

Список литературы

1. Höland W., Rheinberger V., Apel E., Hoen C. Principles and phenomena of bioengineering with glass-ceramics for dental restoration // Journal of the European Ceramic Society. – 2007. – Vol. 27. – № 2–3. – P. 1521–1526.
2. Klouzkova A., Mrazova M., Kohoutkova M., Klouzek J. Preparation of leucite-based composites / Ceramics – Silikaty. – 2012. 56. – № 4. – P. 341–346.
3. Ghasemzadeh M., Nemati A., Nozad A., Hamnabard Z. / Crystallization kinetics of glass-ceramics by differential thermal analysis // Ceramics – Silikáty. – 2011. 55. – P. 188–194.
4. Тавгень В., Родцевич С., Минкевич Т. / Щелочные титансодержащие стекла для белых стекломалей с повышенной коррозионной стойкостью // Стекло и керамика. – 2005. – № 7.
5. Красный Б., Тарасовский В., Рахманова, Е. Бондарь В. Химическая стойкость керамических материалов в кислотах и щелочах // Стекло и керамика. – 2004. – № 10.
6. Schairer J., Bowen N. Melting relations in the systems $\text{Na}_2\text{O}-\text{Al}_2\text{O}_3-\text{SiO}_2$ and $\text{K}_2\text{O}-\text{Al}_2\text{O}_3-\text{SiO}_2$ // Am. J. Sci. – 1947. 245 – P. 59–80.
7. Аппен А.А. Химия стекла: монография / А.А. Аппен. – 2-е изд., испр. – Л.: Химия, 1974. – 351 с.
8. Ковчур Г.С., Федорова В.А., Гайдук А.П. Использование редкоземельных элементов для производства стекла. – Минск: Изд-во «Высшая школа», 1982. – 171 с.

МИКРОДУГОВЫЕ БИОПОКРЫТИЯ НА ОСНОВЕ ФОСФАТОВ КАЛЬЦИЯ С ДОБАВЛЕНИЕМ ЛАНТАНА И КРЕМНИЯ

Е.Г. Комарова¹, М.Б. Седельникова¹, Ю.П. Шаркеев¹, М.В. Чайкина²,
В.В. Шейкин³, Е.А. Шелехова³, Е.А. Казанцева⁴

¹ Институт физики прочности и материаловедения СО РАН, г. Томск

² Институт химии твердого тела и механохимии СО РАН, г. Новосибирск

³ Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск

⁴ Национальный исследовательский Томский государственный университет, г. Томск

Национальный исследовательский Томский государственный университет, г. Томск
E-mail: katerina@ispms.tsc.ru

Важной проблемой медицинского материаловедения является разработка новых имплантационных материалов с оптимальными биологическими и функциональными свойствами, способствующими улучшению адаптации имплантатов к среде организма. Антисептические свойства имплантатов позволяют сократить длительность протекания естественных иммунных процессов в биотканях на ранних стадиях приживления, минимизировать возникновение аллергических и воспалительных реакций организма в отдаленный период имплантации, а также обеспечить наилучшие условия для биоинтеграции и надежного закрепления имплантатов. Противовоспалительное действие биоматериалов связано, в основном, с наличием в их составе определенных химических элементов, обладающих природными антисептическими свойствами и содержащихся в небольших количествах.

Лантан (La) характеризуется противовоспалительным антисептическим эффектом, т. к. его ионы обладают близким сродством к фосфолипидам и стабилизируют деятельность клеточных мембран, блокируя ионные каналы клеток биоструктур. Применение лантана и многих лантаноидов в современной медицине также связано с их природными антикоагулянтными свойствами и высокой тромборезистентностью. Считает-

ся, что они влияют на различные стадии процесса свертывания крови: ингибируют синтез протромбина, обладают антагонистическими свойствами в отношении тромбина, действуют как антиметаболиты ионов Ca^{2+} , вытесняя их из систем с одним или более белковыми факторами коагуляции [1, 2]. Ионы кремния играют активную роль в организации соединительной костной ткани и способствуют ее ускоренному восстановлению [3]. Введение указанных модифицирующих добавок в небольших дозах будет способствовать сбалансированности концентрации микроэлементов в биопокрытиях и костных тканях.

