

intermediate position between the maximum and minimum values of stresses at these same points on models with a unilateral arrangement of plates. The plate applied from the medial side provides a lower level of stresses in the bone fragments in the fracture zone, but the plate applied from the lateral side provides a lower level of stresses in all other zones of the tibia. Osteosynthesis with two plates allows to ensure a more uniform distribution of stresses between the elements of the metal structure. Osteosynthesis with a plate from the medial side provides a minimum level of stresses on the screws in the metaphyseal zone, and the plate applied to the lateral surface of the tibia provides the lowest level of stresses on the plate itself and on the screws in the diaphysis.

Key words: lower leg, tibia, multifragmentary fracture, osteosynthesis.

ORCID and contributionship / ORCID кожного автора та їх внесок до статті:

Buryanov O. A.: <https://orcid.org/0000-0002-2174-1882>^A

Kvasha V. P.: <https://orcid.org/0000-0002-7444-6289>^F

Gliba G. G.: <https://orcid.org/0009000249749330>^E

Karpinsky M. Yu.: <https://orcid.org/0000-0002-3004-2610>^D

Yaresko O. V.: <https://orcid.org/0000-0002-2037-5964>^B

Conflict of interest / Конфлікт інтересів:

The authors declare no conflict of interest. / Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

Corresponding author / Адреса для кореспонденції

Karpinsky Mykhailo Yuriyovych / Карпінський Михайло Юрійович

Sytenko Institute of Spine and Joint Pathology National Academy of Medical Sciences of Ukraine / ДУ «Інститут патології хребта та суглобів ім. проф. М.І.Ситенка НАМН України»

Ukraine, 61024, Kharkiv, 80 Pushkinskaya str. / Адреса: Україна, 61024, м. Харків, вул. Пушкінська 80

Tel.: +380675714863 / Тел.: +380675714863

E-mail: korab.karpinsky9@gmail.com

A – Work concept and design, B – Data collection and analysis, C – Responsibility for statistical analysis, D – Writing the article, E – Critical review, F – Final approval of the article / A – концепція роботи та дизайн, B – збір та аналіз даних, C – відповідальність за статистичний аналіз, D – написання статті, E – критичний огляд, F – остаточне затвердження статті.

Received 24.01.2025 / Стаття надійшла 24.01.2025 року

Accepted 01.05.2025 / Стаття прийнята до друку 01.05.2025 року

DOI 10.29254/2077-4214-2025-2-177-343-355

UDC 616.31-089.843:678.664.4-022.532

¹Denysenko V. D., ²Rozhnov A. S.

BIORESORBABLE MEMBRANES FOR GUIDED BONE REGENERATION BASED ON POLYURETHANE UREAS

¹Institute of Macromolecular Chemistry of the National Academy of Sciences of Ukraine (Kyiv, Ukraine)

²Bohomolets National Medical University (Kyiv, Ukraine)

Dentartroz@gmail.com

Modern regenerative medicine is actively investigating biocompatible materials for stimulating the growth and repair of bone tissue. Polyurethane ureas (PUUs) exhibit high mechanical strength, biocompatibility, and controlled biodegradation, making them suitable for the development of membranes in guided bone regeneration (GBR). The biodegradation of PUUs was studied through changes in mechanical properties and structure over 1, 3, and 6 months of incubation in biological medium 199. According to IR spectroscopy data, structural changes in PUUs are observed in the biological environment in the νNH region (3308 cm⁻¹ and 3500 cm⁻¹), indicating the disruption or redistribution of hydrogen bonds. A decrease in the intensity of the νC=O (1726 cm⁻¹) and δNH (1535 cm⁻¹) bands suggests hydrolysis of urethane and urea bonds. The appearance of an absorption band at ~1650 cm⁻¹ indicates destructive changes in the polymer chain and alterations in hydrogen bonding. The obtained results confirm that the polymer actively interacts with the biological medium, leading to its partial degradation and structural modification. According to physical-mechanical testing, PUUs lose tensile strength after 6 months of incubation, indicating biodegradation and ensuring a sufficient functional lifespan of membranes during bone regeneration. Cytotoxicity studies using fibroblast tissue culture revealed no adverse effects of PUUs on cell growth and development, confirming their safety for biomedical applications. Therefore, PUUs are a promising material for bioresorbable membranes in maxillofacial surgery, combining effective mechanical support with controlled degradation and no negative impact on surrounding tissues.

Key words: guided bone regeneration, polyurethane ureas, biodegradation, biocompatibility, polymer membranes, fibroblasts.

Connection of the publication with planned research works.

The experimental studies were carried out within the framework of the research project "Creation of multi-functional biologically active polymeric materials based on biodegradable polyurethanes and hydrogels", state registration number 0123U100347.

Introduction.

Modern maxillofacial surgery presents specialists with the important task of ensuring the fastest and most complete restoration of lost bone tissue volume to improve both functional and aesthetic treatment outcomes. Achieving these goals without the use of effective guided bone regeneration (GBR) methods is impossible, underscoring the relevance and practical significance of the chosen research.

Currently, both resorbable and non-resorbable polymer membranes are known to be used for GBR. The latter, in turn, are divided into those of natural and synthetic origin [1, 2].

There are reports of several significant disadvantages of non-resorbable membranes, limiting their use in regenerative dentistry. One of the main drawbacks is the high risk of exposure, for example, in expanded polytetrafluoroethylene (e-PTFE) membranes, due to their high porosity, which may lead to infectious complications and unsuccessful treatment [3-5].

d-PTFE membranes, although having lower porosity (less than 0.3 microns), are characterized by low flexibility, which can cause their collapse in the defect area and affect regeneration efficiency. To address the issue of insufficient mechanical rigidity, titanium-reinforced e-PTFE and d-PTFE membranes were developed. However, the stiffness of the titanium mesh complicates its removal since orthopedic screws are often used for fixation, potentially causing additional tissue trauma [5, 6].

Another issue is the limited use of titanium mesh membranes in aesthetically important areas, as they may become visible under soft tissues. Furthermore, all non-resorbable membranes require a second surgical intervention for removal after the regenerative process is complete, increasing the risk of complications and prolonging the rehabilitation period. Thus, while non-resorbable membranes demonstrate effectiveness in stimulating bone regeneration, their use is justified only in specific clinical cases where the benefits outweigh potential risks [2, 6, 7].

Bioresorbable membranes based on biopolymers are widely used in guided bone regeneration (GBR) due to their biocompatibility, controlled degradation, and ability to promote tissue regeneration. The main representatives of such membranes include those based on collagen, chitosan, hyaluronic acid, fibrin, silk, etc. [1, 2, 8, 9]. However, alongside these advantages, several drawbacks limit their use in GBR. One of the main problems is their limited availability and complexity in processing to create scaffold structures, unwanted immune reactions affecting process stability, and variability in the degradation rate of biopolymer membranes, which depends on each patient's enzymatic processes. This complicates the prediction of tissue recovery timelines and effectiveness [2, 10-12].

Given the above, research on the use of synthetic resorbable polymer membranes (RPM) is currently relevant. This is due to several advantages: avoiding the use

of animal-derived tissues, biocompatibility, absence of immune response, preservation of barrier functions, and controlled resorption during the bone regeneration period. Currently, several resorbable polymeric materials have been studied and introduced to create membranes used in GBR, the most common of which are poly- α -hydroxy acids, including polylactic acid (PLA), polyglycolic acid (PGA), and their copolymers poly(L-lactide-co-glycolide) (PLGA) [8, 9, 13].

However, despite the fact that biodegradable synthetic membranes based on poly- α -hydroxy acids allow avoiding immune reactions to collagen proteins, their degradation products (lactic and glycolic acids), being natural metabolites of the body, can cause local inflammatory reactions and tissue irritation [8]. According to studies on the biocompatibility of poly (L-D, L-lactide) (PLDLA) and poly(L-lactide-co-glycolide) (PLGA) in vitro using fibroblast culture models, these polymers exhibit satisfactory biocompatibility. However, high concentrations of degradation products had a toxic effect on the tested cell culture systems [14]. Additionally, there are reports of varying degrees of inflammatory reactions associated with the degradation of polylactide implants [15-17], which may subsequently interfere with alveolar bone formation.

A promising material for GBR membrane development is medical-grade polyurethane materials that are biocompatible and capable of controlled biodegradation. These materials have several advantages over other polymeric materials. They provide a wider range of mechanical characteristics, can be synthesized with controlled biodegradation rates, and allow for chemical composition adjustments to improve interaction with surrounding tissues. The high biocompatibility of polyurethanes is ensured by the presence of urethane groups (-NH-COO-), which are chemically similar to the peptide (amide) groups of proteins (-NH-CO-) [18, 19].

The use of urethane-containing polymers is known in various fields of medicine, including bone plates for osteosynthesis [18], medical adhesives with pro-regenerative [19] and antiseptic properties [20, 21], which in solid form are cross-linked polymers containing urethane and urea bonds. The presence of urea bonds (-NH-CO-NH-) in the structure of polyurethane ureas (PUUs) significantly affects their physicochemical and chemical properties. In particular, the strong polarity of urea groups increases the polymer's hydrophilicity, enhancing its affinity with surrounding tissues and accelerating hydrolysis in an aqueous environment, which is especially important for biodegradable membranes.

Thus, considering the high biocompatibility, adjustable physicochemical, and mechanical properties, PUUs may serve as a promising alternative to existing polymeric materials in guided bone regeneration, combining optimal mechanical support and biodegradation in accordance with clinical requirements.

One of the key stages of research related to the justification for using polymer membranes in GBR is the study of their biodegradation ability under in vitro model conditions. Since in implantation conditions, the products of biodegradation may influence the course of regenerative processes, it is essential to study the cytotoxicity of polymer membranes using fibroblast tissue culture, which allows for the assessment of their biocompatibility and potential impact on cell regeneration.

The obtained results will enable an assessment of the prospects for using such materials in biomedical applications and contribute to a deeper understanding of their degradation mechanisms in biological environments.

Considering the above, further research is necessary to explore the potential of polyurethane ureas as polymeric bioresorbable membranes for guided bone regeneration in the maxillofacial area.

The aim of the study.

To investigate the biodegradation and biocompatibility of polyurethane ureas under in vitro conditions as prospective membranes for guided bone regeneration.

Object and research methods.

