

СТРУКТУРА И СВОЙСТВА ЦИНК СОДЕРЖАЩИХ КАЛЬЦИЙ-ФОСФАТНЫХ ПОКРЫТИЙ ДЛЯ КОСТНЫХ ИМПЛАНТАТОВ

К.Н. ВЕРЗУНОВА, А.П. ГРЯЗНОВ, Г.В. МОТОВА, С.И. ТВЕРДОХЛЕБОВ

Томский политехнический университет

E-mail: shumskaya_k@mail.ru

Введение. В мире ежедневно осуществляется огромное количество хирургических вмешательств для лечения переломов и деформаций костей. Современная восстановительная медицина сконцентрирована на регенерации патологически измененных тканей. Это достигается замещением костного дефекта имплантатом, помещенным в зону повреждения. Благодаря этому сокращаются сроки восстановления трудоспособности и повышается качество жизни пациента [1]. Для улучшения остеоинтеграции имплантатов на его поверхность наносят кальций-фосфатные покрытия. Но кроме проблем остеоинтеграции в современной медицине существует так же проблема борьбы с устойчивыми к антибиотикам бактериям. Исходя из данных литературы, микробное обсеменение операционной раны является неизбежным даже при идеальном соблюдении правил асептики и антисептики. Перспективным методом улучшения функциональных свойств кальций-фосфатных покрытий является инкорпорирование в их структуру различных антибактериальных добавок. Так, некоторые металлы, в отличие от органических антибиотиков, обладают большим сроком действия, меньшей токсичностью, лучшей избирательностью и термостойкостью. Одним из перспективных металлов является цинк, это биологически безопасный, биосовместимый, нетоксичный металл, обладающий антибактериальными и противовоспалительными свойствами [2,3].

Целью данной работы являлась разработка цинк содержащих кальций-фосфатных покрытий, обладающих антибактериальными свойствами.

Материалы и методы. В качестве подложек для нанесения покрытий были использованы титановые диски марки ВТ6 (Ti6Al4V) диаметром 10 мм и толщиной 1 мм. Перед нанесением покрытий поверхность образцов подвергалась химическому травлению в водном растворе азотной и плавиковой кислот, взятых в объёмных отношениях $\text{HNO}_3:\text{HF}:\text{H}_2\text{O}=1:2,5:2,5$, при температуре 15-20 °С в течение 10-15 секунд с последующей нейтрализацией в 1 % водном растворе гидроксида натрия и многократной промывкой дистиллированной водой.

