

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
ИНСТИТУТ ХИМИИ
ДАЛЬНЕВОСТОЧНОГО ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

На правах рукописи

ПУЗЬ АРТЕМ ВИКТОРОВИЧ

**МНОГОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПОКРЫТИЯ
ДЛЯ СПЛАВОВ МЕДИЦИНСКОГО НАЗНАЧЕНИЯ**

02.00.04 – физическая химия

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Научный руководитель:
доктор химических наук,
профессор Гнеденков С.В.

Владивосток – 2014

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
ГЛАВА 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР.....	10
1.1. Материалы и сплавы, применяемые в современной имплантационной хирургии.....	10
1.2. Полимерные материалы, стекла, керамика	12
1.3. Сплавы титана, циркония и магния.....	14
1.4. Формирование покрытий на поверхности никелида титана методом плазменного электролитического оксидирования	20
1.5. Понятие биологической совместимости имплантационных материалов	28
1.6. Роль фосфатов кальция в процессах остеосинтеза	35
1.7. Формирование кальций-фосфатных соединений <i>in vitro</i> в Simulated Body Fluids.....	46
1.8. Биodeградируемые имплантационные материалы на основе сплавов магния	58
1.9. Анализ литературных данных и постановка задачи исследования	62
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКИ ЭКСПЕРИМЕНТОВ.....	63
2.1. Характеристика материалов. Подготовка образцов	63
2.2. Установка для плазменного электролитического оксидирования образцов	64
2.3. Методы исследования структуры, состава и свойств поверхностных слоев.....	66
2.3.1. Рентгенофазовый анализ (РФА)	66
2.3.2. Атомно-абсорбционный анализ.....	67
2.3.3. Электронно-зондовый микроанализ	67
2.3.4. Сканирующая электронная микроскопия.....	68
2.3.5. Электрохимическая импедансная спектроскопия	68
2.3.6. Определение микротвердости и упругопластических свойств оксидных слоев.....	70
2.3.7. Исследование адгезионных характеристик покрытий	71
2.3.8. Определение термостабильности покрытий	71
2.3.9. Методика исследования биоактивности образцов <i>in vitro</i>	72
2.3.10. Методика исследования биоактивности образцов <i>in vivo</i>	73

2.3.11. Механизмы дифференцировки культуры стволовых стромальных клеток в системе <i>in vitro</i>	74
ГЛАВА 3. ЗАЩИТНЫЕ АНТИКОРРОЗИОННЫЕ ПОКРЫТИЯ НА ПОВЕРХНОСТИ НИКЕЛИДА ТИТАНА	76
3.1. Плазменное электролитическое оксидирование никелида титана	76
3.2. Влияние плазменного электролитического оксидирования на механические характеристики никелида титана	84
3.3. Влияние плазменного электролитического оксидирования на антикоррозионные свойства, адгезивную и температурную устойчивость слоев, сформированных на никелиде титана	87
ГЛАВА 4. ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА ПЭО ДЛЯ ФОРМИРОВАНИЯ БИОАКТИВНЫХ ПОКРЫТИЙ.....	94
4.1. Формирование на крупнокристаллическом титане поверхностных слоев, содержащих гидроксиапатит.....	94
4.2. Формирование биоактивных покрытий на наноструктурированном титане	103
4.3. Определение биоактивности кальций-фосфатных покрытий <i>in vitro</i>	110
4.4. Определение биоактивности кальций-фосфатных покрытий <i>in vivo</i>	114
4.5. Исследование влияния физико-химических параметров кальций-фосфатных ПЭО-покрытий на молекулярно-клеточные и тканевые аспекты остеогенной дифференцировки стромальных стволовых клеток	119
ГЛАВА 5. БИОРЕЗОРБИРУЕМЫЕ ПОКРЫТИЯ НА СПЛАВЕ МАГНИЯ МА8	126
5.1. Формирование биорезорбируемых покрытий на сплаве МА8.....	126
5.2. Электрохимическое поведение ПЭО-покрытий на сплавах магния в физиологическом растворе Хэнка.....	132
5.3. Определение антикоррозионной стойкости и биоактивности кальций-фосфатных покрытий на сплаве магния <i>in vitro</i> в SBF-растворе.....	138
ВЫВОДЫ	143
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	144
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	163

ВВЕДЕНИЕ

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.

Тело человека является сложной биологической системой, в которой все компоненты работают слаженно. На поверхности и границах раздела имплантата и мягких тканей организма проходят биологические процессы, осуществляемые, в частности, на клеточно-матричном, наноразмерном уровне. Поиск новых биосовместимых материалов с наноструктурными характеристиками реализуется согласно биомиметическому подходу, в соответствии с которым искусственные наноматериалы имитируют свойства биоматериалов из живой природы. Прогресс в этой области возможен лишь на основе междисциплинарных исследований в химии, медицине, биологии и физике. 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.

Классическая концепция биоинертных или биоактивных материалов с развитием материаловедения и химической науки будет смещаться в область создания более совершенных биоматериалов, которые могли бы реагировать или способствовать осуществлению различных реакций с биологической средой в зависимости от состояния поверхности имплантируемого материала. Свойства

поверхности материалов можно модифицировать, применяя различные технологии. Ключевые биологические процессы, включая адсорбцию протеинов и пролиферацию клеток, в некоторой степени можно контролировать с помощью химических методов модификации свойств поверхности биосовместимых материалов. Химическая обработка поверхности эффективна вследствие того, что чаще всего является достаточно простой и обеспечивает доступ к поверхности сложных объектов. Химическая обработка позволяет изменять концентрацию биологически активных групп на поверхности имплантатов, что оказывает влияние на жизнедеятельность клеток. Для обработки поверхности имплантатов широко применяются такие методы, как золь-гель технология, анодирование, электроосаждение, плазменное электролитическое оксидирование, плазменное напыление и т. д. В силу высокой конкуренции в медицинской промышленности все больший интерес вызывают покрытия, способные модифицировать поверхность имплантатов. В этой сфере 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 [1, 2]. 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 к интеграции имплантата с костной тканью [1-5].

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 материалы результатов 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.

Цель диссертационной работы заключается в исследовании особенностей формирования с использованием метода ПЭО на металлах и сплавах медицинского назначения (никелиде титана, крупнокристаллическом и наноструктурированном титане VT1-0 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 магниевого имплантата 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 ВТ1-0 биоактивные покрытия на основе гидроксиапатита 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.

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.

Степень обоснованности результатов и апробация работы. Достоверность результатов работы обеспечена применением аттестованных измерительных приборов и апробированных методик, использованием взаимодополняющих методов исследования, соблюдением принципов комплексного подхода при анализе и интерпретации экспериментальных данных, воспроизводимостью результатов, применением статистических методов оценки погрешностей при обработке данных эксперимента.

Апробация работы. Основные экспериментальные результаты диссертации, научные подходы, обобщения и выводы были представлены в устных и стендовых 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 соискателя. 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 Института химии ДВО РАН.

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»).

Структура и объем диссертационной работы. Диссертация состоит из введения, пяти глав, выводов и списка литературы. Работа изложена на 164 страницах машинописного текста, содержит 8 таблиц, 47 рисунков. Список литературы состоит из 166 источников.

ГЛАВА 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

1.1. Материалы и сплавы, применяемые в современной имплантационной хирургии

Тканевый состав кости человека имеет сложное строение и структуру. Механическая прочность костной ткани обусловлена пространственным расположением костных пластинок, которые являются структурными компонентами кости. В состав кости входят коллаген (25 %) – органическая составляющая кости; фосфаты кальция (65 %) – неорганическая составляющая; вода (10 %). В состав кости входят также сахараиды, липиды, белки. Функциональные свойства составляющих костной ткани различны. Например, коллаген придает тканям организма необходимую механическую прочность при деформациях растяжения и изгиба. Прочность костной ткани на сжатие определяется минеральной составляющей – кальций-фосфатными соединениями, среди которых особое место занимает гидроксипатит. Его пластинки ориентированы определенным образом по отношению к оси коллагеновых волокон [1].

Биоматериалы, претендующие на роль имплантатов, должны удовлетворять требованиям, диктуемым составом и свойствами костной ткани. Основными требованиями, предъявляемыми к материалам для имплантации, являются устойчивость к коррозионно-активным средам и биомеханическая совместимость. Материал имплантата должен также обладать определенными механическими свойствами, из них приоритетными являются твердость, предел прочности, модуль упругости. Отклик материала на повторяющиеся циклические нагрузки зависит от усталостной прочности материала, это свойство определяет продолжительность эксплуатации имплантата [2]. Если имплантат разрушается при приложении усилий, тогда речь идет о его механической несовместимости. Материал, защищающий кость, должен иметь модуль упругости (модуль Юнга), близкий к таковому для кости. Модуль Юнга кости варьирует в диапазоне 4–30 ГПа в зависимости от типа кости и направления измерения. Имплантаты,

имеющие более высокую твердость, чем кость, удовлетворяют предъявляемым требованиям. Имплантат должен иметь значения прочности (статической и усталостной) и трещиностойкости, близкие к значениям для кости. Высокая прочность и трещиностойкость необходимы для надежной эксплуатации имплантата в организме.

Применение биоматериалов становится жизненно необходимым вследствие их особенного влияния на качество и продолжительность жизни человека. Известно, что современный биоматериал должен обладать определенными свойствами, такими как:

- химические свойства – отсутствие нежелательных химических реакций с тканями и межтканевыми жидкостями, отсутствие коррозии в биологической среде организма человека или растворение с контролируемой скоростью;
- механическая прочность, близкая к прочности кости, трещиностойкость, износостойкость и отсутствие следов абразивного износа;
- биологические свойства – отсутствие реакций со стороны иммунной системы организма, стимулирование процесса образования костной ткани (остеосинтеза);
- наличие пор определенного размера на поверхности имплантата, необходимых для прорастания костной ткани в имплантат.

Имплантаты, имеющие развитую пористую поверхность, являются идеальными объектами для заместителей кости. При введении в организм таких имплантатов происходит эффективное врастание костной ткани в поры покрытия. Это обеспечивает прочность и длительное закрепление имплантата, его нормальное функционирование в организме человека. Как было представлено в ряде исследований, пористая биокерамика имеет высокую биосовместимость, поддерживая рост кости в имплантате [2, 3].

Тело человека представляет собой агрессивную среду для имплантатов, особенно выполненных из металлов. При разработке новых имплантатов необходимо учитывать не только их функциональные характеристики, но и их взаимодействие с биологической средой, в которой они будут эксплуатироваться.

Низкие износо- и коррозионная стойкость металлических имплантатов в коррозионной жидкой среде тела человека способствуют выходу ионов металла в организм. Было обнаружено [4], что такие ионы, как Ni^{2+} , Co^{3+} , Al^{3+} , Cr^{3+} , вызывают аллергические и токсические реакции в организме. Поэтому материалы, используемые в качестве имплантатов, не должны обладать токсичностью или должны иметь надежные защитные покрытия на поверхности, препятствующие выходу ионов металла в ткани организма человека. Для имплантатов небольших размеров опасность представляет питтинговая коррозия. Например, функциональная целостность сосудистых стентов может быть разрушена наличием одного незначительного углубления.

1.2. Полимерные материалы, стекла, керамика

Деграционные процессы в организме человека приводят к утере механических свойств кости вследствие нагрузок или к отсутствию нормального процесса заживления.

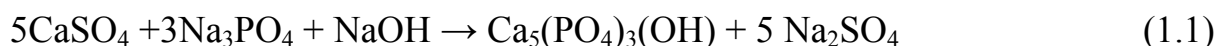
Если в мире в 2002 г. в имплантатах нуждалось 4,9 млн человек, то в 2010 их количество возросло до 39,7 млн. (Форсайт-прогноз Европейской комиссии «Technology and market perspective for future Value Added Materials», Final Report from Oxford Research AS Luxembourg: Publications Office of the European Union, 2012 <http://europa.eu>). Искусственные биоматериалы позволяют решить проблему восстановления утраченных органом функций.

Биоматериалы, которые применяют в настоящее время, по характеру отклика организма на введенный в него имплантат разделяют на три группы:

1. токсичные (окружающие ткани отмирают при контакте) – большинство металлов;
2. биоинертные (нетоксичные, но биологически неактивные) – керамика на основе Al_2O_3 , ZrO_2 ;
3. биоактивные (нетоксичные, срастающиеся с костной тканью) – композиционные материалы, керамика на основе фосфатов кальция, биостекла.

Биоактивные материалы более предпочтительны, так как повышают интеграцию с окружающей костью. Биокерамика или специальная керамика применяются в медицине для замещения или реконструкции поврежденных элементов костной ткани. Биокерамика может быть резорбируемой (трикальцийфосфат), биоактивной (гидроксиапатит, биоактивные стекла, биоактивная стеклокерамика) и биоинертной (синтетический оксид алюминия, оксид циркония, стабилизированный иттрием).

Биоактивную стеклокерамику в настоящее время получают традиционными методами стекольной технологии. Достоинством этих материалов является высокая плотность и повышенная по сравнению с исходными стеклами механическая прочность. В работе [5] исследовали образование и кристаллизацию гидроксиапатита, синтезированного из раствора. На основе гидроксиапатита и стеклокерамики авторами получены новые композиционные материалы. Необходимым условием для синтеза гидроксиапатита являлось высокое значение рН раствора согласно реакции:



Биоинертная керамика в основном применяется для имплантирования в кости, бедренные суставы и челюсти. Она служит для замены поврежденной костной ткани или ее части. Основным недостатком биоинертной керамики – низкая долговечность вследствие экранирования механических нагрузок, приводящая к резорбции костной ткани, прилегающей к имплантату, и утрате последнего. Тем не менее подобные материалы, по-видимому, не имеют в некоторых случаях альтернативы, например в качестве заменителей тазобедренного сустава.

К наиболее ярким представителям биоактивных материалов относятся биостекла (как правило, используется состав «45S5»: Na_2O 24,5 %, CaO 24,5 %, SiO_2 45,0 %, P_2O_5 6 %; варьируя состав, можно изменять биоактивность стекол и их резорбируемость) и материалы на основе гидроксиапатита – $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. К сожалению, невысокие механические характеристики подобных материалов не позволяют создавать крупные нагружаемые имплантаты.

Перспективы в области разработки биоматериалов связаны с развитием всего спектра имеющихся на сегодня биокерамики, стекол, полимеров. Особый интерес представляют исследования, нацеленные на «регенерационный» подход [6], в котором акцент делается не на замещение дефекта имплантатом с подходящими механическими характеристиками, а на быструю биодеградацию материала и замену его костной тканью (т. е. на первое место у таких материалов выходят биологические и коррозионные свойства).

Композиты, выбранные для производства керамики, должны обладать определенными свойствами: иметь небольшой размер частиц, обладать однородным распределением частиц в объеме материала, одинаковой формой, высокой химической чистотой (отсутствием таких элементов, как натрий и железо). Высокая дисперсность суспензии, используемой для приготовления керамики, достигается степенью измельчения механическим путем или пептизацией хлопьев осадка. Однако рассеянные коллоидные частицы имеют большую поверхность и стремятся к минимизации поверхностной энергии путем образования хлопьев. Существует два типа стабилизации:

1) стерическая стабилизация превалирует в суспензии при высоких ионных потенциалах;

2) электростатическая стабилизация – обычный путь повышения устойчивости суспензий. Это достигается достаточно высоким электростатическим потенциалом на границе раздела фаз коллоидных мицелл, так называемым электрокинетическим потенциалом (дзета-потенциал). Когда zeta-потенциал достаточно высок, силы Кулона превышают силы притяжения Ван-дер-Ваальса, поэтому частицы оказывают сопротивление сближению, флокуляция отсутствует, и суспензия остается стабильной [7].

1.3. Сплавы титана, циркония и магния

Сплавы титана в настоящее время широко используются в качестве материалов для изготовления имплантатов. В 50–60-х годах прошлого столетия в Швеции профессором-терапевтом П.И. Бренемарком в ходе экспериментальной

работы с применением аппаратуры из титана впервые обнаружено явление врастания титановой конструкции в живую костную ткань, получившее название остеоинтеграции. В исследованиях были представлены научные доказательства биологической совместимости остеоинтегрированных имплантатов, что позволило значительно расширить область их применения в качестве зубных имплантатов [8]. В данной области применяются и сплавы циркония. Они тоже обладают биосовместимостью и высокой коррозионной стойкостью. Оксид циркония широко применяется в стоматологии в качестве биокерамики для плазменного напыления на имплантаты из титана.

Перспектива создания биodeградируемых имплантатов для лечения сложных переломов обозначила в последние годы одно из приоритетных направлений развития материаловедения для нужд имплантационной хирургии. Конечной целью этого развивающегося направления является разработка деградирующего с контролируемой скоростью имплантата, не оказывающего вредного воздействия на организм человека и выполняющего свои функции в течение необходимого для восстановления поврежденной кости времени (12–14 недель). Такие имплантаты должны с определенной скоростью растворяться в хлоридсодержащей среде человеческого организма и выводиться из организма, исключая тем самым необходимость проведения повторной операции для их извлечения.

Повышенное внимание при создании биodeградируемых имплантатов уделяется магниевым сплавам. Главными достоинствами таких материалов являются их биосовместимость, а также приемлемые механические свойства (плотность и модуль Юнга сопоставимы с величинами этих параметров для кортикальной кости).

Титановые сплавы по сравнению с другими имеют большее преимущество, поскольку обладают высокими механическими характеристиками, устойчивы к коррозионному действию биологических жидкостей организма, обладают биосовместимостью. Сплавы титана антиаллергенны. Область применения их в медицине весьма обширна: это зубные протезы, имплантаты бедренного и коленного суставов, скрепки, гвозди, шурупы, пластины и клапаны сердца.

Наиболее приемлем вследствие высоких механических свойств, сплав титана, содержащий алюминий и ванадий. Однако эти элементы могут накапливаться в тканях организма и вследствие коррозионного воздействия биологических жидкостей оказывать токсичное действие, вызывать аллергию. Сплавы титана также подвергаются незначительному абразивному износу, что зачастую приводит к потере имплантата. Кроме того, продукты износа осаждаются в тканях организма человека, вызывая болевые ощущения и патогенные процессы.

Механические, износостойкие, антикоррозионные свойства титана обусловлены его микроструктурой. Метастабильные сплавы титана, предпочтительно $(\alpha+\beta)$ -структуры, имеют более высокую прочность, малоцикловую усталость и пластичность. Для снижения модуля упругости титана могут быть добавлены легирующие элементы. Было показано [9], что наиболее подходят для этой цели Nb, Zr, Mo, Ta. Эти элементы не являются токсичными.

Важной характеристикой имплантатов является их высокая коррозионная стойкость. Известно, что жидкая среда организма человека содержит агрессивные хлорид-ионы (Cl^-). Прочный оксидный слой на поверхности материала должен быть биологически инертным, что обеспечивает биологическую совместимость имплантатов, т. е. способствует отложению на его поверхности костной минерализованной матрицы. Заживление кости представляет собой соединение вновь образующейся костной матрицы с поверхностью оксида металла имплантата [10].

На поверхности металлических имплантатов осуществляются определенные химические реакции. В основном это реакции образования оксидов и гидроксидов металлов, которые создают защитный антикоррозионный слой. Однако в коррозионной среде биологических жидкостей организма этот слой не всегда выдерживает разрушающее действие хлорид-ионов и не обеспечивает надежной защиты поверхности имплантата от коррозии и разрушения. Изучение стоматологических имплантатов из чистого Ti и титанового сплава Ti6Al4V показало, что на окисной поверхности внедренного титанового имплантата проходят процессы растворения, а следы ионов металла обнаружены в

окружающих тканях [11]. Присутствие белков также вызывает коррозию имплантатов, находящихся в теле человека [12]. Наиболее часто имплантаты из титана подвергаются воздействию щелевой коррозии и питтингу. Коррозия имплантатов может быть снижена путем формирования защитного поверхностного слоя на его поверхности различными способами, о которых будет сказано далее. Клиническими наблюдениями установлено, что образование пассивного слоя оксида титана на поверхности имплантата продолжается даже тогда, когда он окружен слоем белка. Значит, оксидная поверхность титана по своей природе является динамической системой. Интеграция кости вокруг имплантата также представляет собой динамический процесс костеобразования и резорбции. На равновесие между этими процессами влияют самые разные факторы, в том числе биомеханические нагрузки, возникающие в системе кость–имплантат, и потенциальное наличие воспаления вокруг имплантата. Физико-химические свойства оксидного слоя: его состав и толщина, поверхностная энергия и топография поверхности (размер, форма, шероховатость) – влияют на биологические реакции тканей [13]. В свою очередь на толщину, состав и реактивную природу оксида влияет способ очистки и стерилизации поверхности имплантата. Поэтому вопрос о выборе материала напрямую зависит от его свойств. Современные технологии исследования основных параметров, определяющих качество материала для имплантологии (световая микроскопия, электронная микроскопия, лазерная сканирующая микроскопия), позволяют наиболее глубоко оценить взаимодействие с биологическими тканями, что является актуальным аспектом исследования.

Наиболее часто применяемые в имплантологии сплавы титана содержат такие элементы, как ванадий и ниобий. При активации сплавов, содержащих ванадий, происходит образование вакансий за счет растворения пентоксида V_2O_5 . Добавление ниобия в качестве легирующего компонента в сплавы титана имеет стабилизирующий эффект, увеличивая пассивацию и стойкость к растворению при значениях pH от 3,5 до 9,0. Добавки Nb, Ta, Pd, Zr обуславливают высокую

коррозионную стойкость титановых сплавов в широкой области значений pH благодаря обогащению поверхностного слоя легирующими компонентами [9].

Исследования взаимодействия между материалом имплантата и биосистемами являются поисковыми и требуют дальнейшего развития. Коррозионная устойчивость сплава обусловлена не только его составом, но и микроструктурой. В обзоре [14] рассмотрены микроструктурные превращения в сплавах титана, было установлено, что они являются результатом аллотропии. Титан подвергается аллотропным превращениям при 882 °С. Ниже этой температуры существует гексагональная модификация (α -фаза). Выше температуры фазового перехода титан находится в кубической β -модификации. Стабилизаторами кубической, более коррозионно-устойчивой β -фазы являются Ta, Nb, Mo, Cu, Cr, Fe [14]. Поэтому легирование сплавов титана данными элементами приводит к повышению антикоррозионных свойств.

Известны различные типы защитных покрытий для нанесения на поверхность титановых имплантатов. В первую очередь это поверхностные слои, обеспечивающие надежную защиту имплантата от коррозии и износа, а также придающие ему необходимые механические свойства: прочность, модуль упругости, близкий к значениям для натуральной кости, стойкость к циклическим нагрузкам. Существуют покрытия, содержащие оксиды, нитриды, алмазоподобные и полимерные материалы.

Для улучшения антикоррозионных свойств и износостойкости покрытий на титановых имплантатах широко применяют термическое оксидирование. Данный процесс основан на термохимических реакциях, осуществляется в контролируемой атмосфере, содержащей кислород и азот, при температуре 600 °С. Термическое оксидирование улучшает твердость покрытий, однако ухудшает коррозионно-механическую прочность материала.

Метод ионного легирования позволяет улучшить коррозионную стойкость, биоактивность и износостойкость покрытий.

С той же целью наносят золь-гель методом покрытия, содержащие SiO_2 , TiO_2 , ZrO_2 , Al_2O_3 . Золь-гель метод предполагает химическое осаждение из

растворов. Он включает пять разных стадий, а именно гидролиз и поликонденсация, желеобразование, старение, высушивание, затвердевание и поликонденсация. Золь-гель процесс позволяет осуществить контроль за химическим составом и микроструктурой пленок с помощью простого оборудования с низкой стоимостью. Данным методом получают пленки с высокой степенью гомогенности.

Термическое распыление – это процесс, в котором расплавленные или полурасплавленные частицы направляются на поверхность субстрата. Благодаря высокой температуре, применяемой при нанесении покрытий, на поверхности имплантата можно получить слои, состоящие из корунда $\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$, обладающего высокой износостойкостью и антикоррозионными свойствами. Нитридные покрытия, состоящие из ZrN и TiN, формируемые на имплантатах данным способом, также обладают высокой коррозионной стойкостью и механической твердостью.

Наиболее технологичным и популярным современным методом модификации поверхности металлов и сплавов является метод плазменного электролитического оксидирования (ПЭО) [15]. Другое широко используемое название этого метода – микродуговое оксидирование (МДО). В процессе ПЭО происходит электрохимический синтез кальций-фосфатных биоактивных соединений на поверхности имплантата [16], причем гидроксиапатит иногда входит в состав электролита в качестве исходного компонента. Формируемые покрытия, благодаря своему составу, близкому к минеральному составу костной ткани, и наличию системы пор, перспективны для применения в имплантационной хирургии. Результаты проведенных в работе [17] исследований дают четкие представления о том, какими физико-химическими свойствами должны обладать разрабатываемые покрытия. Исследование количественных показателей остеогенеза кальций-фосфатных поверхностных ПЭО-слоев *in vivo* представляет практический интерес.

1.4. Формирование покрытий на поверхности никелида титана методом плазменного электролитического оксидирования

Никелид титана (Ti 46–52 ат. %, Ni 48–54 ат. %), как биоинертный материал, начал широко применяться в имплантационной хирургии в конце 80-х годов прошлого века в различных медицинских и инженерных устройствах, в частности для изготовления фиксаторов при лечении позвоночно-спинальных травм и дегенеративно-дистрофических заболеваний, имплантатов-скрепок, используемых при проведении кардиологических операций, стентов.

Никелид титана имеет две кристаллические модификации: аустенит и мартенсит. Обратимый фазовый переход из аустенита в мартенсит происходит при охлаждении до определенной температуры, зависящей от концентрации никеля в сплаве. Фазовый переход мартенсит-аустенит связан со значительными изменениями механических свойств материала. Перестройка кристаллической структуры при фазовом превращении может сопровождаться необычным функциональным поведением сплава, в частности восстановлением «аустенитной» формы при достижении температуры фазового перехода мартенсит→аустенит. Материал «вспоминает» ту геометрическую форму, в которой он находился последний раз, пребывая в аустенитной модификации. Эффекты суперэластичности и памяти формы [18-20] существенно отличают никелид титана от широко используемых в медицинской практике стали и сплавов титана, обеспечивая уникальную возможность создания принципиально новых медицинских устройств.

Присутствие никеля обеспечивает имплантатам высокую стабильность и прочность. Это, безусловно, является достоинством материала, так как изделия из никелида титана должны долгое время находиться в организме человека. Антикоррозионные свойства никелида титана в целом выше, чем у стали. Силы связи между атомами никеля и титана в интерметаллическом никелиде титана значительно выше, чем в титановом сплаве. Однако, как показали данные врачебной практики, даже незначительный выход ионов никеля из имплантата

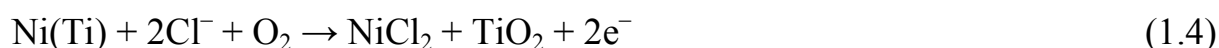
может нанести серьезный ущерб человеческому здоровью. Диффузия и накопление ионов никеля в мягких тканях организма приводят к негативным последствиям, в частности к аллергии, воспалению и развитию новообразований. Никель обнаруживают в крови, внутренних органах, костях через несколько месяцев после имплантации. Величина предельно допустимой концентрации никеля в теле человека является предметом постоянных дискуссий [21]. В биологических жидкостях организма титан пассивируется, однако атомы никеля вследствие их высокой электроотрицательности не могут быть легко окислены, а в кислой среде никель растворяется с образованием ионов Ni^{2+} [22].

Исследования показали, что выход ионов никеля в ткани организма человека зависит от состояния поверхности [23]. Путем создания на поверхности никелида титана пассивного слоя, устойчивого к конкретной агрессивной среде, можно добиться снижения выхода в раствор ионов Ni^{2+} . После пассивации никелид титана содержит на поверхности слой диоксида титана, близкий по составу оксидному слою на титановом сплаве. Обработка поверхности никелида титана необходима для усиления коррозионной устойчивости и биосовместимости материала. При этом процесс должен быть контролируемым, чтобы достигнуть оптимальных характеристик данных свойств.

При электрохимическом окислении или в процессе формирования поверхностных слоев коррозионная стойкость никелида титана обусловлена наличием на его поверхности диоксида титана. Улучшения коррозионных характеристик можно добиться путем модификации слоя TiO_2 или повышения его морфологической однородности. Термическим оксидированием никелида титана на поверхности получают смесь оксидов титана и никеля. Другими способами создания поверхностного пассивного слоя являются электрополирование, лазерное наплавление, нанесение тонких полимерных пленок, химическое осаждение, золь-гель методы [24-26]. Однако большинство существующих на сегодняшний день способов обработки поверхности никелида титана не обеспечивают надежной защиты от агрессивного действия ионов Cl^- . В работе [27] рассмотрено электрохимическое поведение никелида титана в различных

коррозионно-активных средах, содержащих Cl^- . Обнаружено, что пассивация поверхности происходит в растворах пяти различных электролитов, содержащих фосфаты, сульфаты, сульфонаты, молибдаты и силикаты. Согласно результатам данного исследования, концентрация Cl^- оказывает значительное активирующее влияние на коррозионное поведение никеля и титана в никелиде титана. По сравнению с никелем потери титана в результате коррозии незначительны, но резко возрастают с увеличением концентрации Cl^- .

По данным [27], в содержащей ионы хлора среде коррозионное поведение никелида титана обусловлено селективной коррозией никеля, включающей следующие химические реакции:



Как продукт коррозии хлорид никеля гидролизуется в растворе с образованием аква-иона, в то время как диоксид титана TiO_2 сохраняется на поверхности, поскольку обладает достаточно высокой химической стабильностью в хлоридсодержащих растворах. В эксперименте [27] механическая полировка, обеспечивающая гладкую поверхность, сама по себе снижала интенсивность коррозии. Однако оксидный слой, сформированный на полированном образце естественным окислением на воздухе, имел высокое содержание элементарного никеля. Электрохимическая обработка может обеспечить интенсивное окисление титана с минимальным содержанием никеля в оксидном слое. Значит, увеличение роста TiO_2 на поверхности никелида титана способствует усилению его антикоррозионных свойств.

Образцы никелида титана, оксидированные в молибдатсодержащих растворах, обладали лучшими защитными свойствами поверхностных слоев – однородностью, плотностью, меньшим количеством дефектов и пор. Образцы, пассивированные в других растворах, показывают большее количество дефектов, трещин и пор, что, безусловно, сказывается на коррозионных свойствах обрабатываемого материала [27].