Objects of the study – polyurethane ureas obtained from a mixture of macrodiisocyanates (MDI), synthesized from 2,4-; 2,6-toluene diisocyanate and polyoxypropylene glycols (POPG) with molecular weights of 1002 and 2002 in a 1:1 ratio [22]. During curing under the influence of air moisture, the MDIs were converted into polyurethane ureas in the form of films with a specified thickness of 0.2 mm.

PUU sample incubation in a biological medium was conducted as follows: polyurethane ureas in the form of films were placed in sterile containers, then 25 ml of biological medium 199 (BM 199) produced by “BIOTEST-LAB,” Ukraine, was added. Samples were kept in a thermostat at a temperature of $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ for 1, 3, and 6 months. The model medium solution was replaced when sterility was lost, which was monitored by color change. After the designated incubation periods, the samples were removed, washed with distilled water, and dried to constant mass at room temperature.

Tensile strength (σ , MPa) and elongation at break (ϵ , %) of the synthesized PUUs were determined according to ISO 527-3 using a modified testing machine 2166 P-5 with a grip expansion speed of (50 ± 5) mm/min and a result fixation speed of 0.01 s.

FTIR absorption spectra in the range $(650-4000)$ cm^{-1} were recorded on a “Tensor-37” FTIR spectrometer (Bruker) using the attenuated total reflection (ATR) method with a trapezoidal diamond crystal prism (number of reflections $N=1$, incident angle $\phi=39^\circ$).

The fibroblast tissue culture method was used to assess the biocompatibility of PUU samples under in vitro conditions. The method is based on culturing subcutaneous tissue from Wistar rats under standard conditions, which promotes fibroblast growth [23, 24]. To obtain fibroblast tissue culture, fragments of subcutaneous fat tissue from Wistar rats were explanted and placed in Carrel flasks with a nutrient mixture. The mixture consisted of two phases: Solid phase – rooster blood plasma and chicken embryo extract, obtained under laboratory conditions; Liquid phase – medium 199 (Biowest, France) and bovine serum (Biowest, France). The growth source of fibroblastic elements was cultivated tissue, specifically the subcutaneous fat tissue of Wistar rats.

All procedures involving experimental animals were carried out in accordance with the principles outlined in the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes [25].

Experimental groups: control (cultivated tissues) and experimental (on the third day of cultivation, the liquid phase was replaced with an extract from the test sample). One

animal was used to obtain the explants – a male white Wistar rat weighing 150 g. The total number of obtained subcutaneous adipose tissue explants was 30 (with a diameter not exceeding 1.5 mm): 15 for the experimental group and 15 for the control group. The total number of Carrel flasks with explants was 6: 3 for the control group and 3 for the experimental group.

The embryonic extract was prepared from 12 incubated chicken eggs containing 10-12-day-old embryos.

As the model extraction medium, a physiological saline solution (0.9% sodium chloride aqueous solution, pharmaceutical grade) was used. The ratio between the test material weight and the volume of saline solution was 200 mg : 1 ml. Extraction was conducted at 37°C for 72 hours. The conditions for explantation were as described in [24].

On days 3, 5, 7, and 10, observations were conducted on the growth of compact zones, reticular zones, and migrating fibroblast elements using a MICROMed XS 3330LED microscope equipped with an MDC-500 5 MPix digital USB camera. The criteria for zone identification were based on the arrangement of fibroblast elements in the growth process [23]. Compact zones included areas with densely packed, actively growing cells. Reticular zones included areas where cellular strands formed, anastomosed, and branched. The migrating element zone was determined by the tips of isolated cellular strands growing into the solid phase of the nutrient medium, reaching the location of separately positioned cells.

Studies of the growth and development of fibroblast elements in Wistar rat subcutaneous fat tissue were conducted on days 3, 5, 7, 10, and 14.

Research results and their discussion.

Comparative physico-mechanical tests are an important stage in assessing the biodegradation ability of polymeric materials under in vitro conditions, as changes in mechanical characteristics can predict the behavior of the studied materials in real operating conditions.

To evaluate the ability of polymeric materials to undergo biodegradation, comparative physical-mechanical tests of polymer film samples were conducted before and after incubation in biological medium 199 (table). The study aimed to determine changes in the mechanical characteristics of the material that may indicate degradation processes or structural transformations in the polymer matrix.

According to the obtained data, after exposure to the biological medium for one month, an increase in tensile strength and a decrease in relative elongation were observed. This may be due to relaxation processes in the polymer within the BM 199 medium. However, after 3 months of incubation, the biodegradation process begins, which concludes after 6 months, as indicated by the gradual loss of the material's mechanical properties.

Biodegradation processes occurring under the influence of biological agents are accompanied by changes in the composition and structure of polymeric materials.

Table – Changes in the physic-mechanical properties of PUUs under the influence of BM 199 over time

Samples	PUUs			
	Control	1 month	3 months	6 months
Incubation period				
Tensile strength, σ , MPa	$1,98 \pm 0,04$	$2,90 \pm 0,24$	$1,76 \pm 0,14$	-
Elongation at break, ϵ , %	$330,0 \pm 32,3$	$240,0 \pm 18,0$	$660,0 \pm 5,5$	$75,0 \pm 7,4$

FTIR spectroscopy is one of the most effective methods for studying the chemical structure of polymeric materials, allowing information to be obtained about the presence of functional groups, the nature of chemical bonds, and changes in the polymer matrix under external influences. Due to its high sensitivity to molecular vibrations, this method is widely used to study polymer degradation processes.

According to the obtained results, the FTIR spectra of PUUs are characterized by the presence of absorption bands at $\nu\text{NH-bound} - 3308\text{ cm}^{-1}$ and $\nu\text{NH-free} - 3500\text{ cm}^{-1}$ (fig. 1, fig. 2). The absorption bands at 2970 cm^{-1} and 2968 cm^{-1} correspond to the deformation vibrations

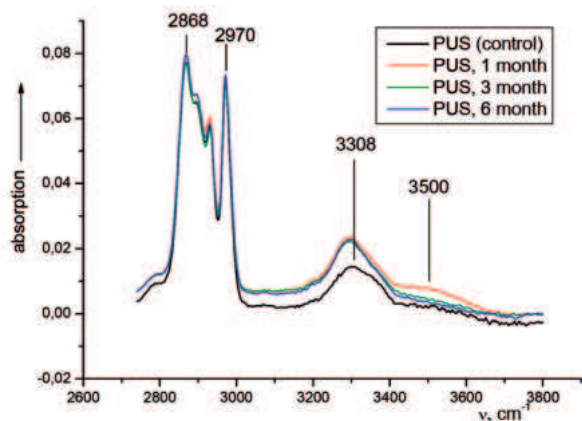


Figure 1 – Fragment of the FTIR spectrum ($2600\text{--}3800\text{ cm}^{-1}$) of PUUs after incubation in BM 199.

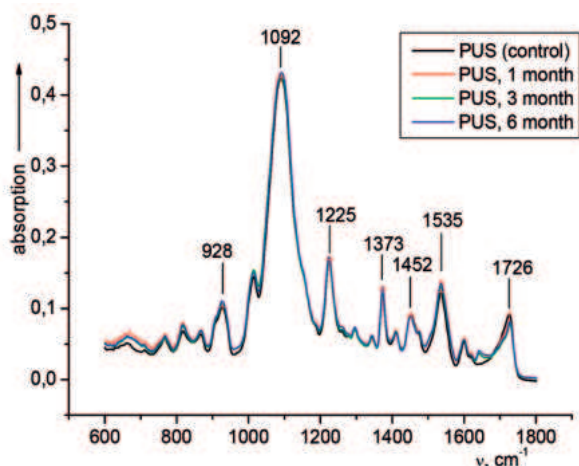


Figure 2 – Fragment of the FTIR spectrum ($600\text{--}1800\text{ cm}^{-1}$) of PUUs after incubation in BM 199.

of the C-H bond.

The absorption band $\nu\text{C=O } 1726\text{ cm}^{-1}$ corresponding to the COO group of the urethane fragment is observed, along with absorption bands at $\nu\text{C-O-C } 1092\text{ cm}^{-1}$ and $\nu\text{C-O-C } 1373\text{ cm}^{-1}$, and an absorption band with a maximum at 1535 cm^{-1} , which corresponds to the δNH vibrations of the urethane fragment. Under the influence of BM 199, an increase in intensity is observed after one month of incubation for $\nu\text{NH-bound} - 3308\text{ cm}^{-1}$ and $\nu\text{NH-free} - 3500\text{ cm}^{-1}$ compared to the control. During further incubation, the intensity of $\nu\text{NH-free} - 3500\text{ cm}^{-1}$ decreases slightly at 3 and 6 months but remains higher compared to the control. Redistribution of absorption band intensities at 2970 cm^{-1} and 2868 cm^{-1} , which char-

acterize the deformation vibrations of the C-H bond, is also observed.

In the range of $600\text{--}1800\text{ cm}^{-1}$, with an increase in incubation duration, a decrease in the intensity of $\nu\text{C=O } 1726\text{ cm}^{-1}$ and $\delta\text{NH } 1535\text{ cm}^{-1}$ is observed. The absorption bands $\nu\text{C-O-C } 1092\text{ cm}^{-1}$ and 928 cm^{-1} slightly increase in intensity. Other absorption bands show no significant changes.

A new absorption band appears at approximately 1650 cm^{-1} with prolonged incubation, indicating active structural changes in the polymer under the influence of the biological medium. This band may be associated with amide I vibrations ($\nu\text{C=O}$) of carbamide or urethane groups, which form hydrogen bonds with water molecules or medium components. This band may also indicate water absorption, with deformation vibrations of water ($\delta\text{H-O-H}$) appearing in this region, or the formation of degradation products such as secondary amides or carboxylic acids. Furthermore, polymer interaction with biomolecules in the medium, such as proteins, may contribute to the increased intensity of this band due to the adsorption of protein molecules on the polymer surface.

As a result of the conducted FTIR spectroscopy analysis, it can be concluded that structural changes occur in the polymer under the influence of the biological medium, manifested in interactions with medium molecules, partial destruction of functional groups, and localized restructuring. The increased intensity of the νNH (3308 cm^{-1} and 3500 cm^{-1}) bands in the early stages of incubation indicates the formation of hydrogen bonds with medium components, while their decrease over time suggests NH-bond degradation or redistribution. Redistribution of C-H group intensities (2970 cm^{-1} and 2868 cm^{-1}) indicates deformational changes in methyl and methylene groups. The decrease in $\nu\text{C=O } (1726\text{ cm}^{-1})$ and $\delta\text{NH } (1535\text{ cm}^{-1})$ intensity indicates chemical modification of carbonyl and carbamide groups through hydrolysis or oxidation, while the increase in $\nu\text{C-O-C } (1092\text{ cm}^{-1} \text{ and } 928\text{ cm}^{-1})$ may be associated with the formation of new ether bonds.

