

ВЛИЯНИЕ МОРФОЛОГИИ ПОВЕРХНОСТИ ПОРИСТОЙ ЦИРКОНИЕВОЙ КЕРАМИКИ НА АДГЕЗИЮ КЛЕТОК

Е.И. СЕНЬКИНА, А.С. БУЯКОВ, А.С. ЛОЖКОМОВЕВ, С.П. БУЯКОВА

Институт физики прочности и материаловедения СО РАН

Россия, г. Томск, пр. Академический, 2/4, 634055

E-mail: elena.senkina.1995@mail.ru

Введение. Одной из актуальных современных проблем науки о материалах является развитие технологий создания структурно-функциональных заменителей поврежденных тканей. На данном этапе одним из решений является подход, основанный на изготовлении тканеинженерных конструкций, представляющих собой клетки, посаженные на скаффолды [1]. Фундаментальной научной задачей, над решением которой работают многие коллективы ученых в области материаловедения, медицины и инженерных наук, является создание материала, соответствующего по физико-механическим характеристикам человеческой кости для использования в остеозамещении. Однако не менее важным вопросом в травматологической хирургии является приживаемость имплантатов. Поверхность имплантируемого материала должна соответствовать предпочтениям окружающих поврежденную ткань клеток для успешной адгезии. Оксидные керамики на основе циркония и алюминия обладают высокой прочностью, стойкостью к химически-агрессивным средам и включены в реестр ISO как материалы, допустимые к имплантации и остеозамещению [2]. Однако данная керамика не демонстрирует выдающиеся адгезионные характеристики при проведении клеточных исследований *in vitro* [3]. Поэтому настоящая работа посвящена исследованию влияния морфологии поверхности циркониевой керамики на адгезию клеток.

Материалы и методы. Исходные порошковые составы исследуемых пористых керамик были подготовлены путем механического смешивания порошков 80 % $ZrO_2(Y_2O_3)$ – 20 % Al_2O_3 – А и $ZrO_2(Y_2O_3)$ – У с порообразующими частицами. В качестве порообразователей были выбраны частицы канифоли нерегулярной формы (**irregular**) со средним размером 400 мкм, и сферические частицы сверхвысокомолекулярного полиэтилена (СВМПЭ) (**spherical**) со средним размером 300 мкм. Содержание частиц составляло 50 об. % от общего объема смеси. Одноосное холодное прессование осуществлялось в стальной пресс-форме при давлении 130 МПа. Удаление порообразующих частиц осуществлялось путем отжига компактов в воздушной печи при температуре 1100 °С с выдержкой 1 час, спекание - при температуре 1500 °С, скорости нагрева 200 °С/час и с выдержкой в 1 час. Исследование микроструктуры поверхности керамики осуществлялось с помощью растрового электронного микроскопа Vega 3 (Tescan, Чехия). Размеры пор оценены методом случайных секущих по снимкам полированной поверхности шлифов исследуемых образцов. Предел прочности исследуемых керамик определен с помощью трехточечного изгиба и радиального сжатия. Для определения механических характеристик использовалось не менее пяти образцов. Для определения жизнеспособности живой культуры использовались фибробласты мыши линии 3Т3. Культивирование клеток на образцах проводили в течение семи дней в 24-х луночном планшете в полной культуральной среде DMEM/F-12 в термостатах с подачей 5 % CO_2 при 37 °С. Смена среды производилась каждые два-три дня. Жизнеспособность клеток определялась на 3, 5 и 7 сутки путем проведения МТТ-теста. В качестве контроля использовался пластик, который имеет высокие адгезивные свойства поверхности.

Результаты. В ходе проведенного эксперимента, были получены образцы цилиндрической формы с высотой 5 мм и диаметром 10 мм. Средний размер пор и распределение пор по размерам представлены на рисунке 1. Видно, что среднее значение размера пор значительно уменьшилось по сравнению с исходным размером порообразующих частиц. Это связано с объемной усадкой образцов после спекания, которая составила порядка 50 %.

