

**МОДИФИЦИРОВАННЫЕ БИОДЕГРАДИРУЕМЫМИ ПОЛИМЕРАМИ КАЛЬЦИЙ-
ФОСФАТНЫЕ ПОКРЫТИЯ НА ПОВЕРХНОСТИ ТИТАНОВЫХ ИМПЛАНТАТОВ.
ОЦЕНКА ИММУННОЙ РЕАКЦИИ ОРГАНИЗМА ЧЕЛОВЕКА**

А.А. РАКИНА¹, Е.А. СОЛДАТОВА²

¹ Национальный исследовательский Томский государственный университет

² Национальный исследовательский Томский политехнический университет

E-mail: aar37@tpu.ru

Последние несколько десятилетий активно развивается сфера модификации поверхности металлических имплантатов. В частности, на поверхности титановых имплантатов предлагается формировать пористые кальций-фосфатные покрытия для улучшения биосовместимости материала за счет улучшения адгезии и пролиферации клеток, а также способствования остеосинтезу [1]. Одним из перспективных методов формирования покрытий является метод микродугового окидирования, (МДО) заключающийся в электрохимическом окислении поверхности в особых условиях. Главными преимуществами данного метода являются высокая производительность процесса, возможность получения покрытий с контролируемым составом и структурой на деталях сложной формы [2]. К основным недостаткам МДО покрытий стоит отнести недостаточную прочность покрытий за счет повышенной пористости, по сравнению с другими методами модифицирования [3].

В данной работе рассмотрен метод улучшения механических свойств МДО покрытий за счет внедрения в структуру покрытия полимеров. Полимерный материал вводился в электролит, таким образом реализовывалось равномерное распределение полимера по объему формируемого покрытия. В качестве модельных модификаторов были выбраны водорастворимые биodeградируемые полимеры: хитозан, поливинилпирролидон и гиалуроновая кислота, так как целевое назначение разрабатываемых материалов – имплантация в организм человека.

Формирование кальций-фосфатных покрытий методом микродугового окидирования на установке, разработанной в ТПУ, проводилось в насыщенном растворе СаО в 10% H₃PO₄ с дополнением дисперсионной фазой гидроксиапатита с размером частиц до 70 мкм. Покрытие формировали при напряжении 190 В со скоростью подъема напряжения 3 В/сек, с частотой следования импульсов 50 Гц и длительностью импульса 9,7 мс в течение 20 минут. Процесс вели при температуре 15°C.

Помимо исследований физико-механических свойств материалов медицинского назначения, крайне важным является определение иммунологического ответа организма на разработанные материалы. В первую очередь, потому что хроническое воспаление и последующее отторжение имплантата являются одной из главных клинических проблем имплантологии, а также потому что клетки иммунной системы – первые клетки, вступающие во взаимодействие с поверхностью изделия [4].

В данной работе для оценки иммунной реакции организма человека на образцы титановых имплантатов с нанесенным МДО покрытием, модифицированным биodeградируемыми полимерами, были проведены иммуноферментный анализ (ИФА), исследование жизнеспособности первичных тканевых макрофагов, а также была исследована адгезия и пролиферация клеток.

Для проведения исследований первичные макрофаги человека методом магнитной сепарации на двойном градиенте фиколла были выделены из лейкоцитарно-тромбоцитарной массы трех индивидуальных здоровых доноров и сразу же простимулированы цитокинами: IL4 – 10 нг/мл (Peprotech, Германия), IFN γ – 100 нг/мл (Peprotech, Германия) и культивировались вместе с полученными по методике, описанной выше, образцами в течение 6 дней в CO₂-инкубаторе при температуре 37 °C. По истечении шести дней проводился отбор супернатантов, закрепление клеток на поверхности образцов

с помощью параформальдегида и этанольного градиента, а также проводились исследования на жизнеспособность клеток.

Результаты биологических исследований показали, что нанесение кальций-фосфатных покрытий на титановую подложку способствует увеличению жизнеспособности M0 человеческих макрофагов (относительная жизнеспособность клеток больше, чем в контроле (>100%)). Жизнеспособность M1 макрофагов, кокультивированных с материалами, ниже, чем в контрольной культуре (<100%). Кокультивирование M2 макрофагов с разработанными материалами не влияет на их жизнеспособность, за исключением материала с покрытием из кальций-фосфатов с добавлением хитозана, где жизнеспособность M2 макрофагов достоверно выше. При этом, добавление поливинилпирролидона и хитозана в раствор электролита при получении кальций-фосфатных покрытий, способствует достоверному увеличению жизнеспособности M1 макрофагов по сравнению с другими материалами.

Согласно данным, полученным в ходе ИФА, наблюдаемые реакции первичных макрофагов являются донор-специфичными. Однако во всех исследуемых образцах не наблюдалось накопление провоспалительного цитокина TNF- α и противовоспалительного цитокина IL-10, что указывает на отсутствие тенденции как к выраженному острому, так и хроническому (опухоль) процессу [5]. Анализ секреции цитокинов IL-1 β и IL-6 дает основания полагать, что кальций-фосфатные покрытия с добавлением поливинилпирролидона и гиалуроновой кислоты обладают противовоспалительными свойствами, так как у них наблюдается снижение концентрации противовоспалительных цитокинов по сравнению с подложкой.

Таким образом, проведенных эксперименты подтверждают, что нанесение гибридных кальций-фосфатных покрытий, полученных методом микродугового оксидирования, увеличивает биосовместимость материалов. Кроме того, добавление в раствор электролита поливинилпирролидона и гиалуроновой кислоты позволяет получать гибридные покрытия не только с улучшенными физико-механическими, но и с противовоспалительными свойствами.

Исследование было финансово поддержано Министерством образования и науки Российской Федерации, Федеральная целевая программа (соглашение №14.578.21.0031, а также Российским научным фондом.

Список литературы

1. Попков А. В. Биосовместимые имплантаты в травматологии и ортопедии (обзор литературы) //Гений ортопедии. – 2014. – №. 3.
2. Легостаева Е. В. и др. Микродуговые кальцийфосфатные покрытия на поверхности наноструктурированного титана: морфология, физико-механические и электрохимические свойства //Материаловедение. – 2013. – №. 4. – С. 48-56.
3. Атроценко, Э.С. Область применения и свойства покрытий, получаемых микродуговым оксидированием [Текст] / Э.С. Атроценко, И.А. Казанцев, А.Е. Розен, Н.В.Голованова // Физика и химия обработки материалов, 1996 №3. С.8-11.
4. Sridharan R. et al. Biomaterial based modulation of macrophage polarization: a review and suggested design principles //Materials Today. – 2015. – Т. 18. – №. 6. – С. 313-32.
5. Murray P. J. et al. Macrophage activation and polarization: nomenclature and experimental guidelines //Immunity. – 2014. – Т. 41. – №. 1. – С. 14-20.