The appearance of the $\sim 1650\text{ cm}^{-1}$ band is a sign of polymer chemical degradation, changes in its hydrogen bonds, and interaction with the biological medium, affecting its stability and functional properties. Overall, the results indicate active interaction of the polymer with the biological medium, accompanied by its partial degradation and modification.

Study of Cytotoxicity of Polyurethane Urea Samples Using Fibroblast Tissue Culture Method.

The assessment of PUU cytotoxicity is an important stage in evaluating the biocompatibility of polymeric materials in the context of medical devices and materials that come into contact with body tissues. Evaluating the cytotoxicity of polymer materials in fibroblast culture is particularly relevant since fibroblasts are one of the key cellular populations in connective tissue, playing a critical role in regeneration and wound healing processes.

To investigate the biocompatibility of polymer membrane samples based on polyurethane ureas, the fibroblast tissue culture method was applied, which serves as a model test system in toxicological experiments [23].

The initial growth in the control group was represented by the formation of individual elongated cells,

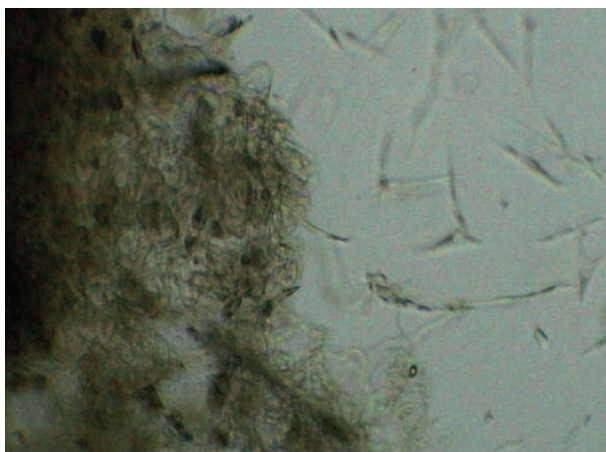


Figure 3 – Initial growth of cells in the culture of rat subcutaneous adipose tissue on day 3 in the control group. Magnification: x100. as well as isolated migrating fibroblastic elements that exhibited a spindle-like shape (fig. 3).

Subsequently, the growth activity of fibroblastic elements increased. On the 5th day, the growth areas in the Carrel flasks were mainly represented by two zones: a reticular zone consisting of bundles and strands of cells arranged in a net-like structure, and a zone of migrating elements (fig. 4).

On the 7th day, the growth zones were divided into three: compact, reticular, and a zone of individual mi-

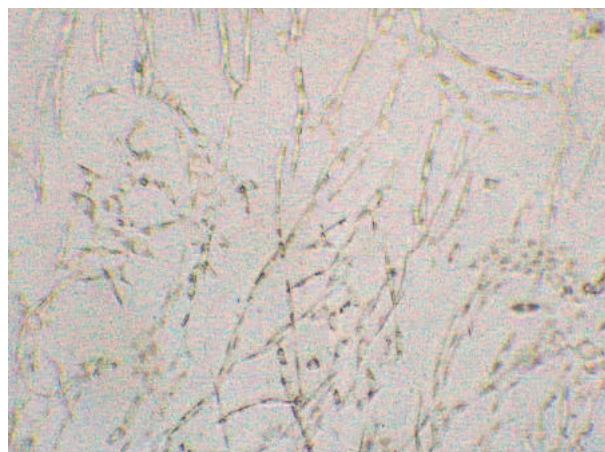


Figure 4 – Reticular zone of fibroblastic element growth on the 5th day of cultivation in the control group. Magnification: x100. migrating elements. The highest number of dividing cells was observed in the reticular zone (fig. 5).

On the 10th day after explantation, the growth zones increased, and tissue-like growth was observed. In the compact zone, signs of degenerative changes in individual fibroblastic elements were detected, characterized by vacuolization followed by granular degeneration of the cell cytoplasm. By the 14th day, the cell population had entered a stage of pronounced degeneration (fig. 6).

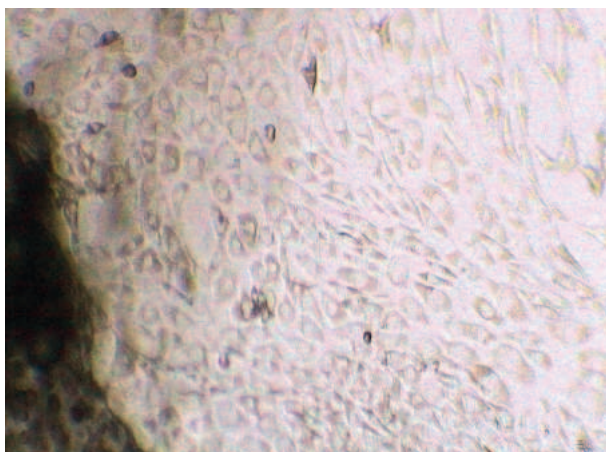


Figure 5 – Compact and reticular zones of fibroblast growth on the 7th day of cultivation in the control group. Magnification: x100.

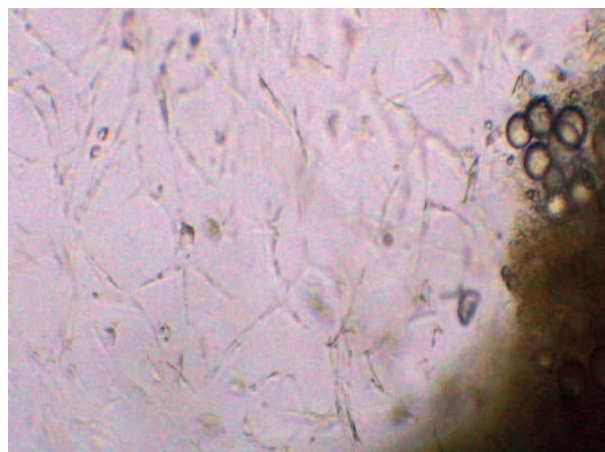


Figure 7 – Reticular zone and the growth zone of individual fibroblastic elements on the 5th day of cultivation with the addition of an extract from the sample. Magnification: x100.

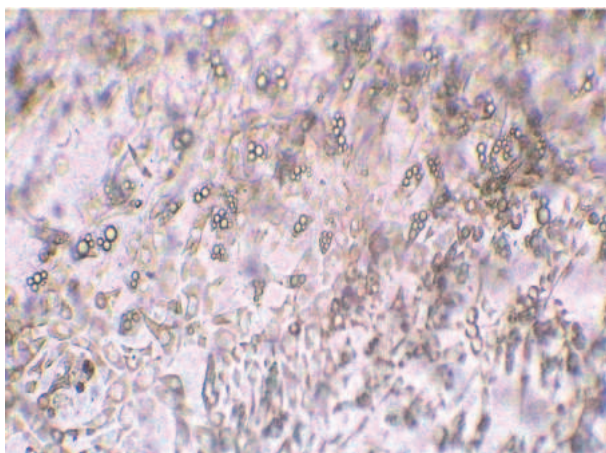


Figure 6 – Degenerative changes in the fibroblast culture on the 14th day in the control group. Magnification: x100.

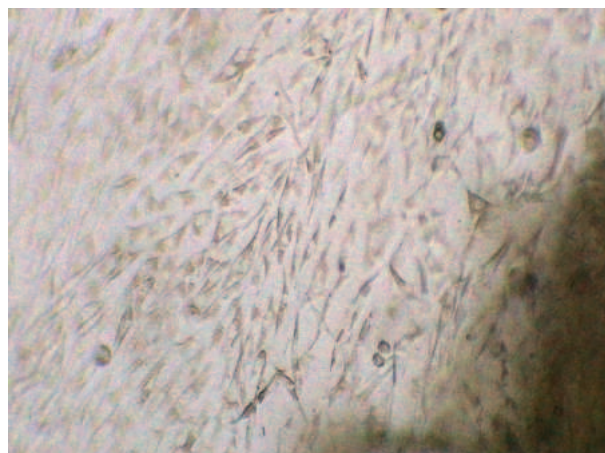


Figure 8 – Compact zone of fibroblastic element growth on the 7th day of cultivation when studying the PUU sample. Magnification: x100

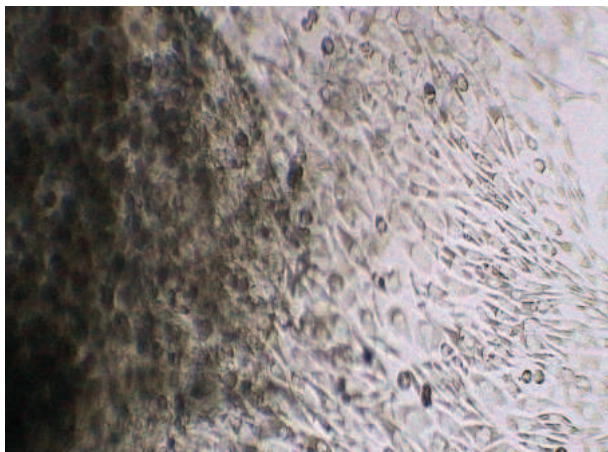


Figure 9 – Compact and reticular zones of cell element growth when studying the PUU sample on the 10th day. Magnification: x160.

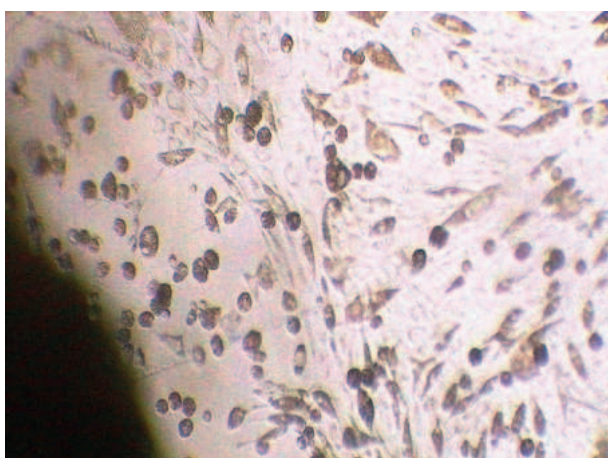


Figure 10 – Degenerative changes in fibroblastic elements on the 14th day during the study of the polymer sample. Magnification: x100.