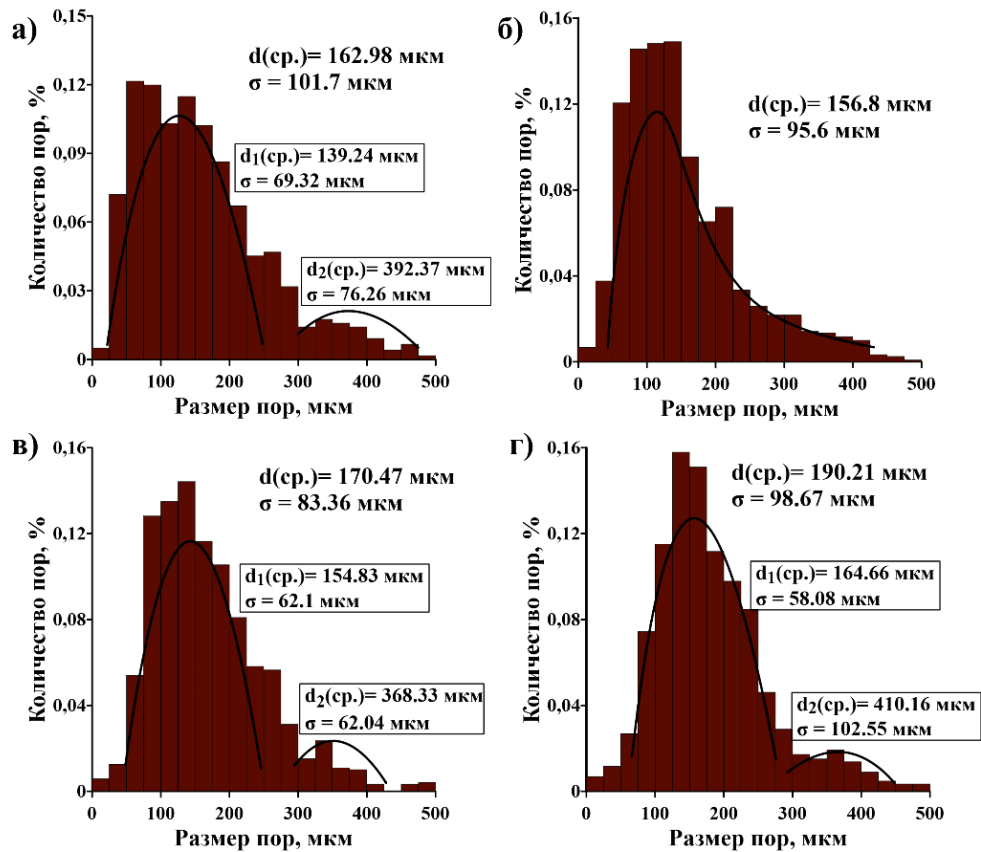


Рисунок 1 - Распределение пор по размерам: а) итг А, б) итг Y, в) sph А, г) sph Y

Таблица 1 – Механические свойства при трёхточечном изгибе

Состав	Прочность на изгиб, σ , МПа	Модуль упругости, Е, МПа
итг А	62.76 ± 8.87	75.95 ± 10.83
sph А	30.76 ± 8.06	125.78 ± 45.83
итг Y	116.71 ± 17.46	270.39 ± 23.52
sph Y	42.50 ± 6.54	151.74 ± 51.84
Трабекулярная кость	1.2 – 80	20 – 4000

Таблица 2 – Механические свойства при радиальном сжатии

Состав	Прочность на растяжение, σ , МПа	Модуль упругости, Е, МПа
итг А	19.25 ± 4.89	40.48 ± 10.63
sph А	7.04 ± 1.01	27.30 ± 5.98
итг Y	28.07 ± 3.15	73.16 ± 3.38
sph Y	11.90 ± 1.72	32.38 ± 5.03
Трабекулярная кость	10 – 20	10 – 3000

Согласно механическим испытаниям, исследуемые образцы входят в диапазон значений предела прочности и модуля упругости костной ткани, таблица 1 и 2 [5].

