

На правах рукописи

Пузь Артем Викторович

**МНОГОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПОКРЫТИЯ
ДЛЯ СПЛАВОВ МЕДИЦИНСКОГО НАЗНАЧЕНИЯ**

02.00.04 – физическая химия

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой
степени кандидата химических наук

Владивосток – 2014

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте химии Дальневосточного отделения Российской академии наук (ИХ ДВО РАН)

Научный руководитель: доктор химических наук, профессор
Гнеденков Сергей Васильевич

Официальные оппоненты: доктор химических наук
Поляков Евгений Валентинович
(зам. директора, заведующий лабораторией физико-химических методов анализа Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института химии твердого тела Уральского отделения РАН «ИХТТ УрО РАН»)

доктор химических наук
Иванов Владимир Константинович
(зам. директора, заведующий лабораторией химической синергетики Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт общей и неорганической химии им. Н.С. Курнакова РАН «ИОНХ РАН»)

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт металлургии и материаловедения им. А.А. Байкова РАН, г. Москва

Защита состоится _____ 2014 г. в 10⁰⁰ часов на заседании диссертационного совета Д 005.020.01 при Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте химии ДВО РАН по адресу: г. Владивосток, проспект 100-летия Владивостока, 159, ИХ ДВО РАН.

С диссертацией можно ознакомиться в центральной научной библиотеке ДВО РАН.

Автореферат разослан _____ 2014 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета к.х.н.

О.В. Бровкина

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность работы. Современная медицина широко использует искусственные материалы для замены поврежденных тканей и органов. В зависимости от их назначения, вводимые в организм имплантаты должны постепенно замещаться живой тканью и/или функционировать в течение длительного периода времени.

Специалисты в области материаловедения, биологии и медицины тесно сотрудничают в настоящее время для того, чтобы понять сложные процессы взаимодействия клеток тела с чужеродной поверхностью имплантируемого материала. Биологически активные свойства поверхности раздела между тканями организма и имплантируемым материалом должны рассматриваться в корреляции с ее специфическими свойствами. Химический состав поверхности, ее физико-химические характеристики, шероховатость и морфология определяют активность различных клеточных структур, действующих как отдельно, так и синергетически. Связь между физико-химическими свойствами поверхности и клеточным откликом еще далеко не ясна. Прогресс в данной области приведет к созданию нового поколения материалов, которые более эффективно и успешно могут быть внедрены в тело человека в терапевтических целях.

В силу высокой конкуренции в медицинской промышленности все больший интерес вызывают покрытия, способные модифицировать поверхность имплантатов. Для обработки поверхности имплантатов широко применяются такие методы, как золь-гель технология, анодирование, электроосаждение, плазменное электролитическое оксидирование, плазменное напыление и т. д. Наиболее перспективны разработки, которые смогли бы обеспечить биосовместимость, защиту имплантата от коррозии в организме человека, увеличить износостойкость его компонентов и, если необходимо, увеличить срок использования имплантата.

Важное значение для развития медицины в целом и имплантологии в частности имеет разработка заменителей костной ткани. В имплантационной хирургии применяются различные типы современных материалов, как биоинертные,

так и биоактивные. Наиболее перспективной является керамика на основе фосфатов кальция, которая по химическому и фазовому составу аналогична составу минеральной компоненты костной ткани. В настоящее время в качестве оптимальных рассматриваются металлы и сплавы с кальций-фосфатными покрытиями на поверхности. Данные покрытия обеспечивают биосовместимость и способность интеграции имплантата с костной тканью.

В работе рассматриваются возможности получения поверхностных кальций-фосфатных слоев на титане и его сплавах (включая наноструктурированный титан, никелид титана), а также на низколегированном сплаве магния МА8 с использованием перспективной технологии плазменного электролитического оксидирования (ПЭО). Представлены результаты исследования морфологии покрытий, их фазового, элементного состава, физико-химических и механических свойств, а также испытаний *in vitro* и *in vivo* на биоактивность. На основании полученных данных сделаны выводы о возможности практического применения данных покрытий в имплантационной хирургии.

Целью диссертации является исследование особенностей формирования с использованием метода ПЭО на металлах и сплавах медицинского назначения (никелиде титана, крупнокристаллическом и наноструктурированном титане ВТ1-0 и на сплаве магния МА8) оксидных и композиционных слоев, расширяющих область практического применения материалов в имплантационной хирургии, а также изучении физико-химических характеристик и биомиметических свойств полученных покрытий.

Для достижения цели необходимо было решить следующие **задачи**:

- разработать способы формирования биоинертных защитных ПЭО-покрытий на никелиде титана, не влияющих на эффект памяти формы;
- разработать способы формирования биоактивных кальций-фосфатных ПЭО-покрытий, содержащих в своем составе гидроксиапатит, на поверхности как крупнокристаллического, так и наноструктурированного титана;
- исследовать биоактивность кальций-фосфатных ПЭО-покрытий посредством испытаний *in vitro* и *in vivo*;

– установить возможность формирования методом ПЭО антикоррозионного, биоактивного кальций-фосфатного покрытия на магниевом сплаве МА8 для создания биорезорбируемых имплантатов.

Научная новизна:

– в биполярном режиме плазменного электролитического оксидирования на титане VT1-0 и сплаве магния МА8 получены кальций-фосфатные биоактивные покрытия, содержащие в своем составе гидроксиапатит при концентрационном отношении кальция к фосфору ($Ca / P = 1,6$), близком по величине его в костной ткани (1,67);

– на никелиде титана с использованием метода ПЭО получены биоинертные защитные покрытия, содержащие в своем составе фосфат алюминия, двойной оксид никеля и алюминия. Полученные защитные слои существенно снижают диффузию никеля из материала имплантата, что должно значительно уменьшать вредное влияние ионов никеля на организм. Использование ультрадисперсного политетрафторэтилена в составе композиционного покрытия позволяет значительно повысить его устойчивость и биоинертные защитные свойства в коррозионно-активной биологической среде;

– на низколегированном сплаве магния МА8 получено биоактивное композиционное покрытие, содержащее гидроксиапатит и обладающее антикоррозионными свойствами, что существенно снижает скорость растворения магниевых имплантатов в коррозионно-активной биологической среде, делая его тем самым перспективным для биорезорбируемой имплантологии.

Практическая значимость:

– разработаны состав электролита и способ формирования биологически инертных ПЭО-покрытий на поверхности никелида титана, сохраняющих эффект памяти формы основного материала и обеспечивающих защиту организма человека от токсичного влияния ионов никеля при использовании имплантатов в хирургических целях;

– сформированные методом ПЭО на поверхности крупнокристаллического и наноструктурированного титана VT1-0 биоактивные покрытия на основе гидроксипатита представляют интерес для имплантационной хирургии;

– разработаны условия получения методом ПЭО биологически активных коррозионностойких кальций-фосфатных поверхностных слоев на магниевом сплаве МА8, перспективном в качестве материала для изготовления биорезорбируемых имплантатов для применения в медицине.

Соответствие паспорту научной специальности. Диссертация соответствует паспорту специальности 02.00.04 – физическая химия в пунктах: 5 («Изучение физико-химических свойств систем при воздействии внешних полей, а также в экстремальных условиях высоких температур и давлений»), 11 («Физико-химические основы химической технологии»).

Достоверность полученных результатов обеспечена применением аттестованных измерительных приборов и апробированных методик измерения, использованием взаимодополняющих методов исследования, соблюдением принципов комплексного подхода при анализе и интерпретации экспериментальных данных, воспроизводимостью результатов, применением статистических методов оценки погрешностей и обработки данных эксперимента.