Метод микродугового оксидирования (МДО) также известный, как плазменно-электролитическое оксидирование (ПЭО) или искровое анодирование, является перспективным методом обработки поверхности, т. к. позволяет получать биологически активные покрытия с пористой структурой. В процессе МДО покрытие формируется как вследствие окисления химических элементов сплава, так и вследствие термических превращений компонентов электролита под воздействием микроплазменных разрядов. При этом происходит включение в состав покрытия и компонентов электролита, и компонентов сплава, приводящее к изменению свойств и параметров формирования покрытий [4]. Изменяя состав электролита, можно добиться включения различных модифицирующих добавок в структуру кальцийфосфатных (КФ) покрытий.

Целью работы было изучение фазового состава, структуры, физико-химических и биологических свойств La- и Si-содержащих КФ покрытий, сформированных методом МДО при различных напряжениях процесса.

Для нанесения покрытий использовали гидроксиапатит, полученный механохимическим методом [5]. Механохимический метод применяется для синтеза ряда апатитов с общей формулой $\text{M}_{10}(\text{RO}_4)_6\text{X}_2$, при этом, структура апатитов представляет пластичную матрицу, в которой возможен широкий ряд замещений ионами многих микроэлементов: La^{3+} , Mg^{2+} , P^{5+} , V^{5+} , S^{2-} , F^- , Cl^- и др. [5]. В работе использовали La- и Si-замещенный гидроксиапатит (La-Si-ГАП) $(\text{Ca}_{9,5}\text{La}_{0,5}(\text{PO}_4)_{5,5}(\text{SiO}_4)_{0,5}(\text{OH})_2)$ с концентрацией заместителей 0,5 моль [6]. Двойное замещение стабилизирует структуру апатита, способствует вхождению более значительных концентраций Si, а также делает возможным вхождение в структуру апатита ионов кислорода, локализующихся на оси 63 в положении гидроксильных групп [6].

Нанесение КФ покрытий проводили методом МДО на установке MicroArc-3.0 (ИФПМ СО РАН, г. Томск) с импульсным источником питания на образцы из титана BT1-0, имеющие форму пластин размером $10 \times 10 \times 1$ мм³. В качестве компонентов электролита на основе 30 % водного раствора ортофосфорной кислоты были выбраны карбонат кальция и La-Si-ГАП. Нанесение КФ покрытий проводили в анодном режиме, при варьировании напряжения оксидирования 150–350 В. Другие электрофизические параметры: длительность импульсов – 100 мкс, частота – 50 Гц, время нанесения покрытий – 10 мин – были определены в ранее проведенных исследованиях [7].

Исследование морфологии микродуговых La-Si-содержащих КФ (La-Si-КФ) покрытий методом растровой электронной микроскопии (РЭМ, LEO EVO 50, Zeiss, ЦКП «Нанотех» ИФПМ СО РАН) показало, что поверхность КФ покрытий представлена структурными элементами сфероидальной формы (сферы) со сквозными порами (рис. 1). Измерение размеров структурных элементов (сфер и пор) методом «секущей» [8] с последующей статистической обработкой показало, что гистограммы распределения элементов по размерам для всех покрытий имеют одномодальный характер (рис. 1).

При напряжении 200 В начинает формироваться однородное по толщине КФ покрытие (рис. 2, а). При этом средний размер сфер и пор таких покрытий составляет

15–17 мкм и 3–4 мкм, соответственно (рис. 1, а–в). Повышение напряжения до 300 В приводит к росту толщины покрытия (рис. 2, б), увеличению размеров структурных элементов (сфер и пор) и их последующему разрушению (рис. 1, г–е). Средние размеры сфер и пор увеличиваются до 23–24 мкм и 5–6 мкм, соответственно. При максимальном напряжении процесса 350 В средние размеры сфер и пор в покрытиях составили 25–26 мкм и 6–7 мкм, соответственно (рис. 1, ж–и). Известно, что для успешной остеоинтеграции имплантата в костную ткань необходимо наличие микропористой поверхности, поскольку микропоры размером до 10 мкм имеют тот же порядок величины, что некоторые клетки и большие биомолекулы [9].