Известно, что сплавы на основе никелида титана обладают лучшими механическими свойствами, чем нержавеющая сталь и сплавы кобальта. В работе [28] отмечено, что никелид титана имеет высокое сопротивление износу и может найти применение в качестве износостойкого материала. Добавление в поверхностные слои никелида титана до 5 % оксида иттрия приводит к улучшению механических свойств, устойчивости к коррозии и износу. По механическим свойствам никелид титана ближе, по сравнению со стальными и титановыми сплавами, к свойствам кортикальной кости человека, что обуславливает перспективу его применения для фиксации ортопедических протезов.

При изучении возможности плазменной обработки поверхности никелида титана с целью уменьшения выхода ионов никеля в организм человека [29] оказалось, что клеточные остеобласты погибают на поверхности имплантатов из данного сплава чаще, чем на поверхности нержавеющей стали. Вследствие содержания токсичных соединений никеля продукты коррозии никелида титана обладают цитотоксичностью. Показано, что поверхностная обработка NiTi и создание на его поверхности оксидного слоя улучшают антикоррозионные и механические свойства сплава. В частности, создание на поверхности никелида титана слоя нитрида титана TiN придает поверхности твердость и более высокую коррозионную стойкость. Также обработка поверхности кислородом, азотом и ацетиленом подавляет выход никеля из NiTi в ткани организма человека. Это объясняется более высокой степенью сродства титана к кислороду, азоту и углероду, чем у никеля. Термическая обработка способствует насыщению поверхности элементами, которые образуют более сильные химические связи. Нитрид и оксид никеля термодинамически менее стабильны, чем нитрид и оксид титана. Что же касается значений твердости и модуля упругости, обработанная поверхность никелида титана обладает более высоким значением этих величин по сравнению с необработанной. Химически инертные материалы, такие как оксиды, карбиды и нитриды, могут эффективно снижать разрушающее действие коррозионного агента.

Защитные слои на поверхность имплантатов из никелида титана наносят различными способами. В работе [30] для улучшения поверхности ортопедических имплантатов формировали диоксид титана посредством двух низкотемпературных процессов. Вначале на поверхность наносили пероксигидрат титана посредством катодного синтеза и затем его трансформировали в анатаз путем гидротермальной обработки паром.

Пленка диоксида титана защищает поверхность имплантата и предотвращает выход в раствор ионов никеля. Оксидирование на воздухе при 400–500 °С формирует гладкую защитную, свободную от соединений никеля оксидную пленку. Выше 600 °С формируется более грубый по качеству слой [31].

С целью снижения выхода ионов никеля в кровь в [31, 32] были предприняты попытки получения покрытий на никелиде титана методом ионной имплантации. Применение этого метода было направлено в первую очередь на снижение концентрации никеля в поверхностном слое и увеличение концентрации формирующегося диоксида титана. Чтобы добиться уменьшения содержания никеля в суперэластичном материале, сплав обрабатывали в кислороде или гелии. Это приводит к формированию обедненного никелем поверхностного слоя диоксида титана с нанопористой структурой. Содержание титана в поверхностном слое увеличивается, в то время как никель остается в более глубоких слоях. Обработанный таким образом никелид титана, как показали исследования, адсорбирует меньшее количество фибриногена на своей поверхности, что снижает риск тромбообразования и является важным для применения кардиоваскулярных стентов, используемых в хирургии. Никелид титана склонен к сегрегации титана на свободной поверхности. После термического воздействия в вакууме и в воздушной среде доля атомов титана в поверхностном слое достигает 98 % от суммарного содержания никеля в титане. На поверхности образуется преимущественно диоксид титана.

С точки зрения биомеханики функциональные материалы для имплантации в организм по своим свойствам должны быть подобны тканям, обладать эластичностью, иметь близкую к костной ткани диаграмму «напряжение–

деформация» и присущую им величину гистерезиса на диаграмме «нагрузка–разгрузка». Среди существующих материалов только сплавы с памятью формы проявляют в изотермических условиях подобные свойства. Используемая в медицине биокерамика такими свойствами не обладает, хотя высокая механическая прочность выгодно отличает ее от других биоматериалов. Серьезным недостатком биокерамики, особенно пористой, является ее хрупкость. Высокая хрупкость фарфора обусловлена тем, что на границах различных зерен возникают контактные напряжения, значительно превосходящие уровень приложенных напряжений. В работе [33] предложен класс биоматериалов «биокерамика – никелид титана» для медицины. В таких композитах никелид титана обладает сверхэластичностью, а другая составляющая (фарфор) сохраняет свойства биокерамики. Изменение нагрузки или температуры вызывает в никелиде титана мартенситное превращение, что приводит к реактивной релаксации напряжений в матрице при нагружении композиционного материала, позволяя твердой составляющей нести приложенную нагрузку.

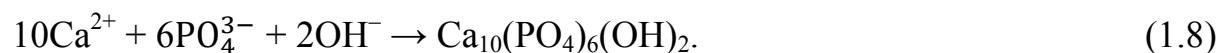
Электрохимическим методам обработки поверхности никелида титана с целью формирования кальций-фосфатных соединений в настоящее время уделяется особое внимание. В работе [34] образцы из никелида титана анодировали в доискровом режиме при постоянном напряжении в растворе, содержащем ионы Ca^{2+} и PO_4^{3-} . Гидроксиапатит, по мнению авторов, образуется преимущественно на образцах, имеющих анодный диоксид титана в качестве подслоя. Эти покрытия обладают антикоррозионными свойствами и биоактивностью, однако никель не является вентильным металлом, и при обработке никелида титана электрохимическим путем формируются в основном тонкие пленки. В этой связи наиболее предпочтителен метод анодно-катодного оксидирования и затем гидротермальной обработки поверхности. В качестве электролита в [34] применяли раствор, содержащий ацетат кальция $\text{Ca}(\text{CH}_3\text{COO})^{2-}$ и β -глицерофосфат натрия. Покрытия на никелиде титана в данном электролите формировали при напряжении 50 В в течение 30 мин при температуре не более 50 °С, так как выше этой температуры наблюдалось выпадение осадка. Далее

применяли гидротермальную обработку образцов при 180 °С в течение 24 ч. В составе анодно обработанных образцов был обнаружен гидроксиапатит, гидротермальная обработка способствовала образованию из аморфной фазы кристаллов гидроксиапатита с отношением Ca/P = 1,6.

В [35] исследована возможность нанесения композитных покрытий, содержащих диоксид титана, на поверхность никелида титана методом электрохимического осаждения. Катодом служил образец никелида титана, анодом – пластина из графита. В электролит добавляли ионы Ca^{2+} , H_2PO_4^- , NO_3^- и H_2O_2 (нитрат-ион для увеличения ионной силы раствора, пероксид водорода – для подавления выделения водорода и увеличения плотности покрытий), а также диоксид титана TiO_2 и проводили осаждение в гальваностатическом режиме в течение 40 мин. При этом на поверхности титана в катодном режиме осуществлялись следующие химические реакции:



В результате данных реакций происходит образование OH^- -анионов, кроме того, увеличивается рН электролита > 6 при прохождении катодного тока. Высокая концентрация гидроксид-ионов может способствовать реакции образования гидроксиапатита:



На катоде происходит медленный рост кристаллов гидроксиапатита, которые обволакиваются частицами TiO_2 . Таким образом, происходит образование покрытия, состоящего из кристаллов гидроксиапатита. Присутствие диоксида титана улучшает адгезию покрытия с подложкой и усиливает его антикоррозионные свойства в SBF(simulated body fluid)-растворе.

Исследован также процесс формирования на никелиде титана покрытия, состоящего из оксида алюминия Al_2O_3 , методом микродугового оксидирования (МДО) [36]. В качестве электролита использовали раствор алюмината натрия. Данные рентгенофазового анализа показали присутствие в составе покрытия

только оксида алюминия. Покрытие было пористым и в то же время обладало высокими антикоррозионными свойствами и хорошей адгезией к подложке [36]. Тем же методом в [37] формировали покрытия на никелиде титана в растворе, содержащем алюминат и гипофосфит натрия. Оксидирование проводили при постоянном анодном напряжении 400 В. В составе покрытия был обнаружен только оксид алюминия Al_2O_3 в модификации α и γ , причем содержание α -фазы повышалось с увеличением времени формирования покрытия.

Были попытки синтезировать данным методом покрытия на никелиде титана с использованием различных режимов оксидирования [38-40]. В работе [38] в гальваностатическом режиме на поверхности никелида титана в электролите, содержащем ортофосфорную кислоту H_3PO_4 , получали диоксид титана с шероховатой пористой структурой, обладающий высокой адгезией к подложке. Авторы отмечают, что процесс микродугового оксидирования никелида титана в ортофосфорной кислоте отличается от аналогичного процесса на вентильных металлах и от оксидирования данного сплава в других электролитах. В частности, требуется больше времени для формирования однородной барьерной пленки и начала искрового режима по сравнению с вентильными металлами. Показано [38], что покрытие на никелиде титана, формируемое в ортофосфорной кислоте, рентгеноаморфно, но путем гидротермальной обработки может быть переведено в анатаз. Оно проявляет более высокие по сравнению с никелидом титана антикоррозионные свойства и имеет удовлетворительную адгезию к подложке. При увеличении напряжения формирования покрытия до 400 В в знакопеременном режиме МДО в электролите, содержащем алюминат и гипофосфит натрия, в [39, 40] на поверхности никелида титана удалось получить покрытия, состоящие из α -, γ - Al_2O_3 , обладающие повышенными механическими свойствами, в частности стойкостью к износу. По-видимому, повышение износостойкости поверхностных слоев обеспечивается за счет присутствия в их составе α - Al_2O_3 .

Для защиты имплантата от коррозионно-активной биологической среды и для лучшей адаптации костных тканей к инородному телу оптимальным

вариантом является создание гетерооксидных композиционных биоинертных (в случае присутствия в них полимера) или биоактивных (в случае присутствия в них гидроксиапатита, фосфатов, антибиотиков и т. д.) слоев на поверхности титансодержащих материалов с использованием метода плазменного электролитического оксидирования [41]. Как показали результаты экспериментов, этим методом удастся получить защитные слои на поверхности материала, слабо поддающегося каким-либо другим электрохимическим способам обработки [42].

При обработке материала методом ПЭО, основанным на анодной или переменноточковой поляризации обрабатываемого материала при высоких напряжениях, что вызывает протекание плазменных микрозарядов на поверхности электрода. В результате местного высокоэнергетического воздействия на поверхности изделий формируются слои, включающие в свой состав как элементы матрицы (оксидируемого металла), так и элементы электролита [42, 43]. Свойства таких слоев отличаются от свойств обычных анодных оксидных пленок. Последующей обработкой поверхностной структуры (заполнением пор биоактивными и/или биоинертными композитами) можно сформировать композиционное покрытие, имеющее перспективу практического использования в имплантационной хирургии. В литературе в качестве эффективных методов создания покрытий предложены также электрополировка, кипячение в воде или оксидирование на воздухе при высокой температуре [44, 45].

1.5. Понятие биологической совместимости имплантационных материалов

Любой имплантированный материал не является полностью инертным по отношению к организму. В зависимости от реакции ткани на имплантат можно выделить 3 категории материалов, используемых на практике:

- токсичные (убивают окружающие ткани);
- инертные (вокруг таких имплантатов в организме образуется волокнистая ткань);

- биоактивные (возникает прилегающая межповерхностная связь материала и ткани, инкапсуляция минимальная);

Биосовместимые материалы – это материалы, имеющие небиологическое происхождение и применяемые в медицине для достижения взаимодействия с биологической системой. Они обладают способностью функционировать при соответствующей реакции организма хозяина в конкретном случае применения, не вызывая воспаления или некроза окружающих тканей.

Согласно концепции, принятой в Европейском обществе биоматериалов (1987), биоактивным является материал, который индуцирует специальную биологическую активность. Биоактивность характеризует собой комплексную характеристику совместимых с организмом материалов, учитывающую помимо биологических процессов роста и дифференциации клеток также скорость растворения материала в слабокислой среде, создаваемой определенными типами клеток; скорость осаждения гидроксиапатита из межтканевой жидкости организма на поверхности материала.

Биосовместимые материалы не изменяют направленность химических реакций, не угнетают морфогенетические функции ткани, обеспечиваемые клетками определенного типа. Биосовместимость – это сложное избирательное свойство организма, в котором опосредована возможность сосуществования биоматериала и биосистемы с сохранением всех функций ткани и ее способности к регенерации [46]. По мере того как имплантат внедряется в организм, начинается процесс заживления, во время которого протекает большое количество химических и биологических реакций. При этом происходит формирование на поверхности имплантата новых костных клеток, рост клеток кости и их дифференциация, приводящая к остеоинтеграции. После завершения этой последовательности имплантат адаптируется к организму, в который внедряется. Также возможны:

- процессы отторжения имплантата, воспалительные реакции;
- микродвижения имплантата, которые приводят к образованию фиброзной ткани, препятствующей остеоинтеграции.

Процессы адаптации имплантата зависят от свойств поверхности, таких как химический состав, ее морфология, шероховатость и, главным образом, поверхностная энергия. Однако во многом влияние поверхности имплантата на дифференциацию клеток костной ткани и их кальцификацию неясно. В ортопедии и травматологии успех или неудача применения имплантата связаны с процессами интеграции имплантата в кость. Чем выше степень остеоинтеграции, тем выше механическая стабильность и прочность соединения имплантат–кость [47]. Было установлено, что шероховатость поверхности имплантата влияет на пролиферацию клеток и их морфологию [48]. Большое влияние оказывает изменение рельефа поверхности. Например, рифление поверхности имплантата способствует лучшей адгезии клеток. Поскольку в настоящее время предлагается множество различных материалов для имплантации, понимание возможной реакции ткани позволяет специалисту по биоматериалам подобрать тот из них, который будет оптимально функционировать в данном конкретном случае.

Биосовместим с костной тканью такой материал, который в достаточной степени инертен относительно остеоиндукции и активен относительно остеоиндукции. Объяснить это положение можно следующим образом. Остеоиндуктивными свойствами обладают только специфические белки-остеоиндукторы. Поэтому подобные свойства присущи только биологическим материалам и препаратам, содержащим эти белки и специфические факторы роста. Небиологические материалы не могут вызвать экспрессию генов, отвечающих за митоз и дифференциацию остеогенных клеток в остеобласты, и, следовательно, любая активность этих материалов по отношению к геному стволовых мезенхимальных клеток, скорее всего, будет оказывать неадекватное или негативное воздействие на процесс остеоиндукции.

Исходя из вышесказанного, материал имплантата, с одной стороны, не должен воздействовать на геном клеток организма, ингибировать белки-остеоиндукторы, угнетать митоз остеогенных клеток, а в дальнейшем деятельность остеобластов и остеоцитов. С другой стороны, поверхность материала должна обеспечивать адсорбцию белков и адгезию клеток

органического и минерального компонентов костного матрикса, а также его физико-химическую связь с поверхностью имплантата.

С точки зрения активности по отношению к остеокондукции и взаимодействию с костным матриксом авторы работ [49, 50] разделили биосовместимые материалы на биоактивные, биоинертные и биотолерантные. Биоматериалы не должны оказывать вредного воздействия на ткани и жидкости человеческого организма, например, не вызывать разрушения костной ткани, хрящей, сухожилий, должны быть совместимы с кровью, не разрушать клетки крови, белки и ферменты и не вызывать тромбозов. Материалы не должны быть канцерогенными или мутагенными, не вызывать пороков развития и не изменять свои свойства или деформироваться при стерилизации. В свою очередь окружающая среда не должна вызывать коррозии или растворения биоматериалов, что может являться причиной потери механических свойств и разрушения имплантата.

При помещении имплантата в организм человека имеют место как взаимодействие имплантата с окружающей средой, так и обратное влияние окружающей среды на организм. Ткани, которые окружают имплантат, начинают воспаляться. Увеличивается проницаемость капилляров, что позволяет жидкости вытекать в окружающие ткани, вызывая отеки и опухоли. Изменение потока крови со стороны имплантата может быть напрямую связано с воспалительным процессом. В месте воспаления изменяется клеточный состав крови, появляется большое количество лейкоцитов, которые активируют макрофаги, вызывающие разрушение тканей.

Минерализация и связь с костной тканью – это важнейшие процессы для повышения биоактивности при лечении кости и фиксации имплантата. В работе [51] исследовали свойства поверхности оксидированных имплантатов в аспекте их способности к остеоинтеграции. Предложено два механизма остеоинтеграции: прораствание костного вещества в поры на оксидной поверхности и биохимическая природа связи. Авторы [51], рассматривая влияние химической природы поверхности на костную ткань, проверяли достоверность теории

биохимической связи в приложении к оксидированным биоактивным имплантатам кости. С использованием метода МДО были приготовлены две группы оксидированных имплантатов, которые были внедрены в костную ткань подопытных кроликов. Исследовались два типа покрытий: титанат магния $MgTiO_3$ и стехиометрический диоксид титана TiO_2 . Показано, что покрытия, состоящие из диоксида титана с внедренными ионами магния, обладали большей шероховатостью поверхности, что обеспечивает более успешную остеоинтеграцию по сравнению с покрытиями, состоящими из стехиометрического диоксида титана.

Оксидирование имплантатов с использованием электрохимических методов позволяет варьировать такие свойства поверхности, как толщина оксидного слоя, его химический состав, кристаллическая структура, пористость и размеры пор, плотность и шероховатость. Изменяя свойства оксидного слоя, можно значительно усилить остеоинтеграцию имплантатов. В этой связи представляет интерес вопрос о способах взаимодействия биоактивных имплантатов к кости. Однако чрезвычайно сложно доказать существование биохимической связи *in vivo* вследствие сложных процессов, происходящих в костной ткани [51].

Исследования биохимической связи кости с имплантатом проводили на биостеклах, стеклянной керамике, гидроксиапатите и других кальций-фосфатных соединениях. Была рассмотрена роль pH на границе раздела кость / имплантат. Имплантат может сохранять все другие характеристики поверхности, но различные химические особенности имеют контролируемый отклик и зависят от химических реакций, которые обусловлены химией поверхности. Биоактивные материалы, содержащие кальций-фосфатные соединения, в том числе и гидроксиапатит, индуцируют биологическую активность *in vitro* и *in vivo*. Фосфат кальция является наиболее важной составляющей кости человека. Гидроксиапатит имеет прямую адгезию с костью, мягкими тканями, мускулами, без создания промежуточного слоя модифицированной ткани.

Кроме гидроксиапатита высокую биоактивность проявляют биоактивные стекла и биокерамика, к которым относятся соединения типа $CaO-SiO_2$. Данные

соединения частично растворяются в жидкостях тела человека, высвобождая ионы Ca^{2+} и имея на поверхности Si-OH-группы. Эти группы являются предпочтительными для зародышеобразования и роста апатита в жидкостной среде тела человека, при насыщении они образуют гидроксиапатит и таким образом обуславливают образование поверхностного слоя, который способен формировать костную ткань. Кремний стимулирует межклеточные реакции и далее способствует прохождению реакций, способствуя образованию костной ткани [52, 53].

Покрытия на основе TiO_2 и SiO_2 также обладают биоактивностью. Однако их биоактивность зависит от технологии нанесения покрытий и параметров процесса. Структура кристаллов и наличие на поверхности OH-групп изменяется в зависимости от структуры оксида титана (рутил, анатаз). Соединение гидроксиапатита и стеклокерамики обеспечивает высокую биоактивность. Однако недостатком таких покрытий является их низкая механическая прочность и недостаточная адгезия к кости, кроме того, они не обеспечивают достаточной пролиферации клеток [9].

Полимерные покрытия обладают эластичностью и совместимостью по отношению к неорганическим компонентам костной ткани. В качестве биоактивных полимерных покрытий применяли коллаген, желатин, фиброин шелка, полиглюкозиды. Кроме упомянутых выше методов биоактивность и остеоинтеграция поверхности на металлических имплантатах могут быть достигнуты вследствие внедрения биологических молекул, таких как экстраклеточные матрицы, факторы адгезии, факторы роста и дифференциации. Адсорбция биомолекулы на поверхности является, по мнению некоторых авторов [54], ключевым процессом для адгезии клеток и роста биоматериала, играя значительную роль в процессе заживления кости. Поэтому иммобилизация факторами роста поверхности имплантатов необходима для ускорения процессов роста клеток, включая их пролиферацию и дифференциацию.

Такие факторы, как фибропектин, различные ламинины, искусственные белки со специфической клеточной последовательностью, улучшающие адгезию,

широко исследованы. Продолжаются исследования факторов роста клеточных структур, костно-морфогенетических факторов, остеоиндуктивных функций белков. Однако вызывает некоторые сомнения иммобилизационная биоактивность молекул на имплантатах. Например, нежелателен эффект дисбаланса факторов роста, он имеет несколько побочных явлений. Высокие локальные концентрации ингредиентов могут вызывать воспалительные процессы. Поэтому необходима предварительная подготовка поверхности для контролируемого доступа к факторам роста. В основном биоактивные молекулы являются мобилизованными к поверхности металла-имплантата в результате адсорбции посредством ковалентных связей [55].

Кроме химической обработки эффективной является плазменная модификация поверхности. Это позволяет вводить в состав поверхности такие функциональные группы, как карбоксильные, гидроксильные, амино-группы. Поверхность имплантата, содержащая данные группы, совместима с тканями организма, коэнзимами и белками. Обычно функциональные группы могут быть внедрены в поверхность биоматериала двумя путями: плазменной обработкой соответствующими газами (O_2 , N_2 , NH_3 , CF_4) и плазменной полимеризацией мономеров, содержащих искомые группы. Например, амино-группы могут быть фиксированы на поверхности как плазменной обработкой аммиаком, так и плазменной полимеризацией алкил-аминов.

Серьезной проблемой в области биомедицины является бактериальная инфекция медицинских имплантатов. Инфекция не только вызывает сильную боль, но может привести к необходимости удаления имплантата и повторной операции, что увеличивает стоимость имплантации. Бактериальные инфекции возникают в результате адгезии бактерий на поверхности имплантата и образования биопленки. Первой стадией и главной причиной инфекции является взаимодействие бактерий с имплантатом посредством слоя органических молекул на поверхности. Решением проблемы может быть разработка имплантатов с антибактериальными покрытиями, в частности применение биоинертных композиционных слоев на имплантатах из титана и никелида титана [56]. В

данном случае поры в составе покрытия, запечатанные ультрадисперсным политетрафторэтиленом (УПТФЭ, [57]), могут служить контейнерами для наполнения их антибиотиками и другими лекарственными препаратами. Лекарство может постепенно выделяться из пор и таким образом обеспечивать антибактериальные свойства, тем самым предотвращая процесс инфицирования поверхности имплантата и окружающих тканей организма.

Неорганические антибактериальные агенты включают соединения серебра, оксид цинка ZnO и углеродные пленки. Ионы серебра Ag^+ в небольших концентрациях токсичны для бактерий и нетоксичны для человека. Они блокируют деятельность клеточных мембран бактерий, замещая жизненно важные для бактерий ионы Zn^{2+} . Антибактериальными свойствами обладает также диоксид титана TiO_2 .

Было предпринято много попыток разработать способы придания имплантатам антибактериальных функций [58-60]. Под действием УФ облучения диоксид титана может обладать фотокаталитическим эффектом и разрушать различные компоненты бактерий вследствие формирования каталитически активных частиц, содержащих кислород: O_2^- , OH^- , H_2O_2 . Эти вещества могут убивать бактерии, вызывая разрушение клеточных мембран. Имплантация ионов фтора F^- в TiO_2 -покрытия также увеличивает их антибактериальные свойства [61].

1.6. Роль фосфатов кальция в процессах остеосинтеза

Костная ткань по составу представляет собой композиционный материал на основе белка коллагена и ультрадисперсного карбонатсодержащего гидроксиапатита с многоуровневой структурной организацией компонентов. По химическому составу соединения на основе гидроксиапатита близки к составу кости, что позволяет широко применять их в медицине. На практике было установлено, что крупные кристаллы гидроксиапатита медленно превращаются в костную ткань по мере резорбции (растворения в организме) в отличие от высокодисперсных аморфного и нанокристаллических фосфатов кальция.

Материалы на основе гидроксиапатита создают плотную и пористую керамику. В качестве заместителей гидроксильных групп в гидроксиапатите могут выступать ионы CO_3^{2-} , Cl^- , F^- . Его применяют в качестве покрытий для медицинских имплантатов на титане и стали для изменения свойств поверхности. Таким образом, организм принимает родственный кости материал.

Важным свойством гидроксиапатита является его растворимость в водной среде. Это позволяет предсказать поведение гидроксиапатита в организме. Если растворимость гидроксиапатита меньше растворимости минеральной составляющей кости, он деградирует исключительно медленно. Осажденный из растворов гидроксиапатит имеет крайне низкую скорость растворения, в то же время обладает развитой поверхностью и хорошей биосовместимостью. Он наиболее сходен с биологическим гидроксиапатитом кости. Отличие состоит в том, что он не содержит примесей в структуре, например ионов магния.

Вместе с тем в современной имплантологии задача разработки способов формирования биопокрытий, улучшающих характеристики металлической основы имплантата, является важной и актуальной. Создание на поверхности имплантата биоактивных слоев, обладающих высокой совместимостью с костной тканью, целесообразно для лучшей адаптации организма к имплантату. Такие покрытия при введении в живой организм, не оказывая отрицательного (токсического) воздействия на его деятельность, должны усиливать остеоинтеграцию с костной тканью, стимулировать процессы ее регенерации. Наибольший интерес представляют биоактивные кальций-фосфатные слои, содержащие в своем составе «родные» для костных тканей соединения фосфатов кальция. С целью повышения адгезионной прочности покрытий к титановой основе в ряде случаев перед их нанесением необходимо проводить пескоструйную обработку и химическое травление. Это позволяет сформировать многоуровневую поверхность с высокопористой структурой, которая обеспечивает повышение адгезионной прочности кальций-фосфатного покрытия к титановой основе до 30 % [62]. На сегодняшний день существует ряд методов

формирования кальций-фосфатных покрытий на поверхности металлов [16, 63, 64].

Несмотря на целый ряд достоинств разработанных и применяемых методов, отметим, что для получения покрытия с их помощью в качестве исходного реагента требуется гидроксиапатит, себестоимость получения которого достаточно высока. Следовательно, для прогресса в этом направлении необходимо разработать новые, экономически целесообразные способы синтеза и нанесения гидроксиапатита на поверхность титановых имплантатов. Такая модификация поверхности позволит обеспечить лучшую биосовместимость имплантата с костной тканью и уменьшить побочные негативные явления, имеющие место при использовании металлического имплантата без покрытия.

Гидроксиапатит в настоящее время уже применяют в травматологии, стоматологии, ортопедии и косметологии как биосовместимый, биоактивный материал, используемый для регенерации костной ткани и идентичный ее минеральной составляющей по химическому составу. Физические и химические свойства гидроксиапатита обеспечивают идеальную биосовместимость, активно стимулируя остеогенез и восстановление костной ткани. Вместе с тем установлено, что не только химический состав, но и морфология кристаллов гидроксиапатита являются важной характеристикой, определяющей отклик организма на чужеродный материал [8, 65].

Гидроксиапатит среди фосфатов кальция обладает наибольшей биорезистивностью, т. е. сопротивлением растворению в жидкой среде организма человека. Часто методика лечения требует использования материалов, обладающих резорбируемостью (постепенным полным растворением имплантата в организме по мере нарастания новой кости). Наиболее известным материалом с резорбируемой фазой является трикальцийфосфат. В обзоре [66] обсуждены актуальные проблемы исследований в области биоматериалов, технологии получения фосфатов кальция для применения в качестве имплантатов в медицине. Рассматриваются возможности получения новых биоматериалов на основе нанокристаллической керамики и пористых матриц из резорбируемых

остеоиндуктивных фосфатов кальция. Исследования по данной теме предваряют развитие нового метода в медицине – инженерии костной ткани. Это новые технологии, нацеленные на регенерацию костной ткани *in situ*. Для их реализации необходимы материалы, которые принимают участие в процессах ремоделирования костной ткани, т. е. ее биodeградации, посредством взаимодействия с клетками (остеокластами) и минерализации, осаждения кальций-фосфатных соединений на коллагеновый матрикс. Композиционные материалы наиболее приемлемы для клеточных структур, поскольку ими наиболее целесообразно пользоваться при проведении хирургических операций. Соотношение кальция и фосфора в минеральной фазе костной ткани меньше стехиометрического для гидроксиапатита (1,67), т. е. биологический апатит всегда дефицитен по кальцию.

Гидроксиапатит идеален в качестве биосовместимого и биоактивного материала, однако его существенным недостатком является хрупкость. Поэтому наилучшим технологическим способом является нанесение покрытий, состоящих из гидроксиапатита, на металлическую или керамическую матрицу, обладающую необходимой прочностью. Долговременная устойчивость имплантата к резорбции зависит не только от состава покрытия, но и от степени его кристалличности. Введение атомов фтора в состав гидроксиапатита позволяет получить фторгидроксиапатит с более низкой растворимостью в водных солевых растворах.

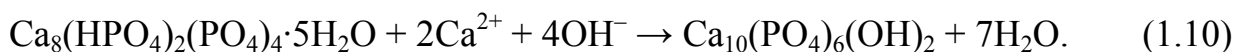
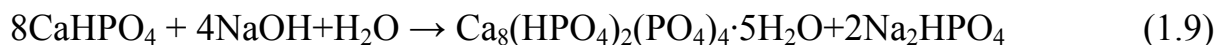
Для нанесения покрытий из гидроксиапатита существуют различные методы: магнетронное напыление, электронно-лучевое испарение, химическое осаждение из паровой фазы, электрофорез, термическое оксидирование, золь-гель технология, биомиметические методы. Наиболее часто применяемым коммерческим методом является плазменное напыление гидроксиапатита.