Основные положения, выносимые на защиту:

– разработанные подходы направленного формирования биологически инертных и биологически активных ПЭО-слоев на поверхности имплантационных материалов на основе сплавов никелида титана, крупнокристаллического и наноструктурированного титана, а также сплаве магния МА8;

– взаимосвязь электрохимических, механических и морфологических характеристик покрытий, созданных методом плазменного электролитического оксидирования, с интенсивностью биомиметических процессов на поверхности биоактивных гетерослоев;

– обоснование возможности практического использования разработанных биоинертных и биоактивных гетерооксидных слоев на поверхности металлов и сплавов в имплантационной хирургии.

Апробация работы. Общее содержание диссертации и отдельные ее результаты были изложены в докладах на следующих научных, научно-технических конференциях: 21st International Conference on Surface Modification Technologies (Paris, 2007), V Российской ежегодной конференции молодых научных сотрудников и аспирантов (Москва, 2008), Fifth international conference on mathematical modeling and computer simulation of material technologies (Israel, 2008), European Congress and Exhibition on Advanced Materials and Processes (United Kingdom, 2009), 3-й Международной конференции "HighMatTech" (Украина, 2011), 18th International Corrosion Congress (Australia, 2011), International Symposium on Surface Science ISSS-6 (Japan, 2011), Second Asian School-Conference on Physics and Technology of Nanostructured Materials (Vladivostok, 2013), European Corrosion Congress (Portugal, 2013).

Публикации. По результатам исследований опубликовано 25 печатных работ, в том числе 12 статей, из них 8 в журналах, входящих в перечень ВАК, получено 4 патента, 4 статьи в других периодических изданиях и 9 материалов конференций.

Личный вклад автора. Работа выполнена под руководством д.х.н., профессора Сергея Васильевича Гнеденкова, которому принадлежат постановка целей и задач исследования, участие в обсуждении результатов. Автор проанализировал литературные данные по теме исследования, провел основную часть экспериментов, выполнил обработку и анализ экспериментальных данных, участвовал в обсуждении полученных результатов, в написании научных статей, материалов конференций, оформлении патентов. Часть экспериментальных исследований проведена при участии сотрудников ИХ ДВО РАН

Объем и структура работы. Диссертация состоит из введения, пяти глав, выводов и списка использованной литературы из 166 наименований. Содержание диссертации изложено на 164 страницах машинописного текста, содержит 8 таблиц и 47 рисунков.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении обоснована актуальность темы диссертации, сформулированы цель и задачи. Отражены научная новизна и практическая значимость работы, изложены основные положения, выносимые на защиту, приведены сведения об апробации работы на научных конференциях и публикациях по теме диссертации.

В первой главе содержится обзор отечественной и зарубежной литературы, посвященный анализу существующих имплантационных материалов, способам поверхностной обработки этих материалов для получения биоактивных или биоинертных поверхностных слоев. Представленные в литературном обзоре способы достаточно сложны и энергозатратны. В ряде случаев требуется многостадийная обработка поверхности для формирования покрытий приемлемого качества. Некоторые способы не позволяют обрабатывать изделие сложной геометрии, скрытые полости. Представлена информация, позволяющая утверждать, что в настоящее время перспективным является метод ПЭО, лишенный вышеперечисленных недостатков. На основании анализа литературных данных сформулированы цели и основные задачи диссертационной работы.

Во второй главе представлены экспериментально-методические аспекты работы: описание установки для формирования покрытий методом ПЭО, а также установки для исследования биоактивности в физиологическом растворе (SBF), методики исследования электрохимических свойств покрытий методами электрохимической импедансной спектроскопии (ЭИС) и потенциодинамической поляризации; методики и информация о приборах для исследования состава и структуры покрытий методами электронно-зондового микроанализа (ЭЗМА), рентгенофазового анализа (РФА), энергодисперсионной спектроскопии (ЭДС); описание приборной базы для изучения механических свойств поверхностных слоев методами динамической ультрамикротвердомерии, скретч-тестирования и исследования морфологии поверхности методом сканирующей электронной микроскопии (СЭМ), а также характеристики установки для про-

ведения исследований методами дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК) и дифференциального термического анализа (ДТА).

В третьей главе представлены результаты исследований свойств ПЭО-покрытий, сформированных на никелиде титана. В работе предварительные исследования были проведены с использованием электролитов, содержащих в своем составе алюминаты, фосфаты, карбонаты, ванадаты. В результате проведенного поиска был выбран электролит,

содержащий алюминат натрия NaAlO_2 , карбонат натрия Na_2CO_3 и трехзамещенный фосфат натрия $\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$. Кроме того, в электролит добавляли диметилглиоксим (ДМГО), который связывает в растворе ионы никеля Ni^{2+} в хелатное соединение диметилглиоксимат никеля $\text{Ni}(\text{HC}_4\text{H}_6\text{N}_2\text{O}_2)_2$, имеющее красный цвет. Согласно данным РФА в состав покрытия входят фосфат алюминия (AlPO_4) и двойной оксид никеля-алюминия (NiAl_2O_4). На рисунке 1 (а, б) представлены СЭМ фотографии поверхности и поперечного шлифа образца с ПЭО-покрытием толщиной ~ 20 мкм. Поверхность формируемых на никелиде титана слоев неоднородна: встречаются поры и наросты. Возможно, что покрытия имеют кластерный характер.

Для усиления биоинертных свойств, ПЭО-покрытия были трибоэлектрически обработаны ультрадисперсным порошком политетрафторэтилена (УПТФЭ), с последующей термообработкой. СЭМ-изображение поверхности после такой обработки представлено на рисунке 1 (в).

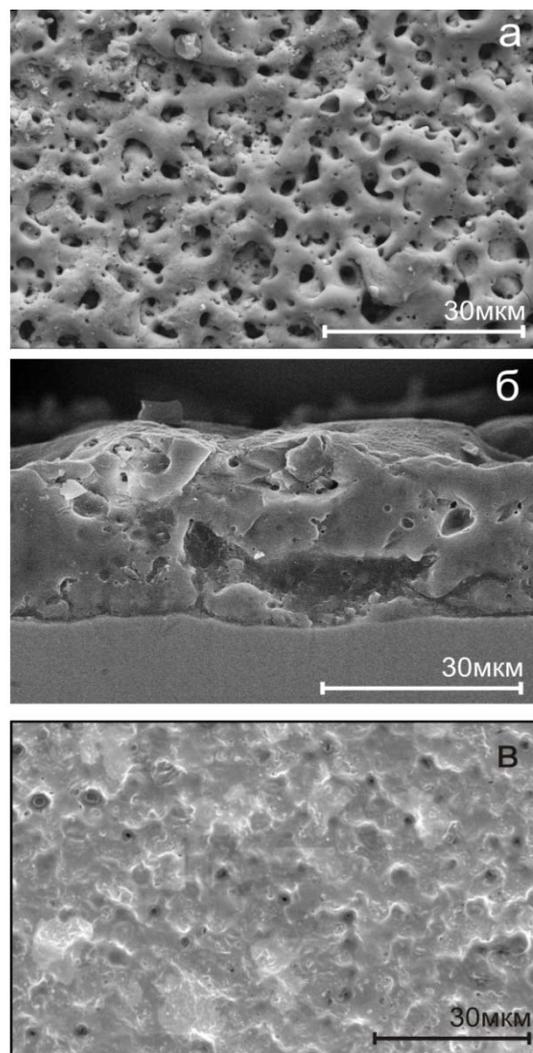


Рисунок 1 – СЭМ-изображение поверхности – а; фотография поперечного шлифа – б; обработка поверхности УПТФЭ – в ПЭО-покрытия, сформированного на поверхности никелида титана

Анализ электрохимического поведения образцов в физиологическом растворе показывает, что наибольшими защитными свойствами обладают композиционные покрытия с ПЭО-слоем, обработанным УПТФЭ (таблица 1). Такая обработка приводит к облагораживанию стационарного потенциала E_C образца и к снижению уровня токов коррозии I_C на два порядка по сравнению с необработанной поверхностью. Введение в формирующий раствор диметилглиоксима также влечет за собой небольшое повышение защитных свойств (вывод сделан из сравнения образцов 3 и 5). В таблице 1 представлены сравнительные коррозионные характеристики образцов никелида титана, обработанных различными способами, а также значение поляризационного сопротивления образца R_p , определенное по методу Штерна-Гири по линейному участку поляризационной кривой в области стационарного потенциала.