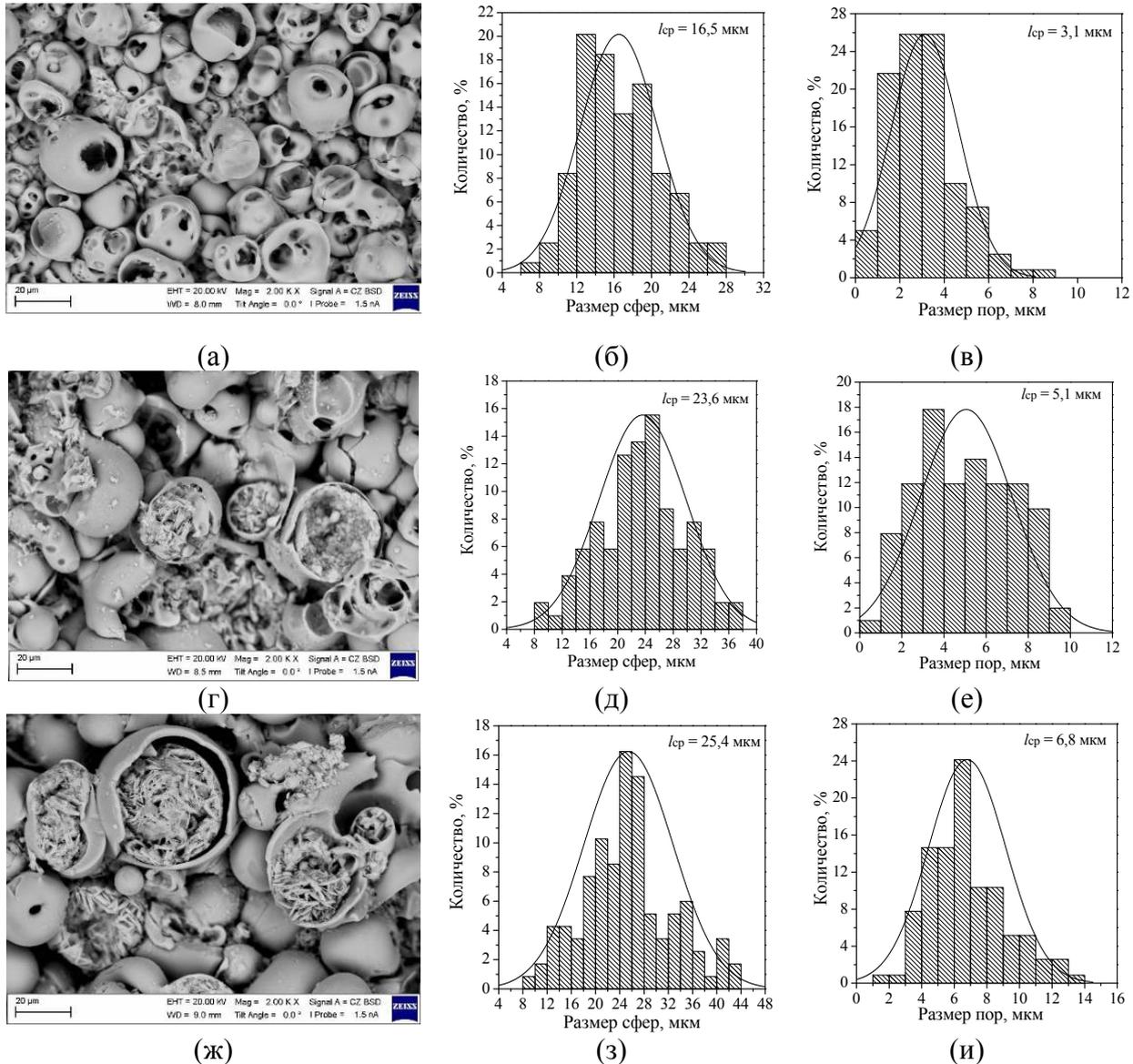


Рис. 1. РЭМ-изображения и гистограммы распределения структурных элементов (сфер и пор) по размерам для La-Si-KF покрытий, полученных при различных напряжениях процесса, В: (а–в) – 200; (г–е) – 300; (ж–и) – 350