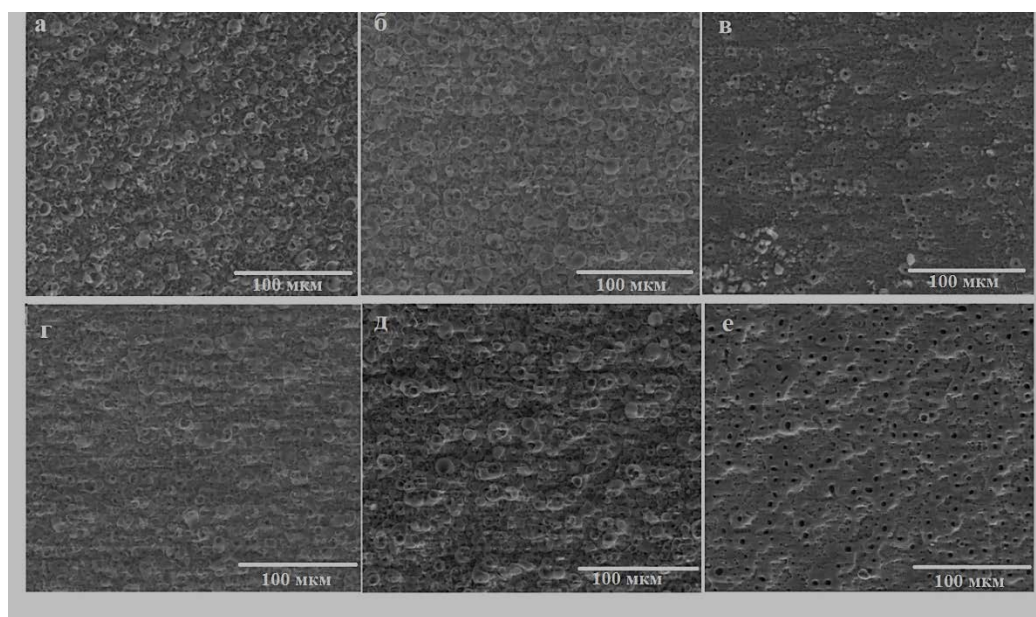
Формирование кальций-фосфатных покрытий методом микродугового оксидирования (МДО) проводилось на установке «Комплекс микродугового оксидирования» (КМДО), разработанной в Лаборатории плазменных гибридных систем НОЦ Б.П. Вейнберга ИЯТШ ТПУ. Для исследований были подготовлены 6 групп образцов. Покрытие образцов проводилось в различных электролитах. Первый используемый электролит был на основе оксида кальция 27 г/л, гидроксиапатита 10 г/л, 70 мл/л ортофосфорной кислоты. Во втором электролите использовали гидроксиапатит (ГАП), производства ООО «БИТЕКА», 40 г/л и 70 мл/л ортофосфорной кислоты. В качестве третьего электролита использовали раствор ацетата кальция одноводного и фосфата натрия однозамещенного одноводного в количестве 36,8 г/л и 15,6 г/л, соответственно. Покрытия 4-6 групп образцов были сформированы в тех же электролитах, но с добавлением к каждому 5 г/л оксида цинка. Параметры формирования пористых кальций-фосфатных МДО покрытий групп образцов 1, 2, 4 и 5 были следующими: напряжение – 300 В, скорость подъема напряжения – 3 В/сек, частота следования импульсов – 200 Гц, длительность импульса 100 мкс, время формирования покрытий – 15 минут. Параметры формирования покрытий групп образцов 3 и 6 были следующими: напряжение – 500 В, скорость подъема напряжения – 3 В/сек, частота следования импульсов – 500 Гц, длительность импульса 400 мкс, время формирования покрытий – 3 минуты.

Исследование толщины покрытий проводилось вихретоковым методом с использованием прибора КОНСТАНТА 5 (Constanta, Россия). Исследование шероховатости покрытий осуществлялось с использованием профилометра «Talysurf 5-120» (Taylor-Hobson, Англия). Численная оценка шероховатости поверхности оценивалась по параметрам (Ra) и (Rz) по среднему арифметическому отклонению профиля поверхности и высоте неровностей профиля по десяти точкам, соответственно. Элементный состав покрытий определяли методом энергодисперсионного анализа (EDS) на приборе Quanta 200 3D (FEI Company, США). Фазовый состав покрытий был исследован методом рентгенодифракционного анализа на рентгеновском дифрактометре Shimadzu XRD 6000 (Shimadzu, Япония) на CuK α -излучении.

Результаты

Толщина кальций-фосфатных покрытий групп образцов №№ 1, 2, 4 и 5 варьируется от 50 до 60 мкм. Морфология поверхности кальций-фосфатных покрытий групп образцов №№ 1, 2, 4 и 5 представляет собой полые сферолиты, размер которых варьируется от 5 до 10 мкм, равномерно распределенные по поверхности образцов (рисунок 1а, б, г, д). В свою очередь, толщина кальций-фосфатных покрытий групп образцов №№ 3 и 6 изменяется от 30 до 40 мкм. Поверхность групп образцов №№ 3 и 6 отличается от предыдущих групп и имеет вид кратерообразных образований с порой по центру (рисунок 1в, е). Размер пор составляет от 0,5 до 2 мкм. Поры расположены равномерно по всей поверхности образцов. Добавление ZnO приводит к увеличению среднего размера пор до 0,5-7 мкм (рисунок 1е).