Таблица 1 – Коррозионные свойства исследуемых образцов никелида титана с различными покрытиями

№ образца	Режим формирования покрытия	R_p , Ом·см ²	I_C , А/см ²	E_C , В	$ Z _{f \rightarrow 0} \Gamma_{Ц}$, Ом·см ²
1	Без покрытия	$1,6 \cdot 10^5$	$1,7 \cdot 10^{-7}$	-0,2	$1,8 \cdot 10^5$
2	УПТФЭ (отжиг 100°С, 1 ч)	$2,3 \cdot 10^5$	$1,1 \cdot 10^{-7}$	-0,3	$2,1 \cdot 10^5$
3	ПЭО в монополярном режиме	$6,3 \cdot 10^5$	$4,1 \cdot 10^{-8}$	-0,3	$6,1 \cdot 10^5$
4	ПЭО в биполярном режиме	$2,6 \cdot 10^6$	$8,9 \cdot 10^{-9}$	-0,3	$2,1 \cdot 10^6$
5	ПЭО в монополярном режиме + ДМГО	$8,1 \cdot 10^5$	$2,3 \cdot 10^{-8}$	-0,1	$7,8 \cdot 10^5$
6	Как образец № 3 + УПТФЭ*	$6,1 \cdot 10^6$	$4,3 \cdot 10^{-9}$	-0,05	$7,7 \cdot 10^6$
7	Как образец № 4 + УПТФЭ*	$9,1 \cdot 10^6$	$3,7 \cdot 10^{-9}$	-0,08	$9,5 \cdot 10^6$

* - однократная обработка УПТФЭ

Данные, полученные методом импедансной спектроскопии, позволяют сделать следующие выводы: никелид титана с покрытием в виде нанесенного УПТФЭ (без предварительной ПЭО-обработки) мало влияет на состояние границы раздела электрод / электролит, лишь незначительно уменьшая уровень анодного тока (таблица 1, образец № 1 и 2). Низкий эффект от такой обработки, вероятнее всего, связан со слабой адгезией полимера к металлической подложке и недостаточной сплошностью образовавшегося защитного слоя. Обработка образца методом ПЭО приводит к повышению его устойчивости в исследуемой

среде (образцы № 3, 4). Добавление в электролит диметилглиоксима несколько увеличивает защитные свойства покрытий (образец №5).

После обработки образца с ПЭО-покрытием ультрадисперсным политетрафторэтиленом значительно увеличивается модуль импеданса. $|Z|_{f \rightarrow 0}$ становится практически на два порядка выше, чем у образца без покрытия. Это свидетельствует о том, что обработка УПТФЭ позволяет заполнить поры покрытия полимером и создать на поверхности дополнительный барьерный слой, препятствующий выходу ионов металла в раствор. Создание пористой структуры поверхности является дополнительным преимуществом метода ПЭО, поскольку развитая поверхность способствует лучшему обрастанию имплантата костной тканью, а также позволяет заполнить поры биоинертными или биоактивными композитами.

Выход катионов никеля Ni^{2+} в физиологический раствор при выдержке в течение двух недель определяли методом атомно-абсорбционной спектроскопии. Для образца никелида титана без покрытия содержание катионов никеля в растворе составило – 0,055 мкг/мл; для образца с ПЭО-покрытием – 0,019 мкг/мл; для образца с ПЭО-покрытием, обработанным УПТФЭ – 0,006 мкг/мл, что сопоставимо с концентрацией никеля в исходном растворе 0,004 мкг/мл. Таким образом, можно заключить, что наибольший защитный эффект достигнут на образце с ПЭО-покрытием, обработанным УПТФЭ. Полученные данные находятся в полном соответствии с данными проведенных электрохимических исследований.

В работе изучено влияние процесса ПЭО на механические характеристики покрытия на никелиде титана. Средние значения микротвердости и модуля упругости были посчитаны для исследуемых материалов из экспериментальных данных (для никелида титана в аустенитной и мартенситной модификациях: $H_A = 2,6 \pm 0,1$ ГПа, $H_M = 2,0 \pm 0,1$ ГПа, $E_A = 64 \pm 2$ ГПа, $E_M = 57 \pm 2$ ГПа; для покрытия: $H_{II} = 1,6 \pm 0,2$ ГПа, $E_{II} = 30 \pm 2$ ГПа). Надо заметить, что покрытие имеет меньшие значения микротвердости и модуля упругости по сравнению с подложкой. Это является определенным преимуществом полученного покрытия,

поскольку данные значения расположены ближе к значениям естественной костной ткани ($H = 0,6 - 0,8$ ГПа, $E = 20$ ГПа).

Термический анализ позволил установить, что покрытие на поверхности образцов никелида титана ТН-1 (рисунок 2) и ТН-2 (рисунок 3) не препятствует эффекту памяти формы и не существенно смещает значения температуры фазового перехода аустенит↔мартенсит. Для никелида титана ТН-1 (аустенит) фиксируется лишь незначительное смещение температуры фазового перехода (рисунок 2). В зависимости от состава сплава и его предварительной обработки фазовый переход мартенсита (гексагональная кристаллическая модификация) в аустенит (кубическая решетка) может происходить с образованием промежуточной R-фазы (ромбоэдрическая решетка), что и было зафиксировано методом ДСК на образце ТН-1 (рисунок 2 а). Однако обратный переход аустенит/мартенсит происходит без образования R-фазы (рисунок 2 б). Для образца ТН-2, находящегося при комнатной температуре в мартенситном состоянии, фазовые переходы при температурном воздействии более значительные, чем для ТН-1 (рисунок 3). ПЭО-покрытие смещает температуру перехода мартенсит/аустенит и аустенит/мартенсит соответственно на 16°C и 6°C в область меньших температур по сравнению с образцом без покрытия. Однако это не сказывается на функциональных свойствах изделия в целом.