Cell growth on the 5th day in the presence of extracts from PUU samples was practically indistinguishable from the control, but the migration of fibroblastic elements with macrophage-like morphology was observed (fig. 7).

Further observation of growth in these flasks did not show significant changes in the formation of growth zones around the explants. As in the control group, three growth zones were observed on the 7th day of the study: compact, reticular, and a zone of individual migrating elements, with polygonal-shaped cells present (fig. 8).

On the 10th day after explantation, the growth areas of fibroblastic and fibroblast-like elements increased in

all Carrel flasks compared to the control. Signs of degenerative changes, expressed as cell vacuolization, were present in the compact and reticular zones (fig. 9).

On the 14th day, both in the experimental flasks and the control group, the cell population entered the phase of pronounced degeneration, which was manifested by significant vacuolization of the cytoplasm and granular degeneration within the cells (fig. 10).

Thus, using the fibroblast tissue culture method, it was established that the dynamics and nature of cell element development did not differ from the control when extracts from PUU samples were introduced into the cultivation medium.

Conclusions.

1. Polyurethane ureas demonstrated the ability for controlled biodegradation under in vitro model conditions. The degradation process is completed within 6 months, accompanied by a gradual loss of mechanical properties and structural changes in the polymer. FTIR spectroscopy analysis confirmed active interaction of the material with the biological medium, leading to the modification of functional groups, hydrolysis, oxidation, and the formation of new chemical bonds.

2. The fibroblast tissue culture method confirmed the absence of cytotoxic effects of the tested polyurethane urea samples on the dynamics of cell growth and development.

3. The obtained results allow considering polyurethane ureas as a promising material for use in guided bone regeneration in the maxillofacial region. The studied biodegradation capability ensures the gradual resorption of the membrane during regeneration, reducing the risk of complications and eliminating the need for secondary intervention for its removal.

4. The study results confirm that polyurethane ureas can be effectively used in medical applications, particularly in regenerative medicine, where controlled material degradation without negative effects on surrounding tissues is required.

Prospects for further research.

Since the conducted studies demonstrated PUUs' ability for biodegradation and the absence of cytotoxic effects under in vitro conditions, further plans include conducting toxicological tests under in vivo conditions and performing model surgeries on experimental animals to assess guided bone regeneration using polymer membrane samples.

DOI 10.29254/2077-4214-2025-2-177-343-355

УДК 616.31-089.843:678.664.4-022.532

¹Денисенко В. Д., ²Рожнов А. С.

БІОРЕЗОРБТИВНІ МЕМБРАНИ ДЛЯ СПРЯМОВАНОЇ РЕГЕНЕРАЦІЇ КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ НА ОСНОВІ ПОЛІУРЕТАНСЕЧОВИН

¹Інститут хімії високомолекулярних сполук НАН України (м. Київ, Україна)

²Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця (м. Київ, Україна)

Dentartroz@gmail.com

Сучасна регенеративна медицина активно досліджує біосумісні матеріали для стимуляції росту та відновлення кісткової тканини. Поліуретансечовини (ПУС) демонструють високу механічну міцність, біосумісність та контрольовану біодеструкцію, що робить їх придатними для створення мембран у спрямованій кістковій регенерації (СКР). Біодеструкцію ПУС досліджували за зміною міцностних властивостей та структури протягом 1, 3, та 6 місяців інкубації у біологічному середовищі 199. За даними

ІЧ-спектроскопії в біологічному середовищі спостерігаються зміни структури ПУС в області ν_{NH} (3308 cm^{-1} та 3500 cm^{-1}), які вказують на руйнування або перерозподіл водневих зв'язків. Зниження інтенсивності смуг $\nu_{C=O}$ (1726 cm^{-1}) та δ_{NH} (1535 cm^{-1}) свідчить про гідроліз уретанових та сечовинних зв'язків. Поява смуги поглинання $\sim 1650\text{ cm}^{-1}$ вказує на деструктивні зміни в полімерному ланцюзі та зміну характеру водневих зв'язків. Отримані результати підтверджують, що полімер активно взаємодіє з біологічним середовищем, що призводить до його часткової деструкції та структурної модифікації. Згідно фізико-механічних випробувань через 6 місяців інкубації ПУС втрачають міцність при розриві, що свідчить про біодеструкцію та забезпечує достатній термін функціонування мембран у процесі кісткової регенерації. Дослідження цитотоксичності методом тканинної культури фібробластів виявило відсутність негативного впливу ПУС на ріст і розвиток клітинних елементів, що свідчить про їхню безпечність для біомедичних застосувань. Таким чином, ПУС є перспективним матеріалом для створення біорезорбтивних мембран у щелепно-лицевій хірургії, що поєднують ефективну механічну підтримку та контрольовану деградацію без негативного впливу на навколишні тканини.

Ключові слова: спрямована кісткова регенерація, поліуретансечовини, біодеструкція, біосумісність, полімерні мембрани, фібробласти.

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами.

Експериментальні дослідження виконувались в рамках науково-дослідної роботи «Створення багатофункціональних біологічно активних полімерних матеріалів на основі біодеструктуючих поліуретанів та гідрогелів», номер державної реєстрації 0123U100347.

Вступ.

Сучасна щелепно-лицева хірургія ставить перед фахівцями важливе завдання забезпечення якнайшвидшого та повноцінного відновлення втраченого об'єму кісткової тканини для покращення як функціональних, так і естетичних результатів лікування. Досягнення цих цілей без застосування ефективних методів спрямованої кісткової регенерації (СКР) є неможливим, що підкреслює актуальність та практичну цінність обраного дослідження.

На сьогодні для проведення СКР відомо використання як резорбтивних, так і нерезорбтивних полімерних мембран, останні в свою чергу поділяються на природного та синтетичного походження [1, 2].

Існують відомості щодо ряду суттєвих недоліків нерезорбтивних мембран, що обмежує їх застосування в регенеративній стоматології. Одним із головних мінусів є високий ризик експозиції, наприклад, у політетрафторетиленових мембран (e-PTFE), через їхню високу пористість, що може призвести до інфекційних ускладнень та невідлого лікування [3-5].

Мембрани d-PTFE, хоча й мають меншу пористість (менше 0,3 мікрона), характеризуються низькою гнучкістю, що може спричинити їхній колапс у ділянці дефекту та вплинути на ефективність регенерації. Щоб усунути проблему недостатньої механічної жорсткості, були розроблені титанові армовані e-PTFE і d-PTFE мембрани. Проте жорсткість титанової сітки ускладнює її видалення, оскільки для фіксації часто використовуються ортопедичні гвинти, що може спричиняти додаткову травматизацію тканин [5, 6].

Окремою проблемою є обмежене використання титанових сітчастих мембран у зонах, де важлива естетика, оскільки вони можуть бути помітними під м'якими тканинами. Крім того, всі нерезорбтивні мембрани потребують повторного хірургічного втручання для видалення після завершення регенераторного процесу, що збільшує ризик ускладнень і подовжує період реабілітації. Отже, хоча нерезорбтивні мембрани демонструють ефективність у стимулю-

ванні кісткової регенерації, їх застосування виправдане лише в певних клінічних випадках, де переваги перевищують потенційні ризики [2, 6, 7].

Відомі біорезорбтивні мембрани на основі біополімерів, які широко застосовують у спрямованій кістковій регенерації (СКР) завдяки їхній біосумісності, здатності до контрольованої деградації та сприянню відновленню тканин. Основними представниками таких мембран є мембрани на основі колагену, хітозану, гіалуронової кислоти, фібрину, шовку тощо [1, 2, 8, 9]. Проте наряду з перевагами таких мембран, існує ряд недоліків, які обмежують їх використання в СКР. Однією з основних проблем є їхня обмежена доступність та складність обробки для створення каркасних структур ("scaffolds"), небажана імунна реакція, що впливає на стабільність процесу, варіабельність швидкості деградації біополімерних мембран, яка залежить від ферментативних процесів кожного пацієнта, що ускладнює прогнозування термінів та ефективності відновлення тканин [2, 10-12].

Враховуючи наведене вище, серед сучасних підходів актуальними є дослідження щодо використання синтетичних полімерних резорбованих мембран (ПРМ). Це зумовлено низкою переваг: уникненням застосування тканин тваринного походження, біосумісністю, відсутністю імунної відповіді, збереженням бар'єрних функцій, а також контрольованою резорбцією на період регенерації кісткової тканини. На сьогодні досліджено та впроваджено низку резорбтивних полімерних матеріалів для створення мембран, що використовуються у спрямованій кістковій регенерації, найбільш поширеними з яких є полі- α -гідрокси кислоти, до яких належать полімолочна (PLA), полігліколева кислоти (PGA) та їхні кополімери poly(L-lactide-co-glycolide) (PLGA) [8, 9, 13].

Однак, незважаючи на те, що біодеградабельні синтетичні мембрани на основі полі- α -гідрокси кислот дозволяють уникнути ризику імунної реакції на білки колагену, продукти їхньої деградації (молочна та гліколева кислоти), будучи природними метаболітами організму, можуть спричиняти локальні запальні реакції та подразнення тканин [8]. Так, з результатів досліджень авторів біосумісності poly(L-D, L-lactide) (PLDLA) і poly(L-lactide-co-glycolide) (PLGA) в умовах *in vitro* на моделі культури фібробластів виходить, що зазначені полімери мають задовільну біосумісність. Проте високі концентрації продуктів деструкції мали токсичний вплив на використовувані системи

культивування клітин [14]. Також, існують відомості щодо запальних реакцій організму різного ступеню, пов'язаних з деградацією імплантатів з полілактиду [15-17], що, як наслідок, може заважати формуванню альвеолярної кістки.

Перспективним матеріалом для використання як мембран для СКР є біосумісні та здатні до біодеструкції поліуретанові матеріали медичного призначення, які мають ряд переваг у порівнянні з іншими полімерними матеріалами. Вони забезпечують ширший діапазон механічних характеристик, можуть бути синтезовані з регульованою швидкістю біодеструкції, а також дозволяють варіювати хімічний склад для покращення взаємодії з оточуючими тканинами. Висока біосумісність поліуретанів забезпечується наявністю в структурі уретанових груп (-NH-COO-), близьких за хімічною будовою до пептидної (амідної) групи білків (-NH-CO-) [18, 19].