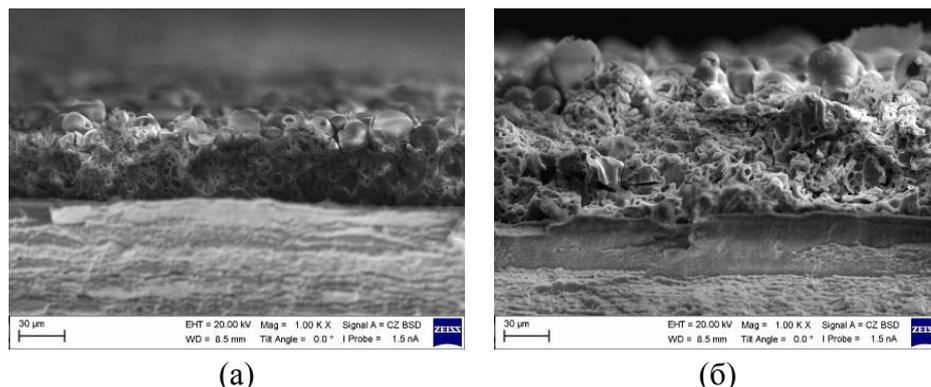


Рис. 2. РЭМ-изображения La-Si-KФ покрытий в поперечном сечении, нанесенных при напряжениях процесса, В: (а) – 200; (б) – 300

С помощью РЭМ установлено, что в La-Si-KФ покрытиях, полученных при напряжениях процесса 300–350 В, на поверхности разрушенных полусфер и осколков образуются кристаллы пластинчатой формы (рис. 1, з, ж). Это может указывать на формирование новой кристаллической фазы в покрытиях.

Рентгенофазовый анализ (РФА), выполненный на дифрактометре ДРОН-7 (ЦКП «Нанотех» ИФПМ СО РАН) в $\text{Co K}\alpha$ -излучении, показал, что La-Si-KФ покрытия, нанесенные при напряжениях процесса 150–250 В, находятся, в основном, в рентгено-аморфном состоянии. Присутствуют лишь небольшие рефлексы, характерные для β -пирофосфата кальция $\beta\text{-Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$. Установлено, что при повышении напряжения оксидирования до 300–350 В происходит формирование новой кристаллической фазы – монетита CaHPO_4 (рис. 3), что согласуется с результатами РЭМ. Отсутствие на рентгенограммах La и Si, или содержащих их соединений связано с малым количеством в составе покрытий.

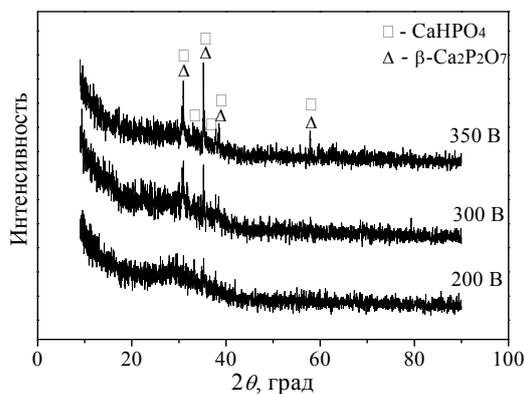


Рис. 3. Рентгенограммы La-Si-KФ покрытий, полученных при различных напряжениях процесса

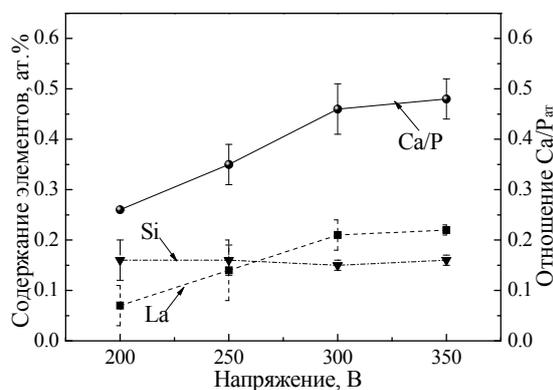


Рис. 4. Содержание элементов La и Si, и атомное отношение Ca/P для La-Si-KФ покрытий, полученных при различных напряжениях процесса