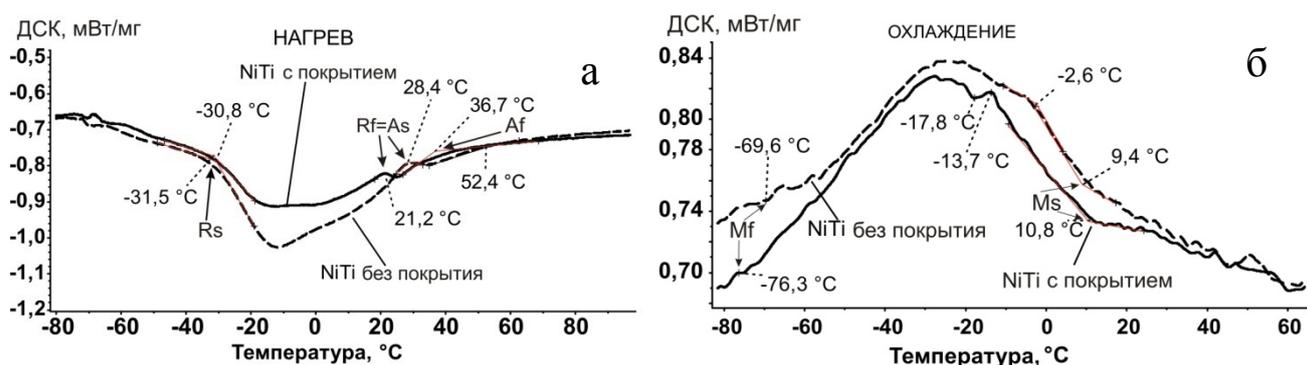


Рисунок 2 – Данные ДСК для образцов ТН-1 без покрытия и с покрытием: *а* – нагрев, *б* – охлаждение. Символами обозначены температуры начала и окончания соответствующего фазового перехода: R_s , R_f – мартенсита в ромбоэдрическую фазу; A_s , A_f – ромбоэдрического состояния в аустенит; M_s , M_f – аустенита в мартенсит

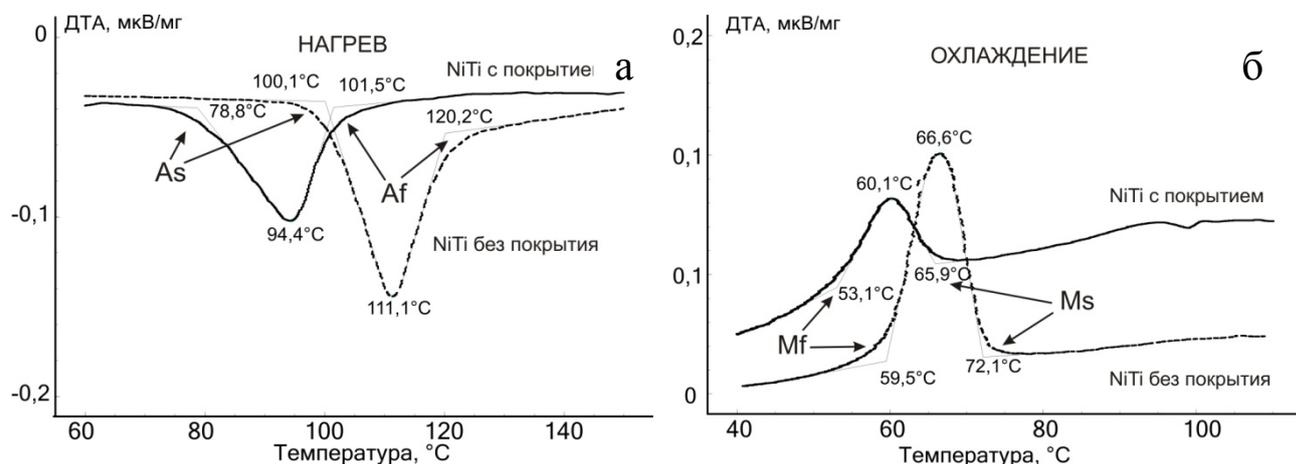


Рисунок 3 – Данные ДТА для образцов ТН-2 без покрытия и с покрытием: *а* – нагрев, *б* – охлаждение. Условные обозначения см. на **рисунке 2**

Адгезионные свойства поверхностных слоев на никелиде титана были исследованы методом склерометрии. Начало появления шевронных трещин наблюдается при нагрузке в 30 Н, критическая нагрузка, при которой происходит проникновение индентора до металла, составляет 50 ± 2 Н, что свидетельствует о высоких адгезионных свойствах покрытия. После достижения критической нагрузки наблюдается резкое увеличение значения акустической эмиссии, что свидетельствует о контакте индентора с материалом подложки (никелид титана).

Таким образом, установлено что ПЭО-слои, существенно снижающие диффузию никеля из материала имплантата и тем самым защищающие организм человека от вредного влияния этого металла. При этом поверхностные слои не блокируют и не снижают эффект памяти формы никелида титана. Обладая существенной термостабильностью и сохраняя высокие адгезионные свойства при термоциклировании в широком температурном диапазоне, покрытия перспективны для практической имплантационной хирургии.

В четвертой главе представлены результаты исследований по формированию на поверхности крупнокристаллического (КК) и наноструктурированного (НС) титана ВТ1-0 биоактивных кальций-фосфатных покрытий, содержащих в своем составе гидроксиапатит (ГА). НС титан был получен в Институте физики прочности и материаловедения (ИФПМ) СО РАН коллективом под руководством д.ф.-м.н., профессора Ю.П. Шаркеева.

Различные содержащие кальций соли были выбраны в качестве компонентов электролита с целью формирования ПЭО-покрытий на титане с отношением Ca/P, близким к отношению в костной ткани человека (1,67). В таблице 2 приведены условия формирования, фазовый и элементный составы и отношение Ca/P для покрытий, полученных на титане в электролитах, содержащих цитрат и ацетат кальция с добавлением двузамещенного фосфата натрия. Толщина покрытий приблизительно одинакова и варьируется в диапазоне 50 - 60 мкм. Как следует из анализа результатов эксперимента, приведенных в таблице, покрытия, полученные в ацетатсодержащем электролите, включают в свой состав ГА. Покрытия, сформированные в цитратсодержащем электролите, хотя и содержат в составе кристаллической фазы только диоксид титана, но, судя по величине отношения Ca/P, в их состав входят кальций-фосфатные соединения, присутствующие в виде рентгеноаморфной фазы.

Таблица 2 – Некоторые параметры исследуемых в условиях *in vivo* ПЭО-покрытий

№	Состав электролита, г/л; режим поляризации	R_a , мкм	Фазовый состав покрытий	S кости, мм ²	S кост. мозга, мм ²	Содержание хим. элементов, ат. %			Ca/P
						Ti	Ca	P	
1	Ca ₃ (C ₆ H ₅ O ₇) ₂ ·4H ₂ O, 30; Na ₂ HPO ₄ ·2H ₂ O, 30; монополярный	2,15	TiO ₂ + рентгеноаморфная фаза	0,4483	0,4318	11,32	3,18	3,69	0,86
2	Ca ₃ (C ₆ H ₅ O ₇) ₂ ·4H ₂ O, 20; Na ₂ HPO ₄ ·2H ₂ O, 20; монополярный	2,86	TiO ₂ + рентгеноаморфная фаза	0,4749	0,8140	11,49	3,11	3,28	0,95
3	Ca ₃ (C ₆ H ₅ O ₇) ₂ ·4H ₂ O, 40; Na ₂ HPO ₄ ·2H ₂ O, 40; монополярный	9,13	TiO ₂ + рентгеноаморфная фаза	0,3346	0,2950	6,29	9,28	5,24	1,77
4	Ca ₃ (C ₆ H ₅ O ₇) ₂ ·4H ₂ O, 20; Na ₂ HPO ₄ ·2H ₂ O, 20; биполярный	1,97	TiO ₂ + рентгеноаморфная фаза	0,7635	0,3670	19,07	11,73	7,21	1,63
5	Ca(CH ₃ COO) ₂ ·2H ₂ O, 50; Na ₂ HPO ₄ , 25; би-полярный	1,79	Ca ₅ (PO ₄) ₂ OH + Ca ₃ (PO ₄) ₂	0,7453	0,5450	2,57	17,22	8,85	1,94

Из результатов электрохимических испытаний следует, что ПЭО-покрытия на образцах титана обоих типов характеризуются высокой степенью развитости поверхности и гетерогенностью. Развитая пористая поверхность полученного покрытия и его состав, близкий к минеральному составу костной ткани, предполагают быстрое вживление имплантата и надежное соединение имплантата с костью.