Відомо використання уретанвмісних полімерів в різних областях медицини, зокрема як накісткових пластин для остеосинтезу [18], медичних клеїв з прорегенераторними [19] та антисептичними властивостями [20, 21], які в затверділому вигляді являють собою полімери зшиті структури з наявними уретановими та сечовинними зв'язками. Наявність сечовинних зв'язків (-NH-CO-NH-) у структурі поліуретансечовини (ПУС) значно впливає на його фізико-механічні та хімічні властивості. Зокрема, сильна полярність сечовинних груп підвищує гідрофільність полімеру, а отже і спорідненість з оточуючими тканинами, прискорюватиме гідроліз у водному середовищі, що особливо важливо для біорозкладних мембран.

Таким чином, зважаючи високу біосумісність, регульовані фізико-хімічні та механічні властивості, ПУС можуть виступати перспективною альтернативою існуючим полімерним матеріалам у спрямованій регенерації кісткової тканини, поєднуючи оптимальну механічну підтримку та біодеструкцію відповідно до потреб клінічного застосування.

Одним із ключових етапів досліджень, пов'язаних з обґрунтуванням використання полімерних мембран СКР є вивчення їх здатності до біодеструкції в модельних умовах *in vitro*. Оскільки в умовах імплантації продукти біодеструкції можуть впливати на перебіг регенераторних процесів, важливим є дослідження цитотоксичності полімерних мембран з використанням тканинної культури фібробластів, що дозволяє оцінити їхню біосумісність та потенційний вплив на клітинну регенерацію.

Отримані результати дозволяють оцінити перспективи використання таких матеріалів у біомедичних цілях, а також сприятимуть глибшому розумінню механізмів їх деструкції у біологічному середовищі.

Враховуючи наведене, постає необхідність у дослідженнях потенціалу поліуретансечовин як полімерних біорезорбтивних мембран для спрямованої регенерації кісткової тканини щелепно-лицевої ділянки.

Мета дослідження.

Метою роботи було вивчення біодеструкції та біосумісності поліуретансечовин в умовах *in vitro*, як перспективних мембран для спрямованої кісткової регенерації.

Об'єкти і методи дослідження.

Об'єкти дослідження – поліуретансечовини, отримані на основі суміші макродіізоціанатів (МДІ), синтезованих із 2,4-;2,6-толуїлендіізоціанату та поліоксипропіленгліколів (ПОПГ) з молекулярними масами 1002 і 2002 у співвідношенні 1:1 [22]. При тужаванні під впливом вологи повітря МДІ були сформовані в поліуретансечовини у вигляді плівок заданої форми з товщиною 0,2 мм.

Інкубація зразків ПУС у біологічному середовищі проводилась наступним чином: поліуретансечовини у вигляді плівок розміщували в стерильні бюкси, після чого додавали 25 мл біологічного середовища 199 (БС 199) виробництва ТОВ «БІОТЕСТЛАБ», Україна. Зразки витримували в термостаті за температури $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ протягом 1, 3 та 6 місяців. Змінювали розин модельного середовища при втраті стерильності, контролюючи за зміною кольору середовища. Після закінчення відповідних термінів інкубації зразки діставали, промивали дистильованою водою та висушували до постійної маси за кімнатної температури.

Міцність при розриві (σ , МПа) та відносне подовження при розриві (ϵ , %) синтезованих ПУС, визначали за ISO 527-3 на модернізованій машині 2166 P-5 зі швидкістю розширення захватів (50 ± 5) мм/хв і швидкістю фіксації результатів 0,01 с.

ІЧ-спектри поглинання в області $(650-4000)$ cm^{-1} були зняті на ІЧ-спектрометрі з Фур'є перетворенням „Tensor-37” фірми «Bruker» методом порушеного повного внутрішнього відбиття (ППВВ), з використанням призми-трапеції кристалу алмаза (число відображень $N = 1$, кут падіння $\phi = 39^\circ$).

Метод тканинної культури фібробластів був використаний для оцінки біосумісності зразків ПУС в умовах *in vitro*. Метод ґрунтується на культивуванні підшкірної клітковини білих щурів лінії Wistar у стандартних умовах, що сприяє росту фібробластичних елементів [23, 24]. Для отримання тканинної культури фібробластів проводили експлантацію фрагментів підшкірно-жирової клітковини щурів лінії Wistar, які розміщували у флакони Карреля з живильною сумішшю. Суміш складалася з двох фаз: тверда фаза – плазма крові півня та ембріональний екстракт курячих ембріонів; рідка фаза – середовище 199 (Biowest, Франція) та сироватка крові великої рогатої худоби (Biowest, Франція). Джерелом росту фібробластичних елементів була культивована тканина, а саме підшкірна клітковина білих щурів.

Усі процедури з експериментальними тваринами здійснювалися відповідно до принципів, викладених у Європейській конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються в експериментальних та інших наукових цілях [25].

Групи експерименту: контрольна (культивовані тканини) та дослідна (на третю добу культивування проводять заміну рідкої фази екстрактом з випробного зразка). Для отримання експлантатів була використана одна тварина – білий щур породи Wistar, самець, вагою 150 г. Загальна кількість отриманих експлантатів підшкірно-жирової клітковини – 30 штук (розміром не більше 1,5 мм в поперечнику): 15 – дослідна група, 15 – контрольна група. Загальна кількість флаконів Карреля з експлантатами – 6 штук: 3 – контрольна група, 3 – дослідна група.

Ембріональний екстракт був приготовлений з інкубаційних яєць курей (12 штук) з 10-12-денними ембріонами.

Модельне середовище екстракції – фізіологічний розчин (0,9%-ний водний розчин натрію хлориду, фарм.). Співвідношення між вагою дослідного матеріалу та об'ємом фізіологічного розчину становило 200 мг : 1 мл. Екстракцію проводили за температури 37°C протягом 72 годин. Умови експлантації як описано [24].

На 3, 5, 7 і 10 добу проводили спостереження за ростом компактної, сіткоподібної зони і зони мігруючих фібробластичних елементів, використовуючи мікроскоп MICROmed XS 3330LED, оснащений цифрою USB камерою MDC-500 5 MPix. Критерій виділення зон – характер розташування фібробластичних елементів, що ростуть [23]. До компактної зони відносили ділянки, де клітини розташовувалися щільно та активно росли. Сіткоподібна зона включала ділянки, в яких клітинні тяжі формувалися, анастомозувалися та розгалужувалися. Зону мігруючих елементів визначали за вершинами ізольованих клітинних тяжів, що вросли в тверду фазу живильного середовища та досягли місця розташування окремо лежачих клітин.

Дослідження росту та розвитку клітинних елементів підшкірної клітковини білих щурів проводили на 3, 5, 7, 10 і 14 добу.

Результати дослідження та їх обговорення.

Порівняльні фізико-механічні випробування є важливим етапом оцінки здатності до біодеструкції полімерних матеріалів в умовах *in vitro*, оскільки за зміною механічних характеристик можна спрогнозувати поведінку досліджуваних матеріалів в реальних умовах експлуатації.

З метою оцінки здатності полімерних матеріалів до біодеструкції були проведені порівняльні фізико-механічні випробування зразків полімерних плівок до та після інкубації в біологічному середовищі 199 (таблиця). Дослідження спрямоване на визначення змін у механічних характеристиках матеріалу, що можуть свідчити про процеси деструкції або структурних перетворень у полімерній матриці.

Згідно з отриманими даними, після витримки в біологічному середовищі протягом 1 місяця спостерігається підвищення міцності при розриві та зменшення відносного видовження. Це може бути зумовлено релаксаційними процесами полімеру у середовищі БС 199. Однак після 3 місяців інкубації розпочинається процес біодеструкції, який завершується через 6 місяців, на що вказує поступова втрата механічних властивостей матеріалу.

Процеси біодеструкції, що відбуваються під впливом біологічних агентів, супроводжуються змінами у складі та структурі полімерних матеріалів. ІЧ-спектроскопія є одним із найефективніших методів дослідження хімічної структури полімерних матеріалів, що

дозволяє отримати інформацію про наявність функціональних груп, характер хімічних зв'язків та зміни в полімерній матриці під впливом зовнішніх факторів. Завдяки високій чутливості до молекулярних коливань цей метод широко застосовується для вивчення процесів біодеструкції полімерів.

Згідно отриманих результатів ІЧ-спектри ПУС характеризуються наявністю смуг поглинання $\nu_{\text{NH-зв'яз.}}$ – 3308 cm^{-1} і $\nu_{\text{NH-вільн.}}$ – 3500 cm^{-1} (рис. 1, рис. 2). Смуги поглинання 2970 cm^{-1} , 2968 cm^{-1} , характеризують деформаційні коливання C-H зв'язку.

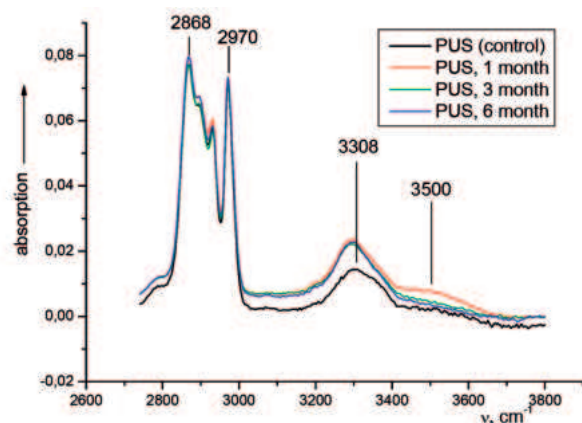


Рисунок 1 – Фрагмент ІЧ-спектру (2600-3800) cm^{-1} ПУС після інкубації у БС 199.

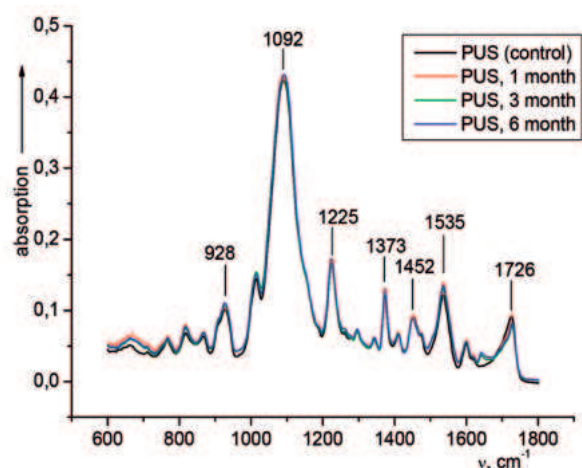


Рисунок 2 – Фрагмент ІЧ-спектру (600-1800) cm^{-1} ПУС після інкубації у БС 199.