В работе [17] рассматривается большой объем исследований по современным биоматериалам, содержащим различные сочетания кальций-фосфатных соединений и гидроксиапатит различной структуры. Наиболее приемлема для имплантатов керамика на основе нанокристаллического гидроксиапатита, которая обладает высокими механическими свойствами и лучшей адаптацией к тканям

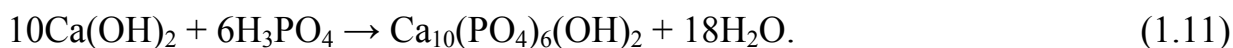
организма. Нанокристаллический гидроксиапатит лучше адсорбирует белки, необходимые для жизнедеятельности клеток. Он обладает избирательностью для клеток, образующих фиброзную и костную ткани. Нанокристаллический гидроксиапатит осаждают из водного раствора. Процесс образования костной ткани в организме человека включает минерализацию коллагена в результате осаждения кристаллов апатита из внеклеточной жидкости. В настоящее время с целью исследования условий формирования матричных комплексов гидроксиапатита на основе природных биополимеров рассматриваются способы синтеза кристаллов гидроксиапатита в таких средах, как желатин и хитозан. В этом случае ионы Ca^{2+} и PO_4^{3-} взаимодействуют с функциональными группами желатина (COOH-) и хитозана (N-H). В вариантах метода инженерии костной ткани используют мезенхимальные стволовые клетки, которые способны дифференцироваться в остеобласты. Создание матриц на основе хитозана и введение гидроксиапатита в их состав приводит к повышению адсорбции белков и ионов кальция и усилению дифференцировки мезинхимальных стволовых клеток [17].

Таким образом, успехи в химии фосфатов кальция стимулировали исследования в области биоматериалов, предназначенных для замещения костных дефектов и создания новых клеточных технологий регенерации поврежденной костной ткани. В статье [67] рассмотрены условия получения фосфатов кальция, в том числе гидроксиапатита, осаждением из растворов, золь-гель технологией, гидротермальным способом. Авторы [67, 68] отмечают, что крупнокристаллические частицы получаемого в результате твердофазных реакций гидроксиапатита нежелательны для применения в качестве биоматериала, так как их резорбция протекает крайне медленно. В обзоре рассматриваются химические аспекты получения и использования порошковых, керамических и цементных биоматериалов на основе фосфатов кальция и сравнение их физико-химических характеристик, полученных в различных условиях. Гидроксиапатит прекрасно совмещается с мускульной тканью, кожным покровом, и после операции он может срастаться с костью. Кроме гидроксиапатита важную роль играет

гидрофосфат дигидрат кальция, представленный химической формулой $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. Данное химическое соединение образуется в растворе при $\text{pH} = 3\text{--}4,5$ и при обработке щелочью переходит в гидроксиапатит. Ингибитором такого перехода являются ионы магния. Дикальциевый фосфат быстро растворяется (резорбируется) *in vivo*, и растущая костная ткань не успевает заполнять образующиеся полости, поэтому данные соединения не находят практического применения в чистом виде, являясь составляющими костных цементов. Единственным термодинамически устойчивым соединением в растворе при $\text{pH} > 4,2$ является гидроксиапатит. Считается, что гидрофосфат дигидрат кальция является прекурсором для получения в растворе гидроксиапатита, согласно ряду химических реакций, происходящих в щелочном растворе [69]:



Наиболее радикально изменяют скорость роста кристаллов гидроксиапатита ионы CO_3^{2-} , Mg^{2+} , F^- . Поэтому наиболее чистым методом синтеза гидроксиапатита можно считать реакцию нейтрализации:



Отмечено [69], что ионы фтора F^- легко замещают в растворах гидроксид-ионы. При этом формируется фторапатит. Ионы фтора способствуют осаждению крупных столбчатых кристаллов фторапатита с четкой гексагональной огранкой. Особое внимание привлекает кремнийсодержащий гидроксиапатит. Присутствие кремния на поверхности материала увеличивает его сращивание с костью. Введение силикат-ионов в состав гидроксиапатита осуществляется с помощью коллоидного диоксида кремния, тетраэтоксисилана и других соединений.

Для повышения биосовместимости с костной тканью иногда применяют гидроксиапатит переменного состава $(\text{Ca}_{10-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{OH})_{2-x})$, где $0 < x < 1$, разбавляя более растворимыми фосфатами кальция, например трехзамещенным ортофосфатом, или же изготавливают пористую гидроксиапатитную керамику [70]. К настоящему времени разработаны некоторые растворные методы синтеза гидроксиапатита, позволяющие получать высокодисперсные порошки, форма

частиц которых в зависимости от условий формирования варьирует в широких пределах [71]. Кроме того, создано несколько видов биокерамики для нанесения на поверхность имплантатов: корундовая инертная (Al_2O_3), поверхностно-активная (биостекла) и резорбируемая (трикальцийфосфат и гидроксиапатит) [72].

Свойства гидроксиапатит-кремниевой керамики обуславливают пристальное внимание к ней исследователей и медиков. Кремний, как было установлено недавно [73], играет важную роль в процессе минерализации коллагена. Физиологическая роль силикатов была подтверждена в экспериментах *in vivo*, которые более надежны для оценки применения имплантатов в теле человека. В молекуле гидроксиапатита происходит замещение катионов кальция на катионы K^+ , Na^+ , Mg^{2+} . В то же время ионы OH^- замещаются на анионы F^- и Cl^- . Внедрение таких анионов оказывает влияние на химические, физические и физиологические свойства и соответственно на биоминерализацию в костной ткани, а также на процессы резорбции. Исследованиями [74] была показана многогранная природа кальция в биологических процессах и его важная роль в нуклеообразовании апатита. Присутствие ионов фтора в составе гидроксиапатита влияет на его термостойкость. Кроме того, фтор подавляет развитие кариеса, стимулируя пролиферацию и дифференциацию клеток кости. Введение ионов Cl^- в состав гидроксиапатита стимулирует создание кислой среды на поверхности кости, что активирует остеобласты в процессе резорбции кости. Это приводит к снижению pH и растворению щелочных солей костного минерала, а также к переработке костной матрицы посредством кислотного гидролиза. При формировании кристаллов гидроксиапатита «мокрым способом» важную роль играют факторы синтеза: температура смеси, скорость добавления реагентов, размеры частиц. В работе [75] показана чувствительность формы, размеров и характера поверхности частиц гидроксиапатита к температуре реакции и скорости добавления реагентов. Ключевым параметром при этом явилось значение pH. При температуре ниже $60\text{ }^\circ\text{C}$ образуются монокристаллы гидроксиапатита, выше – поликристаллы. Синтезированный по методу авторов [75] гидроксиапатит применяется как исходный продукт в качестве сырья для различных формообразующих процессов.

Одним из критериев приготовления чистой суспензии является контроль состава гидроксиапатита. Суспензия, являющаяся водной коллоидной системой, синтезируется по химической реакции (1.11), процесс создания гидроксиапатита при этом прост в выполнении, однако получение частиц необходимой дисперсности зависит от условий проведения процесса и pH раствора, который регулируют при помощи ортофосфорной кислоты.

В работе [76] изучали влияние избытка ионов кальция в системе на состав образующихся композитов гидроксиапатита с биополимерами, имеющими отношение к формированию нативной костной ткани, – хондроитинсульфатом калия и желатином, продуктом гидролиза коллагена. Все фосфаты кальция в соответствующих условиях организма человека превращаются в наиболее устойчивый гидроксиапатит, имеющий наименьшее произведение растворимости. Присутствие аморфного фосфата кальция и других фаз существенно улучшает биосовместимость. В работе [77] отмечено, что за последние годы в литературе появились экспериментальные данные, демонстрирующие остеогенные свойства синтетического гидроксиапатита и биосовместимых материалов на его основе. В ряде экспериментальных моделей на животных показано, что введение гидроксиапатита в мышечную ткань влияет на остеоиндуктивные процессы. Показано, что введение гидроксиапатитсодержащих препаратов может явиться одним из способов управления физиологической регенерацией соединительной ткани. Гидроксиапатит не имеет тенденции к дестабилизации в организме. Он способствует агрегации и привлечению веществ из среды организма. Известно, что при одном и том же стехиометрическом составе могут быть получены образцы гидроксиапатита, которые различаются биологической устойчивостью и склонностью к биодеградации [78]. Образцы нестехиометрического гидроксиапатита являются биологически стабильной фазой в живом организме. Ионнообменное равновесие между живой тканью и гидроксиапатитом в организме является важным фактором для протекания различных биохимических процессов с участием ионов K^+ , Mg^{2+} , Fe^{3+} , Zn^{2+} и т. д. При синтезе гидроксиапатита из водных растворов вначале образуется аморфный продукт, который со временем

переходит в кристаллический $\text{Ca}_8(\text{HPO}_4)_2(\text{PO}_4)_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ и (или) $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. При этом показано, что с повышением величины рН уменьшается продолжительность синтеза гидроксиапатита и образуется более стабильная соль [69].

В [79] разработан способ синтеза гидроксиапатита в присутствии силикагеля. Конечный продукт содержит кремниевую кислоту до 1 % к общей массе гидроксиапатита. Это способствует увеличению адсорбции белков, что вызывает практический интерес применения гидроксиапатита как материала для нанесения покрытий на имплантаты. Аналогично предыдущему исследованию, в работе [80] предложен способ получения биоактивного гидроксиапатита на предварительно обработанной гидрофильной поверхности кремния из супернасыщенного раствора, содержащего ионы кальция и фосфат-ионы PO_4^{3-} , при значении рН = 7,4.

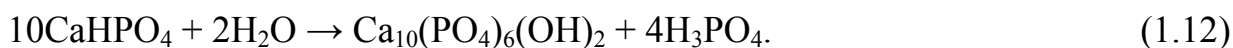
Для улучшения биосовместимости имплантата с костной тканью гидроксиапатит наносят на поверхность титановых имплантатов такими способами, как ионно-, электро-газоплазменное напыление, электрофорез, анодирование, а также выдержка изделия в суспензии порошка гидроксиапатита в течение определенного времени.

Например, для нанесения на имплантаты покрытия из β -трикальцийфосфата применяют электроплазменное напыление [81]. Методом высокочастотного магнетронного распыления наносят кальций-фосфатные покрытия, обладающие высокой механической прочностью [82]. В работе [63] методом химического осаждения готовили порошок нанокристаллического гидроксиапатита и затем электрофоретически осаждали его на сплаве титана Ti6Al4V. Порошки подвергали кальцинированию до осаждения с целью получения поверхности покрытия, свободной от трещин. Покрытие состояло из двух слоев, при этом внутренним был диоксид титана. Слой гидроксиапатита осаждали, используя различные напряжения для осаждения, чтобы прочно связать слой гидроксиапатита с подложкой. Слой диоксида титана также служил барьером для предотвращения разрушения гидроксиапатита ионами электролита.

Метод электрофореза в [83] применяли для формирования композиционного покрытия, содержащего гидроксиапатит, силикат кальция и хитозан. Применение хитозана способствует соосаждению частиц гидроксиапатита и силиката кальция и созданию композитного материала при комнатной температуре. При катодном осаждении образуются гидроксиапатит-хитозансодержащие слои. Методами потенциодинамической поляризации и электрохимической импедансной спектроскопии показано, что эти покрытия обеспечивают защиту от коррозии стали в растворе Рингера.

Технология электрофоретического осаждения гидроксиапатита в широком диапазоне толщин от 1 до 500 мкм рассмотрена в работе [84]. Технология включает нагревание металла с покрытием до температуры выше 1000 °С. При данной температуре металл реагирует со слоем гидроксиапатита, нанесенным электрофоретическим способом. Данный способ является быстрым и недорогим, с высокой степенью контроля и нанесением покрытий в широком диапазоне толщин.

Методы получения гидроксиапатита можно разделить на растворные, твердофазные и гидротермальные [85]. Однако существуют недостатки, связанные с длительностью протекания процесса, низкой растворимостью компонентов и трудностью контроля чистоты продуктов реакции и дисперсности частиц. Результаты экспериментальных исследований [86] показали, что гидроксиапатит, полученный твердофазным методом, проявляет свойства, близкие к свойствам натуральной кости, и обладает биоактивностью. Наиболее перспективен для получения кристаллов гидроксиапатита гидротермальный метод. Кристаллы гидроксиапатита образуются в области температур 200–700 °С при давлении от 100–200 МПа. Реакции гидролиза, сопровождающие гидротермальный процесс, приводят к образованию ортофосфорной кислоты и снижению pH:



При гидротермальном синтезе рост кристаллов гидроксиапатита происходит в основном в кислой среде. Однако ионы H^+ внедряются в кристаллическую

решетку гидроксиапатита, и образуется дефицитный по кальцию гидроксиапатит с соотношением $Ca/P < 1,67$. Обычно гидротермальную обработку проводят после плазменного напыления, во время которого на поверхности имплантата получают фосфаты кальция. Гидротермальная обработка таких покрытий приводит к образованию гидроксиапатита в составе поверхностного слоя. Вискеры гидроксиапатита в настоящее время являются одним из лучших биосовместимых неорганических материалов по сравнению с оксидами алюминия, циркония и карбидом кремния. Гидроксиапатит с развитой пористой поверхностью, получаемый в результате гидротермального синтеза, лучше биосовместим с костной тканью вследствие ее врастания в поры покрытия. Сочетание метода анодирования титанового имплантата и гидротермальной обработки приводит к образованию на поверхности устойчивого слоя гидроксиапатита [87].

В исследовании [65] сообщается, что сочетание гидроксиапатита с аминокислотами может вызывать активность клеток кости. Аминокислоты способны к ковалентному взаимодействию с гидроксид-ионами на поверхности титанового имплантата через реакции связей $Ti-OH$ с концевыми карбоксильными группами α -аминокислот, образуя гидрогель, подобно сетке, в которую помещен имплантат. Такая структура создает необходимые условия для биосовместимости имплантата и костной ткани. Другим интересным решением является электрохимический способ введения в состав раствора натриевой соли органического соединения для получения гидроксиапатита – этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЭДТА). Принцип действия этой добавки состоит в том, что дефицит гидроксиапатита по кальцию может восполняться ионами кальция, образующими комплекс с ЭДТА при его разрушении. При формировании гидроксиапатита в растворе содержатся ионы Ca^{2+} и PO_4^{3-} . Формирование гомогенного коллоидного раствора с медленной скоростью является важным моментом, а медленный выход ионов кальция из комплекса Ca^{2+} с ЭДТА в раствор, содержащий фосфат-ионы PO_4^{3-} , обеспечивает получение гидроксиапатита с высоким уровнем кристалличности [88].

Среди известных электрохимических способов нанесения покрытий на поверхность титановых имплантатов наибольшим преимуществом обладает метод плазменного электролитического оксидирования (ПЭО) [89, 90]. В процессе ПЭО происходит электрохимический синтез покрытий на поверхности металла, в состав которых входят как элементы оксидируемого металла, так и компоненты электролита. В работах коллектива авторов под руководством профессора Ю.П. Шаркеева [91-93] применяли наноструктурированный титан повышенной механической прочности, полученный по разработанной авторами технологии. В состав электролита входила ортофосфорная кислота (H_3PO_4), карбонат кальция ($CaCO_3$) и суспензия гидроксиапатита $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$. Способом ПЭО на поверхности титана формировали кальций-фосфатные соединения. Отношение Ca/P в них составляло 0,7.

1.7. Формирование кальций-фосфатных соединений *in vitro* в Simulated Body Fluids

В настоящее время многие исследователи ведут поиск новых материалов на основе природного сырья. Процессы, близкие к протекающим в естественных условиях, называются биомиметическими. Природные материалы широко применяются в области биомедицины, в частности для заменителей костной ткани. В этой связи важно понять, каким образом живые организмы продуцируют минеральные вещества и каким образом можно использовать эти знания в биомедицине. Однако следует принять во внимание, что эти процессы не всегда возможно воспроизвести или они могут привести к большим затратам. Традиционно выбор материала диктуется основными эксплуатационными требованиями (полимеры, керамика, металлы или композиты). Поверхность изменяют путем модифицирования различными химическими соединениями.

Постоянные процессы эволюции, происходящие в природе, приводят к изменению материалов и их приспособлению к условиям окружающей среды. Среди биогенных материалов около 50 % составляют кальцийсодержащие компоненты. Они широко представлены в виде карбоната кальция $CaCO_3$, а также

разнообразных фосфатов, из которых состоят зубная и костная ткани. Однако разнообразие тканей живых организмов в природе обусловлено специфической адсорбцией ионов кальция, имеющих положительный заряд, на отрицательно заряженных молекулах белка.

Интересно отметить, что в организме процесс биоминерализации контролируется. Минералы, образуемые в организме, изолированы в пространстве. Процесс адсорбции ионов является избирательным. Несмотря на то что трудно повторить процесс кальцинации, осуществляемый в природной костной ткани, понимание его природы может дать ключ к осуществлению аналогичных процессов в синтетических материалах. Следующим шагом являлось бы осуществление контроля осаждения минералов с использованием темплатных матриц белков для исследования структуры и свойств кристаллов. Это позволило бы усилить биоактивные свойства. Идеальным материалом для замещения кости и проведения биомиметического процесса являются кальций-фосфатные соединения, поскольку они идеально подходят для имитирования структуры и состава основного минерала кости – гидроксиапатита. В то же время гидроксиапатит сам по себе не обладает достаточной механической прочностью и устойчивостью к нагрузкам. Поэтому все еще популярны металлические имплантаты. Однако создание покрытий, содержащих гидроксиапатит на их поверхности, является подходящим решением проблемы.

Как отмечалось выше, минералы на основе фосфатов кальция могут осаждаться в физиологической среде организма при низких температурах из умеренно насыщенных минеральных растворов. К этому процессу в последнее время приковано внимание многих исследователей с целью его применения на практике. Было предложено несколько вариантов так называемого биомиметического формирования кальций-фосфатных покрытий на имплантатах, в частности нанесение кальций-фосфатных соединений на полимерные материалы, так как процесс можно проводить при низких температурах. Впервые кальций-фосфатное покрытие было получено на подложке биоактивного стекла, содержащего CaO-SiO_2 , биомиметическим способом, инициирующим нуклеацию

апатита, в растворе SBF, при ионной концентрации компонентов раствора, сравнимой с таковой для крови и плазмы при температуре тела человека [94]. Механизм процесса состоял в том, что силанольные группы адсорбировались на поверхности стекла, индуцируя формирование кальций-фосфатного слоя. При этом важную роль играют параметры процесса: концентрация компонентов раствора, его температура и pH. В работе [95] исследовано осаждение гидроксиапатита в SBF-растворе при значении $\text{pH} < 7,4$ и температуре $37\text{ }^\circ\text{C}$. Эксперименты по росту кристаллов показали, что имеет место осаждение кальций-фосфатных соединений и формируется гидроксиапатит. В решетку гидроксиапатита внедряются ионы CO_3^{2-} и Mg^{2+} из SBF-раствора. Промежуточным соединением при получении гидроксиапатита был гидрофосфат дигидрат кальция $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$.

Для прогноза биоактивности материалов необходимым условием является предварительная оценка их поведения в SBF-растворе. Однако систематическая оценка данного метода не была сделана. SBF-раствор, имитирующий состав биологической жидкости организма человека, используется для оценки биоактивности *in vitro*. Это существенно также для сокращения количества подопытных животных при проведении исследований.

Большинство имплантатов, замещающих дефекты костной ткани, капсулируются фиброзной тканью организма, что приводит к их изоляции от окружающей кости. Но для некоторых типов биокерамики, гидроксиапатита и биостекол капсулирования не наблюдается, зачастую данные виды соединений механически являются хрупкими. Было установлено, что только материал, подобный живой кости, может являться ее заместителем в организме. Значит, биоактивность материала *in vivo* может быть предсказана по способности формирования гидроксиапатита на его поверхности в условиях *in vitro* в SBF-растворе. Полученный таким образом гидроксиапатит был исследован различными физико-химическими методами. Было показано, что гидроксиапатит, сформированный в SBF-растворе, по своему составу подобен составу минеральной составляющей костной ткани. При этом он может связываться с

коллагеном, взаимодействовать с остеобластами и вызывать их дифференцирование и пролиферацию клеток костной ткани [96]. Таким образом, сформированный в SBF-растворе гидроксиапатит может связываться с гидроксиапатитом кости.

Ионный состав SBF-раствора на протяжении нескольких лет корректировался несколькими исследователями, чтобы быть максимально приближенным к составу крови и плазмы человека. В значительной степени это касалось изменения концентрации ионов SO_4^{2-} , CO_3^{2-} и Cl^- . Дело в том, что ионы Ca^{2+} образуют осадок с сульфат- и карбонат-ионами SBF-раствора, что может оказывать влияние на концентрацию кальция в гидроксиапатите.

Важно, что наличие на поверхности имплантата связей Si-OH, Ti-OH, Zr-OH, Nb-OH, Ta-OH может индуцировать образование гидроксиапатита в среде организма человека, в то же время группы Al-OH не являются эффективными. На основании проведенных исследований можно предположить, что тепловая обработка в растворе NaOH титановых или танталовых имплантатов, содержащих титанаты или танталаты в составе поверхностного слоя, приводит к образованию в его составе групп Ti-OH и Ta-OH, которые могут способствовать образованию гидроксиапатита при выдержке в SBF-растворе и тесно связываться с живой костью посредством данного слоя.

Отмечено, что термостабильность полученного в SBF-растворе гидроксиапатита достаточно высока. При нагревании на воздухе в течение 6 ч при температуре 900 °C порошок гидроксиапатита оставался стабильным [97]. Данные исследования дают информацию для применения идеальной поверхности, на которой можно провести осаждение кальций-фосфатных соединений.

Заряд и пространственное окружение групп играют очень важную роль, так как, например, не все структуры геля диоксида титана приводят к образованию групп Ti-OH, способных к формированию апатита. Было обнаружено, что наибольшее предпочтение к образованию зародышей гидроксиапатита в растворе SBF имеют группы $-\text{COOH}$ и следующая за ней $-\text{PO}_4\text{H}_2$. Меньшей способностью обладают $-\text{CONH}_2$ и $-\text{NH}_2$. Группа $-\text{CH}_3$ не обладает способностью к

образованию гидроксиапатита из SBF-раствора [97-99]. Таким образом, только первые две группы были заряжены отрицательно, чем можно объяснить их способность к образованию слоя кальций-фосфатных соединений. Однако к выбору поверхности и ее морфологии необходимо подходить индивидуально, с учетом изучения строения и химических свойств групп.

Развиваемые методологические принципы ставят целью снижение инкубационного периода образования гидроксиапатита; улучшение адгезии между покрытием и подложкой; формирование слоев Ca-P с различным отношением Ca/P. Технологии на основе силикатов демонстрируют создание весьма эффективных пористых каркасных структур с различной морфологией поверхности. Одним из наиболее выдающихся аспектов развиваемой биомиметической методологии является то, что она пригодна для получения покрытий, содержащих гидроксиапатит, на материалах сложной формы. В случае применения геля силиката натрия было изучено влияние ионной концентрации SBF-раствора и установлено, что при повышении концентрации ионов в растворе происходит незначительное увеличение кристалличности апатита, что оказывает положительное действие на адгезию клеток и их пролиферацию [100].

В настоящее время проводятся исследования по внедрению остеогенных биомолекул в некоторые биомиметические покрытия. Принимая во внимание медленную деградацию кальций-фосфатных покрытий, а также их высокую гидрофильность, они способны быть носителями для молекул полимеров. Таким образом, возможно развитие инженерии покрытий с использованием пространственных биорезорбируемых пористых 3D матриц. Развивается так называемый регенерационный подход, т. е. акцент делается на быструю биодеградацию материала и его замену формируемой костной тканью. На первое место выходят биологические и физико-химические свойства материалов, которые существенно зависят от способа их получения. Речь идет о направленном синтезе биоматериалов с заданной биологической активностью.

Жидкости тела человека насыщены такими ионами, как Ca^{2+} , PO_4^{3-} , CO_3^{2-} , которые образуют гидроксиапатит. Поэтому рост и растворимость

гидроксиапатита в организме человека оказывает важное влияние на процессы остеointеграции. Однако механизм образования биологического апатита в организме человека недостаточно изучен. Поскольку ионы CO_3^{2-} в жидкости организма присутствуют в большом количестве, происходит замещение ионов PO_4^{3-} в составе гидроксиапатита на карбонат-ионы, и данный гидроксиапатит является карбонатзамещенным. Карбонат-ионы способствуют дифференциации клеток в остеобласты. То есть костные матрицы имеют сродство к гидроксиапатиту, особенно к карбонатсодержащему.

Супернасыщение раствора ионами Ca^{2+} и PO_4^{3-} и активация поверхности металла – существенные факторы для эффективного биомиметического роста гидроксиапатита на ортопедических имплантатах. Крупнокристаллическая керамика на основе гидроксиапатита замещается растущей костью крайне медленно. Керамика, полученная с использованием фосфатов кальция, растворяется быстро, вследствие чего растущая кость не успевает заполнить появляющиеся полости. Скорость растворения материала зависит от величины его поверхности и ее физико-химических характеристик: строения, состава, дефектности. Такие биоактивные материалы, как гидроксиапатит, быстро срастаются с костной тканью путем образования барьерного слоя гидроксиапатита в зазоре между кальций-фосфатным имплантатом и костью по механизму «растворение фосфата кальция имплантата – осаждение гидроксиапатита из пересыщенной межтканевой жидкости».

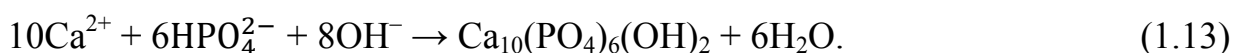
В работе [101] исследована биоактивность широкого спектра материалов на основе анионно-модифицированного гидроксиапатита, полученного в различных условиях синтеза, с использованием модельных сред. Гидроксиапатит был синтезирован в виде порошков различного состава методом осаждения в водных растворах. Установлено, что эффективная при $\text{pH} = 7$ растворимость гидроксиапатита может изменяться благодаря действию различных анионов, входящих в состав жидкостей организма (например, лактат-, цитрат-, карбонат-, сульфат-, ацетат- и т. д.) [102].

Скорость резорбции полученных материалов изучали в ходе модельных реакций по растворению в слабокислых растворах [101, 102]. Установлено, что присутствие силикат-иона приводит к ингибированию кристаллизации гидроксиапатита. Высокую поверхностную активность кремнийсодержащего гидроксиапатита можно объяснить образованием на поверхности материала силанольных Si-OH-групп, которые активно участвуют в процессе минерализации поверхности. Происходит интенсивный обмен ионами кальция и фосфата между материалом и раствором, силанольные группы прочно связывают ионы кальция, способствуя образованию слоя аморфного фосфата кальция на поверхности. Анионное модифицирование гидроксиапатита карбонатными и силикатными анионами приводит к повышению реакционной способности (биоактивности) гидроксиапатита в процессе растворения–осаждения в средах, близких к биологическим жидкостям.

В работе [103] биоактивация поверхности титана достигалась электроосаждением тонкого слоя фосфата кальция при щелочной обработке. Из раствора электролита, содержащего глюконат кальция, на поверхности формировали однородный слой с высокой адгезией. Полученные покрытия помещали в SBF-раствор. Процесс электроосаждения не обеспечивает достаточной адгезии покрытий, так как адгезия между гидроксиапатитом и титановой подложкой низкая. Адгезию увеличивают путем осаждения на подложку глюконата кальция. В полученном гидроксиапатите содержание Ca/P составляет 1,6. В теле человека гидроксиапатит, находящийся на поверхности имплантата, приобретает отрицательный заряд благодаря адсорбции отрицательно заряженных ионов PO_4^{3-} и OH^- . Эти ионы притягивают катионы Ca^{2+} , присутствующие в SBF-растворе, и потенциал поверхности приобретает положительный заряд. Благодаря этому из SBF-раствора на поверхности происходит адсорбция анионов HPO_4^{2-} и образование аморфных фосфатов. Спонтанно аморфный гидроксиапатит превращается в кристаллический. За счет присутствия ионов кальция и фосфат-ионов происходит увеличение толщины слоя гидроксиапатита, что вызывает увеличение его электросопротивления. Это

может быть установлено с привлечением различных методов исследования, в частности электрохимической импедансной спектроскопии.

Некоторые исследователи использовали для проведения SBF-тестов более концентрированные растворы. Ожидалось, что применение концентрированных растворов, имитирующих неорганическую часть плазмы крови человека, приведет к формированию на поверхности имплантатов керамики, близкой по составу к гидроксиапатиту [104]. Кроме того, применяли растворы меньшей концентрации [105], в которых кальций-фосфатные покрытия осаждали на подложку из титана биомиметическим методом. Результаты исследований доказали влияние концентрации компонентов раствора на морфологию и свойства покрытий. Перед погружением в SBF-раствор покрытия обрабатывали щелочью и нагревали. При такой обработке поверхность приобретала отрицательный заряд. Это обеспечивало адсорбцию на поверхности катионов Ca^{2+} . Дальнейшая выдержка в SBF-растворе приводила к формированию на поверхности кальций-фосфатных соединений, что увеличивало степень насыщенности поверхности гидроксиапатитом:



Важную роль играет скорость осаждения гидроксиапатита из SBF-раствора. Во время быстрого проведения процесса осаждения насыщение кальций-фосфатными соединениями имеет место при увеличении pH и, главным образом, вызывается добавлением в SBF-раствор бикарбоната натрия NaHCO_3 . При этом частицы гидроксиапатита формируются как на поверхности образца, так и осаждаются из раствора на дно контейнера в течение 2 ч до установления равновесия. Чем больше скорость осаждения, тем меньше требуется времени для процесса нуклеации на поверхности подложки и образования кристаллов гидроксиапатита. Быстрое осаждение приводит к образованию незрелых глобул кальций-фосфатных соединений с многочисленными промежуточными вакансиями в структуре.

Вместе с тем были предприняты попытки модифицировать состав SBF-раствора с целью повышения остеоинтеграции имплантатов. Например, в состав раствора вводили ионы HCO_3^- [99].

Оценку на биосовместимость *in vitro* в SBF-растворе проходят не только биоматериалы, применяемые в качестве имплантатов, но и покрытия, формируемые на поверхности имплантатов различными способами обработки. Например, поверхность титана обрабатывали раствором, содержащим в своем составе аминогруппы и силоксановые группировки (аминопропилтриэтоксисилан). После обработки образец помещали в пересыщенный 1,5 SBF-раствор при температуре 50 °С и pH = 7,4. За счет электростатического поля на модифицированной подложке равномерно оседали микрочастицы фосфата кальция, появления которых на необработанной подложке замечено не было. На второй стадии после роста частиц за счет потребления из раствора ионов Ca^{2+} и фосфат-ионов PO_4^{3-} (1,0 SBF, pH = 7,25; 37 °С) на модифицированной титановой подложке формировалось плотное покрытие, состоящее из гидроксиапатита [106].