Согласно проведенным измерениям, микротвердость поверхностного ПЭО-слоя составила 2 ГПа, что несколько меньше микротвердости H титана ВТ1-0 ($H = 2,7$ ГПа). В то же время модуль Юнга для покрытия ($E = 31$ ГПа) почти в 2,5 раза меньше по сравнению с подложкой ($E = 80$ ГПа) и ближе к значениям E костной ткани ($E = 20$ ГПа). Таким образом, кальций-фосфатное покрытие может выполнять функции демпфера, минимизируя вероятность отслоения кости от имплантата при деформациях. Адгезионные свойства поверхностных слоев были исследованы методом склерометрии. Начало появления шевронных трещин зафиксировано при нагрузке 3 Н. Критическая нагрузка, при которой индентор разрушает покрытие и достигает подложки, равна $(15,4 \pm 2,5)$ Н.

Учитывая практически важные свойства НС титана (улучшенные механические свойства и отсутствие вредных легирующих добавок), а также с целью развития и совмещения подходов, соединяющих в себе разработку новых материалов с приемлемыми механическими свойствами, с одной стороны, и создание на их поверхности биологически активных кальций-фосфатных покрытий – с другой, нами проведены эксперименты по формированию ПЭО-слоев, содержащих ГА на поверхности НС титана. По данным ЭДС элементный состав поверхностных кальций-фосфатных слоев на титане ВТ1-0, как НС, так и КК, практически идентичен (по данным РФА содержат ГА), а отношение Са/Р составляет около 1,6.

Основополагающим фактором успешного применения любого материала в медицине является предварительное тестирование в условиях *in vitro* и *in vivo*. Как правило, испытания *in vivo* продолжаются длительный период времени, до нескольких месяцев. Поэтому проводят предварительное тестирование *in vitro*,

которое в ходе простых экспериментов позволяет разделить материалы по степени биоактивности, в доступных для проведения лабораторных условиях.

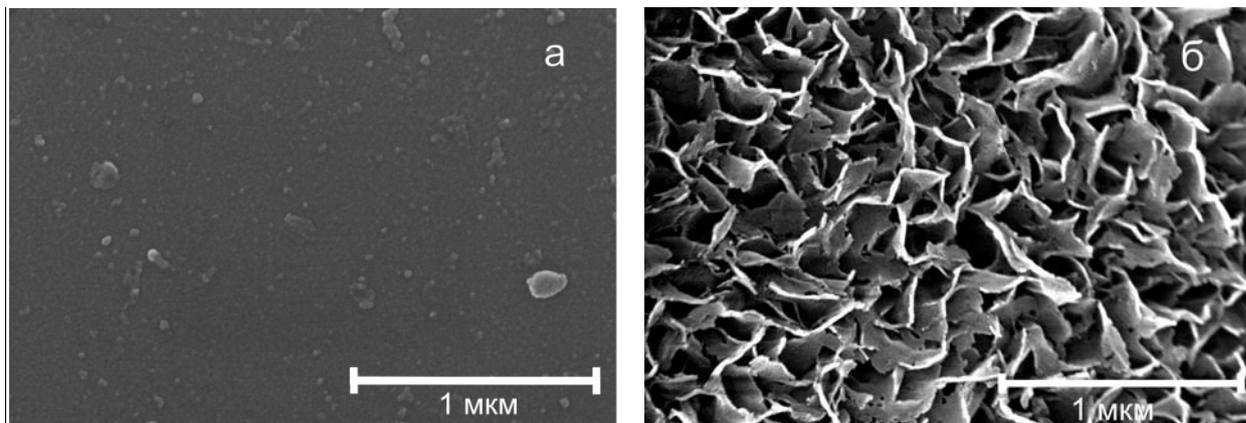


Рисунок 4 – СЭМ-изображения поверхности образца КК титана ВТ1-0 с покрытием до – а и после – б выдержки в SBF-растворе

Для оценки в лабораторных условиях биологической активности образцов с ПЭО-покрытиями использовали выдержку исследуемых образцов в искусственной среде, имитирующей плазму крови человека (Simulated Body Fluid – SBF) при постоянной температуре $37\pm 0,5^{\circ}\text{C}$. Согласно полученным экспериментальным данным при выдержке образца с покрытием в SBF-растворе на поверхности покрытия наблюдается рост ГА (рисунок 4), образование которого является критерием биоактивности пленки. Формируемое нами ПЭО-покрытие является биоактивным, что в свою очередь должно стимулировать биологические реакции *in vivo*, ускоряя рост кости и уменьшая время вживления имплантата.

Для исследования биоактивности полученных ПЭО-покрытий *in vivo* были проведены эксперименты по вживлению титановых имплантатов с покрытиями, полученными в цитрат-фосфатном и ацетат-фосфатном электролитах, непосредственно в организм лабораторных мышей. Результаты показали, что подкожная имплантация образцов не вызвала побочных эффектов, связанных с воспалительными и аллергическими явлениями. Было установлено (таблица 2), что для возникновения остеоиндуктивных свойств в покрытии необходимо наличие в нем соединений фосфора и кальция в определенном количественном соотношении. Однако, судя по результатам эксперимента (таблица 2), этот

фактор является не единственным значимым параметром. Важны также шероховатость кальций-фосфатного слоя (R_a) и абсолютная концентрация Са и Р в покрытии.

В результате подкожной имплантации в течение 40 суток, на поверхности кальций-фосфатных покрытий образовалась грубоволокнистая костная ткань толщиной до 50 мкм с полостями, заполненными костным мозгом (рисунок 5). Следует заметить, что на необработанном титане рост костной ткани в указанный период времени не происходил.

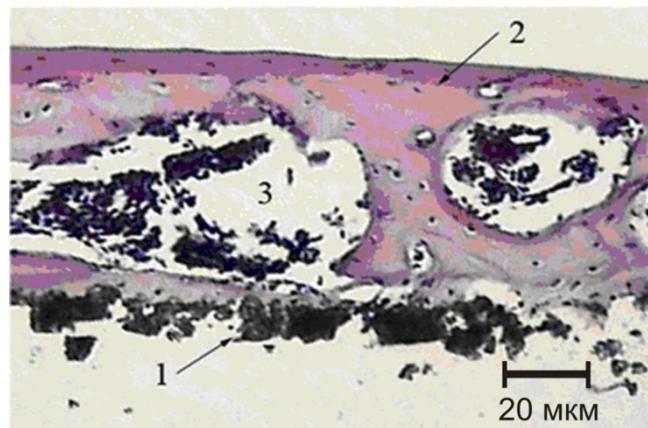


Рисунок 5 – Морфологическая структура тканевых пластинок, выросших на кальций-фосфатных покрытиях в тесте эктопического костеобразования у мышей. 1 – фрагменты кальций-фосфатного покрытия, 2 – костная пластинка, 3 – лакуны, заполненные красным костным мозгом

Количественные параметры гистологического состава (кость, костный мозг) тканевых пластинок, показатель шероховатости R_a , фазовый состав и отношение Са/Р покрытий приведены в таблице 2. Из анализа данных следует, что в режиме ПЭО на титане, в растворах электролитов, содержащих цитрат и ацетат натрия, были получены биологически активные кальций-фосфатные покрытия. При этом данные РФА, согласно которым в составе некоторых покрытий обнаружен только диоксид титана, не отрицают присутствия в них кальций-фосфатных соединений в виде рентгеноаморфной фазы. Об этом можно судить по высоким значениям отношения Са/Р в образцах, содержащих только TiO_2 . В составе образца 5 (таблица 2) были обнаружены ГА и фосфат кальция. Отношение Са/Р составило 1,92. Ключевым фактором оценки биоактивных свойств полученных покрытий является количество сформированной на их поверхности костной ткани.