Элементный состав КФ покрытий, определённый методом энергодисперсионной рентгеновской спектроскопии (ЭДС), представлен следующими элементами: кислород (66,3–70,7 ат. %), титан (7,1–12,3 ат. %), фосфор (15,5–17,0 ат. %), кальций (4,3–7,4 ат. %), лантан (0,01–0,22 ат. %) и кремний (0,04–0,16 ат. %). Как видно из результатов ЭДС, элементы La и Si в покрытиях содержатся в небольших «следовых» количествах (рис. 4).

При повышении напряжения МДО до 350 В количество La в составе биопокрытий растет до 0,22 ат. %, а Si – остается неизменным – 0,16 ат. % (рис. 4). Выявленная закономерность, возможно, связана с неравнозначными условиями изоморфного вхождения ионов-заместителей в позиции катиона Ca^{2+} и анионной группы $(\text{PO}_4)^{3-}$ в структуре исходного ГА, и как следствие, неравнозначным участием данных ионов в электрохимических реакциях в процессе МДО. С повышением напряжения МДО, а следовательно, и температуры в области микроплазменных разрядов интенсифицируются процессы осаждения ионов Ca^{2+} из электролита, и образования монетита CaHPO_4 . Это приводит к увеличению содержания Ca в покрытиях и росту отношения Ca/P до 0,5.

Увеличение интенсивности микроплазменных разрядов при повышении напряжения процесса также приводит к росту толщины покрытий и их шероховатости по параметру *Ra* (ГОСТ 2789–73). Исследования показали, что с повышением напряжения процесса происходит линейный рост данных характеристик от 20 до 130 мкм и от 2 до 8 мкм, соответственно (рис. 5). В работе [10] показано, что для успешной адгезии стволовых клеток к поверхности покрытия, их дальнейшей пролиферации и дифференцировки в костную ткань оптимальным является 5 класс шероховатости ($2,5 < Ra < 5$ мкм).

Общая пористость покрытий, которая оценивалась как отношение суммарной длины отрезков, попадающих на поры, к общей длине секущих линий, практически не изменялась и составила 20–23 % (рис. 6, кривая 1).

Важной эксплуатационной характеристикой покрытий является адгезионная прочность. В работе адгезионная прочность определялась методом отрыва на испытательной машине Instron-1185, как отношение усилия, при котором происходит отрыв покрытия от подложки, к площади отрыва. Результаты исследований показали, что адгезионная прочность покрытий линейно уменьшается от 21 до 4 МПа с повышением напряжения процесса нанесения (рис. 6, кривая 2), что обусловлено ростом толщины покрытий. Согласно ISO 13779-4 адгезионная прочность покрытий к медицинским имплантатам должна быть не менее 15 МПа. Для повышения адгезии покрытий предложено проводить предварительную обработку образцов с применением пескоструйной обработки и последующего химического травления [9].

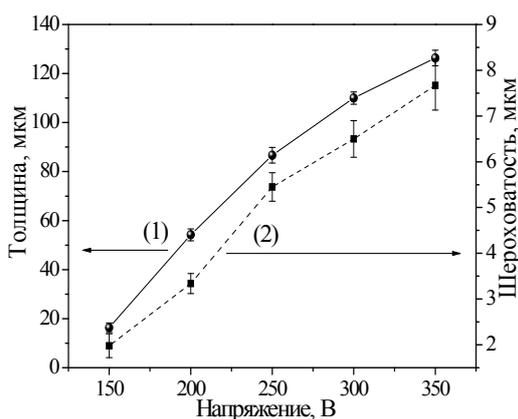


Рис. 5. Зависимости толщины (1) и шероховатости (2) La-Si-KФ покрытий от напряжения процесса