Модификация поверхности титановых имплантатов является перспективным методом для повышения их биосовместимости. В статье [107] описаны способы улучшения биосовместимости титанового имплантата путем применения диоксида титана и гидроксиапатита для формирования трехслойного покрытия на поверхности титана. Внешний слой покрытия состоял из гидроксиапатита, полученного гидротермальным способом, промежуточный пористый слой формировали методом МДО, а внутренний плотный слой – при анодной обработке. В работе исследованы физико-химические свойства покрытий и их поведение *in vivo*. Результаты исследований показали, что покрытие обладает высокими антикоррозионными свойствами и хорошей биосовместимостью, которая может обеспечивать пролиферацию клеток костной ткани. При исследовании поведения покрытия в SBF-растворе установлено, что полученное покрытие способствует лучшей биосовместимости имплантата, чем необработанная поверхность.

Применение хелатных комплексов этилендиаминтетрауксусной кислоты, содержащих катионы Ca^{2+} , для формирования покрытия на титане было исследовано в [108]. На сплаве титана в электролите, состоящем из дигидрофосфата кальция, уксуснокислого кальция, гидроксида натрия и комплекса EDTA–Na, было сформировано покрытие, содержащее кальций-фосфатные соединения. Во время процесса ПЭО отрицательно заряженный комплекс, содержащий в своем составе катионы кальция $[(\text{EDTA}-\text{Ca})]^{2-}$, движется к аноду, где разрушается. На поверхности титана формируется слой, содержащий гидроксиапатит. Такой гидроксиапатит обладает наноразмерной пористой кристаллической структурой. При выдержке данного покрытия в SBF-растворе ионы Ca^{2+} и PO_4^{3-} выходят в раствор, создавая насыщение возле поверхности титана, впоследствии осаждаются на ней и формируя кристаллы гидроксиапатита, имеющие ячеистую структуру. В результате формируется карбонат-содержащий гидроксиапатит, обладающий повышенной биоактивностью.

Поскольку в условиях ПЭО получаются наряду с гидроксиапатитом оксиды титана (анатаз, рутил) и фосфаты кальция, то сложно сформировать на поверхности сплава титана чистую фазу гидроксиапатита из-за высокой температуры и высокой скорости охлаждения. Для запуска механизма формирования гидроксиапатита поверхность обрабатывали в различных растворах, в частности в растворе гидроксида натрия NaOH. При этом образуются титанат-ионы:



Эксперименты, проведенные в SBF-растворе, показали, что присутствие титаната натрия Na_2TiO_3 на поверхности может стимулировать образование титаната кальция CaTiO_3 , как более стабильного соединения. После щелочной обработки покрытие проявляет большую склонность к формированию апатита. Во время выдержки в SBF-растворе на поверхности титана происходят различные химические реакции обмена и осаждения, под воздействием ионов Na^+ формируется на поверхности избыток Ti–OH-групп. Зарождение и рост биомиметического апатита обуславливаются различием между функциональной

поверхностью и гидроксиапатитобразующими ионами в растворе. Зародыши гидроксиапатита спонтанно растут, и толщина слоя гидроксиапатита увеличивается. Показано, что образец титана с ПЭО-покрытием проявляет большую биоактивность, чем образец без покрытия [109, 110].

Поскольку одной из наиболее важных целевых характеристик является коррозионная стойкость сплавов титана в биологических жидкостях организма человека, для многих исследователей было интересно оценить стойкость титановых сплавов в коррозионной среде SBF-раствора, содержащей агрессивные ионы, например Cl^- и SO_4^{2-} . Для оценки антикоррозионных свойств поверхностных слоев в ряде работ применяли метод электрохимической импедансной спектроскопии.

ПЭО-покрытия на сплавах титана являются эффективным барьером, предотвращающим коррозионное разрушение сплава. Защитные слои, образованные на поверхности титана путем ПЭО-обработки в растворе, содержащем ионы Ca^{2+} , PO_4^{3-} , SiO_3^{2-} и Na^+ , были изучены различными физико-химическими методами [111]. Коррозионная стойкость покрытий была исследована в растворе SBF. Поверхностные слои оказались обогащены Ca, P, Si, Na, и их свойства зависели от режима формирования. Коррозионные свойства поверхности не ухудшались после 13 ч выдержки в SBF-растворе. В то же время было отмечено, что поверхностные слои имеют сложную структуру и их электрохимические свойства подвергаются изменению при длительной выдержке в коррозионно-активной среде. Поверхностные слои на титане были получены методом ПЭО в электролите, содержащем глицерофосфат натрия и ацетат кальция [111]. В зависимости от режима формирования на поверхности титана были обнаружены различные фосфаты кальция. После 28 дней экспозиции в SBF-растворе на поверхности покрытий, формируемых при высоких напряжениях (450 В), был обнаружен гидроксиапатит. Показано, что в более насыщенном SBF-растворе создаются лучшие условия для роста кристаллов гидроксиапатита [112].

В то же время было высказано предположение о влиянии продуктов коррозии на поверхности имплантата не только на антикоррозионные свойства

имплантата, но и на метаболизм клеток, т. е. на биоактивность [112]. Исследования поведения металлических имплантатов в SBF-растворе методом электрохимической импедансной спектроскопии позволяют оценить не только биоактивность и антикоррозионные свойства поверхностных слоев, но и влияние легирующих добавок, присутствующих в составе сплава. В работе [113] методом ЭИС исследовали коррозионное поведение и биоактивность сплавов титана, содержащих алюминий, ванадий, молибден, ниобий и другие легирующие элементы. В результате изучения поверхностных слоев, полученных при анодной обработке сплавов, было установлено, что покрытия, формируемые на сплавах титана с ниобием в качестве легирующего элемента, имеют более стехиометрический состав и наибольшую коррозионную стойкость. Ванадий при электрохимической обработке образует растворимые ионы ванадила VO^{2+} , которые не обеспечивают антикоррозионные свойства покрытий. Сплавы титана, содержащие алюминий и ванадий, подвергаются питтинговой коррозии. При выдержке образцов титана, выполненных из таких сплавов, в SBF-растворе, в раствор выходят соединения алюминия и ванадия, которые токсичны для организма человека. Кроме того, в присутствии ионов Cl^- процесс коррозии и выхода в раствор данных соединений увеличивается.

Для устранения вредного влияния добавок ванадия в сплаве титана данный элемент был замещен железом [114]. Исследования коррозионно-механических характеристик сплава и его поведения в SBF-растворе показали, что добавление в состав сплава титана таких элементов, как железо и ниобий, повышает пассивность пленки в зависимости от времени выдержки в растворе по сравнению со сплавами, содержащими ванадий. Если же сравнивать между собой сплавы, содержащие железо и ниобий, то первые в большей степени подвержены питтинг-коррозии в растворе SBF.

1.8. Биodeградируемые имплантационные материалы на основе сплавов магния

Создание биodeградируемых имплантатов для лечения сложных переломов является в последние годы одним из приоритетных направлений развития материаловедения для нужд имплантационной хирургии. Цель этого направления – разработка деградирующего с контролируемой скоростью имплантата, не оказывающего вредного воздействия на организм человека и выполняющего свои функции в течение необходимого для восстановления поврежденной кости времени (12–14 недель). Такие имплантаты должны с определенной скоростью растворяться в хлоридсодержащей среде человеческого организма и выводиться из организма.

Повышенное внимание уделяется магниевым сплавам, которые могут быть использованы в качестве биodeградируемых имплантатов [115-119]. Главными преимуществами таких материалов являются их биосовместимость, а также приемлемые механические свойства. Продукты растворения (катионы магния) не токсичны для организма и, соответственно, не вызывают нежелательных негативных последствий (токсикоз, аллергические реакции, опухоли и т. д.). Однако основным фактором, сдерживающим использование магниевых сплавов в качестве биodeградируемого материала, является их чрезвычайно высокая коррозионная активность в хлоридсодержащих средах, что приводит к преждевременной потере механической прочности имплантата.

Одним из путей снижения скорости коррозии магния является формирование на его поверхности антикоррозионных защитных покрытий. Вместе с тем необходимо, чтобы рост костной ткани на резорбируемом имплантате не отставал от скорости растворения магниевых сплавов [120]. В связи с этим на поверхности имплантата необходимо сформировать не просто антикоррозионный, но биоактивный слой, который, замедляя коррозию, ускорит процесс формирования новой кости и будет постепенно замещаться продуктами остеогенеза – естественной костной тканью.

Наибольший интерес представляют биоактивные кальций-фосфатные слои, содержащие в своем составе «родные» для костных тканей соединения фосфатов кальция. В этой связи целесообразен синтез на поверхности магниевых сплавов кальций-фосфатных соединений, в том числе и гидроксиапатита, в составе антикоррозионных покрытий с развитой морфологической структурой. Это позволит обеспечить оптимальную биосовместимость имплантата с костной тканью. В настоящее время кальций-фосфатные покрытия на сплавах магния получают методом анодирования. В работе [121] таким способом на сплаве магния AM60B были получены покрытия, состоящие из MgO и MgF₂, а на чистом магнии – сетчатые покрытия, состоящие из CaHPO₄·2H₂O. Отмечается, что обработка таких покрытий щелочью при нагревании может вызвать на поверхности имплантата биомиметическое осаждение фосфата кальция.

На поверхности сплава магния, содержащего марганец и цинк, были также сформированы покрытия, состоящие из β -Ca₃(PO₄)₂ [121]. Однако трикальцийфосфат Ca₃(PO₄)₂ не может быть синтезирован в чистом виде в физиологических условиях из-за его фазовой нестабильности. При замещении Ca на Mg можно стабилизировать трикальцийфосфат и далее способствовать его переходу в гидроксиапатит [122]. В работе [123] описан прямой синтез гидроксиапатита из раствора, содержащего кальциевую соль этилендиаминтетрауксусной кислоты и дигидрофосфат калия KH₂PO₄. Было установлено, что рост кристаллов гидроксиапатита увеличивается с ростом температуры обработки. При этом между подложкой и слоем гидроксиапатита формируется слой гидроксида магния Mg(OH)₂. Однако можно избежать его образования, корректируя концентрацию ионов Ca²⁺ и PO₄³⁻ в растворе, так как магний корродирует в растворах при pH < 11. Ионы Mg²⁺ препятствуют кристаллизации гидроксиапатита на магниевой подложке, замещая ионы Ca²⁺ в структуре гидроксиапатита. В патенте [124] предложен способ получения покрытия на магнии методом золь-гель технологии. Предварительно на магний наносили слой оксида магния и затем формировали покрытие, состоящее из

диоксида титана и гидроксиапатита, обладающее биосовместимостью и низкой токсичностью.

Как сказано выше, наиболее технологичным и достаточно популярным современным методом модификации поверхности металлов и сплавов является метод плазменного электролитического оксидирования. В работе [125] исследовались состав и морфология покрытий, полученных на сплаве AZ91D методом ПЭО в двух составах электролитов (I и II), содержащих: гидроксид натрия, гексаметафосфат натрия, гипофосфит кальция (электролит I); и метасиликат натрия, гексаметафосфат натрия, гипофосфит кальция (электролит II). При исследовании морфологии покрытий установлено, что по поверхности расположены многочисленные поры. В составе покрытий были обнаружены только MgO (при использовании электролита I) и MgO, Mg₂SiO₄ (при использовании электролита II). Авторы работы сообщают о наличии в покрытиях Ca и P, однако предполагают, что данные элементы находятся в составе рентгеноаморфной фазы, образовавшейся в результате быстрого охлаждения электролитом расплава после протекания плазменных разрядов. Данные коррозионных испытаний показали, что плотность тока коррозии образцов с покрытием снижалась приблизительно на два порядка по сравнению с образцами без покрытия. Было отмечено, что отношение Ca/P регулируется концентрацией ионов Ca²⁺ в составе электролита и параметрами ПЭО-процесса. Недостатками данного способа является использование сложных по составу многокомпонентных электролитов.

В [126] предложен способ нанесения антикоррозионных кальцийсодержащих покрытий на биodeградируемый сплав магния AM50 методом ПЭО в анодном гальваностатическом импульсном режиме при плотности тока 30 мА/см², продолжительности импульсов 2 мс и пауз между импульсами 18 мс в течение 15 мин в щелочном фосфатном электролите, содержащем гидроксид кальция Ca(OH)₂ и фосфат натрия Na₃PO₄. Однако недостатком данного способа является невысокая коррозионная стойкость формируемых с его помощью покрытий, которая обусловлена рыхлостью, пористостью и дефектами

поликристаллического поверхностного слоя, а также недостаточной плотностью прилегающего к подложке слоя, содержащего наряду с оксидом магния MgO значительное количество фосфата магния $Mg_3(PO_4)_2$. При эксплуатации полученных покрытий в коррозионно-активной среде, в частности содержащей хлорид-ионы, последние проникают в поры и дефекты покрытия и взаимодействуют с подложкой, разрушая ее. Кроме того, такие покрытия не содержат гидроксиапатит, обладающий высокой биологической активностью.

В статье [127] дается оценка современного уровня развития науки и техники в области создания биоактивных покрытий на резорбируемых металлических материалах. Утверждается, что данные материалы представляют собой новый класс высокоактивных биоматериалов, которые оказывают положительное воздействие на процесс восстановления поврежденных тканей или органов, а затем постепенно растворяются. Авторы статьи также сообщают, что легирование магния такими элементами, как Al, Zn, Mn, Zr, Y, снижает скорость растворения металла. Это дает возможность организму лучше регулировать pH среды вокруг имплантата и снизить количество водорода, выделяющегося в результате коррозии. Однако наличие в составе сплавов магния некоторых из вышеуказанных легирующих элементов при деградации имплантата может вызвать превышение допустимой концентрации их в организме, что приведет к различным негативным явлениям, таким как аллергия, новообразования, амнезия, болезнь Паркинсона. В то же время из-за низких прочностных характеристик чистого магния [128] его использование в качестве имплантационного материала, особенно в случае подверженных нагрузкам имплантатов, невозможно. Следует отметить, что Mn не является чужеродным элементом в человеческом организме и, следовательно, наряду с Ca и Zn может быть использован до определенного концентрационного предела в качестве легирующего компонента магниевых сплавов, применяемых в имплантационной хирургии [128]. Таким образом, целесообразно применение на слабелегированных сплавах магния защитных кальций-фосфатных покрытий, которые не только способствуют остеогенезу, но и обладают высокими антикоррозионными свойствами.

1.9. Анализ литературных данных и постановка задачи исследования

Обзор литературы показал многообразие материалов, применяемых в медицинских целях, а также множество способов обработки поверхности для придания ей различных свойств, в частности биосовместимости с костной тканью. Однако приведенные методы синтеза и обработки достаточно сложны, многостадийны и затратны.

Исходя из анализа литературных данных, перспективным является метод ПЭО, поскольку он позволяет в одну стадию получать покрытия с различными свойствами (биосовместимые, биоинертные, коррозионностойкие), в состав формируемых покрытий входит гидроксиапатит, компонент костной ткани. Гидроксиапатит в составе кальций-фосфатных покрытий синтезируется в процессе ПЭО из компонентов электролита.

Представляется целесообразным формирование на металлах и сплавах медицинского назначения с использованием метода ПЭО оксидных и композиционных слоев, расширяющих область практического применения материалов в имплантационной хирургии, физико-химических характеристик и биомиметических свойств полученных покрытий.

Необходимо 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 *in vitro* и *in vivo* испытаний.

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

Проведение таких работ позволит рассматривать практическое использование многофункциональных ПЭО-покрытий на материалах медицинского назначения в имплантационной хирургии.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКИ ЭКСПЕРИМЕНТОВ

2.1. Характеристика материалов. Подготовка образцов

В качестве материалов, на которые наносились покрытия, в работе использовались следующие металлы и сплавы: технически чистый титан марки ВТ1-0 (Fe 0,25 %; Si 0,12 %; C 0,07 %; O 0,12 %; N 0,04 %; H 0,01 %, Ti остальное) в крупнокристаллическом и наноструктурированном состоянии; два сплава никелида титана, отличающиеся химическим и фазовым составом: образец ТН-1 ($Ti_{51,8}Ni_{48,2}$), находящийся при комнатной температуре в аустенитном состоянии, и образец ТН-2 ($Ti_{48,9}Ni_{51,1}$) – в мартенситном состоянии; сплав магния МА8. Наноструктурированный титан был получен в Институте физики прочности и материаловедения (ИФПМ) СО РАН коллективом авторов под руководством д.ф.-м.н., профессора Ю.П. Шаркеева [129].

Для стандартизации поверхности образцов проводилась их предварительная подготовка. Образцы шлифовались наждачными бумагами с последовательным уменьшением зернистости до 15 мкм. Затем промывались дистиллированной водой и обезжиривались этиловым спиртом.

Для изготовления поперечных металлографических шлифов применяли холодную заливку в атмосфере вакуума при помощи импрегнатора Erovac (Германия) с применением различных эпоксидных смол Struers (Германия). Также шлифы изготавливали с применением горячей заливки под давлением 270 МПа и температуре 180 °С с применением акриловых компаундов. Процесс проводили на приборе Metapress-M («Metkon», Турция). Прецизионную резку полученных изделий осуществляли диском с алмазным напылением на Micracut 125 («Metkon», Турция), с постоянной подачей охлаждающей жидкости, на скорости 350 об/мин. Применение прецизионной резки позволяет исключить стадию шлифовки образцов с применением шлифовальной бумаги различной степени зернистости и перейти сразу к стадии полировки. Полировку производили на станке Gripo 1V с автоматической головкой Forcimat («Metkon», Турция), с помощью которой можно поддерживать постоянное давление на образец в

течение процесса шлифовки / полировки. Полировку осуществляли на полировальных кругах с применением алмазных паст с зернистостью 15, 9, 3, 1, 0,25 мкм со скоростью 150 об/мин и смазкой на водной основе Diapat («Metkon», Турция).

Для приготовления растворов электролитов использовали реактивы марок – ч.д.а, х.ч, о.с.ч.

В качестве одной из составляющих компонент композиционных слоев, формируемых на металлах и сплавах, в работе использовался ультрадисперсный политетрафторэтилен (УПТФЭ) торговой марки Форум®, полученный из продуктов пиролиза фторопласта Ф-4 по технологии газодинамического термодиспергирования, разработанной в Институте химии ДВО РАН (к.х.н. А.К. Цветников) [57]. Порошок ультрадисперсного политетрафторэтилена является достаточно однородной системой с размером частиц от 0,2 до 1,5 мкм. Причем количество частиц с размером более 1 мкм не превышает 2 % от общего числа. Средний размер частиц составляет 0,35 мкм. Частицы имеют шаровидную форму и являются сферолитами. Различные температурные фракции, используемые в настоящей работе, были получены возгонкой УПТФЭ с последующей конденсацией продуктов на хладоприемнике. Сублимирующиеся при определенных температурах низкомолекулярные фракции оседали на стенках хладоприемника, образуя белый налет вещества. Все фракции представляли собой дисперсные порошки с разной морфологией. Нанесение полимерного слоя на поверхность ПЭО-покрытий осуществляли трибоэлектрическим методом.

2.2. Установка для плазменного электролитического оксидирования образцов

Процесс плазменного электролитического оксидирования проводили с помощью установки, принципиальная схема которой приведена на рисунке 2.1. В качестве источника тока в установке используется тиристорный реверсивный агрегат ТЕР4–100/460Н–2–2УХЛ4 номинальной мощностью 29 кВт, работающий от трехфазной сети 380 В, 50 Гц.

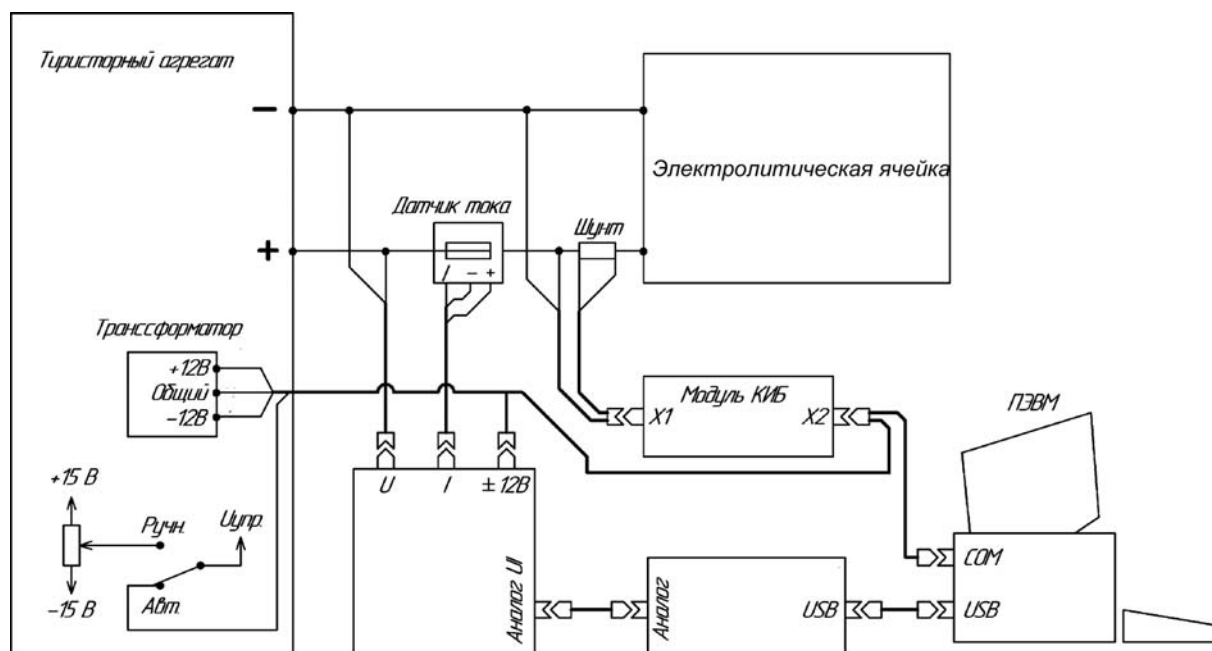


Рисунок 2.1 – Принципиальная схема установки для проведения плазменного электролитического оксидирования образцов

Управление процессом ПЭО и измерение электрических параметров осуществлялись автоматизированной системой управления и контроля (АСУиК), разработанной в ООО «Флерон» С.Я. Ковалем. АСУиК представляет собой программно-аппаратную систему, предназначенную для сопряжения компьютера и тиристорного агрегата посредством контрольно-измерительного блока, датчиков и программного обеспечения. АСУиК обеспечивает возможность задания и контроля параметров технологического процесса, ведения базы данных экспериментов (и их расширенных протоколов), создания отчетов.

Электролитическая ячейка (рисунок 2.2) представляла собой сосуд из термостойкого стекла, снабженный механической мешалкой и термометром. Температуру электролита поддерживали в заданном интервале с помощью холодильника из нержавеющей стали (используемого также в качестве противоэлектрода) с водяным охлаждением.

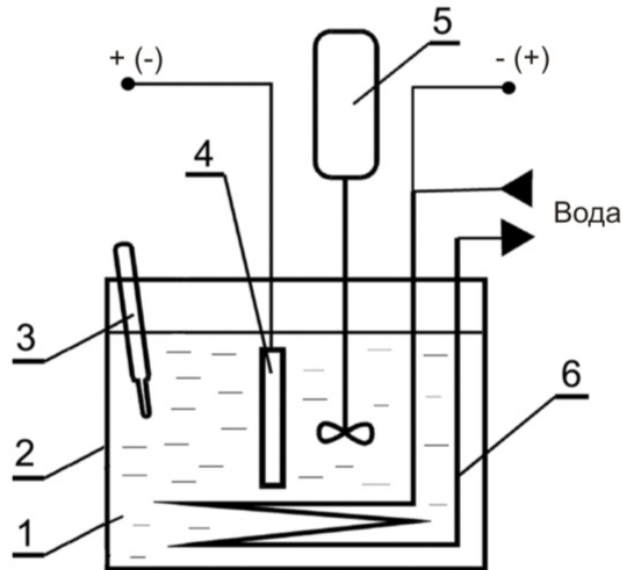


Рисунок 2.2 – Схема электролитической ячейки: 1 – электролит, 2 – сосуд, 3 – термометр, 4 – образец, 5 – механическая мешалка, 6 – холодильник (противоэлектрод)

Данная установка позволяет проводить обработку образцов в условиях как анодной (моноплярной), так и анодно-катодной (биполярной) поляризации при возможности изменения амплитуды и длительности анодного и катодного сигналов.

2.3. Методы исследования структуры, состава и свойств поверхностных слоев

2.3.1. Рентгенофазовый анализ (РФА)

Фазовый состав поверхностных слоев определяли на рентгеновских дифрактометрах ДРОН-2,0 и D8 Advance (Cu/ K_{α} -излучение) по методу Брегга–Брентано. Относительное содержание фаз в покрытии оценивали по отношению интенсивностей самых сильных линий. При выполнении рентгенофазового анализа использована программа поиска EVA с банком данных PDF-2 для порошковых образцов.

2.3.2. Атомно-абсорбционный анализ

Для определения выхода ионов никеля в физиологический раствор, в работе использован атомно-абсорбционный анализ – один из наиболее чувствительных, быстрых, точных и селективных методов современной аналитической химии. Метод основан на исследовании атомных спектров поглощения и испускания, в первую очередь, для определения содержания металлов в растворе их солей: в природных и сточных водах, технологических и прочих растворах.

Образцы никелида титана ($Ti_{51,8}Ni_{48,2}$) без покрытия, с ПЭО-покрытием и ПЭО-покрытием обработанным УПТФЭ, выдерживались в 0,9 % растворе NaCl в течение 2-х недель при температуре 37 °С. По истечении срока выдержки отбиралась проба раствора для проведения атомно-абсорбционного анализа. Анализ выполнен с помощью атомно-абсорбционного спектрофотометра Shimadzu 6800 (Япония) это дает возможность определять концентрацию элементов порядка 10^{-3} мкг/мл.

2.3.3. Электронно-зондовый микроанализ

Концентрацию различных элементов на поверхности и их распределение по сечению ПЭО-покрытия определяли методом электронно-зондового микроанализа (ЭЗМА) на приборе Thermo Scientific System 7 (США). Абсолютная чувствительность метода составляет 10^{-8} – 10^{-15} г, относительная погрешность лежит в пределах 0,1–0,001 % и зависит от определяемого элемента и условий анализа. Диаметр зондового луча – 1 мкм.

Метод обеспечивает возможность получения изображений исследуемого объекта во вторичных, обратнорассеянных и поглощенных электронах. Эти изображения несут информацию о составе и топографии поверхности [130].

Содержание элементов в изучаемом образце оценивали путем сравнения интенсивностей линий в исследуемом образце и эталоне (образце сравнения). Перед анализом на образцы с размерами 4 мм × 4 мм × 1 мм напыляли тонкий слой (100 нм) проводящего материала (золото). Напыляемая пленка обеспечивала

достаточную электропроводность поверхностного слоя образца, необходимую для предотвращения образования и накопления объемного электрического заряда на его поверхности.

Анализируемые образцы и эталоны напыляли одновременно, после чего участки на поверхности образцов, где не предполагалось проведение анализа, покрывали проводящей серебряной краской для создания надежного электрического контакта с корпусом прибора.

2.3.4. Сканирующая электронная микроскопия

Морфологические особенности и элементный состав ПЭО-покрытий изучали на сканирующем электронном микроскопе S-5500 («Hitachi», Япония), SX-3000 («Evex», США), снабженном энергодисперсионным микроанализатором.

Метод сканирующей электронной микроскопии (СЭМ), активно применяемый для изучения поверхности, в том числе оксидных слоев [131], дает обширную информацию, включая количественные данные, а также топологию поверхности и относительную информацию о распределении высоты рельефа.

2.3.5. Электрохимическая импедансная спектроскопия

Все эксперименты выполнены с использованием электрохимической системы 12558WB («Solartron Analytical», United Kingdom), представляющей собой электрохимический интерфейс SI 1287 и анализатор частотного отклика FRA 1255B (рисунок 2.3), сопряженные с компьютером. Измерения проводились в трехэлектродной ячейке Model K0235 («Princeton Applied Research», США). Рабочая площадь образца составляла 1 см^2 . При проведении экспериментов в качестве электролита использовали 3 %-й водный раствор NaCl (гипертонический раствор) и физиологический раствор Хэнка: NaCl – 8,4 г/л; NaHCO_3 – 0,35 г/л; $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ – 0,06 г/л; $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ – 0,06 г/л. pH раствора доводили до значения 7,3 путем добавления водного раствора NaHCO_3 . Эксперименты проводились как при комнатной температуре, так и при температуре 37 °C.

Электродом сравнения служил хлорсеребряный электрод, заполненный насыщенным раствором KCl (потенциал относительно нормального водородного электрода согласно паспорту равен + 0,201 В). Перед началом электрохимических измерений образцы выдерживали в растворе в течение 15 мин для установления потенциала свободной коррозии E_k . Поляризационные кривые были получены при скорости развертки потенциала, равной 1 мВ/с. Образцы поляризовались в анодном направлении начиная от потенциала $E = E_k - 30$ мВ. При проведении импедансных измерений в качестве возмущающего сигнала использовался сигнал синусоидальной формы амплитудой 10 мВ. Частоты изменялись в диапазоне от 0,01 Гц до 1 МГц с логарифмической разверткой 10 точек на декаду. Управление экспериментом осуществлялось с использованием программного обеспечения CorrWare/ZPlot. Обработка данных и подгонка спектров импеданса проводились методом наименьших квадратов комплексных нелинейных величин с помощью программы ZView.



Рисунок 2.3 – Внешний вид экспериментальной установки, представляющей собой электрохимическую систему 12558WB: 1 – электрохимический интерфейс SI 1287, 2 – анализатор частотного отклика FRA 1255B, 3 – электрохимическая ячейка K0306 Flat Cell

2.3.6. Определение микротвердости и упругопластических свойств оксидных слоев

Значения механических характеристик (микротвердость, модуль Юнга) материала покрытий получали с помощью динамического ультрамикротвердомера (Dynamic Ultra Micro Hardness Tester DUN-W201, «Shimadzu», Япония). Внешний вид прибора представлен на рисунке 2.4. Оценку и сравнительный анализ упругопластических свойств покрытий проводили с помощью программного обеспечения Shimadzu DUN analysis Application v. 2.10.