В результате исследования влияния параметра шероховатости R_a на количественные показатели остеогенеза *in vivo* (рисунок 6) не было выявлено линейной зависимости показателей площади кости (S кости, mm^2) и площади ко-

стного мозга (S костного мозга, мм^2) от параметра шероховатости искусственных поверхностей R_a . Однако обнаружены точки экстремума биоактивности при шероховатости покрытий в диапазоне 2 - 3 мкм.

Нами было установлено, что биологическая активность поверхностных слоев в системе *in vivo* определяется суперпозицией специфических параметров: химическим составом, в частности значениями концентраций Са и Р, а также их отношением, и морфологическими особенностями (шероховатостью) кальций-фосфатного покрытия на поверхности титановых имплантатов.

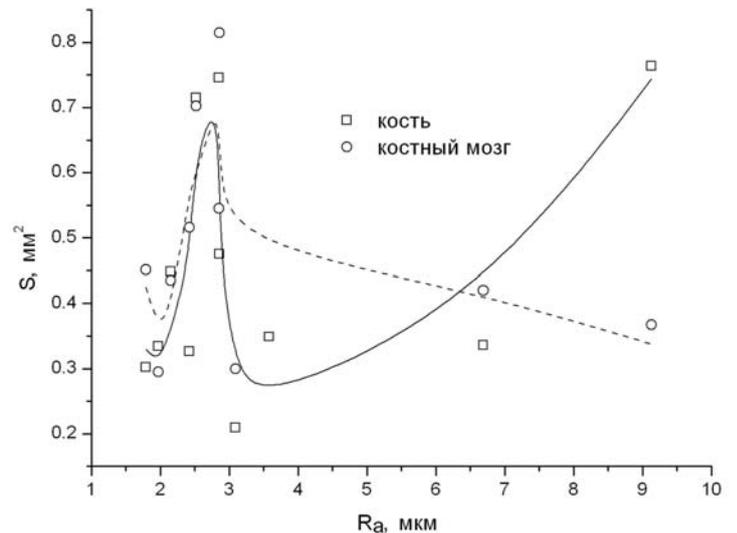


Рисунок 6 – График зависимости площади кости и костного мозга от шероховатости покрытия

Сделанный вывод также подтверждается результатами проведенного эксперимента по изучению морфофункционального профиля культуры мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток (ММСК) человека при контакте с кальций-фосфатными ПЭО-покрытиями с различной шероховатостью в системе *in vitro*. Выявлено, что в условиях контакта фибробластоидных клеток с кальций-фосфатными покрытиями их шероховатость и химический состав являются важнейшими параметрами, определяющими влияние покрытий на остеогенную дифференцировку клеточно-тканевого уровня.

В пятой главе представлен экспериментальный материал и обобщения по формированию покрытий на сплавах магния, являющихся биологически активными (ускоряющим остеогенез и остеоинтеграцию кости), с одной стороны, и обладающими антикоррозионными защитными свойствами (снижающим скорость растворения магниевых имплантатов в физиологической среде), с другой. Полученный материал нацелен на решение важной научно-практической зада-

чи, существенно ускоряющего прогресс "магниевой" имплантационной хирургии.

В работе с целью получения биоактивного и коррозионностойкого ПЭО-покрытия на сплавах магния МА8 (1,5 – 2,5 масс. % Mn; 0,15 – 0,35 масс. % Ce; Mg – остальное), МА14 (5,0–6,0 масс. % Zn, 0,3–0,9 масс. % Zr, Mg – остальное) и МА20 (0,1 масс. % Mn; 1,2 масс. % Zn, 0,1 масс. % Zr, 0,18 масс. % Ce; Mg – остальное), в состав электролита вводили глицерофосфат кальция $(C_3H_7O_6P)Ca \cdot 2H_2O$ и фторид натрия NaF. По данным РФА в состав поверхностного слоя входит оксид магния и ГА. Толщина покрытия, согласно результатам измерений, проведенным на поперечных шлифах, составляет около 60 мкм. Для повышения антикоррозионных свойств ПЭО-покрытия были дополнительно обработаны УПТФЭ. Использование различной кратности нанесения слоев полимера, разных режимов термической обработки композиционного покрытия позволяет обеспечить регулируемое проникновение полимера в поры с образованием поверхности необходимой нам сплошности.

Электрохимическое исследование образцов позволило детализировать информацию об электрохимических свойствах и морфологическом строении ПЭО-покрытий (таблица 3). Наиболее существенно защищают металл композиционные слои, созданные на базе ПЭО-покрытий. Для сплавов МА14 и МА20 увеличение значений поляризационного сопротивления по сравнению с металлом без покрытия составило $1,4 \cdot 10^4$ и $6,5 \cdot 10^3$ раз соответственно.

Таблица 3 – Электрохимические параметры образцов из магниевых сплавов в растворе Хэнка при 37 °С

Сплав	Образец	E_k , В (х.с.э.)	I_k , А/см ²	R_p , Ом·см ²	$ Z _{f=0,01}$, Ом·см ²
МА8	Без покрытия	-1,54	$2,0 \cdot 10^{-6}$	$1,3 \cdot 10^4$	$1,3 \cdot 10^4$
	ПЭО	-1,61	$1,3 \cdot 10^{-6}$	$2,5 \cdot 10^4$	$3,6 \cdot 10^4$
	ПЭО+УПТФЭ	0,47	$4,0 \cdot 10^{-10}$	$0,5 \cdot 10^9$	$2,1 \cdot 10^9$
МА14	Без покрытия	-1,49	$1,5 \cdot 10^{-6}$	$1,8 \cdot 10^3$	$3,4 \cdot 10^3$
	ПЭО	-1,45	$6,3 \cdot 10^{-7}$	$4,8 \cdot 10^4$	$1,8 \cdot 10^4$
	ПЭО+УПТФЭ	-1,39	$2,8 \cdot 10^{-9}$	$2,6 \cdot 10^7$	$4,5 \cdot 10^7$
МА20	Без покрытия	-1,48	$6,6 \cdot 10^{-6}$	$1,5 \cdot 10^3$	$3,2 \cdot 10^3$
	ПЭО	-1,58	$2,6 \cdot 10^{-6}$	$1,3 \cdot 10^4$	$1,2 \cdot 10^4$
	ПЭО+УПТФЭ	-1,51	$8,0 \cdot 10^{-9}$	$9,7 \cdot 10^6$	$1,9 \cdot 10^7$

Максимальное увеличение защитных свойств было установлено для покрытия на магниевом сплаве МА8 – регистрируемые значения токов при поляризации образца находились на границе чувствительности прибора и составили менее $4,0 \cdot 10^{-10}$ А/см², что свидетельствует о формировании сплошной полимерной пленки на поверхности образца.