Спостерігається смуга поглинання $\nu_{\text{C=O}}$ 1726 cm^{-1} COO-груп уретанового фрагменту, смуги поглинання $\nu_{\text{SC-O-C}}$ 1092 cm^{-1} та $\nu_{\text{AS-C-O-C}}$ 1373 cm^{-1} , та смуга поглинання з максимумом 1535 cm^{-1} , що відповідає коливанням δ_{NH} уретанового фрагменту. Під впливом БС 199 спостерігається підвищення інтенсивності на один місяць інкубації $\nu_{\text{NH-зв'яз.}}$ – 3308 cm^{-1} і $\nu_{\text{NH-вільн.}}$ – 3500 cm^{-1} в порівнянні з контролем. При подальшій інкубації інтенсивність $\nu_{\text{NH-вільн.}}$ – 3500 cm^{-1} на 3 та 6 місяців дещо знижується, але залишається більшою в порівнянні з контролем. Спостерігається перерозподіл інтенсивностей смуг поглинання 2970 cm^{-1} та 2868 cm^{-1} , які характеризують деформаційні коливання C-H зв'язку.

В області (600-1800) cm^{-1} зі збільшенням терміну інкубації спостерігається зменшення інтенсивності $\nu_{\text{C=O}}$ 1726 cm^{-1} та δ_{NH} 1535

Таблиця – Зміна фізико-механічних властивостей ПУС під впливом БС 199 в часі

Зразки	ПУС			
Термін інкубації	Control	1 month	3 months	6 months
Міцність при розриві, σ , МПа	1,98±0,04	2,90±0,24	1,76±0,14	-
Відносне подовження при розриві, ϵ , %	330,0±32,3	240,0±18,0	660,0±5,5	75,0±7,4

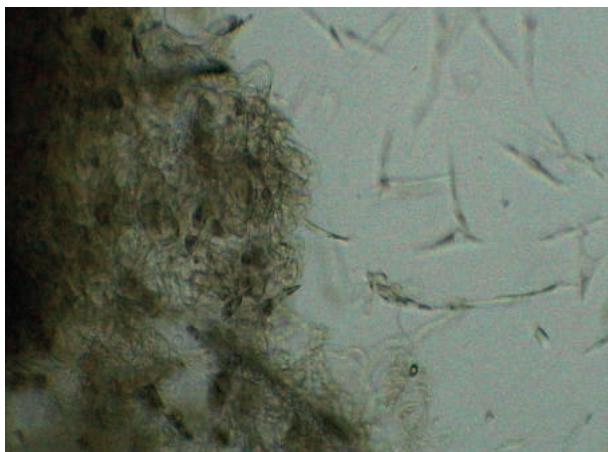


Рисунок 3 – Початок росту клітин в культурі підшкірно-жирової клітковини щурів на 3 добу в контролі. Збільшення: $\times 100$. cm^{-1} , смуги поглинання $\nu_{\text{SC-O-C}}$ 1092 cm^{-1} та 928 cm^{-1} незначно збільшують свою інтенсивність. Інші смуги поглинання без суттєвих змін.

Також спостерігається поява смуги поглинання при $\sim 1650 \text{ cm}^{-1}$ зі збільшенням терміну інкубації, що вказує на активні структурні зміни полімеру під впливом біологічного середовища. Ця смуга може бути пов'язана з амідними I коливаннями ($\nu_{\text{C=O}}$) карбамідних або уретанових груп, що утворюють водневі зв'язки з молекулами води або компонентами сере-

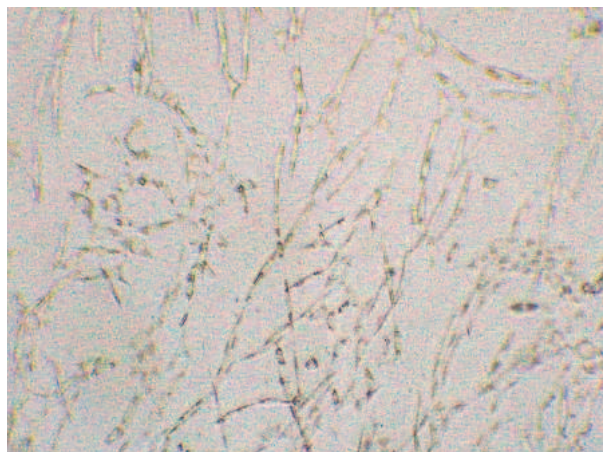


Рисунок 4 – Сіткоподібна зона росту фібробластичних елементів на 5 добу культивування в контролі. Збільшення: $\times 100$. довища. Також вона може свідчити про поглинання води, деформаційні коливання якої ($\delta\text{H-O-H}$) проявляються в цій області, або про утворення продуктів деградації, таких як вторинні амідни чи карбоксильні кислоти. Крім того, взаємодія полімеру з біомолекулами середовища, наприклад білками, може сприяти зростанню інтенсивності цієї смуги через адсорбцію білкових молекул на поверхні полімеру.

В результаті проведеного ІЧ-спектроскопічного аналізу можна дійти висновку, що під впливом біо-

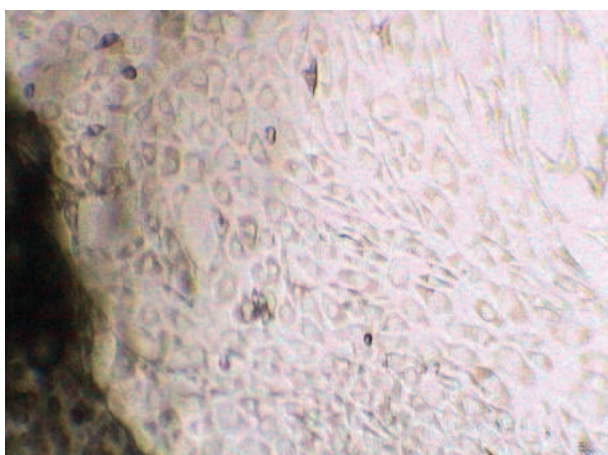


Рисунок 5 – Компактна та сіткоподібна зони росту фібробластів на 7 добу культивування в контролі. Збільшення: $\times 100$.

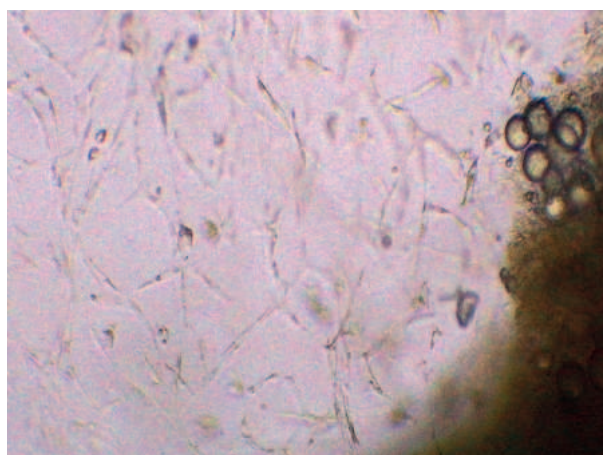


Рисунок 7 – Сіткоподібна зона та зона росту одиничних фібробластичних елементів на 5 добу культивування при внесенні витяжки із зразка: Збільшення: $\times 100$.

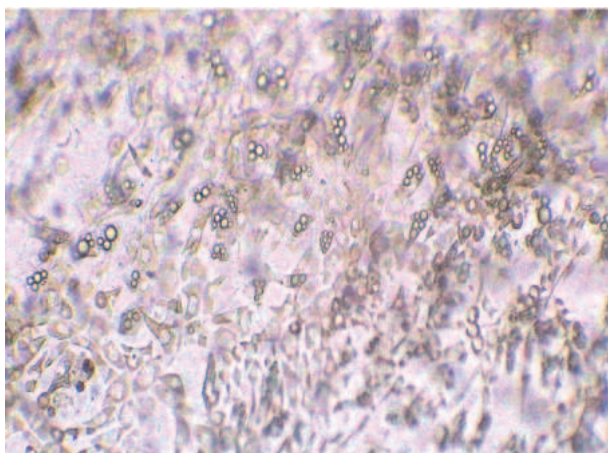


Рисунок 6 – Дегенеративні зміни в культурі фібробластів на 14 добу в контролі: Збільшення: $\times 100$.

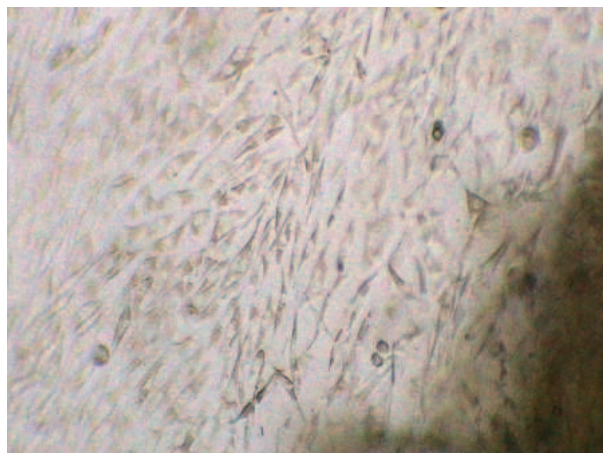


Рисунок 8 – Компактна зона росту фібробластичних елементів на 7 добу культивування при дослідженні зразка ПУС: Збільшення: $\times 100$.

логічного середовища у полімері відбуваються структурні зміни, які проявляються у взаємодії з молекулами середовища, частковій деструкції функціональних груп та локальній реструктуризації. Підвищення інтенсивності смуг ν_{NH} (3308 cm^{-1} і 3500 cm^{-1}) на ранніх етапах інкубації свідчить про утворення водневих зв'язків із компонентами середовища, а їх зниження з часом – про деструкцію NH-зв'язків або їх перерозподіл. Перерозподіл інтенсивностей смуг CH-груп (2970 cm^{-1} і 2868 cm^{-1}) вказує на деформаційні зміни в метильних та метиленових групах. Зменшення інтенсивності $\nu_{\text{C=O}}$ (1726 cm^{-1}) і δ_{NH} (1535 cm^{-1}) свідчить про хімічну модифікацію карбонільних і карбамідних груп через гідроліз чи окислення, тоді як збільшення інтенсивності $\nu_{\text{C-O-C}}$ (1092 cm^{-1} і 928 cm^{-1}) може бути пов'язане з утворенням нових ефірних зв'язків.