Как известно, оптическая плотность пропорциональна жизнеспособности клеток. На рисунке 2 представлены результаты МТТ-теста. На графике отсутствует контрольная группа. Это связано с тем, что количество культивируемых на образцах клеток оказалось на 80 % меньше. Кажется, что керамика токсична. Однако известен факт, что оксидная керамика имеет слабые адгезивные свойства, поэтому мы оценивали рост клеток в динамике. Действительно, на пятые и седьмые сутки культивирования клеток была замечена активная пролиферация клеток. Также было обнаружено, что керамика, пористость которой сформирована частицами

СВМПЭ правильной гладкой формы, является менее пригодной для адгезии клеток. А поверхность керамики, морфология которой образована частицами нерегулярной формы, считается более привлекательной для клеточной адгезии.

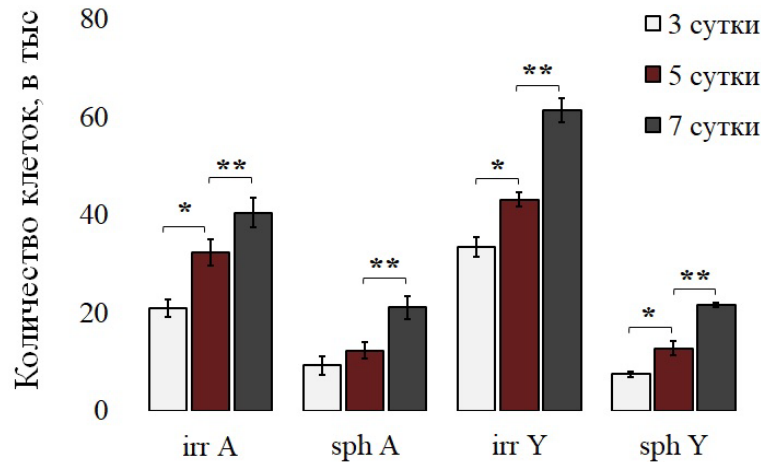


Рисунок 2 - Пролиферативная активность клеток 3ТЗ на 3,5 и 7 сутки культивирования на исследуемой керамике

Примечание: * - стат. значимые различия при $p < 0,01$ по сравнению с группой на 3 сутки;

** - стат. значимые различия при $p < 0,01$ по сравнению с исследуемой группой на 5 сутки.

Достоверность разницы оптической плотности клеток определяли по U-критерию Манна-Уитни, достоверное различие принято при $p < 0,01$.

Заключение. В ходе данной работы был получен материал, который потенциально может использоваться при операциях на остеозамещение. Полученные данные дают возможность дальнейшего варьирования характеристик порообразующих частиц. Это необходимо для поиска оптимальной морфологии поверхности имплантируемого материала. Что касается механических характеристик, то высокий предел прочности в дальнейшем позволит нам повысить % порообразователя, что поспособствует образованию сквозного порообразования. Такая структура в первую очередь важна для прорастания клеток кости в имплант, а также для восстановления сообщений кровеносных сосудов.

Работы выполнены в рамках государственного задания ИФПМ СО РАН, тема номер FWRW-2022-0002 и Плана НИИР Российско-Вьетнамского Тропического научно-исследовательского и технологического центра на 2020-2023 г., тема Эколан М-1.9.

Список литературы

1. Agathopoulos S.; Nikolopoulos P. Wettability and interfacial interactions in bioceramii-body-liquid systems // Journal of Biomedical Materials Research, 1995, 29, 421429.
2. B.G.B. Gerberich S.K., Tissue scaffold surface patterning for clinical applications. // Biotechnol. J. 8 (2013) 73-84.
3. B. Stadlinger M. Hennig U. Eckelt, E. Kuhlisch R. Mai, Comparison of zirconia and titanium implants after a short healing period. A pilot study in minipigs. // Int. J. Oral Max. Impl. 39 (2010) 585-592.
4. L. Sennerby A. Dasmah B. Larsson M. Iverhed, Bone tissue responses to surface-modified zirconia implants: a histomorphometric and removal torque study in the rabbit. // Clin. Implant Dent. R. 7 (2005) 13-20.
5. Свешников А.А. Минеральная плотность костей скелета, масса мышц и проблемы профилактики переломов. – М.: Академия естествознания, 2013. – 179 с. ISBN: 978-5-91327-216-4.