Динамика изменения значений стационарного потенциала (рисунок 7) отражает высокую стабильность композиционного слоя на сплаве магния МА8. Характер изменения E_k для композиционного слоя после однократной обработки УПТФЭ может быть объяснен постепенным проникновением раствора электролита через дефекты полимерной пленки. Подобная разница в

электрохимическом поведении композиционных слоёв вызвана морфологическими отличиями покрытий, полученных с разной степенью обработки УПТФЭ.

В работе проведено *in vitro* исследование образцов с ПЭО-покрытиями в SBF-растворе в течение 6 недель (при еженедельной замене раствора на свежий). По результатам проведенного

эксперимента также определена потеря массы для образцов с различными способами обработки поверхности (рисунок 8). Из анализа представленных данных следует, что потеря массы для сплава МА8 без покрытия составила 30 %. ПЭО-

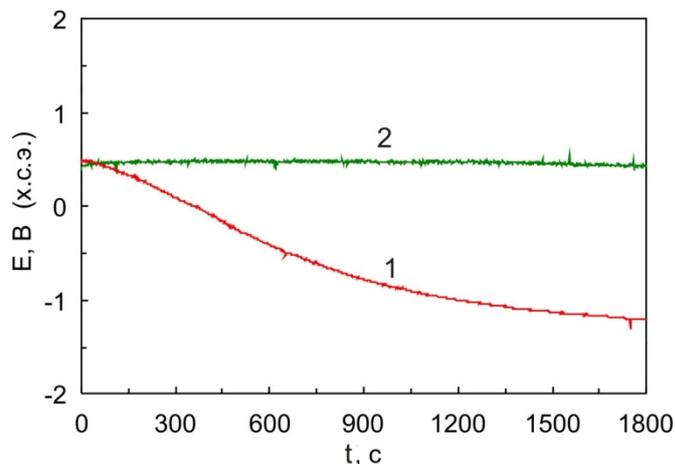


Рисунок 7 – Хронопотенциограммы образцов из магниевом сплава МА8 с композиционными покрытиями в растворе Хэнка при 37 °С, после однократной -1; и трехкратной -2; обработки УПТФЭ

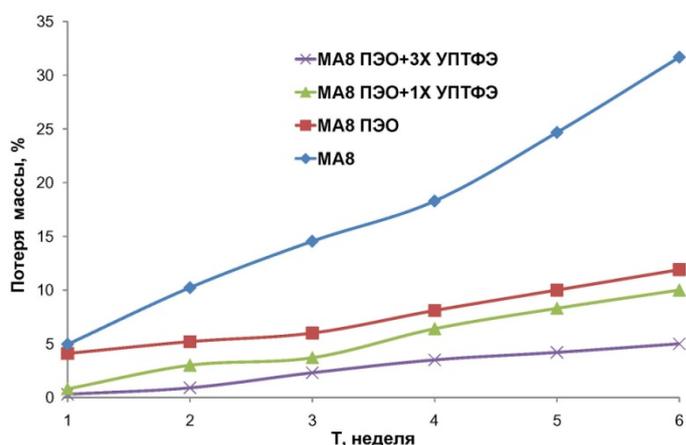


Рисунок 8 – Потеря массы в течение 6 недель для образцов сплава магния без покрытия, с ПЭО-покрытием, различной степенью обработки УПТФЭ

покрытие препятствует быстрому растворению материала, что свидетельствует о защитных свойствах получаемого покрытия на сплаве магния. Потеря массы образцов с ПЭО-покрытиями за шесть недель испытаний составляет 12 %. Таким образом, ПЭО-слой обеспечивает двукратное снижение скорости резорбции материала по сравнению с образцами без покрытия. Для образцов с различной кратностью обработки УПТФЭ потеря массы составила 10 % и 5 % соответственно для однократной и трехкратной обработки УПТФЭ. Это говорит о высоких защитных свойствах получаемого покрытия. Таким образом, ПЭО-покрытие, обработанное УПТФЭ, позволяет регулировать скорость коррозии и обеспечить заданную скорость резорбции материала.

На рисунке 9 приведены СЭМ изображения поверхности образцов с ПЭО-покрытием до и после испытаний на биоактивность. В результате пребывания в модельной среде на поверхности, согласно данным РФА, формируются кристаллы гидроксиапатита, что подтверждает биоактивность формируемых слоев на сплаве магния.

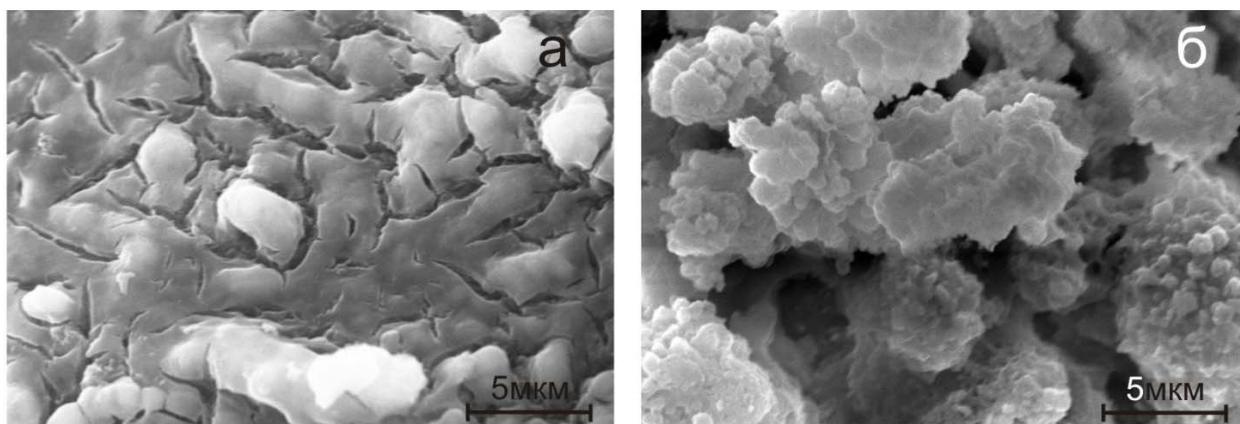


Рисунок 9 – СЭМ-изображение поверхности образцов с ПЭО-покрытием на сплаве магния до - *а* и после выдержки в SBF-растворе - *б*

Согласно полученным экспериментальным данным, сформированные на поверхности магниевое сплава покрытия, с одной стороны, должны ускорять рост костной ткани на поверхности имплантата, с другой стороны, благодаря ГА, существенно снижают коррозию магниевое сплава. Следовательно, разработанный способ поверхностной обработки обозначил реальную перспективу создания биodeградируемых магниевых имплантатов, который выводит имплантационную хирургию на качественно новый уровень. Применение новых

разрабатываемых технологий позволит заменить значительную часть материалов, используемых сейчас в имплантологии, на более физиологически приемлемые и менее травмоопасные для пациентов магниевые сплавы сокращая при этом затраты на повторные операции и реабилитацию больных.

ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ВЫВОДЫ

1. Разработаны подходы и способы формирования биологически инертных ПЭО-покрытий на поверхности никелида титана для нужд имплантационной хирургии. Такие поверхностные слои существенно уменьшают диффузию ионов никеля из материала имплантата в организм человека, что должно снижать уровень их токсичности, а следовательно, они защищают организм человека от вредного влияния этого металла. Установлено, что биологически инертные покрытия не влияют на эффект памяти формы никелида титана, обеспечивающий уникальные возможности этого имплантационного материала.

2. Разработаны способы формирования методом биполярного ПЭО биологически активных кальций-фосфатных покрытий на поверхности имплантатов, выполненных из крупнокристаллического и наноструктурированного титана ВТ1-0. Испытания данных покрытий *in vitro* в искусственном SBF-растворе, имитирующем плазму человеческой крови, и *in vivo*, в результате внедрения имплантата с покрытием в организм лабораторных мышей, продемонстрировали высокую биологическую активность сформированных поверхностных слоев.