Поява смуги $\sim 1650 \text{ cm}^{-1}$ є ознакою хімічної деструкції полімеру, зміни його водневих зв'язків і взаємодії з біологічним середовищем, що впливає на його стабільність і функціональні властивості. Загалом, результати свідчать про активну взаємодію полімеру з біологічним середовищем, що супроводжується його частковою деструкцією та модифікацією.

Вивчення цитотоксичності зразків поліуретансечовинних матеріалів методом тканинної культури фібробластів.

Оцінка цитотоксичності ПУС є важливим етапом дослідження біосумісності полімерних матеріалів в контексті медичних виробів і матеріалів, що контактують із тканинами організму. Особливо актуальним є оцінка цитотоксичності полімерних матеріалів у культурі фібробластів, оскільки фібробласти є однією з ключових клітинних популяцій сполучної тканини, що відіграють критичну роль у процесах регенерації та загоєння ран.

Для дослідження біосумісності зразків полімерних мембран на основі поліуретансечовин був застосований метод клітинної культури фібробластів, який є модельною тест-системою у токсикологічному експерименті [23].

Початок росту в контролі був представлений утворенням одиничних клітин витягнутої форми, а також поодинокі мігруючими фібробластичними елементами, що мали веретеноподібну форму (рис. 3).

Надалі активність росту фібробластичних елементів збільшувалася. На 5 добу у флаконах Карреля площі росту в основному представлені двома зонами сіткоподібною, що складається з пучків і тяжів клітин, які розташовані сіткоподібно та зони мігруючих елементів (рис. 4).

На 7 добу зони росту розділилися на три: компакту, сіткоподібну, та зону одиничних мігруючих елементів. Найбільша кількість клітин, що діляться, спостерігалася в сіткоподібній зоні (рис. 5).

На 10 добу після експлантації відбувається збільшення зон росту, спостерігається тканиноподібний ріст. У компактній зоні виявлялися ознаки дегенеративних змін одиничних фібробластичних елементів, які виражались в вакуолізації з подальшим зернистим переродженням цитоплазми клітин. На 14 добу клітинна популяція вступала в стадію вираженої дегенерації (рис. 6).

Ріст клітин на 5 добу досліджень екстрактів зі зразків ПУС практично не відрізнявся від контролю,

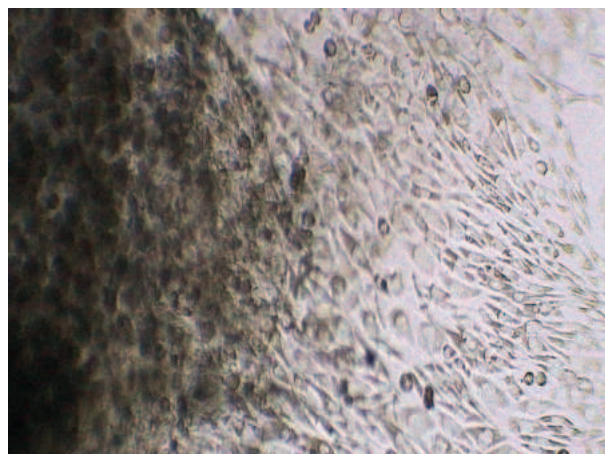


Рисунок 9 – Компактна та сіткоподібна зони росту клітинних елементів при дослідженні зразка ПУС на 10 добу: Збільшення: x160.

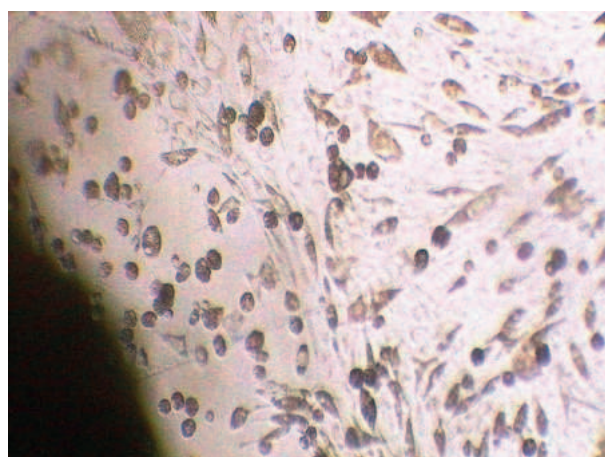


Рисунок 10 – Дегенеративні зміни фібробластичних елементів на 14 добу при дослідженні полімерного зразка : Збільшення: x100.

але була присутня міграція фібробластичних елементів макрофагоподібної форми (рис. 7).

Подальше спостереження за ростом у цих флаконах не показало значних змін у формуванні зон росту навколо експлантатів. Як і в контролі, на 7 добу досліджень спостерігаються три зони росту: компактна, сіткоподібна та зона поодинокі мігруючих елементів, зустрічаються клітини полігональної форми (рис. 8).

На 10 добу після експлантації у всіх флаконах Карреля збільшилися площі зон росту фібробластичних та фібробластоподібних елементів, в порівнянні з контролем. Ознаки дегенеративних змін, виражені у вакуолізації клітин, були присутні в компактній та сіткоподібній зонах (рис. 9).

На 14 добу як в дослідних флаконах, так і в контрольних, популяція клітин вступала у фазу вираженої дегенерації, що виявлялось в значній вакуолізації цитоплазми та зернистому переродженні її в клітинах (рис. 10).

Таким чином, методом тканинної культури фібробластів встановлено, що при внесенні екстракту зі зразків ПУС в середовище культивування динаміка та характер розвитку клітинних елементів не відрізнялись від контролю.

Висновки.

1. Поліуретансечовини продемонстрували здатність до контрольованої біодеструкції у модельних умовах *in vitro*. Процес деструкції завершується про-

тягом 6 місяців, що супроводжується поступовою втратою механічних властивостей та структурними змінами в полімері. ІЧ-спектроскопічний аналіз підтвердив активну взаємодію матеріалу з біологічним середовищем, що призводить до модифікації функціональних груп, гідролізу, окислення та утворення нових хімічних зв'язків.

2. Методом тканинної культури фібробластів доведено відсутність цитотоксичного впливу дослідних зразків поліуретансечовин на динаміку росту та розвиток клітин.

3. Отримані результати дозволяють розглядати поліуретансечовини як перспективний матеріал для застосування у спрямованій регенерації кісткової тканини в щелепно-лицевій ділянці. Вивчена здатність до біодеструкції гарантує поступову резорбцію мембрани у процесі регенерації, що знижує ризики

ускладнень та усуває потребу у вторинному втручанні для її видалення.

4. Результати дослідження підтверджують, що поліуретансечовини можуть бути ефективно використані у медичних застосуваннях, зокрема у сфері регенеративної медицини, де необхідна контрольована деградація матеріалу без негативного впливу на навколишні тканини.

Перспективи подальших досліджень.

Оскільки за результатами проведених досліджень ПУС продемонстрували здатність до біодеструкції та відсутність цитотоксичного впливу в умовах *in vitro*, в подальшому заплановано токсикологічні випробування в умовах *in vivo* та проведення модельних операцій на експериментальних тваринах щодо направленої регенерації кісткової тканини з використанням зразків полімерних мембран.