Рисунок 1. СЭМ-изображения поверхности образцов титановых подложек с кальций-фосфатными покрытиями, сформированными методом МДО в электролите 1 (а), в электролите 2 с добавлением ГАП ООО «БИТЕКА» (б), в электролите 3 (в), в электролите 1 с 5 г/л ZnO (г), в электролите 2 с добавлением ГАП ООО «БИТЕКА» и 5 г/л ZnO (д), в 3 электролите с 5 г/л ZnO (е).



Шероховатость кальций-фосфатных образцов, сформированных в электролитах с добавлением ZnO выше по сравнению с образцами, сформированными в аналогичных электролитах без добавки (таблица 1).

Таблица 1 – Шероховатость кальций-фосфатного покрытия

| Электролит | R_a , мкм | R_z , мкм |
|------------|-------------|--------------|
| Группа 1 | 2,606±0,234 | 15,734±1,413 |
| Группа 2 | 3,578±0,284 | 20,27±1,496 |
| Группа 3 | 1,695±0,138 | 10,403±0,89 |
| Группа 4 | 4,088±0,264 | 22,452±0,618 |
| Группа 5 | 3,939±0,47 | 21,952±1,75 |
| Группа 6 | 2,619±0,174 | 14,486±1,082 |

Исследование состава кальций-фосфатных покрытий с помощью энергодисперсионной рентгеновской спектроскопии показали, что покрытия состоят из элементов электролита (Ca, P, O, Zn) и подложки (Ti, V, Al) (таблица 2). При этом стоит отметить, что наибольшим значением соотношения Ca/P в исследованных покрытиях наблюдалось в группе образцов 3. Добавление к электролиту на основе раствора ацетата кальция одноводного и фосфата натрия однозамещенного одноводного порошка ZnO приводит к формированию покрытий с более низким соотношением Ca/P. В двух других электролитах подобная тенденция не наблюдалась.

Таблица 2 – Элементный состав кальций-фосфатных покрытий, сформированных в различных электролитах, в ат.%.
в различных электролитах, в ат.%.

| Электролит/элемент | O | Al | P | Ca | Ti | V | Zn | Ca/P |
|--------------------|------------|-----------|------------|------------|------------|-----------|------------|------|
| Группа 1 | 56,09±0,36 | 0,77±0,02 | 21,56±0,09 | 11,18±0,36 | 9,97±0,09 | 0,43±0,05 | | 0,52 |
| Группа 2 | 56,67±0,34 | 1,14±0,07 | 21,87±0,09 | 6,66±0,72 | 13,05±0,14 | 0,59±0,04 | | 0,3 |
| Группа 3 | 50,38±0,36 | 2,37±0,22 | 5,75±0,32 | 9,53±0,31 | 30,51±1,05 | 1,22±0,09 | | 1,62 |
| Группа 4 | 55,62±0,28 | 0,78±0,04 | 21,38±0,15 | 10,75±0,13 | 9,71±0,07 | 0,46±0,05 | 1,3±0,09 | 0,5 |
| Группа 5 | 55,93±0,49 | 1,09±0,06 | 21,85±0,22 | 6,63±0,20 | 13,01±0,26 | 0,65±0,05 | 0,83±0,33 | 0,3 |
| Группа 6 | 48,49±0,39 | 1,37±0,08 | 11,38±0,17 | 9,78±0,19 | 16,94±0,32 | 0,78±0,07 | 11,26±0,29 | 0,86 |

На рентгенограмме образцов групп 4 и 5 присутствуют пики, характерные для отражений от плоскостей фазы α -титана. На рентгенограмме образцов группы 6 кроме пиков от фазы α -титана присутствуют фазы оксида титана (рутил, анатаз) и оксида цинка. Пики, характерные фосфатам кальция, не обнаружены ни на одной рентгенограмме, что свидетельствует об их аморфной структуре.

Выводы. В результате проделанной работы были разработаны 3 электролита и получены цинк содержащие кальций-фосфатные покрытия. Покрытия обладают высоким содержанием цинка, шероховатой морфологией и кристаллической структурой. В дальнейшем планируется изучение антибактериальных свойств разработанных покрытий.

Проект: исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и Национального научного фонда Болгарии № 20-53-18003.