3. Установлена взаимосвязь между биологической активностью поверхностных слоев и суперпозицией таких специфических параметров, как химический состав, концентрация Са и Р, их отношение в материале покрытия, морфологические особенности (шероховатость) поверхностного слоя.

4. На сплаве магния МА8 в растворе электролита, содержащем глицерофосфат кальция и фторид натрия, в биполярном режиме ПЭО получены защитные покрытия, содержащие гидроксиапатит с отношением Са/Р = 1,6, близким к показателю костной ткани (1,67). Данные покрытия обладают развитой пористой поверхностью и существенно снижают скорость коррозии магниевого

сплава, что позволяет рассматривать их как перспективные для биорезорбируемых медицинских имплантатов.

Основное содержание диссертации изложено в следующих работах:

Статьи, опубликованные в журналах, рекомендованных ВАК:

1. Гнеденков С.В., Синебрюхов С.Л., Хрисанфова О.А., Пузь А.В., Гнеденков А.С. Композиционные защитные покрытия на поверхности никелида титана // Коррозия: материалы, защита. 2007. №. 2. С. 20–25.
2. Гнеденков С.В., Хрисанфова О.А., Синебрюхов С.Л., Нистратова М.В., Пузь А.В. Формирование на титане поверхностных слоев, содержащих гидроксиапатит // Коррозия: материалы, защита. 2008. №. 8. С. 24–30.
3. S.V. Gnedenkov, O.A. Khrisanfova, S.L. Sinebryukhov, A.V. Puz', and A.S. gnedenkov. Composite protective coatings on nitinol surface // Materials and Manufacturing Processes. 2008. V. 23. №. 8. P.879–883.
4. Гнеденков С.В., Шаркеев Ю.П., Синебрюхов С.Л., Хрисанфова О.А., Легостаева е.в., Завидная А.Г., Пузь А.В., Хлусов И.А. Формирование и свойства кальций-фосфатных покрытий на титане // Вестник ДВО РАН.– 2010. №. 5. С. 47–57.
5. Гнеденков С.В., Синебрюхов С.Л., Хрисанфова О.А., Завидная А.Г., Егоркин В.С., Пузь А.В., Сергиенко В.И. Кальций-фосфатные покрытия на резорбируемых магниевых имплантатах // Вестник ДВО РАН. 2011. №. 5. С. 88–94.
6. Gnedenkov S.V., Scharkeev Yu.P., Sinebryukhov S.L., Khrisanfova O.A., Legostaeva E.V., Zavidnaya A.G., Puz' A.V., Khlusov I.A. Formation and properties of bioactive surface layers on titanium // Inorganic Materials: Applied Research. 2011. V. 2. №. 5. P. 474–481.
7. Гнеденков С.В., Шаркеев Ю.П., Синебрюхов С.Л., Хрисанфова О.А., Легостаева Е.В., Завидная А.Г., Пузь А.В., Хлусов И.А. Функциональные покрытия для имплантационных материалов (обзор) // Тихоокеанский медицинский журнал. 2012. №. 1. С. 12–19.
8. Gnedenkov S.V., Sinebryukhov S.L., Krisanfova O.A., Zavidnaya A.G., Egorkin V.S., Puz A.V., Sergienko V.I. Formation of bioactive anticorrosion coatings on resorbable implants by plasma electrolytic oxidation // Protection of Metals And Physical Chemistry of Surfaces. 2013. V. 49. №. 7. P. 873–878.

Патенты:

1. Патент 2316357 Российская Федерация. Способ получения биосовместимых фторполимерных покрытий на изделиях из нитинола / С.В. Гнеденков, О.А. Хрисанфова, С.Л. Синебрюхов, А.К. Цветников, А.В. Пузь, А.С. Гнеденков.: Заявитель и патентообладатель Институт химии Дальневосточного отделения Российской академии наук (статус государственного учреждения) (Институт химии ДВО РАН), – № 2006131389/15; заявл. 31.08.06; опубл. 10.02.08, Бюл. № 4.
2. Патент 2319797 Российская Федерация. Способ получения защитных покрытий на изделиях из нитинола / С.В. Гнеденков, О.А. Хрисанфова, С.Л. Синебрюхов, А.В. Пузь.: Заявитель и патентообладатель Институт химии Дальневосточного отделения Российской академии наук (статус государственного учреждения) (Институт химии ДВО РАН), – № 2006129478/02; заявл. 14.08.06; опубл. 20.03.08, Бюл. № 8.
3. Патент 2348744 Российская Федерация. Способ нанесения кальций-фосфатного покрытия на имплантаты из титана и его сплавов / С.В. Гнеденков, О.А. Хрисанфова, С.Л. Синебрюхов, А.В. Пузь, М.В. Сидорова.: Заявитель и патентообладатель Институт химии Дальневосточного отделения Российской академии наук (статус государственного учреждения) (Институт химии ДВО РАН), – № 2007126453/02; заявл. 11.07.07; опубл. 10.03.09, Бюл. № 7.
4. Патент 2445409 Российская Федерация. Способ получения антикоррозионных кальцийсодержащих покрытий на сплавах магния / С.В. Гнеденков, О.А. Хрисанфова, А.Г. Завидная, С.Л. Синебрюхов, А.В. Пузь, В.С. Егоркин.: Заявитель и патентообладатель Институт химии Дальневосточного отделения Российской академии наук (статус государственного учреждения) (Институт химии ДВО РАН), – № 2011110211; Заявл. 17.03.11; Опубл. 20.02.12, Бюл. № 8.

Статьи, опубликованные в других периодических изданиях:

1. Гнеденков С.В., Шаркеев Ю.П., Синебрюхов С.Л., Хрисанфова О.А., Легостаева Е.В., Завидная А.Г., Пузь А.В., Хлусов И.А. Биоактивные покрытия на титане, их формирование и свойства // Перспективные направления развития нанотехноло-

гий в ДВО РАН. / Отв. ред. чл.-корр. РАН Ю.Н. Кульчин. Владивосток: ИАПУ ДВО РАН, 2010. С.33–47.

2. Егоркин В.С., Пузь А.В., Хрисанфова О.А., Синебрюхов С.Л., Минаев А.Н., Гнеденков С.В. Формирование защитных покрытий на алюминии и стали методом плазменного электролитического оксидирования. – Вестник Дальневосточного государственного технического университета (Электронное периодическое издание Технические науки). 2011. №. 1. (6). С. 58–75.
3. Гнеденков С.В., Синебрюхов С.Л., Хрисанфова О.А., Завидная А.Г., Пузь А.В., Егоркин В.С., Шаркеев Ю.П. Биоактивные покрытия на поверхности наноструктурированного титана // Перспективные направления развития нанотехнологий в ДВО РАН. / Отв. ред. чл.-корр. РАН Ю.Н. Кульчин. – Владивосток: ИАПУ ДВО РАН. 2011. С. 66–77.
4. Гнеденков С.В., Синебрюхов С.Л., Хрисанфова О.А., Завидная А.Г., Пузь А.В. Развитие биомиметического подхода при формировании поверхностных биоактивных слоев на сплавах магния для биodeградируемых имплантатов // Перспективные направления развития нанотехнологий в ДВО РАН. / Отв. ред. чл.-корр. РАН Ю.Н. Кульчин. – Владивосток: ИАПУ ДВО РАН. 2013. С. 142-154.