References / Література

1. Andrej Aurer Ksenija Jorgic-Srdjak, Membranes for Periodontal Regeneration. Acta Stomatol Croat. 2005;39(1):107-112.
2. Alqahtani AM. Guided Tissue and Bone Regeneration Membranes: A Review of Biomaterials and Techniques for Periodontal Treatments. Polymers (Basel). 2023;15(16):3355. DOI: [10.3390/polym15163355](https://doi.org/10.3390/polym15163355).
3. Liu J, Kerns DG. Mechanisms of guided bone regeneration: A review. The Open Dent J. 2014;8:56-65.
4. Madhuri SV. Membranes for Periodontal Regeneration. Int. J. Pharm. Sci. Invent. 2016;5(1):19-24.
5. Canullo L, Malagnino VA. Vertical ridge augmentation around implants by e-PTFE titanium-reinforced membrane and bovine bone matrix: a 24- to 54-month study of 10 consecutive cases. Int J Oral Maxillofac Implants. 2008;23(5):858-866. Available from: https://medlib.yu.ac.kr/eur_j_oph/jom/IJOMI/IJomi_23_858.pdf.
6. Fontana F, Santoro F, Maiorana C, Iezzi G, Piattelli A, Simion M. Clinical and Histologic Evaluation of Allogeneic Bone Matrix Versus Autogenous Bone Chips Associated with Titanium-Reinforced e-PTFE Membrane for Vertical Ridge Augmentation: A Prospective Pilot Study. Int. J. Oral Maxillofac. Implants. 2008;23(6):1003-12. Available from: .
7. Sam G, Pillai BR. Evolution of Barrier Membranes in Periodontal Regeneration-»Are the third Generation Membranes really here?» J Clin Diagn Res. 2014;8(12):ZE14-ZE17. DOI: [10.7860/JCDR/2014/9957.5272](https://doi.org/10.7860/JCDR/2014/9957.5272).
8. Babo PS, Pires RL, Reis RL, Gomes ME. Membranes for periodontal tissue regeneration. Ciencia & Tecnologia dos Materiais. 2014;26(2):108-117. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ctmat.2015.03.007>.
9. Lp WY, Gogolewski S. Clinical Application of Resorbable Polymers in Guided Bone Regeneration. Special Issue: Biomaterials in Regenerative Medicine. 2007;253(1):139-146. DOI: https://doi.org/10.1002/masy.200750_721.
10. Elgali I, Omar O, Dahlin C, Thomsen P. Guided bone regeneration: materials and biological mechanisms revisited. Eur J Oral Sci. 2017;125:315-337. DOI: <https://doi.org/10.1111/eos.12364>.
11. Lee HS, Byun SH, Cho SW, Yang BE. Past, present, and future of regeneration therapy in oral and periodontal tissue: A review. Appl. Sci. 2019;9(6):1046. DOI: <https://doi.org/10.3390/app9061046>.
12. Richardson CR, Mellonig JT, Brunsvol MA, McDonnell HT, Cochran DL. Clinical evaluation of Bio-Oss®: A bovine-derived xenograft for the treatment of periodontal osseous defects in humans. J. Clin. Periodontol. 1999;26:421-428. DOI: [10.1034/j.1600-051x.1999.260702.x](https://doi.org/10.1034/j.1600-051x.1999.260702.x).
13. Wang D, Zhou X, Cao H, Zhang H, Wang D, Guo J, et al. Barrier membranes for periodontal guided bone regeneration: a potential therapeutic strategy. Front. Mater. 2023;10:1220420 DOI: <https://doi.org/10.3389/fmats.2023.1220420>.
14. Ignatius AA, Claes LE. In vitro biocompatibility of bioresorbable polymers: poly(L, DL-lactide) and poly(L-lactide-co-glycolide). Biomaterials. 1996;17(8):831-9. DOI: [10.1016/0142-9612\(96\)81421-9](https://doi.org/10.1016/0142-9612(96)81421-9).
15. Toth JM, Estes BT, Wang M, Seim III HB, Jeffrey L, Scifert JS, et al. Evaluation of 70/30 poly (L-lactide-co-D,L-lactide) for use as a resorbable interbody fusion cage. Journal of Neurosurgery. 2002;97(2):423-432. DOI: <https://doi.org/10.3171/spi.2002.97.4.0423>.
16. Vernino AR, Jones FL, Holt RA, Nordquist RE, Brand JW. Evaluation of the potential of a polylactic acid barrier for correction of periodontal defects in baboons: a clinical and histologic study. Int J Periodontics Restorative Dent. 1995;15(1):84-101.
17. Bergsma JE, Rozema FR, Bos RR, Boering G, de Bruijn WC, Pennings AJ. In vivo degradation and biocompatibility study of in vitro pre-degraded as-polymerized polylactide particles. Biomaterials. 1995;16(4):267-74. DOI: [10.1016/0142-9612\(95\)93253-a](https://doi.org/10.1016/0142-9612(95)93253-a).
18. Halatenko NA, Malanchuk VO, Rozhnova RA, Astapenko OO, Rudenchik TV. Biologichno aktyvni poliuretani kompozitsii dlia endoprotezuвання kistkovoї tkany. Kyiv: Naukova Dumka; 2020. s. 230 s. Dostupno: https://www.researchgate.net/publication/388869749_Biological_active_polyurethane_compositions_for_bone_tissue_endoprosthesis. [in Ukrainian].
19. Malanchuk VO, Shvydchenko VS, Halatenko NA, Kuliesh DV. Usunennia periradykuliarnykh defektiv kistky bioaktivnymy kompozytamy prolonoivanoi dii. Visnyk stomatolohii. 2018;3:55-62. Dostupno: http://ir.library.nmu.com/bitstream/123456789/3590/1/Shvydchenko_VSL_2018_29_3_13.pdf. [in Ukrainian].
20. Feleshtynskyi YaP, Balan IH, Halatenko NA, Kulesh DV, Vladychuk YaV. Khirurhichne likuvannya pilonidalnykh kist kryzhovo-kuprykovoi dilianky z vykorystanniam kleiu na osnovi sitchastoho poliuretanu. Shpytalna khirurhiia. Zhurnal imeni L. Ya. Kovalchuka. 2021;4:44-48. DOI: <https://doi.org/10.11603/2414-4533.2021.4.12715>. [in Ukrainian].
21. Feleshtynskyi YP, Derkach KD. Surgical treatment optimization of recurrent abdominal wall hernias associated with ligature fistula. Wiad Lek. 2023;76(3):515-519. DOI: [10.36740/WLek202303108](https://doi.org/10.36740/WLek202303108).
22. Denysenko VD, Halatenko NA, Rozhnova RA, Nechaeva LY. Rozrobka ta doslidzhennia kompozitsiinykh materialiv z dakarbazinom medychnoho pryznachennia na osnovi pinopolyyuretansechovyn. Polimernyi zhurnal. 2022;44(3):222-230. DOI: <https://doi.org/10.15407/polymerj.44.03.222>. [in Ukrainian].
23. Lebediev YeV, Konstantinov YuB, Halatenko NA, Yatsenko VP, Rozhnova RA, Maksymenko VB. Toksikoloho-hihiienichni ta doklinichni doslidzhennia polimernykh materialiv i vyrobiv na yikh osnovi medychnoho pryznachennia. Kyiv: Naukova dumka; 2009. 98 s. [in Ukrainian].
24. Kuliesh DV, Rozhnova RA, Denysenko VD, Hrytsenko VP, Narazhaiko LF, Halatenko NA. Vyvchennia tsytotoksychnosti ta biosumisnosti izotsianurativmisnykh pinopolyyuretansechovyn, napovnenykh dakarbazinom dlia zastosuвання v medytsyni. Morphologia. 2024;18(2):44-54. Dostupno: <https://drive.google.com/file/d/1Ad7Z1PEC1oFprdsP-d98Y7yneuHXIFLJ/view>. [in Ukrainian].
25. Council of Europe. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. Strasbourg: Council of Europe; 1986. 53 p.

БИОРЕЗОРБТИВНІ МЕМБРАНИ ДЛЯ СПРЯМОВАНОЇ РЕГЕНЕРАЦІЇ КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ НА ОСНОВІ ПОЛІУРЕТАНСЕЧОВИН

Денисенко В. Д., Рожнов А. С.

Резюме. У роботі представлено результати всебічного дослідження біодеструкції та біосумісності поліуретансечовин (ПУС) як перспективного матеріалу для виготовлення біорезорбтивних мембран, що засто-

совуються у спрямованій кістковій регенерації (СКР). Зразки ПУС інкубували в біологічному середовищі 199 протягом 1, 3 і 6 місяців. Після кожного етапу інкубації проводили оцінку фізико-механічних властивостей та структури методом ІЧ-спектроскопії. Біосумісність зразків полімерних мембран на основі поліуретансечовин оцінювали методом клітинної культури фібробластів, який є модельною тест-системою у токсикологічному експерименті. За результатами ІЧ-спектроскопічного аналізу під дією біологічного середовища в полімері відбуваються значні структурні зміни, зокрема взаємодія функціональних груп з молекулами середовища, часткова деградація хімічних зв'язків та локальна перебудова полімерного ланцюга. Отримані спектри свідчать про зниження інтенсивності смуг поглинання, характерних для уретанових і сечовинних зв'язків, збільшення гідрофільності та появу нових функціональних груп, характерних для продуктів гідролізу. За результатами фізико-механічних випробувань встановлено, що процес біодеградації починається після 3 місяців інкубації й досягає вираженої фази через 6 місяців, на що вказує поступова втрата механічних властивостей матеріалу. Методом тканинної культури фібробластів встановлено відсутність цитотоксичної дії з боку полімеру: ріст, морфологія та поділ клітин не мали відхилень у порівнянні з контролем. Отримані результати демонструють, що ПУС мають високу біосумісність, контрольовану деградацію, механічну стабільність на ранніх етапах регенерації та можуть бути ефективно використані як резорбтивні мембрани в щелепно-лицевій хірургії, забезпечуючи ефективний бар'єрний ефект та знижуючи потребу у повторному втручанні. ПУС можуть бути ефективно використані у медичних застосуваннях, зокрема у сфері регенеративної медицини, де необхідна контрольована деградація матеріалу без негативного впливу на навколишні тканини.

Ключові слова: спрямована кісткова регенерація, поліуретансечовини, біодеградація, біосумісність, полімерні мембрани, фібробласти.

BIORESORBABLE MEMBRANES FOR GUIDED BONE REGENERATION BASED ON POLYURETHANE UREAS

Denysenko V. D., Rozhnov A. S.

Abstract. This study presents the results of a comprehensive investigation into the biodegradation and biocompatibility of polyurethane-ureas (PUUs) as a promising material for the development of bioresorbable membranes applicable in guided bone regeneration (GBR). PUUs specimens were incubated in biological medium 199 over periods 1, 3, and 6 months. After each incubation period, physical-mechanical properties and structural characteristics were evaluated using FTIR spectroscopy. The biocompatibility of the PUUs-based polymer membranes was evaluated using a fibroblast cell culture model, which serves as a standard test system in biomedical toxicity screening. FTIR spectroscopic analysis revealed significant structural changes in the polymer under the influence of the biological environment, including interactions of functional groups with surrounding molecules, partial degradation of chemical bonds, and local restructuring of the polymer chain. The obtained spectra demonstrated a decrease in the intensity of absorption bands associated with urethane and urea linkages, increased hydrophilicity, and the emergence of new functional groups typical of hydrolysis products. Physical-mechanical testing confirmed that the biodegradation process begins after 3 months of incubation and reaches a pronounced stage by 6 months, as evidenced by the gradual loss of mechanical properties. Fibroblast culture testing showed no cytotoxic effect from the polymer: cell growth, morphology, and division were comparable to the control. These results demonstrate that PUUs exhibit high biocompatibility, controlled degradation, and mechanical stability during the early stages of tissue regeneration. These properties make PUUs suitable for use as resorbable membranes in maxillofacial surgery, providing an effective barrier function and minimizing the need for secondary surgical intervention. PUUs can be effectively applied in medical contexts, particularly in regenerative medicine, where controlled material degradation without adverse effects on surrounding tissues is required.

Key words: guided bone regeneration, polyurethane ureas, biodegradation, biocompatibility, polymer membranes, fibroblasts.

ORCID and contributionship / ORCID кожного автора та їх внесок до статті:

Denysenko V. D.: <https://orcid.org/0000-0002-5961-5750>^{BCEF}

Rozhnov A. S.: <https://orcid.org/0009-0008-8628-9234>^{ABCDEF}

Conflict of interest / Конфлікт інтересів:

The authors declare no conflict of interest. / Автори повідомляють про відсутність конфлікту інтересів.

Corresponding author / Адреса для кореспонденції

Rozhnov Artem Stanislavovich / Рожнов Артем Станіславович

Bohomolets National Medical University / Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця

Ukraine, 03680, Kyiv, 1 Zoologichna str. / Адреса: Україна, 03680, м. Київ, вул. Зоологічна 1

Tel.: +380634505089 / Тел.: +380634505089

E-mail: Dentartroz@gmail.com

A – Work concept and design, B – Data collection and analysis, C – Responsibility for statistical analysis, D – Writing the article, E – Critical review, F – Final approval of the article / A – концепція роботи та дизайн, B – збір та аналіз даних, C – відповідальність за статистичний аналіз, D – написання статті, E – критичний огляд, F – остаточне затвердження статті.

Received 24.01.2025 / Стаття надійшла 24.01.2025 року

Accepted 01.05.2025 / Стаття прийнята до друку 01.05.2025 року