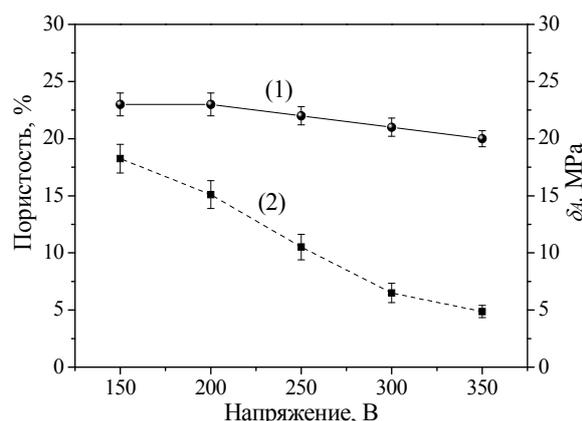


Рис. 6. Зависимости пористости (1) и адгезионной прочности (2) La-Si-KФ покрытий от напряжения процесса

Известно, что адгезия клеток активнее проявляется на гидрофильных поверхностях. Исследования смачиваемости La-Si-KФ покрытий, выполненные на установке Easy Drop DSA1, показали, что максимальные значения краевых углов смачивания во-

дой и глицерином, не превышают 35° , что указывает на высокую гидрофильность покрытий (рис. 7). При этом с повышением напряжения процесса, и как следствие шероховатости поверхности (рис. 5), краевые углы с водой и глицерином уменьшаются линейно от 17 до 5° и от 33 до 18° , соответственно. Свободная поверхностная энергия КФ покрытий, рассчитанная в соответствии с уравнением Оуэнса-Вендта [11], имеет две компоненты – дисперсионную и полярную, с преобладанием последней (табл. 1). Это свидетельствует о наличии в покрытиях соединений с сильными полярными химическими связями (ОН-группы, оксиды и фосфаты). Повышение напряжения приводит к уменьшению полярной компоненты и увеличению дисперсионной. Данная закономерность связана с ростом шероховатости покрытий, т. к. при формировании развитого рельефа поверхности усиливаются дисперсионные ван-дер-ваальсовы силы [11]. При этом полярные связи на поверхности покрытий продолжают доминировать. Свободная поверхностная энергия La-Si-КФ покрытий имеет высокие значения $74\text{--}76$ мН/м, независимо от величины напряжения процесса (табл. 1).

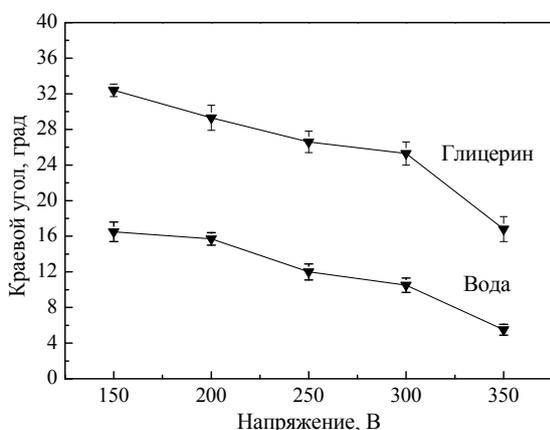


Рис. 7. Зависимости краевых углов смачивания водой и глицерином La-Si-КФ покрытий от напряжения процесса

Таблица 1. Свободная поверхностная энергия La-Si-содержащих КФ покрытий

$U, В$	$\sigma_T^П$	$\sigma_T^Д$	σ
150	$68,4 \pm 0,6$	$6,9 \pm 0,2$	$75,3 \pm 0,8$
200	$65,6 \pm 0,7$	$8,5 \pm 0,4$	$74,1 \pm 1,1$
250	$66,0 \pm 0,6$	$9,0 \pm 0,3$	$75,0 \pm 0,8$
300	$65,4 \pm 0,6$	$9,6 \pm 0,3$	$75,0 \pm 0,9$
350	$61,2 \pm 0,6$	$12,9 \pm 0,4$	$74,1 \pm 1,0$

Примечание: $\sigma_T^П$ и $\sigma_T^Д$ – полярная и дисперсионная компоненты поверхностной энергии, соответственно; σ – свободная поверхностная энергия покрытий