В качестве индентора использовалась трехгранная алмазная пирамида Берковича с углом при вершине 115° . Формула для определения микротвердости (H):

$$H = \alpha \times L / d^2,$$

где L – прилагаемое усилие (мН),

d – глубина проникновения индентора в образец (мкм),

α – константа, зависящая от формы индентора. Для пирамиды Берковича $\alpha = 3,8584$.

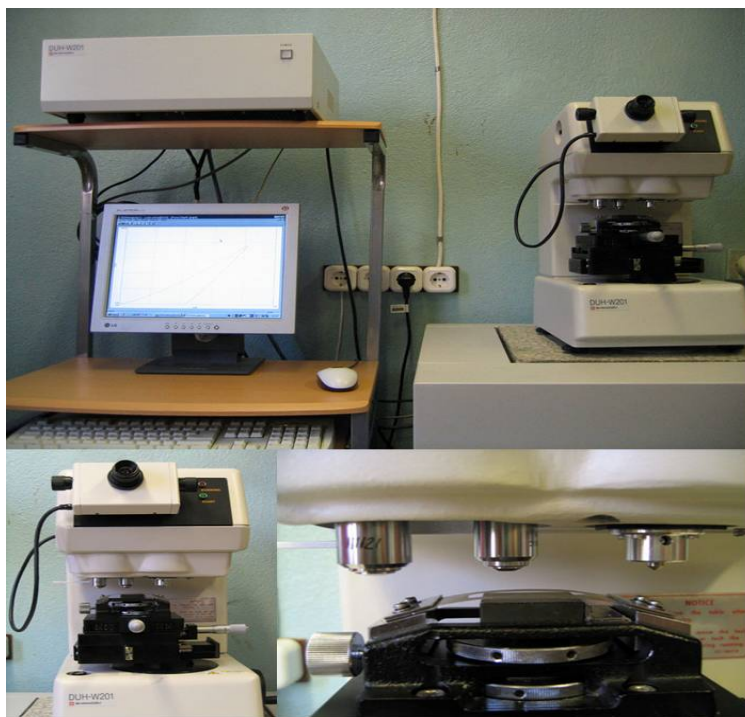


Рисунок 2.4 – Внешний вид прибора DUN-W201 для измерения микротвердости и упругопластических свойств исследуемых материалов

2.3.7. Исследование адгезионных характеристик покрытий

Адгезионные характеристики покрытий были оценены с помощью установки Revetest-RST (CSM industries, Швейцария).

Исследование адгезии царапанием проводится на образцах измерением критической нагрузки, при которой покрытие разрушается, при различных скоростях движения образца (предметного столика), в широком диапазоне нагрузок (от 1 до 200 Н). Сила трения регистрируется и отображается в реальном времени. Программное обеспечение позволяет вычислять первую производную от силы трения и получать данные о нагрузке, при которой происходит полное отслоение покрытия.

Данный метод основан на анализе разрушения изучаемой поверхности индентором при нарастающей с заданной скоростью нагрузке. Индентор представляет собой конический алмазный наконечник (типа Роквелла) с радиусом закругления 200 мкм. В процессе испытаний осуществляется регистрация физических параметров согласно приложенной нагрузке и длине царапины.

2.3.8. Определение термостабильности покрытий

Для изучения влияния поверхностной ПЭО обработки никелида титана на фазовый переход мартенсит–аустенит использовали методы дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК) и дифференциального термического анализа (ДТА). ДСК и ДТА проводили с помощью дифференциального сканирующего калориметра DSC 204F1 Phoenix (NETZSCH-Gerätebau GmbH, Германия) и термогравиметрического / дифференциально-термического анализатора DTG–60H («Shimadzu», Япония), соответственно. При оценке методом ДСК использовались закрытые алюминиевые тигли. Образец выдерживали при 50 °С в течение 10 мин, после чего охлаждали с использованием жидкого азота до –100 °С со скоростью 5 град/мин. После изотермической выдержки при этой температуре образец снова нагревали до +50 °С со скоростью 5 °С/мин. Термоциклирование осуществляли в атмосфере аргона. Исследования методом ДТА проводились в корундовых тиглях

на воздухе в режиме термоциклирования нагрев (до 150 °С) / охлаждение (до 40 °С) при скорости 2,5 °С/мин.

2.3.9. Методика исследования биоактивности образцов *in vitro*

Для оценки биологической активности образцов с ПЭО-покрытиями использовали выдержку исследуемых образцов в среде, имитирующей по ионному составу плазму крови человека (Simulated Body Fluid – SBF). Приготовление SBF-раствора осуществлялось по методике, изложенной в [132]. Состав SBF-раствора включал следующие исходные компоненты: NaCl – 8,035 г/л; NaHCO₃ – 0,355 г/л; KCl – 0,225 г/л; K₂HPO₄·3H₂O – 0,231 г/л; MgCl₂·6H₂O – 0,331 г/л; CaCl₂ – 0,292 г/л; Na₂SO₄ – 0,072 г/л; деионизированная дистиллированная вода. Корректировка pH раствора (pH = 7,4) осуществлялась добавлением трис-гидроксиметил-аминометана (CH₂OH)₃CNH₂ (6,118 г/л) и раствора 1 М HCl. Для приготовления раствора использовали реактивы квалификации – ч.д.а., х.ч., о.с.ч. Образцы помещались в модельную среду при постоянной температуре 37 ± 0,5 °С (рисунке 2.5). Раствор меняли на свежий каждые двое суток.

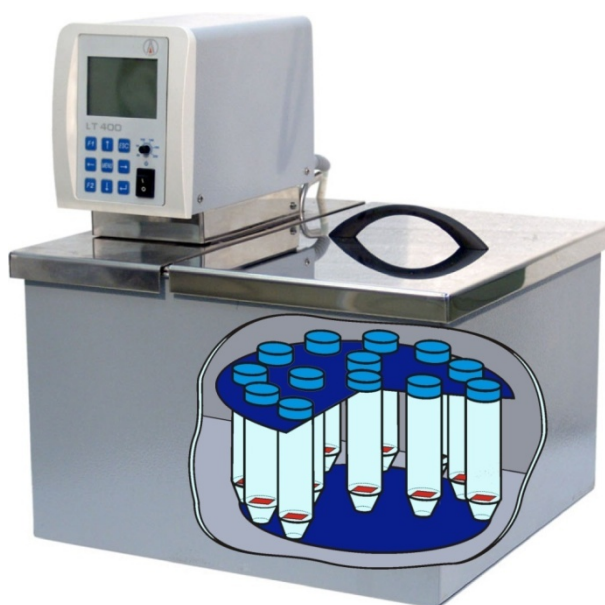


Рисунок 2.5 – Установка для проведения и испытаний *in vitro* в физиологической среде в лабораторных условиях

2.3.10. Методика исследования биоактивности образцов *in vivo*

При изучении имплантатов *in vivo* использовали 15 мышей-самцов линии BALB/c из коллекционного фонда НИИ фармакологии ТНЦ СО РАМН (Томск). Животным под эфирным наркозом подкожно вводили по 2 имплантата с нанесенным в асептических условиях столбиком сингенного костного мозга (средняя площадь мозга 7,5 мм²), взятого из бедренной кости мышей. Костный мозг служил источником мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток и ростовых факторов. Для адгезии клеток органныю культуру костного мозга на дисках предварительно культивировали в течение 45 мин в культуральной среде, содержащей 95 % среды RPMI-1640 (ICN) и 5 % эмбриональной телячьей сыворотки (ICN). При раздельном подкожном введении мышам подложек и фрагментов костного мозга образования тканевых пластинок не наблюдалось. Имплантаты, введенные мышам, извлекали через 45 суток, фотографировали в отраженном свете с фиксированными параметрами. Для гистологического анализа применяли стандартные методы световой микроскопии тонких срезов. После декальцинации тканевых пластинок, выросших на имплантатах, осуществляли обычную окраску гематоксилином-эозином серийных тонких (10 мкм) парафиновых срезов, выполненных перпендикулярно поверхности дисков.

Для выявления количественных параметров срезов посредством измерения их оптических характеристик применяли методику компьютерной морфометрии. Площадь объектов вычисляли при помощи программы ImageJ 1.34р согласно статистике серых уровней в модификации.

При оценке полученных данных применяли методы статистического описания, а также методы проверки статистических гипотез, использующиеся в стандартных пакетах программ Statistica (версия 6.0) и Excel 2007. Для анализа имеющихся выборок данных использовали гипотезу нормальности распределения (критерий Колмогорова–Смирнова). Так как в выборках распределение показателей отличалось от нормального, с целью выявления статистической значимости различий выборок применяли критерий Манна–Уитни (*U*-тест). С

целью выявления связи между исследуемыми показателями проводили регрессионный анализ, а также определение коэффициентов ранговой корреляции Спирмена (r). Различия считались достоверными при уровне значимости $p < 0,05$.

2.3.11. Механизмы дифференцировки культуры стволовых стромальных клеток в системе *in vitro*

Контроль событий, развивающихся при взаимодействии имплантатов и клеток, осуществляется посредством гуморальных медиаторов (ростовые факторы, цитокины и др.), которые оказывают влияние на жизнедеятельность клеток, отвечающих за интеграцию искусственного материала с живой тканью.

В связи с этим в сравнительном аспекте изучали морфо-функциональный профиль культуры мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток (ММСК) человека при контакте с кальций-фосфатными покрытиями, полученными методом ПЭО. Данные исследования проводились на покрытиях, полученных в Институте физики прочности и материаловедения (г. Томск, лаборатория физики наноструктурных биоконструктов, д.ф.-м.н., профессор Ю.П. Шаркеев) и в Институте химии ДВО РАН (г. Владивосток, лаборатория нестационарных поверхностных процессов, д.х.н., профессор С.В. Гнеденков).

В экспериментах была использована культура пренатальных фибробластоидных клеток легкого человека (ООО «Банк стволовых клеток», г. Томск), которая служит источником ММСК. Препараты представляли собой популяцию клеток разной формы и размеров, что характерно для пула ММСК, с ограниченным сроком жизни, сохраняющую при пассажах стабильный кариотип.

Для культивирования клеток на кальций-фосфатных покрытиях пользовались следующим протоколом культуральной среды: RPMI-1640 – 90 %, ICN – 10 %, L-глутамин – 280 мг/л, гентамицин сульфат – 50 мг/л. Диски помещали в лунки (площадь 1,77 см²) 24-луночных планшетов («Costar») и добавляли клеточную взвесь в концентрации 5×10^4 жизнеспособных кариоцитов в 1 мл культуральной среды. Контролем роста служила культура фибробластоподобных клеток на пластике. Через 4 сут имплантаты удаляли. В дальнейшем осуществляли

фиксацию адгезирующих к покрытию клеток (30 с в парах нейтрального формалина) для проведения цитохимической окраски на щелочную фосфатазу (ЩФ) и растровой электронной микроскопии (РЭМ). Морфологию поверхности гибридных имплантатов (подложка + кальций-фосфатное покрытие + фибробластоподобные клетки) исследовали в материаловедческом центре коллективного пользования при Томском государственном университете. Растровую электронную микроскопию объектов осуществляли на электронном микроскопе Phillips SEM515; оптическую микроскопию в отраженном свете – на металлографическом микроскопе Olympus GX-71. Для подготовки образцов к РЭМ их фиксировали в 1 %-м растворе тетраоксида осмия в течение 30–40 мин с последующим двукратным отмыванием фосфатным буфером (рН = 7,2–7,4). Далее клетки обезживали в серии водных растворов этанола восходящей концентрации 30°, 50°, 70°, 90°, 98°. Активность щелочной фосфатазы в клетках определяли по 15 мин в каждом растворе и дважды в 100 %-м ацетоне. Суть методики определения активности щелочной фосфатазы в клетках состояла в использовании ASMX-нафтолфосфата, который в присутствии ЩФ, ионов кальция и магния гидролизуется с высвобождением альфа-нафтола. Последний взаимодействует с прочным синим РР-соль с образованием нерастворимого осадка красителя в оттенках синего цвета в зависимости от концентрации тестируемого фермента [133]. Супернатанты 4-дневных клеточных культур собирали из лунок планшета в пробирки, центрифугировали в течение 10 мин при центробежном ускорении 500, затем в надосадочной жидкости определяли функциональное состояние ММСК по активности ЩФ, концентрации кальция и фосфора, которые исследовали в кондиционных средах по общепринятой биохимической методике с применением стандартного колориметрического метода [134]. Концентрацию интерлейкинов IL-1 β , 2, 4, 6, фактора некроза опухоли-альфа (TNF α) и интерферона-гамма (IFN γ) в супернатантах клеточных культур оценивали иммуноферментным методом. При оценке полученных данных использованы методы статистического описания, а также методы проверки статистических гипотез. Различия считались достоверными при уровне значимости $p < 0,05$.

ГЛАВА 3. ЗАЩИТНЫЕ АНТИКОРРОЗИОННЫЕ ПОКРЫТИЯ НА ПОВЕРХНОСТИ НИКЕЛИДА ТИТАНА

3.1. Плазменное электролитическое оксидирование никелида титана

При выборе составов электролитов для формирования методом плазменного электролитического оксидирования поверхностных структур, повышающих антикоррозионные свойства никелида титана, использовались компоненты, обеспечивающие вероятность образования композиционных слоев, состоящих из оксидов титана, оксидов и фосфатов алюминия или шпинелей. В данной работе предварительные исследования были проведены с использованием электролитов, содержащих в своем составе алюминаты, фосфаты, карбонаты, ванадаты [56, 135].

В результате проведенного поиска был выбран электролит, содержащий алюминат натрия NaAlO_2 , карбонат натрия Na_2CO_3 и трехзамещенный фосфат натрия $\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$. На основе ранее разработанных принципов направленного плазменного электролитического синтеза [136] предполагалось, что в данном электролите на поверхности никелида титана могут формироваться слои, содержащие в своем составе соединения алюминия (оксиды, фосфаты) и диоксид титана (TiO_2). Кроме того, в электролит добавляли диметилглиоксим (ДМГО), который, как известно, 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 [137]. Предполагалось, что катионы никеля (Ni^{2+}), образующиеся в растворе электролита в процессе оксидирования при анодном растворении никеля из никелида титана, будут связываться диметилглиоксимом в комплексное соединение, стабильное при комнатной температуре и нерастворимое в водной среде. Согласно этому осадок будет способствовать уменьшению пористости формируемого слоя, увеличивая его антикоррозионные свойства, и предотвращению выхода из сплава в раствор токсичных катионов никеля Ni^{2+} . О наличии же диметилглиоксимата никеля в растворе электролита свидетельствует появление в процессе оксидирования окрашенного осадка как в объеме электролитической ячейки, так и на поверхности оксидируемого образца.

Согласно данным рентгенофазового анализа, в состав покрытия входят фосфат алюминия (AlPO_4) и двойной оксид никеля–алюминия (NiAl_2O_4) (рисунок 3.1). При анализе дифрактограмм поверхностных слоев на некоторых образцах установлено присутствие кислородсодержащего соединения никеля и титана ($\text{Ni}_3\text{Ti}_3\text{O}$), концентрация которого мала (отсутствует на дифрактограмме). В то же время в составе поверхностных слоев не было обнаружено оксидов титана. На рисунке 3.2 представлены СЭМ изображения поверхности и поперечного шлифа образца с ПЭО-покрытием толщиной около 20 мкм. Из анализа фотографии следует, что поверхность формируемых на никелиде титана слоев неоднородна: встречаются поры и наросты. Возможно, что покрытия имеют кластерный характер.

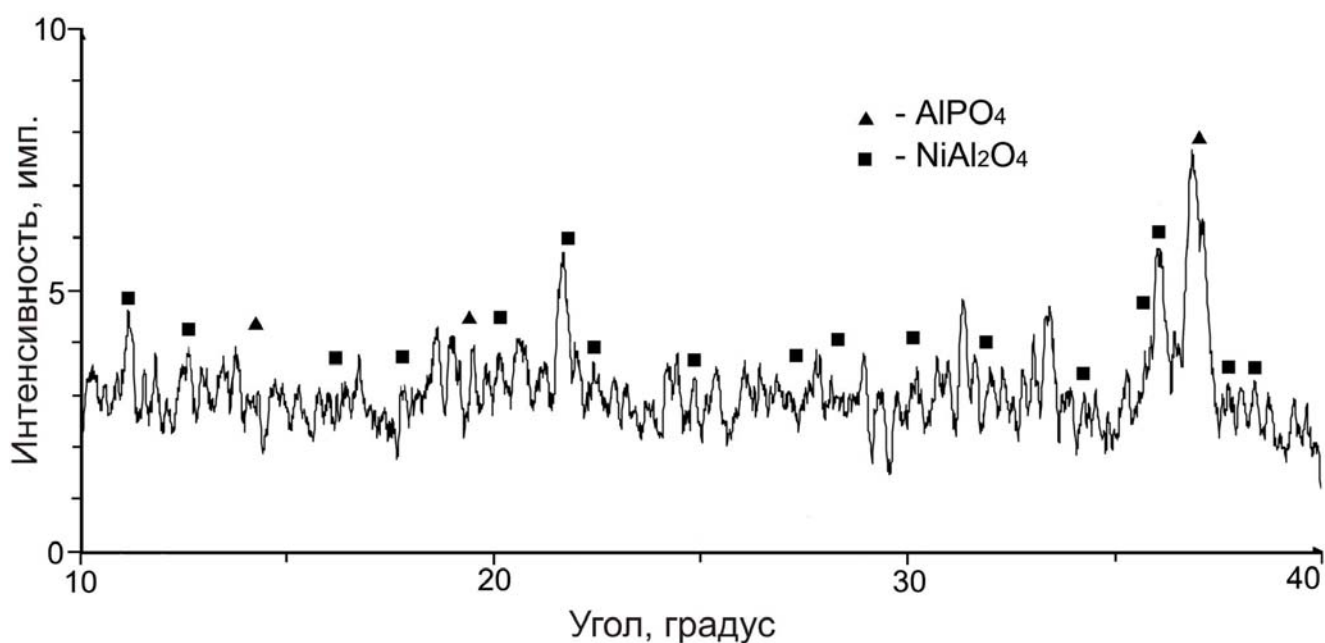


Рисунок 3.1 – Дифрактограмма поверхности образца никелида титана, обработанного методом ПЭО

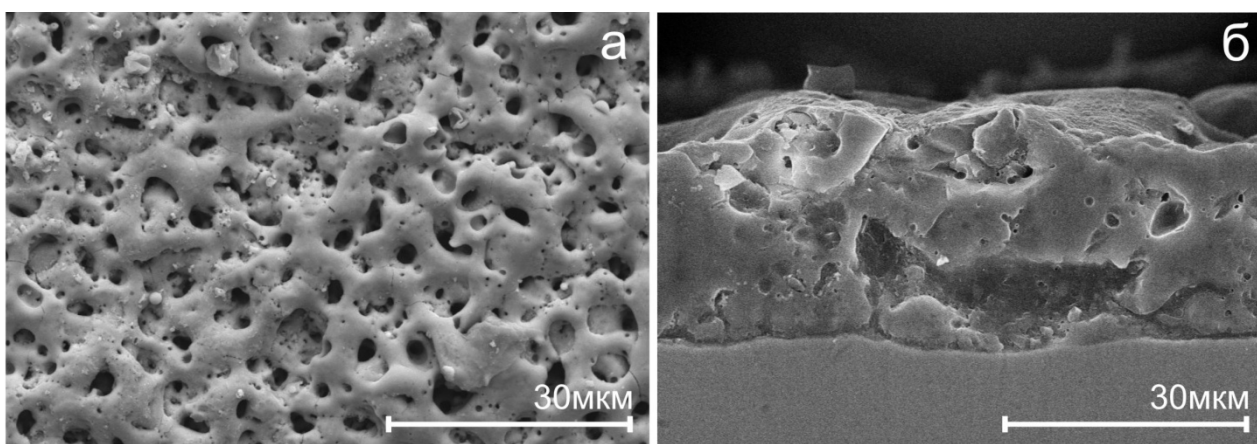


Рисунок 3.2 – СЭМ-изображение поверхности (а) и фотография поперечного шлифа (б) ПЭО-покрытия, сформированного на поверхности никелида титана

Анализ электрохимического поведения образцов в физиологическом растворе (глава 2.3.4.) по виду поляризационных кривых (рисунок 3.3) показывает, что наибольшими защитными свойствами обладают композиционные покрытия с ПЭО-слоем, обработанным ультрадисперсным политетрафторэтиленом (рисунок 3.3, кривые 6 и 7). Такая обработка приводит к облагораживанию стационарного потенциала E_C (потенциала свободной коррозии) образца и к снижению уровня токов коррозии I_C . Введение в формирующий раствор диметилглиоксима также влечет за собой небольшое повышение защитных свойств (вывод сделан из сравнения образцов 3 и 5). В таблице 3.1 представлены сравнительные коррозионные характеристики образцов никелида титана, обработанных различными способами, а также значение поляризационного сопротивления образца R_p , определенное по линейному участку поляризационной кривой в области стационарного потенциала.

Метод электрохимической импедансной спектроскопии позволяет исследовать процессы, протекающие на границе раздела электрод / электролит, учитывая особенности строения поверхности. На рисунке 3.4 представлены импедансные спектры в виде диаграммы Боде (зависимость модуля импеданса $|Z|$ и фазового угла $theta$ от частоты) для образцов никелида титана после различной обработки. Импедансные спектры образцов без покрытия и с покрытием в виде УПТФЭ практически совпадают (рисунок 3.4, кривые 1 и 2), что подтверждает

вывод, сделанный из анализа поляризационных кривых: обработка поверхности никелида титана (без предварительной ПЭО-обработки) ультрадисперсным политетрафторэтиленом мало влияет на состояние границы раздела электрод / электролит, лишь незначительно уменьшая уровень анодного тока (рисунок 3.3). 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. Добавление в электролит диметилглиоксима несколько увеличивает защитные свойства покрытий (рисунок 3.3, кривая 5). Хотя, судя по импедансному спектру, различие весьма незначительное. На поляризационных кривых (рисунок 3.3, кривая 5) фиксируется заметное увеличение только потенциала свободной коррозии.

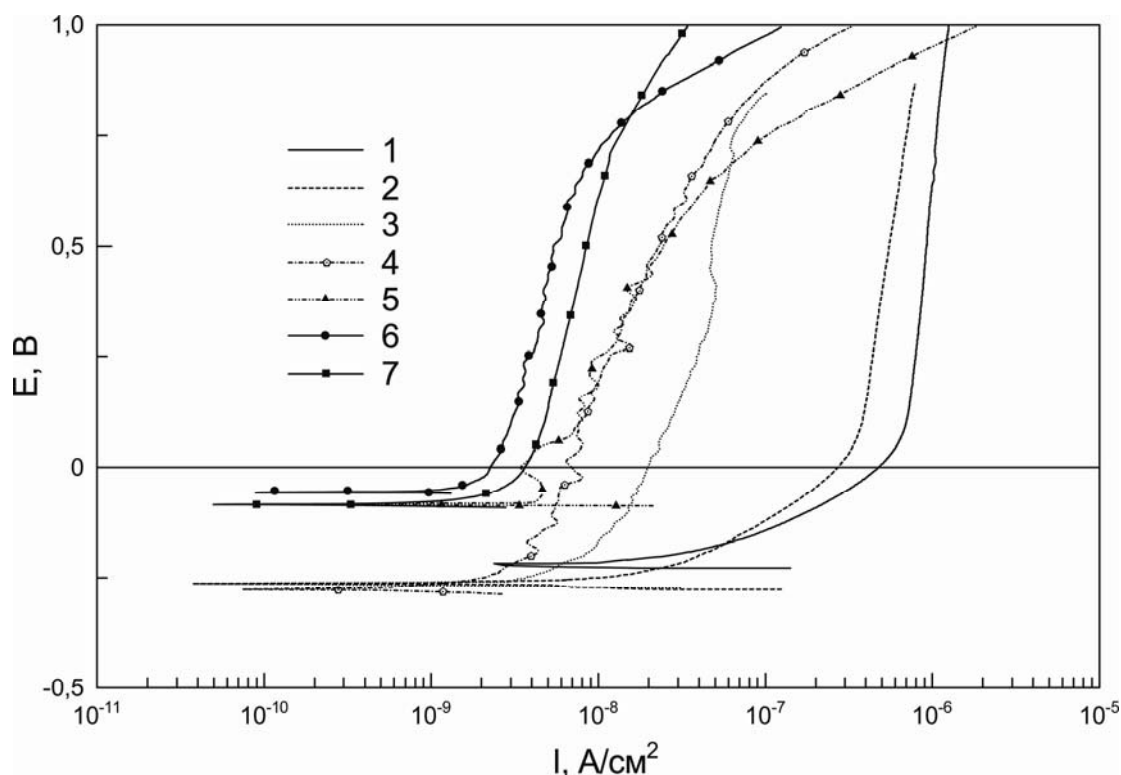


Рисунок 3.3 – Поляризационные кривые, снятые в физиологическом растворе со скоростью развертки $\nu = 10$ мВ/мин. Номера кривых соответствуют номерам образцов в таблице 3.1

Таблица 3.1 – 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
1	Без покрытия	$1,6 \cdot 10^5$	$1,7 \cdot 10^{-7}$	-0,2
2	УПТФЭ (отжиг при 100°C, 1 ч)	$2,3 \cdot 10^5$	$1,1 \cdot 10^{-7}$	-0,3
3	ПЭО в монополярном режиме, электролит: Na ₃ PO ₄ ·12H ₂ O – 10 г/л, NaAlO ₂ – 20 г/л, Na ₂ CO ₃ – 10 г/л	$6,3 \cdot 10^5$	$4,1 \cdot 10^{-8}$	-0,3
4	ПЭО в биполярном режиме, электролит: Na ₃ PO ₄ ·12H ₂ O – 10 г/л, NaAlO ₂ – 20 г/л, Na ₂ CO ₃ – 10 г/л	$2,6 \cdot 10^6$	$8,9 \cdot 10^{-9}$	-0,3
5	ПЭО в монополярном режиме, электролит: Na ₃ PO ₄ ·12H ₂ O – 10 г/л, NaAlO ₂ – 20 г/л, Na ₂ CO ₃ – 10 г/л, ДМГО – 1 г/л	$8,1 \cdot 10^5$	$2,3 \cdot 10^{-8}$	-0,1
6	Как образец № 3 + УПТФЭ	$6,1 \cdot 10^6$	$4,3 \cdot 10^{-9}$	-0,05
7	Как образец № 4 + УПТФЭ	$9,1 \cdot 10^6$	$3,7 \cdot 10^{-9}$	-0,08

Анодный ток для такого покрытия, соизмеримый на начальном участке с анодным током для образца с ПЭО-слоем, сформированным в биполярном режиме, после 0,7 В становится даже больше, чем у других образцов с ПЭО-покрытиями. Можно предположить, что хелатное соединение диметилглиоксимат никеля, осаждаясь в порах оксидного слоя, приводит к некоторому повышению защитных свойств поверхностного слоя. Однако концентрация его в пленке невысока (менее 10 %), так как рефлексы, соответствующие этой фазе, не фиксируются на дифрактограмме. Являясь термически нестойким соединением [138], диметилглиоксимат никеля частично разрушается при плазменно-электролитическом воздействии, как известно сопряженном с реализацией высоких температур в короткоживущих плазменных каналах, а также в результате термолиза в прилегающих к плазменному каналу областях покрытия.

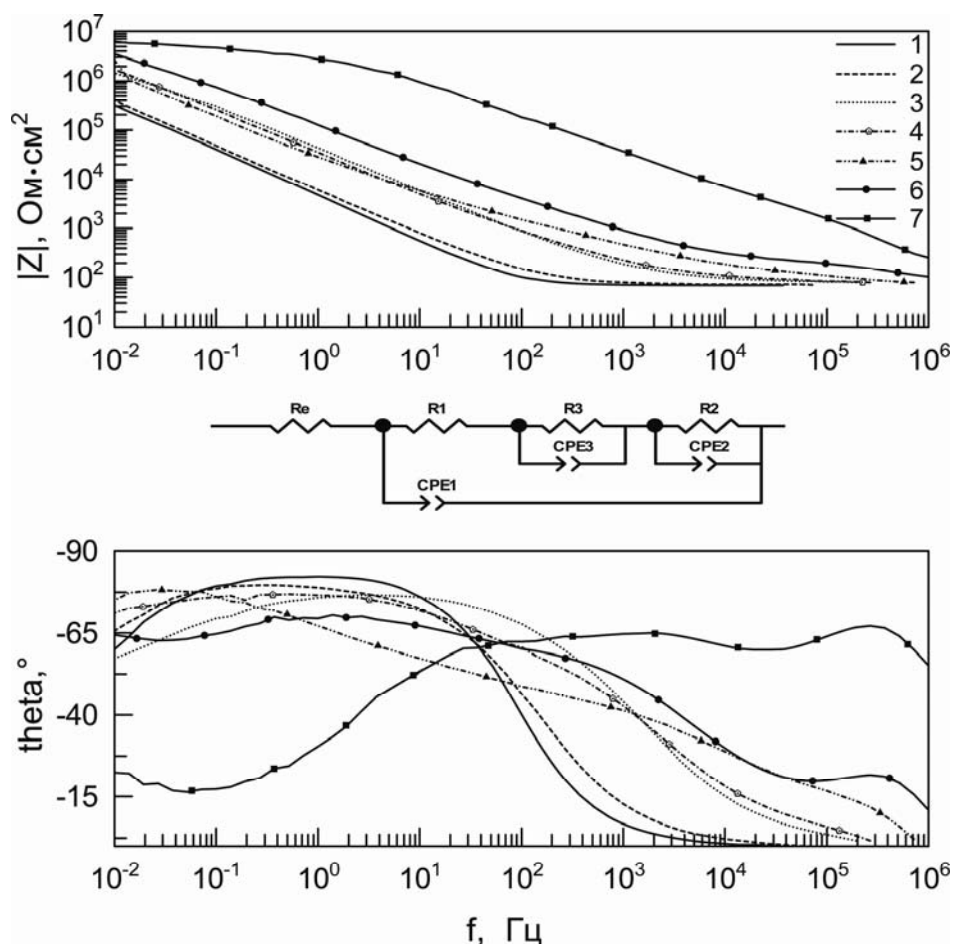


Рисунок 3.4 – Диаграмма Бode исследуемых образцов. Номера кривых соответствуют номерам образцов в таблице 3.1. На вставке представлена эквивалентная электрическая схема, описывающая экспериментальные данные

Таким образом, низкое содержание диметилглиоксимата никеля в порах покрытия не позволяет обеспечить существенной коррозионной защиты при больших смещениях потенциала. На графике зависимости фазового угла от частоты для образцов с ПЭО-покрытием (рисунок 3.4), в отличие от образцов без покрытия и с покрытием, состоящим только из УПТФЭ, видны две временные константы, что свидетельствует о двухслойной структуре покрытия: верхний – пористый слой и нижний – беспористый. Это хорошо согласуется с ранее предложенной моделью ПЭО-покрытия [139]. Пористый слой, как правило, имеет кратероподобные углубления с диаметром до нескольких микрон. Таким образом, размеры пор несколько больше размеров частиц порошка УПТФЭ (порядка 1 мкм), применяемого для обработки поверхности пленки [140]. Создание пористой структуры поверхности может быть дополнительным преимуществом

метода ПЭО, поскольку развитая поверхность способствует лучшему обрастанию имплантата костной тканью, а также позволяет заполнить поры биоинертными или биоактивными композитами. После обработки образца с ПЭО-покрытием ультрадисперсным политетрафторэтиленом значительно увеличивается модуль импеданса, он становится на порядок 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. Отклонение фазового угла от 90° характеризует степень «неидеальности» (в частности гетерогенности) изучаемого объекта.

