Russian].
4. Keaveny T.M., Morgan E.F., Niebur G.L., Yeh O.C. Biomechanics of trabecular bone. *Annual Rev. Biomedical Engineering.* 2001. **3**: 307.
5. Kailasanathan C., Selvakumar N., Naidu Vasant. Structure and properties of titania reinforced nano-hydroxyapatite/gelatin bio-composites for bone graft materials. *Ceramics International.* 2012. **38**: 571.
6. Mour M., Das D., Winkler T., Hoenig E., Mielke G., Morlock M.M., Schilling A.F. Advances in Porous Biomaterials for Dental and Orthopaedic Applications. *Materials.* 2010. **3**: 2947.
7. Safronova T.V., Putlyayev V.I. Inorganic materials science for medicine in Russia: Materials based on calcium phosphates. *Nanosystems: physics, chemistry, mathematics.* 2013. **4**(1): 24. [in Russian].
8. Hench L, Johnes D. *Biomaterials, artificial organs and tissue engineering.* (Moscow: Technosphere, 2007). [in Russian].
9. Monteiro D.R., Gorup L.F., Takamiya A.S., Ruvollo-Filho A.C., Rodrigues de Camargo E., Barbosa D.B. The growing importance of materials that prevent microbial adhesion: antimicrobial effect of medical devices containing silver. *Inter. J. Antimicrob. Agents.* 2009. **34**: 103.
10. Balazs D.J., Triandafillu K., Wood P., Chevolut Y., van Delben C., Harms H. Hollenstein C., Mathieu H.J. Inhibition of bacterial adhesion on PVC endotracheal tubes by RF-oxygen glow discharge, sodium hydroxide and silver nitrate treatments. *Biomaterials.* 2004. **25**: 2139.
11. Kikuchi M., Ikoma T., Itoh S., Matsumoto H.N., Koyama Y., Takakuda K., Shinomiya K., Tanaka J. Biomimetic synthesis of bone like nanocomposites using the self organization mechanism of hydroxyapatite and collagen. *Compos. Sci. Technol.* 2004. **64**: 819.
12. Guan J., Fujimoto K.L., Sacks M.S., Wagner W.R. Preparation and characterization of highly porous, biodegradable polyurethane scaffolds for soft tissue applications. *Biomaterials.* 2005. **26**: 3961.
13. Han N., Johnson J.K., Bradley P.A., Parikh K.S., Lannutti J.J., Winter J.O. Cell Attachment to Hydrogel-Electrospun Fiber Mat Composite Materials. *J. Funct. Biomater.* 2012. **3**: 497.
14. Maquet V., Boccaccini A.R., Pravata L., Notingher I., Jérôme R. Porous poly(α -hydroxyacid)/Bioglass composite scaffolds for bone tissue engineering. I: preparation and in vitro characterisation. *Biomaterials.* 2004. **25**(18): 4185.
15. Naghizadeh F., Sultana N., Kadir M.R., Shihabudin T.M., Hussain R., Kamarul T. The Fabrication and Characterization of PCL/Rice Husk Derived Bioactive Glass-Ceramic Composite Scaffolds. *J. Nanomater.* 2014. **2014**: 1.
16. Moldovan L., Craciunescu O., Oprita E.I., Balan M., Zarnescu O. Collagen-chondroitin sulfate-hydroxyapatite porous composites: preparation, characterization and in vitro biocompatibility testing. *Roum. Biotechnol. Lett.* 2009. **14**(3): 4459.

17. Wei W., Sunb R., Jina Z., Cui J., Wei Z. Hydroxyapatite–gelatin nanocomposite as a novel adsorbent for nitrobenzene removal from aqueous solution. *Appl. Surf. Sci.* 2014. **292**: 1020.
18. Danilchenko S.N., Pokrovskiy V.A., Bogatyrov V.M., Sukhodub L.F., Sulkio–Cleff B. Carbonate location in bone tissue mineral by X–ray diffraction and temperature–programmed desorption mass spectrometry. *Cryst. Res. Technol.* 2005. **40**(7): 692.
19. Shu C., Xianzhu Y., Zhangyin X., Guohua X., Hong Lv., Kangde Yao. Synthesis and sintering of nanocrystalline hydroxyapatite powders by gelatin – based precipitation method. *Ceram. International.* 2007. **33**: 193.
20. Gun`ko V.M., Turov V.V., Shpilko (Golovan) A.P., Leboda R., Jablonski M., Gorzelak M., Jagiello-Wojtowicz E. Relationships between characteristics of interfacial water and human bone tissues. *Coll. Surf.* 2006. **53**: 29.
21. Mallikarjuna K, Narasimha G, Dillip G.R, Praveen B., Shreedhar B., Sree Lakshmi C., Reddy B.V.S., Deva Prasad Raju B. Green synthesis of silver nanoparticles using ocimum leaf extract and their characterization. *Digest J. Nanomater. Biostruct.* 2011. **6**: 181.
22. Kailasanathan C., Selvakumar N., Naidu V. Structure and properties of titania reinforced nano-hydroxyapatite/gelatin bio-composites for bone graft materials. *Ceramics International.* 2012. **38**(1): 571.
23. Kailasanathan C., Selvakumar N. Comparative study of hydroxyapatite/gelatin composites reinforced with bio-inert ceramic particles. *Ceram. International.* 2012. **38**: 3569.
24. Wang F., Guo E., Song E., Zhao P., Liu J. Structure and properties of bone-like-nanohydroxyapatite/gelatin/polyvinyl alcohol composites. *Adv. Bioscie. Biotechnol.* 2010. **1**: 185.

Поступила 13.05.2015, принята 25.09.2015