Биологические испытания выполняли согласно методике исследования цитотоксичности медицинских изделий *in vitro* (ISO 10993-5-2009). Для определения цитотоксичности исследуемых образцов использовали клеточную культуру гепатомы крысы (Hepatoma tissue culture, НТС, г. Санкт-Петербург). Цитотоксичность изучали двумя способами: методом прямого контакта (пластинки с покрытием помещали на культуру клеток) и экстракционным методом (образцы в течение 24 ч инкубировали в стерильных пробирках в термостате при 37°C в культуральной среде DMEM, затем полученный экстракт добавляли к клеткам гепатомы). Жизнеспособность клеток оценивали методом МТТ-теста *in vitro* (МТТ реагент, «ПанЭко», Россия) через 48 ч культивирования клеточной культуры в питательной среде DMEM в присутствии образцов или их экстрактов. Результаты биотестирования обоими методами показали, что доля выживших клеток составила более 92 % (табл. 2). Это указывает на высокую биосовместимость покрытий и отсутствие цитотоксического действия на клетки.

Таблица 2. Результаты цитотоксического теста *in vitro* через 48 часового культивирования клеточной культуры в питательной среде в присутствии образцов или их экстрактов, Ме (Q1-Q3)

Группы, n = 4	Количество жизнеспособных клеток, %	
	Метод прямого контакта	Экстракционный метод
Среда клеток без образцов Контрольная группа	100	100
Среда клеток в присутствии образцов (0,5-La-Si-КФ)	94,5 ± 2,5 (92,0–96,0)	97,2 ± 2,4 (94,8–99,6)

Выводы

Показано, что при нанесении La-Si-КФ покрытий методом МДО повышение напряжения процесса нанесения покрытия приводит к линейному росту толщины, шероховатости и размеров структурных элементов (сферы и поры). При этом общая пористость покрытий практически не меняется и составляет 20–23 %, а адгезионная прочность снижается от 21 до 4 МПа. Установлено, что покрытия имеют в основном рентгеноаморфную структуру. Повышение напряжения до 300–350 В приводит к формированию в покрытиях кристаллических фаз: СаНРО₄ и β-Са₂Р₂О₇, и увеличению отношения Са/Р до 0,5, что способствует повышению биологической активности покрытий.

С повышением напряжения процесса концентрация La в покрытиях увеличивается до 0,22 ат. %, а содержание Si практически не изменяется и составляет 0,16 ат. %. Показано, что покрытия обладают низкими краевыми углами смачивания, менее 35°, и высокой поверхностной энергией 74–76 мН/м, что свидетельствует о высокой степени гидрофильности покрытия. Результаты биотестирования показали, что через 48 ч культивирования клеток гепатомы крысы в присутствии образцов или их экстрактов доля выживших клеток составила более 92 %. Это указывает на высокую биосовместимость покрытий и отсутствие цитотоксического действия на клетки.

Работа выполнена при финансовой поддержке программы фундаментальных исследований СО РАН на 2013-2016 гг., проект III 23.2.5 и РФФИ, проект № 16-33-50008 мол_нр.

Список литературы

1. Родионов И.В., Бутовский К.Г., Бейдик О.В., Сурменко Е.Л. Оксидные биопокрытия с антисептическими и антитромбогенными свойствами на чрескостных фиксаторах в аппаратах остеосинтеза // Биомедицинская радиоэлектроника. – 2008. – № 8–9. – С. 98–101.
2. Guo D.G., Wang A.H., Han Y., Xu K.W. Characterization, physicochemical properties and biocompatibility of La-incorporated apatites // Acta Biomaterialia. – 2009. – Т. 5. – С. 3512–3523.
3. Pietak A.M., Reid J.W., Stott M.J., Sayer M. Silicon substitution in the calcium phosphate bioceramics. Review // Biomaterials. – 2007. – Т. 28. – С. 4023–4032.
4. Тихоненко В.В., Шкилько А.М. Метод микродугового оксидирования // Восточно-Европейский журнал передовых технологий. – 2012. – № 13. – С. 13–18.
5. Чайкина М.В. Механохимический синтез изоморфных разновидностей апатита в качестве материалов для биокерамики // Физическая мезомеханика. – 2004. – Т. 7. – № 5. – С. 101–110.
6. Chaikina M.V., Komarova E.G., Sharkeev Yu.P., Bulina N.V., Prosanov I.Yu. Lanthanum-silicon-substituted hydroxyapatite: mechanochemical synthesis and prospects for medical applications // AIP Conference Proceedings. – 2016. – Т. 1760. – С. 020009-1–020009-6.
7. Komarova E.G., Chaikina M.V., Sedelnikova M.B., Sharkeev Y.P. Structure and properties of La- and Si-incorporated calcium phosphate coatings // AIP Conference Proceedings. – 2016. – Т. 1760. – С. 020031-1–020031-6.