Выход катионов никеля Ni^{2+} в физиологический раствор при выдержке в течение двух недель, определяли методом атомно-абсорбционной спектрометрии. 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 обработанного 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 обработанный УПТФЭ. Полученные данные находятся в полном соответствии с данными проведенных электрохимических исследований.

Согласно современным представлениям электрохимического моделирования, такие поверхностные слои должны описываться эквивалентными схемами с использованием элемента постоянного угла сдвига фазы – *CPE*. Представленная на рисунке 3.4 схема хорошо моделирует полученные экспериментальные данные и учитывает особенности строения композиционного покрытия. Временная константа, описываемая элементами CPE_1 и R_1 , отвечает за пористую часть композиционного слоя, его морфологическую структуру, шероховатость (развитость) поверхности. Эта временная константа четко проявляется для ПЭО-слоев (кривые 3 и 4) на графике зависимости фазового угла от частоты в области частот 10^5 – 10^6 Гц. Причем для ПЭО-слоев, обработанных

политетрафторэтиленом, данная константа несколько трансформировалась, что обусловлено выравниванием поверхности (уменьшением ее шероховатости) в результате равномерного распределения УПТФЭ при термообработке [141], а также трансформацией омической и емкостной составляющих временной константы.

Так как CPE_1 и R_1 характеризуют геометрическую емкость и сопротивление пористой части покрытия, то заполнение пор полимером и увеличение толщины композиционного слоя влекут за собой изменения значений фазового угла в высокочастотной области. Для образцов 1 и 2 эта временная константа отсутствует. Элементы CPE_2 и R_2 характеризуют беспористый слой для ПЭО-покрытий (кривые 3, 4) и такие поверхностные слои, как естественный оксид и естественный оксид с нанесенным на его поверхность УПТФЭ (кривые 1 и 2, соответственно). Частотный диапазон, в котором проявляются данные особенности изучаемых объектов, весьма широк – от 10^{-2} до 10^3 Гц. Элементы CPE_3 и R_3 , согласно аналогичной модели, предложенной для описания импедансных спектров анодных покрытий на алюминии [142], дают информацию о вкладе пор, плотно запечатанных полимером сверху (между полимерной «пробкой» и дном поры находится воздух). Такая ситуация с большой вероятностью реализуется для пор малого сечения, всегда присутствующих в ПЭО-слое. Данная временная константа наблюдается только для ПЭО-покрытий, обработанных УПТФЭ, и фиксируется по перегибу на графике зависимости фазового угла от частоты (рисунок 3.4, кривые 6, 7) в области средних частот (10 – 10^3 Гц).

Таким образом, в результате проведенных исследований показана перспективность применения метода плазменного электролитического оксидирования для формирования на поверхности никелида титана покрытий, улучшающих его морфологическую структуру и электрохимические свойства. Установлено, что использование ультрадисперсного политетрафторэтилена в составе композиционного покрытия на данном материале позволяет повысить его устойчивость в коррозионно-активной среде. Сочетание поляризационного и

плазменного воздействия на поверхность образцов, реализуемое при ПЭО, позволяет сформировать покрытия с защитными антикоррозионными свойствами. Такие слои содержат поры в поверхностной части покрытия, которые могут быть использованы в качестве контейнера для лекарств (например, антибиотиков, гидроксиапатита или других фосфат-содержащих веществ, обеспечивающих наилучшую совместимость с костными тканями, если необходимо получить биологически активную поверхность имплантата, или порошка полимера, если необходимо создать биологически инертную поверхность). Как показывают экспериментальные результаты [143], после наполнения пор ультрадисперсным порошком политетрафторэтилена, который может быть использован в качестве полимера, для получения сглаженных гидрофобных поверхностных слоев необходима термообработка. Полимер при этом запечатывает поры, в которые можно предварительно ввести лекарственные препараты, и таким образом уменьшает их диффузию из поверхностного слоя. Это увеличивает продолжительность терапевтического действия лекарства, находящегося в поре. Кроме того, формируемые антикоррозионные защитные покрытия значительно уменьшают диффузию ионов никеля из никелида титана, препятствуя его аккумуляции в тканях человека.

3.2. Влияние плазменного электролитического оксидирования на механические характеристики никелида титана

В процессе плазменного электролитического оксидирования на поверхности никелида титана формируется неорганическое покрытие, которое по структуре схоже со стеклокерамическим. Высокотемпературное местное плазменное воздействие может влиять на механические свойства подложки. Важной задачей, особенно для сплавов, обладающих эффектом памяти формы, является сохранение механических характеристик имплантатных материалов после нанесения покрытий. Отрицательные эффекты проявляются при термическом окислении титановых сплавов – повышенная микротвердость поверхностных слоев титановой подложки из-за растворения кислорода в металле в несколько раз

превышает микротвердость необработанного титана. При этом снижается прочность, повышается хрупкость изделия в целом.

С целью исследования механических характеристик получаемого методом ПЭО покрытия в работе на поперечных шлифах были проведены сравнительные исследования микротвердости и модуля упругости никелида титана и покрытия, сформированного на его поверхности в биполярном режиме (образец 4, таблица 3.1). На рисунке 3.5 представлены соответствующие нагрузочно-разгрузочные динамические зависимости изменения глубины проникновения индентора (D) от прилагаемой силы (F). Хотя на начальном участке нагрузочной кривой глубина проникновения индентора в покрытие соизмерима с глубиной проникновения индентора в подложку, в дальнейшем значения D увеличиваются при возрастании F с большей скоростью для образцов с покрытием по сравнению с необработанным материалом. Это может быть отчасти связано с пористой структурой покрытия, деформация в которой (разрушение по каналам пор) обуславливает ускоренное проникновение индентора в исследуемый материал. Кроме того, присутствие в пленке двойного оксида никеля–алюминия (NiAl_2O_4) предполагает существенное снижение микротвердости материала покрытия, так как микротвердость оксида никеля, с большой вероятностью образуемого при термолизе двойного оксида при ПЭО, весьма низка (800 МПа) [144].

Универсальная микротвердость поверхностного слоя, рассчитанная при максимальной нагрузке, имеет довольно большой разброс значений – 0,7–1,6 ГПа, (как, собственно, и микротвердость по восстановленному отпечатку – 2,2–3,2 ГПа), что обусловлено кластерным (гетерогенным) строением оксидного слоя. Максимальные из полученных значений несколько меньше микротвердости подложки – никелида титана, универсальная микротвердость которого равна 2 ГПа (3,8 ГПа – по восстановленному отпечатку). Микротвердость по восстановленному отпечатку оценивается по размеру отпечатка после извлечения индентора, т. е. с учетом упругих свойств материала. В силу этих различий значения микротвердости, измеренные разными способами, могут существенно различаться. Значения модуля упругости (модуля Юнга), рассчитанные по

начальному линейному участку разгрузочной кривой с использованием метода Оливера–Фарра [145], для подложки и покрытия в первом приближении соизмеримы (имеют одинаковый порядок величин) и равны, соответственно, 80 и 30 ГПа. Близость значений твердости, упругопластических характеристик подложки и покрытия обуславливают хорошую адгезию ПЭО-покрытия к никелиду титана. Оксидный слой не отслаивается при многократных изгибах и деформациях.

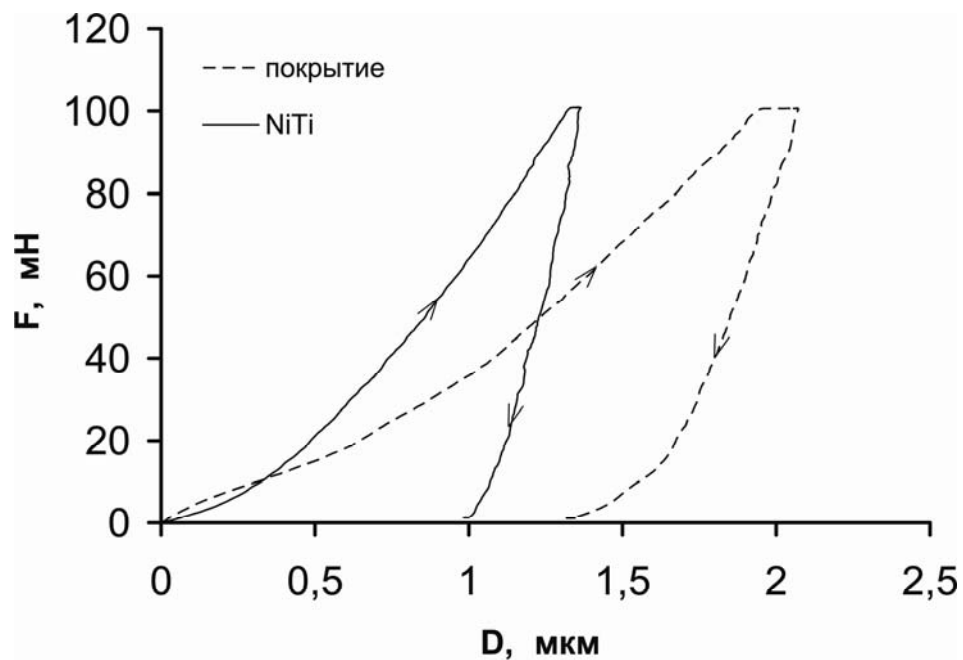


Рисунок 3.5 – Диаграммы зависимости изменения глубины проникновения индентора от прилагаемой силы для образца из никелида титана с покрытием и без покрытия

В работе [146] методом микротвердомерии было доказано наличие аморфного подслоя на никелиде титана под слоем ПЭО-покрытия. В отличие от термического окисления на воздухе (в результате которого резко возрастают твердость и хрупкость поверхностных слоев сплава титана), изменения, происходящие в поверхностных слоях материала подложки, наоборот, должны способствовать повышению механической и коррозионно-механической прочности обрабатываемого изделия, а также лучшей адгезии покрытия к подложке, так как возникающие на поверхности в результате изгиба имплантата

концентраторы механического напряжения могут релаксировать в аморфном подслое за счет пластической деформации.

Таким образом, в результате проведенных исследований показано отсутствие отрицательного воздействия метода плазменного электролитического оксидирования на механические характеристики никелида титана. Покрытие имеет меньшие значения микротвердости и модуля упругости по сравнению с подложкой, что является определенным преимуществом полученного покрытия, поскольку данные значения расположены ближе к значениям естественной костной ткани.

3.3. Влияние плазменного электролитического оксидирования на антикоррозионные свойства, адгезивную и температурную устойчивость слоев, сформированных на никелиде титана

С целью исследования коррозионных и адгезионных свойств поверхностных слоев, полученных на никелиде титана, были сформированы покрытия в карбонатно-силикатном электролите в биполярном режиме ПЭО (фаза А: $U = 30\text{--}300\text{ В}$, фаза В: $U = -30\text{ В}$; время оксидирования $t = 600\text{ с}$). Для оценки электрохимических свойств сформированные покрытия исследовали методами электрохимической импедансной спектроскопии и потенциодинамической поляризации.

Согласно анализу данных (рисунок 3.6), значение модуля импеданса для образца никелида титана с покрытием на порядок выше, чем для образца без покрытия. Это свидетельствует об образовании в процессе ПЭО поверхностного барьерного слоя, препятствующего выходу ионов никеля (Ni^{2+}) в организм человека и тем самым предотвращающего их вредное воздействие.

Никелид титана обладает таким уникальным свойством, как эффект памяти формы, который используется при фиксации имплантата в кости. Представляет научный и практический интерес изучить влияние поверхностной обработки никелида титана на его фазовые переходы. В качестве образцов были использованы два сплава никелида титана, различающиеся химическим и

фазовым составом: образец ТН-1 (аустенитное состояние при комнатной температуре) и образец ТН-2 (мартенситное состояние при комнатной температуре).

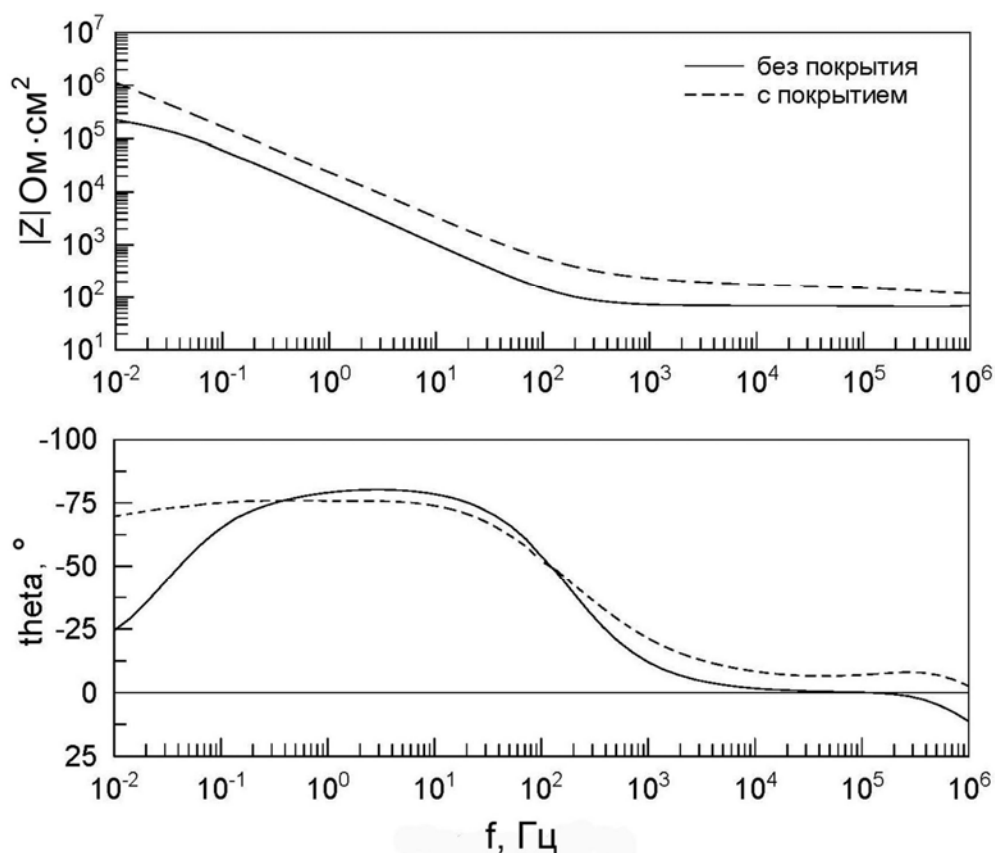


Рисунок 3.6 – Диаграмма Бode для образцов из никелида титана с покрытием и без покрытия

По данным термического анализа, наличие покрытия на исследуемых сплавах несколько расширяет область температур, в которых происходят фазовые переходы в материале. При охлаждении для никелида титана ТН-1 с покрытием температурный диапазон фазового превращения увеличивается на $8,1^\circ\text{C}$ по сравнению с образцом без покрытия (рисунок 3.7). Это увеличение можно связывать с уширением пика фазового перехода, которое обусловлено наличием на поверхности никелида титана слоя с низкой теплопроводностью. Формирование мартенситной фазы (M_s) начинается при более высокой температуре (на $1,4^\circ\text{C}$), в то время как окончание фазового превращения (M_f) фиксируется при более низкой температуре (на $6,7^\circ\text{C}$) (рисунок 3.7, б). Согласно литературным данным [147, 148], в зависимости от состава сплава и его

предварительной обработки фазовый переход мартенсита (гексагональная кристаллическая решетка) в аустенит (кубическая решетка) может происходить с образованием промежуточной *R*-фазы (ромбоэдрическая решетка), что и было зафиксировано методом ДСК на образце ТН-1 (рисунок 3.7, а). При нагревании образца из никелида титана ТН-1 с покрытием фазовые переходы мартенсита в *R*-фазу и аустенит начинаются при более низких температурах по сравнению с образцом без покрытия. В то же время температура окончания формирования аустенитной фазы (A_f) в обоих образцах из никелида титана ТН-1 фиксируется при одной и той же температуре, равной 36,7 °С. Следует отметить, что переход из аустенита в мартенсит происходит без образования *R*-фазы (рисунок 3.7, б).

При нанесении покрытия на никелид титана ТН-2, находящийся при комнатной температуре в мартенситном состоянии, поведение фазовых переходов при температурном воздействии претерпевает несколько большие изменения (рисунок 3.8) по сравнению со сплавом ТН-1. Температура начала фазовых переходов мартенсит–аустенит и аустенит–мартенсит для образца с покрытием смещается соответственно на 21 °С и 6 °С в область меньших температур по сравнению с образцом без покрытия. фазового превращения. Для перехода мартенсит–аустенит разница температур начала и окончания практически не изменяется, а для перехода аустенит–мартенсит увеличивается на 2,6 °С. Однако такие изменения не существенны с практической точки зрения. Неизменность данных ДСК (рисунок 3.7) и ДТА (рисунок 3.8) при повторных циклах нагрев / охлаждение свидетельствует о высокой температурной стабильности материала ПЭО-покрытия.

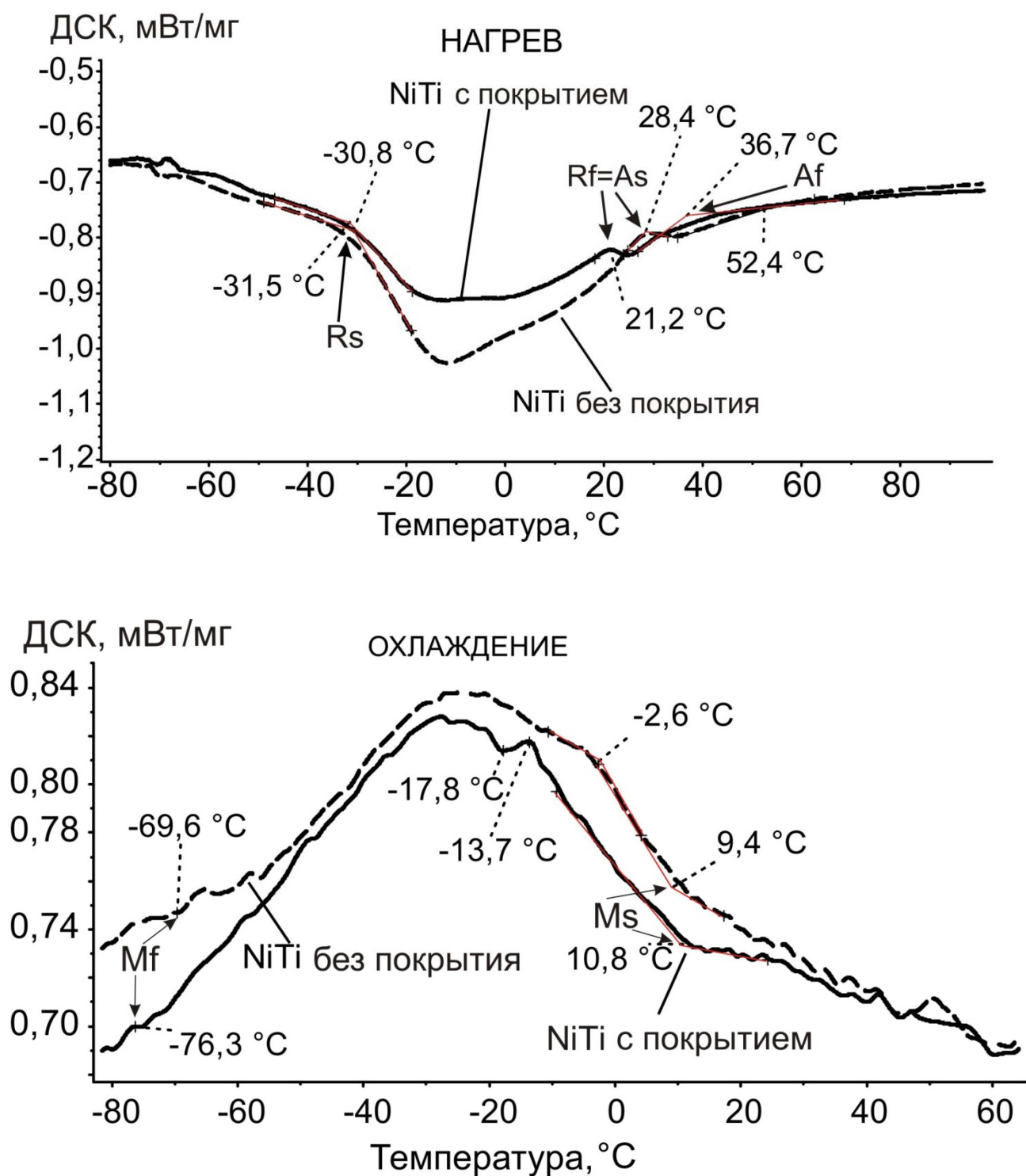


Рисунок 3.7 – Данные ДСК для образцов ТН-1 без покрытия и с покрытием: а – нагрев, б – охлаждение. Символами обозначены температуры начала и окончания соответствующего фазового перехода: R_s , R_f – мартенсита в ромбоэдрическую фазу; A_s , A_f – ромбоэдрического стояния в аустенит; M_s , M_f – аустенита в мартенсит

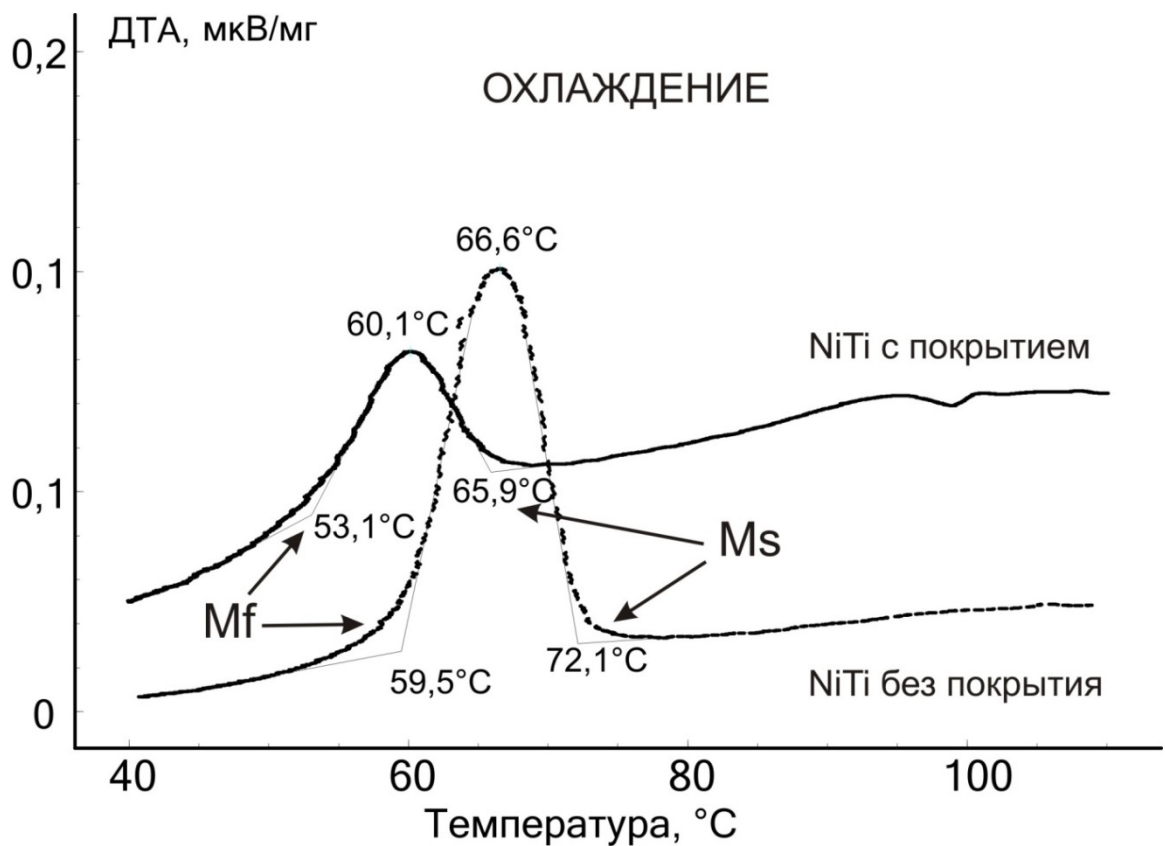
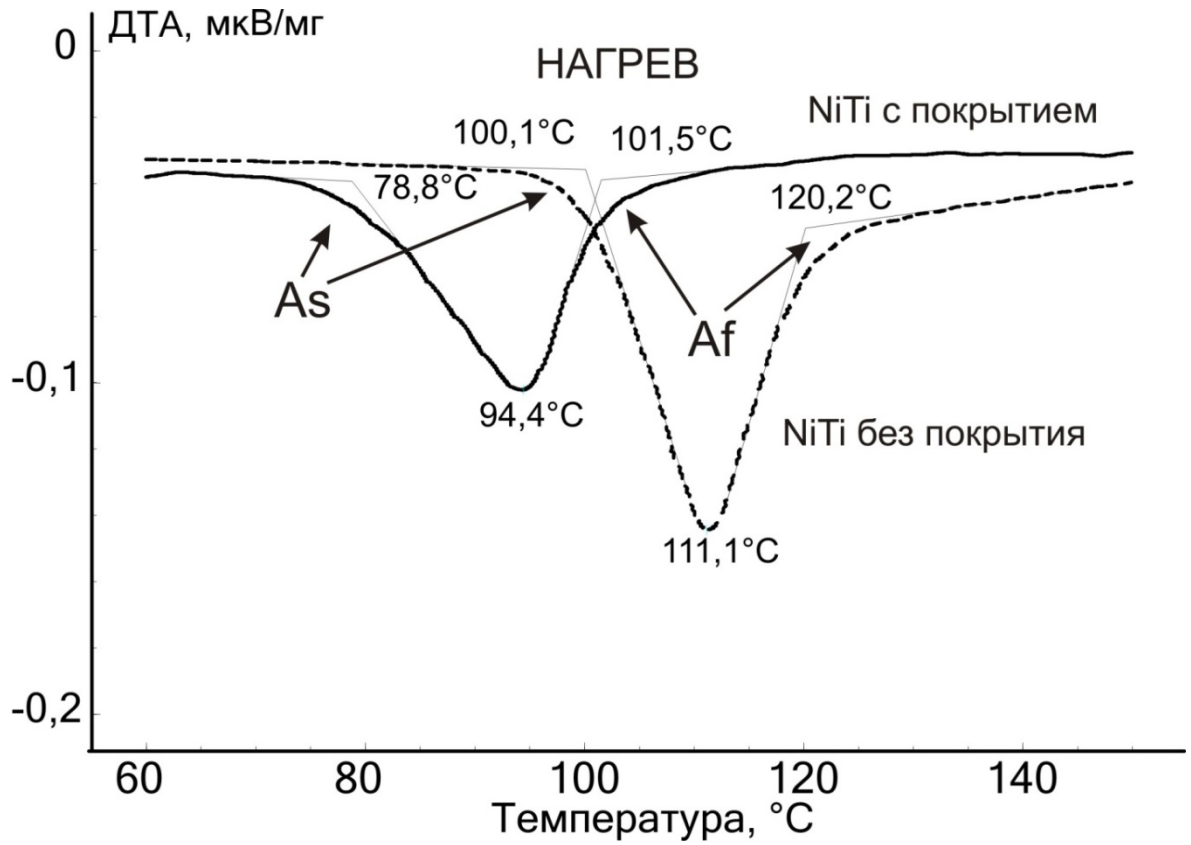


Рисунок 3.8 – Данные ДТА для образцов ТН-2 без покрытия и с покрытием:
а – нагрев, б – охлаждение. Условные обозначения см. на рисунке 3.7

В то же время покрытие на сплаве ТН-2 мало влияет на температурный диапазон

Адгезионные свойства поверхностных слоев на никелиде титана были исследованы методом скретч-тестирования (склерометрии) (рисунок 3.9). Из анализа данных следует, что шевронные трещины (первые поперечные трещины) начинают появляться 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 в свою очередь свидетельствует о контакте индентора с материалом подложки (никелидом титана).