Благодарности: авторы выражают благодарность генеральному директору ООО «БИТЭКА» С.Е. Крылову за предоставленные производимые предприятием материалы.

Список литературы

1. Corcuera-Flores J.R., Alonso-Domínguez A.M., Serrera-Figallo M.Á., Torres-Lagares D., Castellanos-Cosano L., Machuca-Portillo G., Relationship Between Osteoporosis and Marginal

- Bone Loss in Osseointegrated Implants: A 2-Year Retrospective Study, J. Periodontol. 87 (2016) 14–20. doi:10.1902/jop.2015.150229
- Ong K.L., Villarraga M.L., Lau E., Carreon L.Y., Kurtz S.M., Glassman S.D., Off-Label Use of Bone Morphogenetic Proteins in the United States Using Administrative Data, Spine (Phila. Pa. 1976). 35 (2010) 1794–1800. doi:10.1097/BRS.0b013e3181ecf6e4.
 - Sowjanya J.A., Singh J., Mohita T., Sarvanan S., Moorthi A., Srinivasan N., Selvamurugan N., Biocomposite scaffolds containing chitosan/alginate/nano-silica for bone tissue engineering, Colloids Surfaces B Biointerfaces. 109 (2013) 294–300. doi:10.1016/j.colsurfb.2013.04.006.

АНАЛИЗ ЭФФЕКТИВНОСТИ РАЗЛИЧНЫХ БЕЛКОВЫХ ПОКРЫТИЙ ПОЛИМЕРНЫХ МАТРИКСОВ ДЛЯ УЛУЧШЕНИЯ АДГЕЗИИ ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫХ КЛЕТОК

Е.А. ВЕЛИКАНОВА, Е.А. СЕНОКОСОВА, В.Г. МАТВЕЕВА

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний»

E-mail: velikanova_ea@mail.ru

Сердечно-сосудистые заболевания являются основной причиной смертности в мире. Стандартом хирургического лечения заболеваний, вызванных нарушением проходимости кровеносных сосудов, признано использование аутологических вен в качестве шунтов [1].

В настоящее время активно разрабатывают технологии создания протезов сосудов методом тканевой инженерии [2]. При этом необходимостью представляется модификация внутренней поверхности сосудистого протеза для увеличения адгезии эндотелиальных клеток. Предполагается, что быстрая эндотелизация протезов позволит предотвратить наиболее частые осложнения, такие как тромбозы и гиперплазию неоинтимы [3].

Цель данной работы – определить эффективность модификации поверхности полимерных матриксов фибрином, фибронектином или коллагеном I типа для улучшения адгезии и поддержания жизнеспособности эндотелиальных клеток.

Материалы и методы. Полимерные матриксы изготавливали методом электроспиннинга из смеси поли(3-гидроксибутирата-ко-3-гидроксивалерата) (Sigma-Aldrich) и поли(ε-капролактона) (Sigma-Aldrich) в соотношении 1:2. В качестве растворителя использовали 1,1,1,3,3,3-гексафлуоро-2-пропанол (Sigma-Aldrich). Использовали 3 варианта модификации поверхности матриксов: раствором бычьего коллагена I типа (Invitrogen) в 0,02М уксусной кислоте, в концентрации 10 мкг/мл (группа PNBV/PCL-COL); раствором фибронектина крыс в фосфатно-солевом буфере, в концентрации 10 мкг/мл (группа PNBV/PCL-FN); фибрином, выделенным из сыворотки крови условно здоровых доноров. Подробно процедура получения фибрина описана в нашем раннем исследовании [4] (группа PNBV/PCL-FIBRIN).

Для проведения эксперимента использовали эндотелиальные клетки пупочной вены человека (HUVEC). Клетки культивировали в среде MDCB 131 с добавками для эндотелиальных клеток (Invitrogen).

HUVEC засевали на образцы матриксов в количестве 50 000 клеток. В качестве контроля использовали клетки, культивированные на немодифицированных матриксах (группа PNBV/PCL), а также в лунках культурального планшета (группа CONTROL). Клетки культивировали в течение 3 суток.