8. Шаркеев Ю.П., Псахье С.Г., Легостаева Е.В., Князева А.Г., Смолин А.Ю., и др. Биокompозиты на основе кальцийфосфатных покрытий, наноструктурных и ультрамелкозернистых биоинертных металлов, их биосовместимость и биодegradация. – Томск: Издательский Дом Томского государственного университета, 2014. – 596 с.
9. Sammons R.L., Lumbikanonda N., Gross M., Cantzler P. Comparison of osteoblast spreading on microstructured dental implant surfaces and cell behaviour in an explant model of osseointegration // *Clinical Oral Implants Research*. – 2005. – Т. 16. – С. 657–666.
10. Khlusov I.A., Dekhtyar Y., Khlusova M.Y., et. al. Novel concepts of “niche-relief” and “niche-voltage” for stem cells as a base and hematopoietic tissues biomimetic engineering // *IFMBE Proceedings*. – 2013. – Т. 38. – С. 99–102.
11. Комарова Е.Г., Шаркеев Ю.П., Чебодаева В.В. Влияние параметров микродугового оксидирования на шероховатость и смачиваемость кальцийфосфатных покрытий // *Известия высших учебных заведений. Физика*. – 2014. – Т. 57. – № 10/3. – С. 171–175.

ВОССТАНОВЛЕНИЕ КУЛЬТЕВОЙ ЧАСТИ РАЗРУШЕННЫХ ЗУБОВ С ПРИМЕНЕНИЕМ СВЕРХЭЛАСТИЧНОГО СПЛАВА «ТИТАНИД»

М.В. Куприянов¹, С.И. Старосветский¹, В.Э. Гюнтер²

¹*Красноярский научный центр по стоматологической реабилитации
больных сахарным диабетом, г. Красноярск*

E-mail: stomtax@yandex.ru

²*НИИ Медицинских материалов и имплантатов с памятью формы, г. Томск*

Эстетическая стоматология стала одним из ведущих направлений в клинической стоматологии. Повышенные требования пациентов к качеству ортопедического лечения обуславливают поиск и применение в клинике совершенных реставрационных материалов для восстановления разрушенных твердых тканей зубов. Параллельно возрастают желания пациентов наряду с эстетикой увеличить время функционирования проведенных реставраций.

На сегодняшний день одним из часто применяемых методов лечения значительных дефектов твердых тканей зубов является восстановление композиционными материалами и армирование культи зуба стекловолоконными штифтами. Выбором стекловолоконного штифта послужили его оптические, эстетические и деформационные свойства с модулем упругости 36 ГПа, которые близки к модулю упругости дентина зуба, равного 18 ГПа. В связи с этим происходит более равномерное распределение жевательной нагрузки на корневую систему восстановленного зуба в сравнении с литыми штифтами из неблагородных сплавов, где модуль упругости находится в пределах 150–240 ГПа [2, 3].

Перегрузка тканей пародонта, как показывают результаты проведенных экспериментов и клинических наблюдений, вызывают комплекс патологических изменений в тканях пародонта с преобладанием воспалительных и дистрофических процессов.

Несмотря на широкое применение в восстановительной стоматологии стекловолоконных штифтов, в литературе встречаются противоречивые мнения авторов, свидетельствующие о том, что модуль упругости армирующего материала, применяемого для восстановления культи разрушенного зуба, не всегда является ключевым фактором в прогнозе долгосрочного функционирования реставрируемого зуба [4]. Также имеются данные, что стекловолоконные штифты могут и деградировать во влажной среде поло-