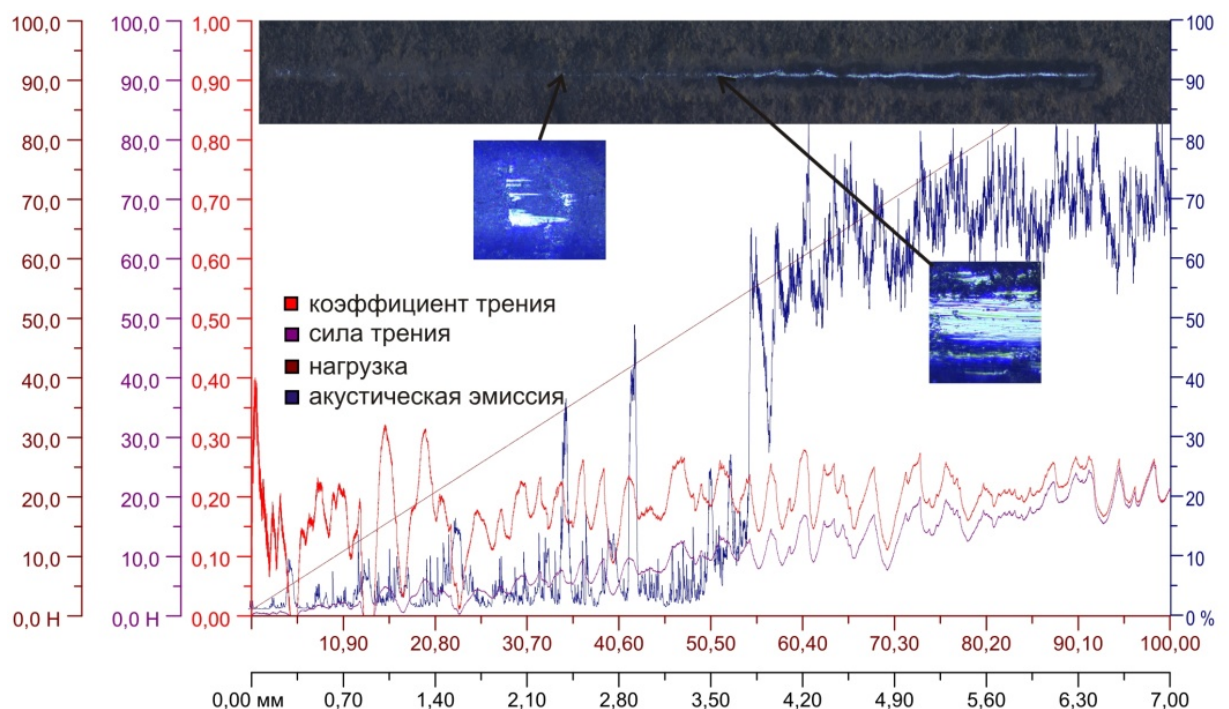


Рисунок 3.9 – Адгезионные характеристики покрытия на никелиде титана

О высоких адгезионных характеристиках ПЭО-покрытия свидетельствуют также результаты термоциклирования. Целостность поверхностного слоя не утрачивается в результате как минимум пяти циклов нагрев / охлаждение в диапазоне температур от -100 до $+50$ °С, что дает основание говорить о перспективности использования защитного покрытия в имплантационной хирургии на материалах, обладающих эффектом памяти формы.

Изучены свойства покрытий, сформированных методом ПЭО на никелиде титана в карбонатно-силикатном электролите в биполярном режиме. Показано,

что ПЭО-слои, существенно снижающие диффузию никеля из материала имплантата, а следовательно, защищающие организм человека от вредного влияния этого металла, 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.

ГЛАВА 4. ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА ПЭО ДЛЯ ФОРМИРОВАНИЯ БИОАКТИВНЫХ ПОКРЫТИЙ

4.1. Формирование на крупнокристаллическом титане поверхностных слоев, содержащих гидроксиапатит

В настоящее время в имплантационной хирургии широко применяют титан и его сплавы [91] как материалы с приемлемыми для этих целей коррозионными и коррозионно-механическими свойствами. Однако для лучшей адаптации организма к имплантату целесообразно создание на его поверхности биоактивных слоев, обладающих высокой совместимостью с костной тканью. Кроме того, такие покрытия не должны быть токсичными.

Нами с коллегами на технически чистом титане VT1-0 методом ПЭО получены кальций-фосфатные поверхностные слои, содержащие гидроксиапатит, который обеспечивает повышение биоактивных и остеоиндуктивных свойств формируемого покрытия за счет оптимизации качественного состава и увеличения отношения Ca/P в покрытии [149].

Результаты исследований по установлению влияния состава электролита и условий поляризации (монополярный, биполярный режимы ПЭО) на фазовый, элементный составы покрытий, а также отношение Ca/P в сформированных на титане поверхностных оксидных слоях приведены в таблице 4.1.

Как известно, для синтеза молекулы гидроксиапатита необходимо два гидроксид-иона, избыток которых присутствует при использовании в составе электролита трехзамещенного фосфата натрия. Однако, как отмечено в некоторых литературных источниках [70], гидроксиапатит устойчив в области pH = 5–6, а согласно исследованиям [78], повышение pH увеличивает продолжительность синтеза гидроксиапатита. Возможно, это является одной из причин, в силу которых в настоящей работе не удалось получить гидроксиапатит в покрытии при введении $\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ в состав электролита. По всей вероятности, формирование гидроксиапатита в составе поверхностного

Таблица 4.1 – Условия формирования, фазовый и элементный состав кальций-фосфатных ПЭО-покрытий на титане

№ п/п	Состав электролита при ПЭО, г/л; режим формирования покрытия	Фазовый состав покрытия	Элементный состав, ат. %					
			Na	P	Ca	Ti	O	Ca/P
1	Na ₃ PO ₄ ·12H ₂ O, 30; Ca ₃ (C ₆ H ₅ O ₇) ₂ ·4H ₂ O, 30; биполярный	TiO ₂ (рутил, анатаз)	1,4	4,9	2,5	24,4	66,8	0,51
2	Na ₂ HPO ₄ ·12H ₂ O, 30; Ca ₃ (C ₆ H ₅ O ₇) ₂ ·4H ₂ O, 30; монополярный, гальванодинамический	TiO ₂ (рутил, анатаз)	0,4	6,8	5,1	21,8	65,9	0,75
3	Na ₂ HPO ₄ ·12H ₂ O, 30; Ca ₃ (C ₆ H ₅ O ₇) ₂ ·4H ₂ O, 30; биполярный	Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ (OH) ₂ , CaHPO ₄ ·2H ₂ O, Ca(PO ₃) ₂ ·3H ₂ O, Ca ₃ (PO ₄) ₂ , CaO·2P ₂ O ₅	1,7	15,2	21,3	0,5	61,3	1,40
4	NaH ₂ PO ₄ ·2H ₂ O, 30; Ca ₃ (C ₆ H ₅ O ₇) ₂ ·4H ₂ O, 30; монополярный, гальваностатический	TiO ₂ (рутил, анатаз), CaHPO ₄ ·2H ₂ O, Na ₂ Ti(PO ₄) ₂	1,7	15,9	2,8	10,1	69,5	0,18

слоя происходит при наличии в необходимой концентрации гидроксид-ионов, с одной стороны, и при определенном значении рН (рН = 6,2–6,3) – с другой. Необходимо принимать в расчет подкисление электролита в прианодном пространстве, а следовательно, нейтрализацию части гидроксид-ионов, попавших в эту зону. Согласно данным эксперимента, оптимальное сочетание факторов, определяющих синтез гидроксиапатита, обеспечивается при введении в состав электролита именно Na₂HPO₄·12H₂O. При добавлении других натриевых солей

ортофосфорной кислоты, таких как $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ и $\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$, гидроксиапатит в составе покрытий обнаружен не был (таблица 4.1).

Кроме того, по данным эксперимента (таблица 4.1), важным фактором, определяющим синтез гидроксиапатита в поверхностном слое, является характер поляризации при ПЭО. Только в биполярном режиме в электролите, содержащем двузамещенный фосфат натрия, был получен $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ в составе покрытия. Вероятно, при биполярном режиме обработки титана переполяризация электрода приводит к последовательному насыщению приэлектродного пространства ионами кальция и фосфата (при катодной поляризации приповерхностные слои электролита насыщаются ионами Ca^{2+} , при анодной – ионами HPO_4^{2-}), которые, взаимодействуя, образуют молекулы кальций-фосфатных соединений: $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$; $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$; $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. Кроме того, в биполярном режиме плазменно-электролитической обработки в состав плазмы вовлекается большое количество элементов электролита, что обеспечивает на поверхности имплантата более интенсивный электрохимический синтез кальций-фосфатных соединений из соответствующих элементов.

Биполярный режим плазменно-электролитического формирования покрытий имеет некоторые преимущества перед монополярными режимами. В интервале катодной поляризации происходит переформирование двойного электрического слоя (Гельмгольца или Гуи–Чепмена), который снижает ионный транспорт и вероятность проникновения окисляющих реагентов к обрабатываемому электроду. Кроме того, наряду с разупорядочиванием двойного электрического слоя электролита в катодный период происходит также переформирование двойного электрического слоя в материале самого покрытия (область пространственного заряда). В силу этих причин при последующем положительном смещении на аноде реализуются более мощные плазменные разряды. В состав плазмы при этом попадает большее количество элементов электролита. Ионы Ti^{4+} , выходящие в электролит с поверхности обрабатываемого образца, связываются с цитрат-ионами в растворимые цитратные комплексы, которые остаются в растворе, что позволяет избежать осаждения нерастворимых

гидроксидов титана, в частности, на поверхности формируемого покрытия. Выделяемая при термической деструкции анионных комплексов теплота обеспечивает большую длительность теплового воздействия на формируемый материал оксидного слоя (по сравнению с длительностью, обеспечиваемой разрушением легких анионов), что способствует, в свою очередь, переходу соединений, входящих в материал покрытия, из метастабильного состояния в стабильное. Это влияет на морфологию поверхностных слоев, изменяет антикоррозионные характеристики покрытий.

Судя по литературным данным, авторы большинства экспериментов при формировании покрытий, содержащих $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, применяли гидроксиапатит в виде суспензии, добавляя ее в электролит. В нашей работе [149] гидроксиапатит был синтезирован в процессе ПЭО на поверхности титана из элементов, входящих в состав электролита. Это было подтверждено результатами модельного эксперимента, подтверждающего ключевое влияние плазменно-электролитического процесса на образование $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. Для этого в стеклянном сосуде были смешаны и нагреты при интенсивном перемешивании водная суспензия цитрата кальция 4-водного ($\text{Ca}_3(\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 30 г/л) и раствор натрия фосфорнокислого двузамещенного 12-водного ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$, 30 г/л). При анализе образовавшегося осадка в его составе были обнаружены трикальцийфосфат $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, тетрагидрат цитрата кальция $\text{Ca}_3(\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ и метафосфат натрия NaPO_3 . Гидроксиапатит обнаружен не был. Следовательно, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ не образуется из компонентов раствора электролита при их непосредственном соединении, а синтезируется в режиме ПЭО на поверхности титана из элементов, входящих в состав электролита [150].

Исследование элементного состава покрытий методом электронно-зондового микроанализа показало, что во всех образцах присутствуют кальций и фосфор (таблица 4.1), в то время как рентгенофазовый анализ не подтвердил наличия кальций-фосфатных соединений в некоторых покрытиях. Это означает, что такие соединения присутствуют либо в концентрации менее 10 % (предел обнаружения рентгенофазового анализа), либо находятся в составе рентгеноаморфной фазы.

Отношение кальция к фосфору, вычисленное по данным микрозондового анализа, показывает степень соответствия состава покрытия, полученного методом ПЭО, составу костной ткани. В покрытиях, сформированных в монополярном гальваностатическом и гальванодинамическом режимах ПЭО в цитрат-фосфатном электролите, в которых не удалось обнаружить гидроксиапатит, отношение Ca/P было значительно ниже (0,18; 0,75), чем в покрытиях, полученных в биполярном режиме ПЭО. Для таких поверхностных слоев $Ca/P = 1,4$, что близко к отношению этих элементов в костной ткани.

На рисунке 4.1 приведена дифрактограмма полученного в цитрат-фосфатном электролите в оптимальном режиме (таблица 4.1, образец 3) покрытия, которое содержит гидроксиапатит. При оценке морфологии покрытий методами атомно-силовой, электронной и оптической микроскопии можно сделать вывод, что поверхность развитая, имеет поры, наличие которых благоприятно для врастания в них костной ткани и формирования более прочного соединения имплантата с костью (рисунок 4.2 а, б). Одним из преимуществ пористых покрытий является перспектива их использования для создания композиционных гетероструктур. Поры и неровности в поверхности покрытий могут быть заполнены лекарственными веществами. Поверхность полученного покрытия может быть обработана порошком ультрадисперсного политетрафторэтилена, который наносится на поверхность методом натирания и после отжига в муфельной печи в течение 1 ч при температуре 200 °С частично запечатывает поры, благодаря чему полимер препятствует одномоментному вымыванию лекарства, увеличивая продолжительность терапевтического действия [140]. Развитая пористая поверхность полученного покрытия и его состав, близкий к минеральному составу костной ткани, предполагают быстрое вживление имплантата.

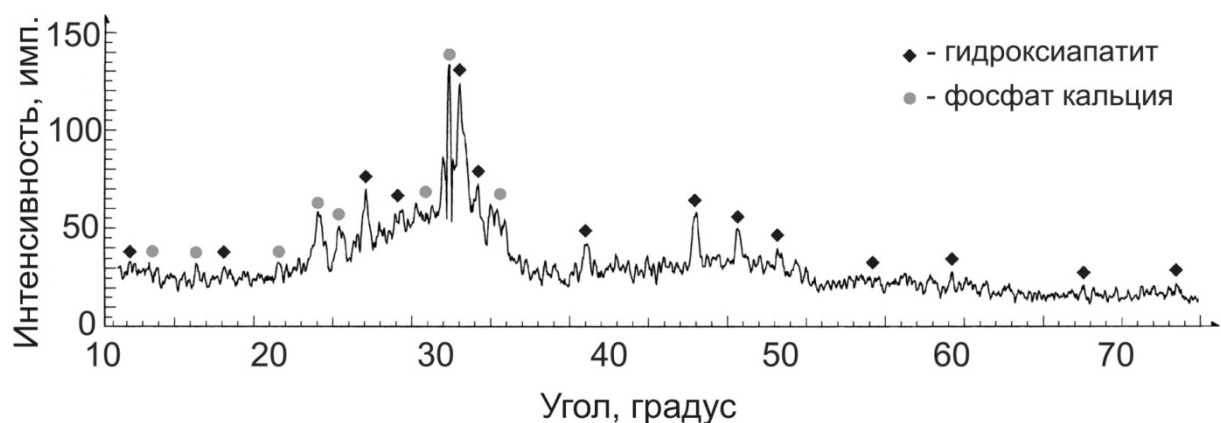


Рисунок 4.1 – Дифрактограмма поверхности образца BT1-0 с покрытием, полученным в цитрат-фосфатном электролите и содержащим гидроксиапатит

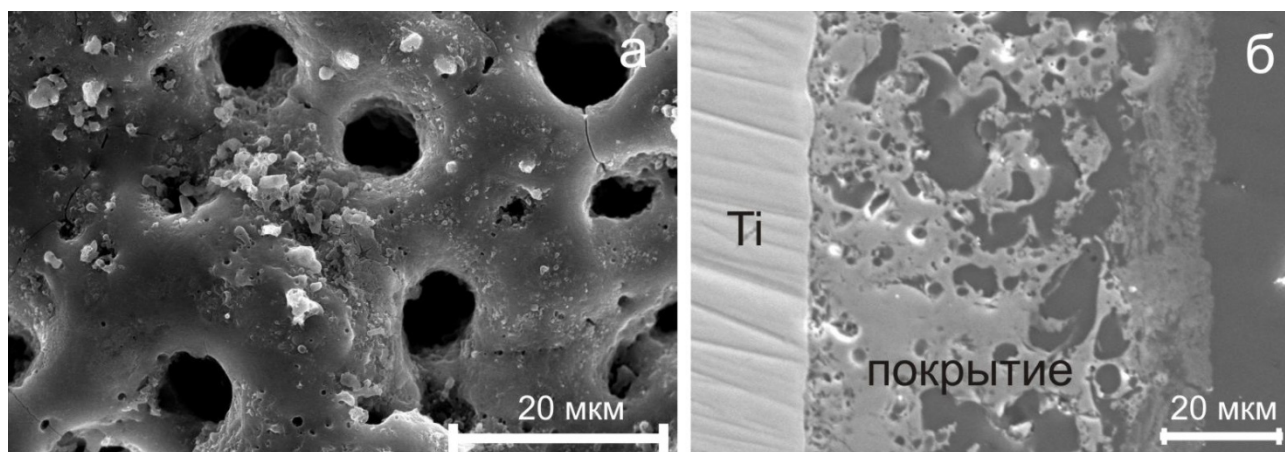


Рисунок 4.2 – СЭМ-изображения поверхности (а) и поперечного шлифа (б) покрытия, сформированного в цитрат-фосфатном электролите

Для оценки антикоррозионных свойств сформированные в указанных условиях на титане BT1-0 покрытия исследовали методом электрохимической импедансной спектроскопии (рисунок 4.3). Как следует из рисунка 4.3, импедансный спектр образца с естественной оксидной пленкой (кривая 1) имеет четко выраженный максимум на кривой зависимости фазового угла от частоты, что характеризует оксидную пленку как однородный беспористый слой. Наличие поверхностных структур, сформированных в электролитах, содержащих цитрат кальция и двузамещенный фосфат натрия, при оксидировании в монополярном (кривая 2) и биполярном (кривая 3) режимах, приводит к изменению вида кривых и возникновению дополнительного перегиба, что свидетельствует о появлении

дополнительной (высокочастотной) временной константы, связанной с морфологическими изменениями поверхностного слоя. Это подтверждается экспериментальными данными, полученными методами атомно-силовой и электронной сканирующей микроскопии (рисунок 4.2 а, б). Из анализа рисунка 4.3 также следует, что сопротивление пленки на образцах с полученными покрытиями соизмеримо с сопротивлением образца без покрытия, содержащего только естественный оксид титана. Это объясняется развитостью поверхности и пористостью формируемых оксидных слоев.

Анализ поляризационных кривых, полученных в физиологическом растворе для исследуемых покрытий (рисунок 4.4), показывает, что покрытия на титане в данном случае несколько облагораживают стационарный потенциал, в то же время ток коррозии остается практически одинаковым ($20\text{--}60 \text{ нА/см}^2$) как для образца с естественной оксидной пленкой, так и образца с ПЭО-покрытием.

Одним из самых важных условий для заместителей кости, в особенности для тех, которые используются в качестве нагруженных деталей, является близость их механических характеристик свойствам естественной костной ткани. Изделия из титана имеют модуль упругости $E = 80 \text{ ГПа}$ (при микротвердости $H = 2,7 \text{ ГПа}$), что значительно больше показателей естественной кости, для которой $E = 20 \text{ ГПа}$ (при $H = 0,6 - 0,8 \text{ ГПа}$) [151]. Несоответствие этих параметров является причиной возникновения краевых напряжений в месте соединения имплантата с окружающей костью. При определенных величинах деформаций, возникающих при нагрузках, может произойти отслоение кости от имплантата, приводящее к некрозу. Поэтому в данной работе были изучены механические и упруго-пластические характеристики кальций-фосфатных поверхностных слоев на титане [152]. Из анализа рисунка 4.5 следует, что характер нагрузочной кривой различен для покрытия и подложки. При постепенно возрастающей нагрузке для поверхностного слоя, содержащего кальций-фосфатные соединения (кривая 2), из-за морфологических особенностей (пористости, развитости поверхности) постепенно происходит нарушение микроструктуры поверхности, обусловленное разрушением стенок пор, в результате чего на кривой 2 (рисунок 4.5)

наблюдаются небольшие изгибы. Микротвердость поверхностного ПЭО-слоя составила 2,2 ГПа, что несколько меньше микротвердости титана VT1-0 (2,7 ГПа). В то же время модуль Юнга для покрытия ($E = 30$ ГПа) почти в 2,5 раза меньше, чем для подложки ($E = 80$ ГПа). Таким образом, сформированное на поверхности титана кальций-фосфатное покрытие имеет более близкие к естественной костной ткани механические характеристики по сравнению с подложкой, что также является важным достоинством получаемых методом ПЭО оксидных гетерогенных слоев. Кальций-фосфатное покрытие в этой ситуации может выполнять функции демпфера, минимизируя вероятность отслоения кости от имплантата при деформациях.

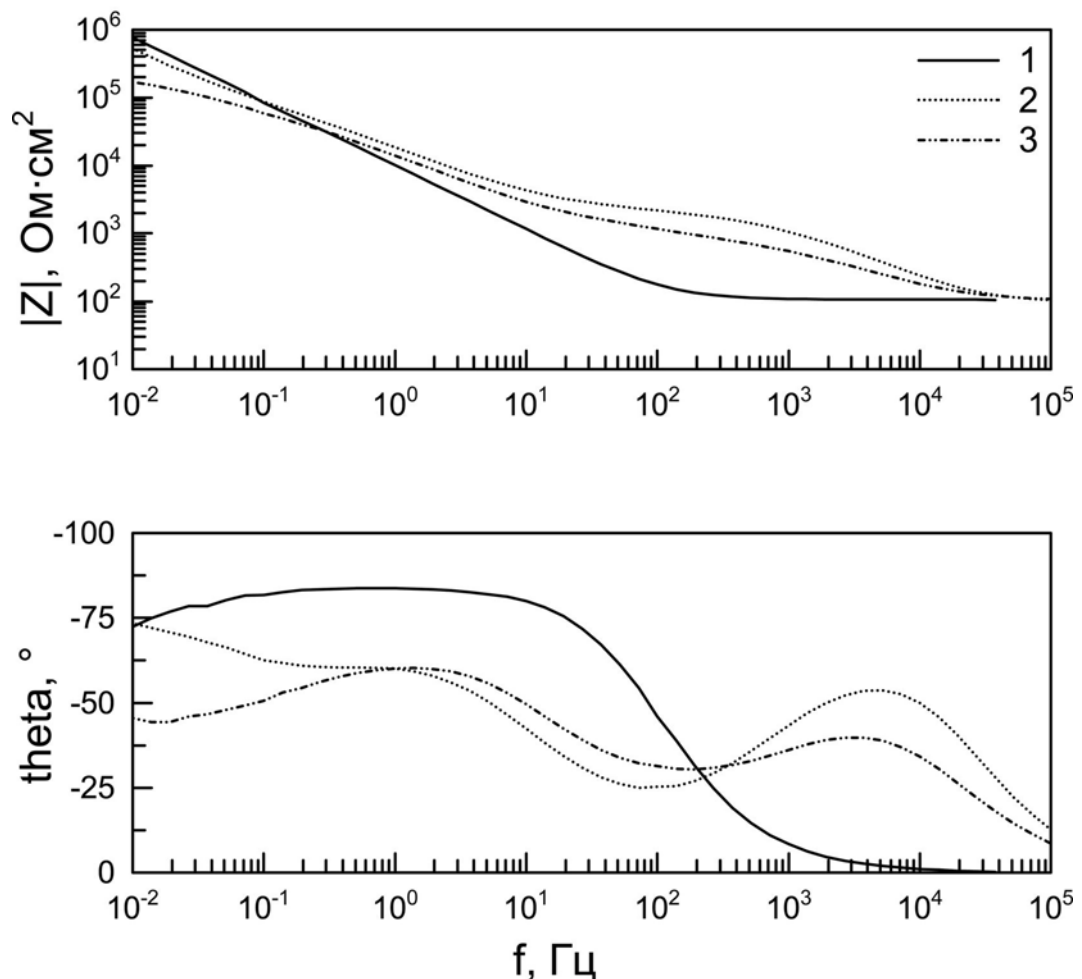


Рисунок 4.3 – Диаграмма Бode для образцов из титана VT1-0, обработанных в цитрат-фосфатном электролите в различных режимах ПЭО: 1 – без покрытия; 2 – в монополярном потенциостатическом режиме; 3 – в биполярном режиме

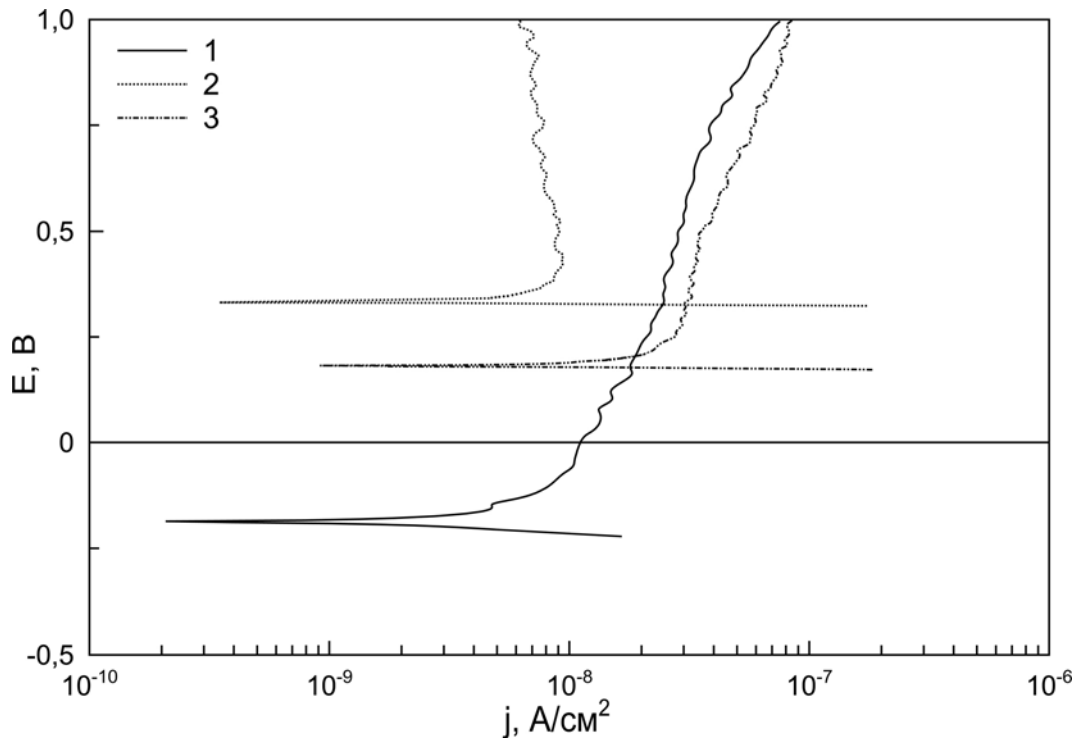


Рисунок 4.4 – Поляризационные кривые для образцов из титана VT1-0 с покрытиями, полученными в различных режимах ПЭО. Условные обозначения см. на рисунке 4.3

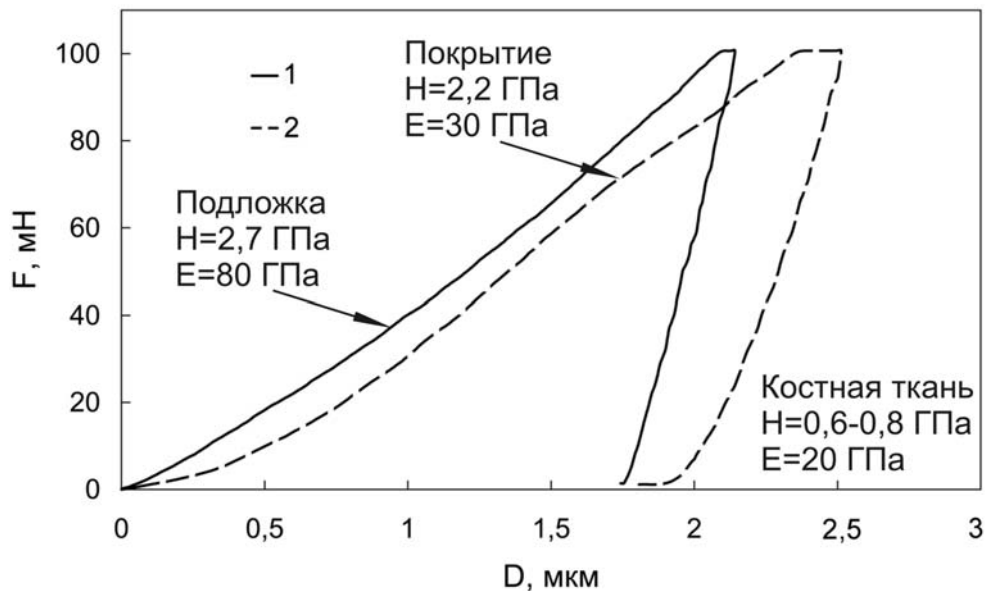


Рисунок 4.5 – Нагрузочно-разгрузочная динамическая зависимость глубины проникновения индентора в образец от нагрузки: 1 – образец без покрытия, 2 – образец с покрытием, полученным в цитрат-фосфатном электролите

Таким образом, показана перспективность формируемых на титане VT1-0 методом ПЭО поверхностных слоев, содержащих гидроксиапатит и фосфаты

кальция и обладающих приемлемой для практического использования морфологической структурой. Полученные данные о фазовом и элементном составе, морфологии, антикоррозионных, механических и упруго-пластических характеристиках исследуемых слоев позволяют предполагать возможность их практического применения в медицине. Формируемые покрытия благодаря своему составу, близкому к минеральному составу костной ткани (в том числе по отношению $Ca/P = 1,4$, сравнимому с отношением, реализуемым в костной ткани, и наличию системы разветвленных пор, могут найти применение в имплантационной хирургии [152]. Оптимальное сочетание факторов, определяющих синтез гидроксиапатита, обеспечивается введением в состав электролита $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$. При добавлении других натриевых солей ортофосфорной кислоты гидроксиапатит в составе покрытий обнаружен не был.

4.2. Формирование биоактивных покрытий на наноструктурированном титане

Учитывая практически важные свойства нанокристаллического 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 гидроксиапатит на поверхности наноструктурированного титана. На основании предварительных результатов [153] была проведена работа по оптимизации составов различных Са-содержащих электролитов и режимов плазменного электролитического оксидирования. Установлено, что методом ПЭО на поверхности наноструктурированного титана ВТ1-0, как и на поверхности крупнокристаллического, в электролитах, содержащих соединения кальция и фосфаты, можно формировать кальций-фосфатные покрытия, в том числе содержащие гидроксиапатит, который повышает биологическую активность имплантата. В результате проведения

поисковых исследований по выбору составов электролитов с целью получения на наноструктурированном титане кальций-фосфатных покрытий, в качестве электролита был выбран раствор, содержащий глицерофосфат кальция $(C_3H_7O_6P)Ca \cdot 2H_2O$ с добавлением ацетата кальция $Ca(CH_3COOO)_2 \cdot H_2O$.

Глицерофосфат кальция был выбран из тех соображений, что в нем высока массовая доля кальция ($\omega(Ca) = 16\%$) по сравнению с другими соединениями, применяющимися в практике ПЭО для получения защитных поверхностных слоев на титане. Например, в глюконате кальция $\omega(Ca) = 9\%$, а в лактате кальция – 13% . Массовая доля кальция и фосфора в ранее разработанном электролите, содержащем цитрат кальция и двузамещенный фосфат натрия (в котором на крупнокристаллическом титане ВТ1-0 были сформированы биоактивные покрытия с гидроксиапатитом), составляет, соответственно, 20% и 5% . Для разработанного электролита, содержащего глицерофосфат кальция и ацетат кальция, массовая доля Ca и P, соответственно, 21% и 8% . Следует отметить, что глицерофосфат кальция отличается от цитрата и глюконата кальция тем, что в состав его молекулы наряду с кальцием входит фосфор. Такой электролит, возможно, будет технологически более приемлем для получения кальций-фосфатных соединений, в том числе гидроксиапатита, в составе поверхностных слоев, так как не требует дополнительного введения в него фосфорсодержащего компонента.

Таким образом, исследования условий формирования гидроксиапатита на наноструктурированном титане проводили в электролите, содержащем глицерофосфат и ацетат кальция в концентрации 30 г/л и 40 г/л , соответственно. Согласно данным рентгенофазового анализа (рисунок 4.6), на поверхности нанокристаллического титана формируется кальций-фосфатное покрытие. По данным энергодисперсионной спектроскопии, элементный состав поверхностных кальций-фосфатных слоев на титане ВТ1-0, как нанокристаллическом, так и крупнокристаллическом, практически идентичен, а отношение Ca/P составляет около 1,7.

Для оценки электрохимических свойств сформированные в указанных условиях покрытия исследовали методами электрохимической импедансной спектроскопии и потенциодинамической поляризации. На рисунке 4.7 приведены диаграммы Боде, а на рисунке 4.8 поляризационные кривые для образцов как крупнокристаллического, так и наноструктурированного титана с покрытиями, сформированными в глицерофосфатсодержащем электролите. Из результатов коррозионных испытаний следует, что поверхности слоев на образцах титана обоих типов характеризуются высокой степенью развитости поверхности и гетерогенностью. В результате такого сочетания модуль импеданса для образцов с покрытием меньше по сравнению с образцами неоксидированного титана (рисунок 4.7). Присутствие трех временных констант (трех перегибов на графике зависимости фазового угла от частоты)

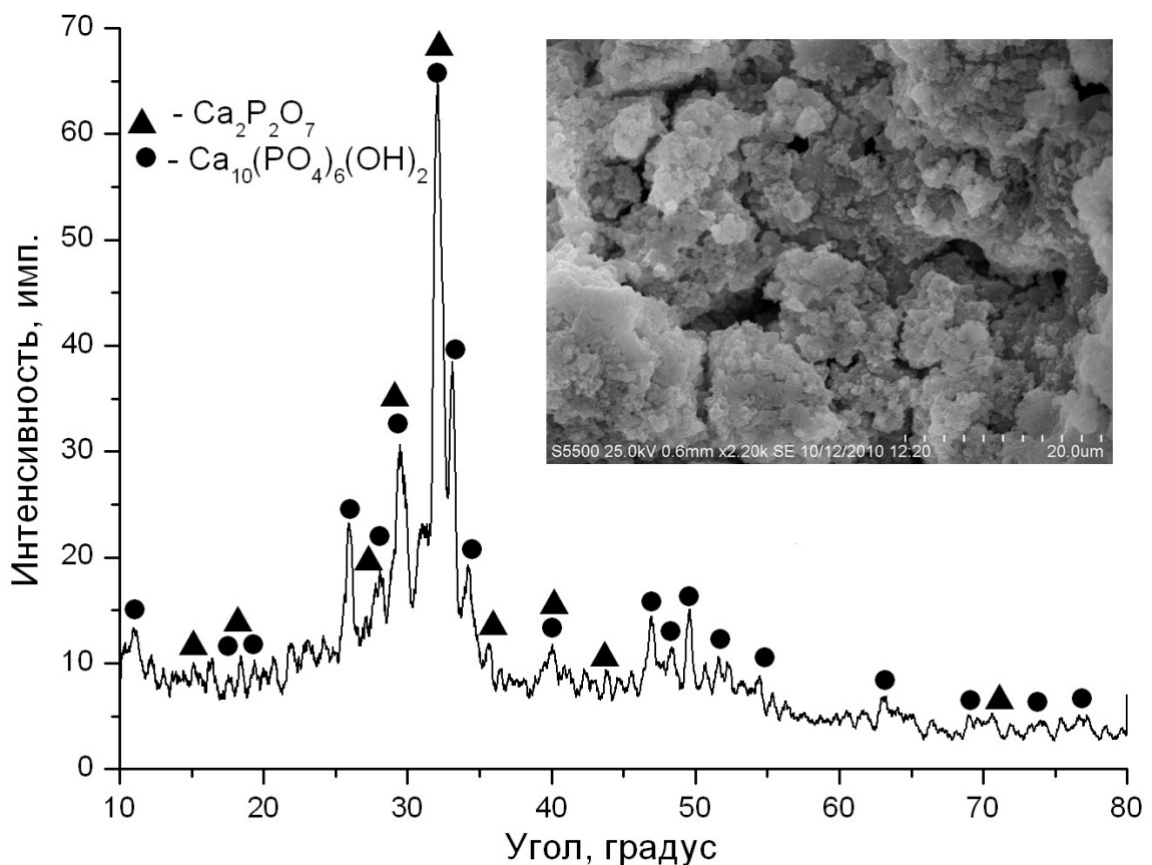


Рисунок 4.6 – Дифрактограмма и СЭМ-изображение поверхности образца наноструктурированного титана с ПЭО-покрытием

говорит о развитости поверхности (перегиб на высоких частотах) и значительной гетерогенности как по составу, так и по толщине. Плотный тонкий беспористый слой на дне пор обеспечивает коррозионную стойкость образцов с биологически активными покрытиями на поверхности. Близость токов коррозии, оцененных из поляризационных кривых (рисунок 4.8), свидетельствует о правильности сделанных выводов. Развитая пористая поверхность полученного покрытия и его состав, близкий к минеральному составу костной ткани, предполагают быстрое вживление имплантата и надежное соединение имплантата с костью.

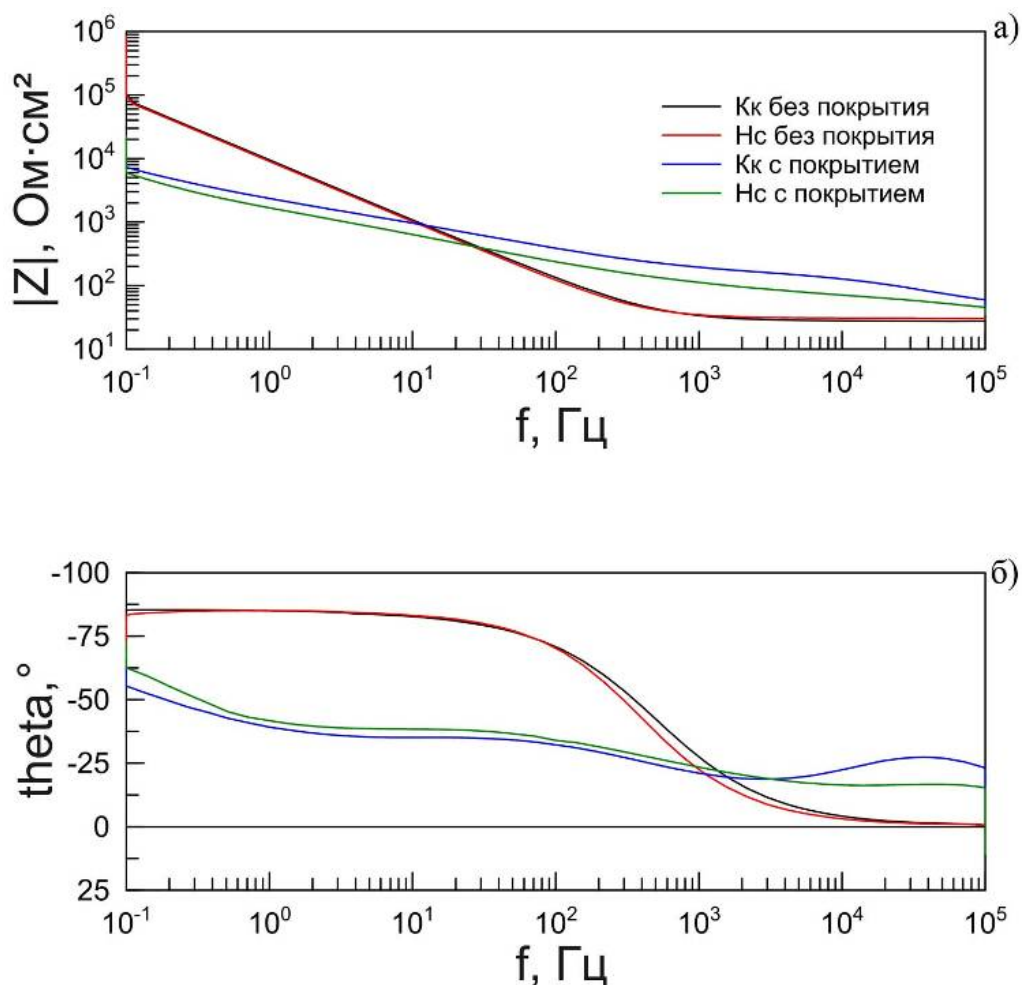


Рисунок 4.7 – Диаграмма Боде для покрытий, полученных в глицерофосфатсодержащем электролите на поверхности образцов из крупнокристаллического (Кк) и наноструктурированного (Нс) титана

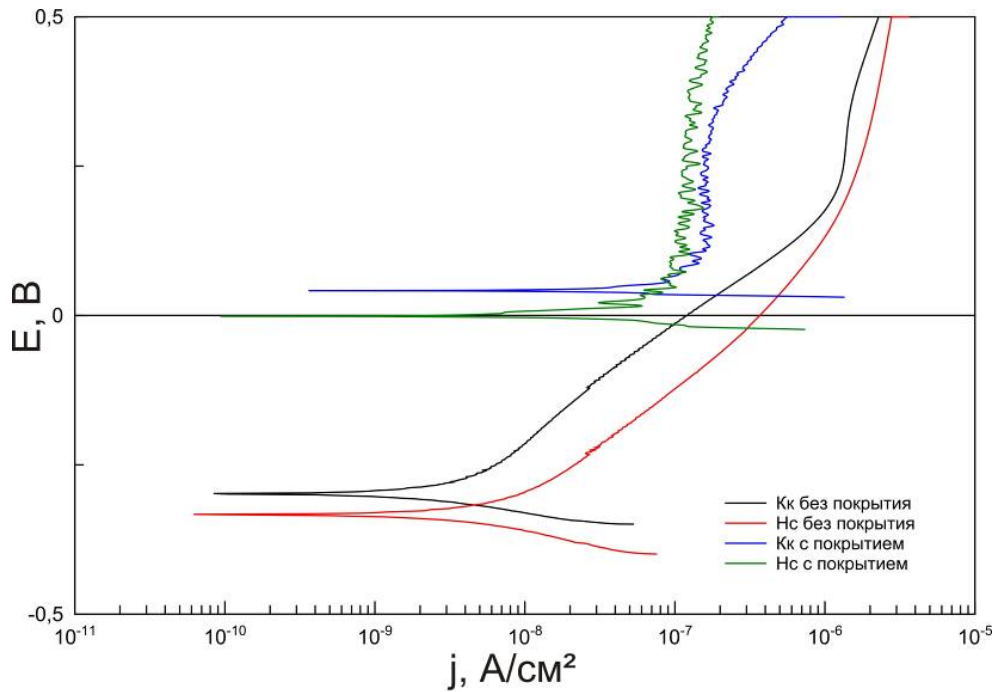


Рисунок 4.8 – Поляризационные кривые для поверхностных слоев, полученных в глицерофосфатсодержащем электролите на поверхности крупнокристаллического (Кк) и наноструктурированного (Нс) титана

В результате проведенных исследований установлено, что сформированное кальций-фосфатное покрытие на поверхности как наноструктурированного, так и крупнокристаллического титана в глицерофосфатсодержащем растворе электролита имеет более близкие к естественной костной ткани механические характеристики по сравнению с подложкой, что также является важным достоинством получаемых методом ПЭО оксидных гетерогенных слоев. Согласно проведенным измерениям, микротвердость поверхностного ПЭО-слоя составила 2 ГПа, что несколько меньше микротвердости титана ВТ1-0. В то же время модуль Юнга для покрытия ($E = 31$ ГПа) почти в 2,5 раза меньше по сравнению с подложкой. Кальций-фосфатное покрытие, в этой ситуации, может выполнять функции демпфера, минимизируя вероятность отслоения кости от имплантата при деформациях.

Исследование термической стабильности кальций-фосфатных покрытий на поверхности наноструктурированного и крупнокристаллического титана, полученных в электролите на основе глицерофосфата кальция (рисунок 4.9),

показало, что данные покрытия вне зависимости от размера зерна подложки обладают стабильностью до 250 °С.

Из анализа данных, представленных на рисунке 4.9, можно сделать вывод, что термическая стабильность обоих типов титана одинакова: при нагреве до температур от 25 °С до 700 °С вид температурной зависимости практически не изменяется. Анализ поведения образцов с покрытием, содержащим гидроксиапатит, позволяет сделать вывод о том, что оба образца с покрытиями устойчивы до температуры 250 °С. Эта данные позволяют проводить предоперационную стерилизацию имплантатов согласно существующим методикам.

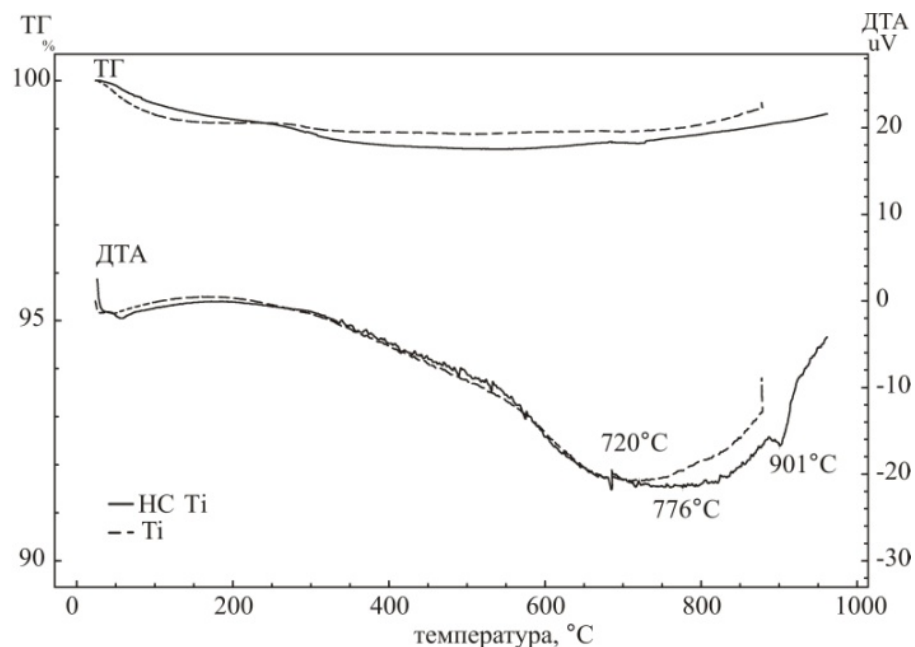


Рисунок 4.9 – Дериwатограмма (кривые ДТА и ТГ) образцов крупнокристаллического (Кк) и наноструктурированного (Нс) титана ВТ1-0 с покрытиями, содержащими гидроксиапатит, при отжиге до 1000 °С

Адгезионные свойства поверхностных слоев были исследованы методом скретч-тестирования на приборе Revetest Scratch Tester. Испытания проводились для кальций-фосфатного покрытия, полученного в глицерофосфатсодержащем электролите на образцах крупнокристаллического и наноструктурированного титана, при начальной нагрузке 1 Н, конечной нагрузке 35 Н, скорость нагружения 7,48 Н/мин, длина трассы 5 мм, тип индентора – Rockwell с радиусом

200 мкм. Покрытия, сформированные на подложках с различным размером зерна, показали соизмеримые результаты. На рисунке 4.10 приведены экспериментальные данные скрэтч-тестирования для кальций-фосфатного покрытия на образцах наноструктурированного титана.

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. Покрытие имеет довольно развитую, пористую структуру и толщину порядка 60 мкм. Это и обуславливает высокие значения коэффициента трения до контакта индентора с материалом подложки.

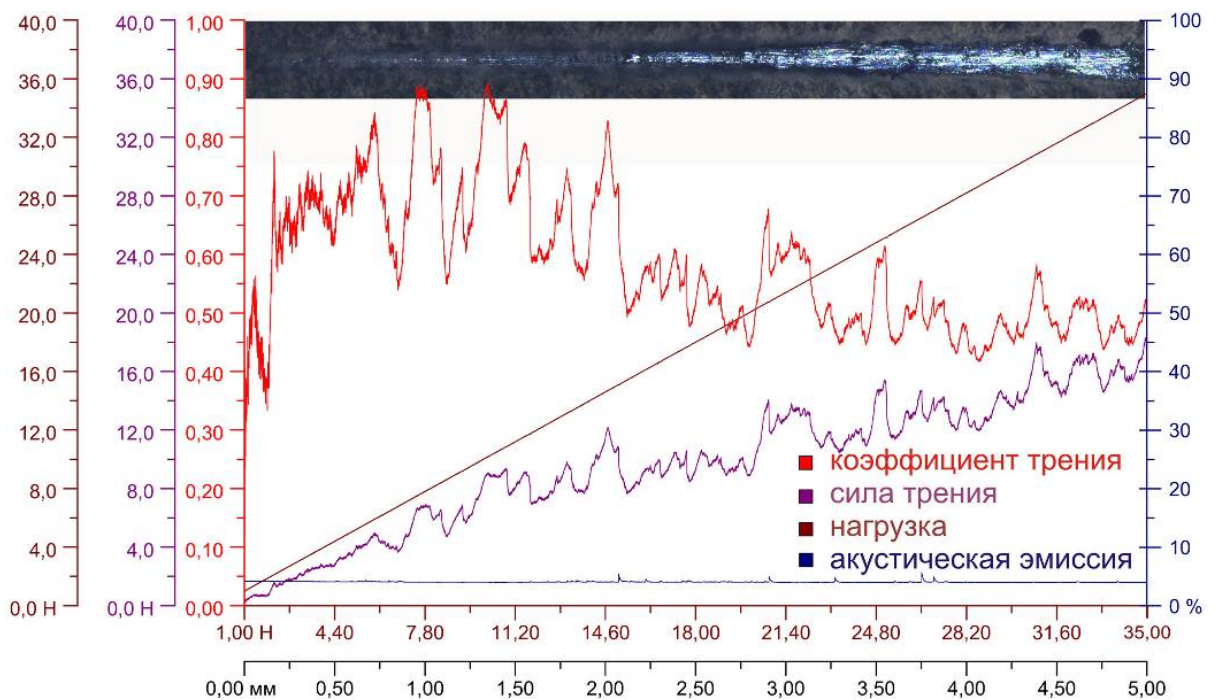


Рисунок 4.10 – Адгезионные характеристики кальций-фосфатных покрытий на титане

В результате проведения исследований развиты физико-химические основы формирования (направленный подбор состава электролита) ПЭО-слоев, содержащих гидроксиапатит на поверхности наноструктурированного титана, перспективного для имплантологии. Исследования защитных поверхностных слоев на наноструктурированном титане, полученных впервые в глицерофосфатсодержащем растворе электролита, показали, что поверхностные

слои содержат в своем составе гидроксиапатит при отношении $\text{Ca/P} = 1,7$, обладают механической прочностью и термостабильностью до $250\text{ }^\circ\text{C}$ аналогично крупнокристаллическому титану [154]. Антикоррозионные свойства, а также механические и адгезионные характеристики кальций-фосфатных поверхностных слоев, полученных методом ПЭО на наноструктурированном титане, соизмеримы с таковыми для образцов крупнокристаллического титана.

4.3. Определение биоактивности кальций-фосфатных покрытий *in vitro*

Обязательным требованием для применения любого материала в медицине является предварительное тестирование в условиях *in vitro* и *in vivo*. Испытания *in vivo* продолжаются длительный период времени – до нескольких месяцев. Поэтому обычно проводят предварительное тестирование *in vitro*, которое в ходе простых экспериментов позволяет разделить материалы по степени биоактивности в доступных для проведения лабораторных условиях.

Для оценки биологической активности образцов с ПЭО-покрытиями использовали выдержку исследуемых образцов в искусственной среде, имитирующей плазму крови человека (Simulated Body Fluid – SBF) [152]. Условия проведения эксперимента описаны в разделе 2.3.8.

На рисунке 4.11 представлены СЭМ-изображения образцов до и после проведения испытаний в SBF-растворе. После выдержки покрытий в насыщенном по ионам Ca^{2+} и PO_4^{3-} растворе происходит минерализация и осаждение кристаллов кальций-фосфатных соединений на активных центрах поверхности покрытия.

Как следует из анализа приведенных фотографий, после выдержки покрытия в растворе, имитирующем по ионному составу плазму человеческой крови, поверхность образца выравнивается и происходит формирование чешуйчатой структуры гидроксиапатита, присутствие которого подтверждается методом рентгенофазового анализа.

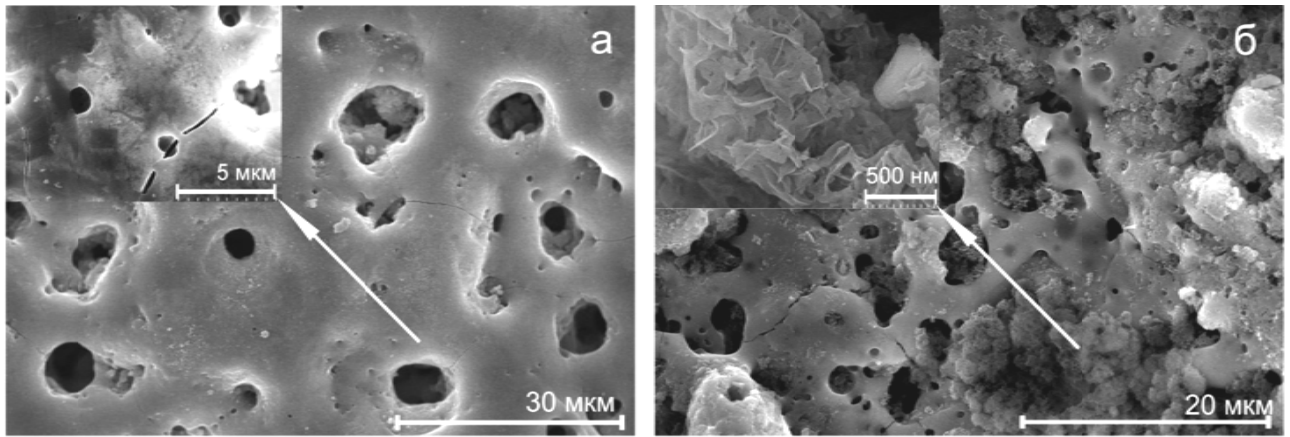


Рисунок 4.11 – СЭМ-изображения поверхности образца крупнокристаллического титана BT1-0 с покрытием до (а) и после (б) выдержки в SBF-растворе в течение 30 сут. Вставками иллюстрируется наноразмерная субструктура изучаемой поверхности

ПЭО-слои, сформированные в ацетатно-фосфатном электролите, показывают сходную активность при испытании в SBF-растворе, поэтому на рисунке 4.11 приведены изображения поверхности только для глицерофосфатсодержащего электролита.

Полученные результаты согласуются с данными, приведенными в работах [108, 155-158], в которых констатируется, что кальций-фосфатные покрытия с определенным уровнем шероховатости могут индуцировать образование кристаллического гидроксиапатита. Авторами работы [158] было показано, что при выдержке образца с покрытием в SBF-растворе на поверхности покрытия наблюдается рост гидроксиапатита, образование которого является критерием биоактивности пленки. Покрытие улучшает биоактивность оксидной пленки и стимулирует биологические реакции *in vivo*, ускоряя рост кости и уменьшая время вживления имплантата. Как известно, полученные методом ПЭО покрытия на титане во многих случаях содержат помимо кальций-фосфатных соединений еще и диоксид титана (в модификации рутил и анатаз). Изоэлектрическая точка рутила $4,6 \pm 0,4$; анатаза $5,9 \pm 0,2$ [159]. В SBF-растворе рутил и анатаз могут заряжаться отрицательно и адсорбировать электростатически ионы Ca^{2+} на поверхности покрытия. Последние, притягивая анионы OH^- и HPO_4^{2-} , создают пересыщение фосфатом кальция в приповерхностном слое покрытия. При определенных

условиях фосфат кальция может минерализоваться из раствора с образованием гидроксиапатита.

Методом энергодисперсионной спектроскопии (рисунке 4.12) исследованы образцы с кальций-фосфатным покрытием до и после выдержки в искусственном физиологическом растворе в течение 30 суток. ЭДС-диаграмма показывает отсутствие сигнала Ti после выдержки образца в SBF-растворе, что объясняется образованием существенного по толщине слоя гидроксиапатита. Также наблюдается увеличение концентрации Ca и отношения Ca/P на поверхности образца, находящегося в SBF-растворе в течение 30 суток.

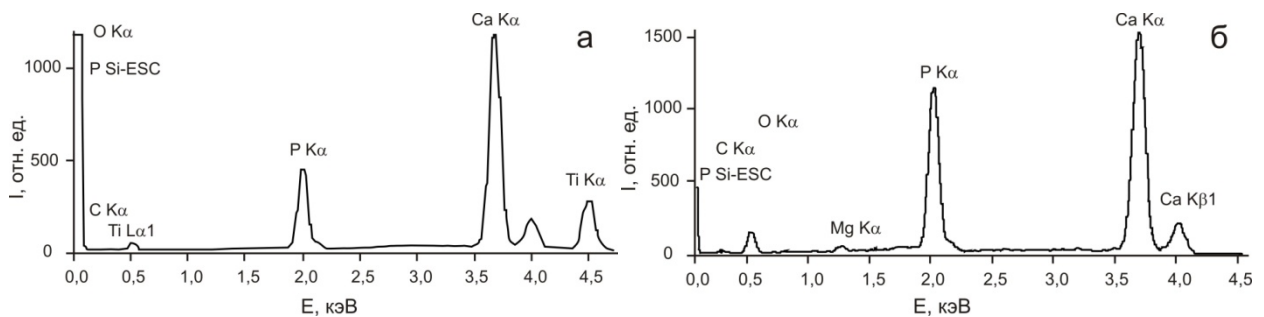


Рисунок 4.12 – Данные энергодисперсионной спектроскопии ПЭО-покрытия: а – до, б – после выдержки в SBF-растворе в течение 30 суток

Образцы крупнокристаллического и наноструктурированного титана показали близкие результаты по проверке на биоактивность, поскольку имеют схожие элементный и фазовый составы, а также морфологию поверхности. В результате проведенных экспериментов было установлено, что формирование кристаллов гидроксиапатита на поверхности кальций-фосфатных покрытий, сформированных в гипофосфитсодержащем электролите, происходит не по всей поверхности однородно, а лишь на отдельных участках (рисунке 4.13). Представленные данные свидетельствуют, вероятно, о неоднородном распределении соединений, обеспечивающих биологическую активность поверхности. В данном случае возникает необходимость в активации поверхности для ускорения образования гидроксиапатита. Это можно сделать при помощи обработки изделий в щелочных растворах для образования на поверхности

покрытия свободных гидроксильных групп, ускоряющих процесс формирования гидроксиапатита.

Для повышения активности поверхностных ПЭО-слоев на титане образцы с этими покрытиями были обработаны кипячением в 1М растворе NaOH в течение 30 мин. После выдержки в SBF-растворе в течение 30 суток такие образцы показали наибольшую активность биомиметических процессов на их поверхности (рисунок 4.14). В этом случае наблюдается сглаживание поверхности и выравнивание кратеров и дефектов, образец покрывается однородным слоем гидроксиапатита. При большом увеличении видны отдельные чешуйки размером около 150 нм. Анализируя полученные экспериментальные и литературные данные [132], а также форму и размер «чешуек» гидроксиапатита можно заключить, что полученные нами покрытия являются биоактивными, поскольку на поверхности материала формируется гидроксиапатит.

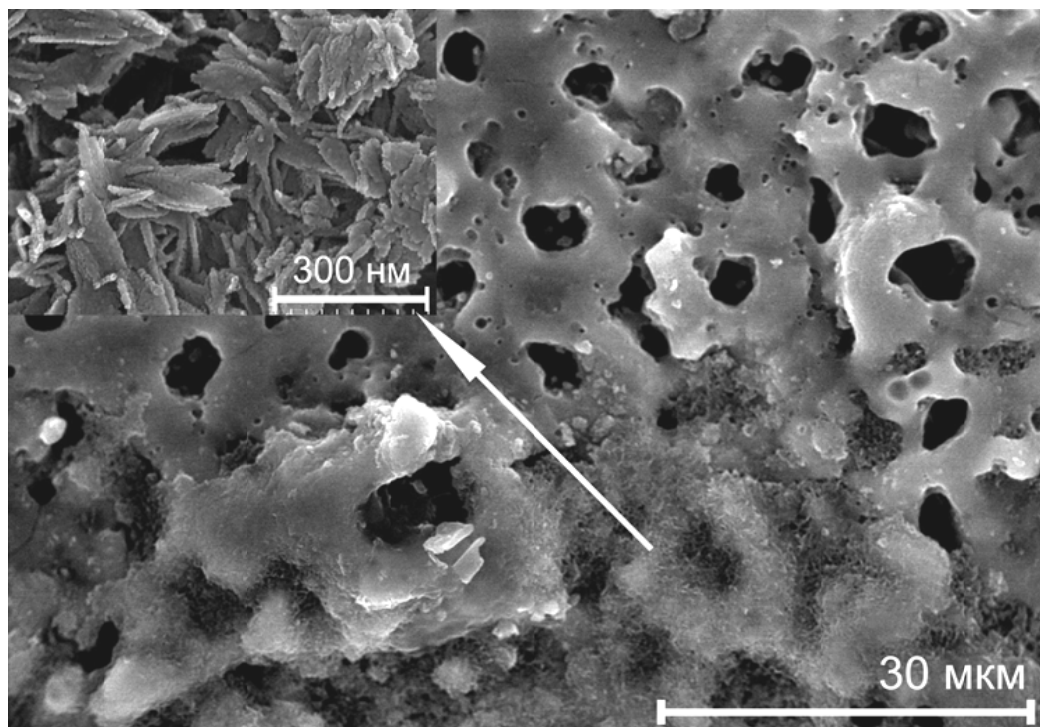


Рисунок 4.13 – СЭМ-изображение поверхности кальций-фосфатного покрытия на поверхности наноструктурированного титана после выдержки в растворе SBF в течение 30 суток

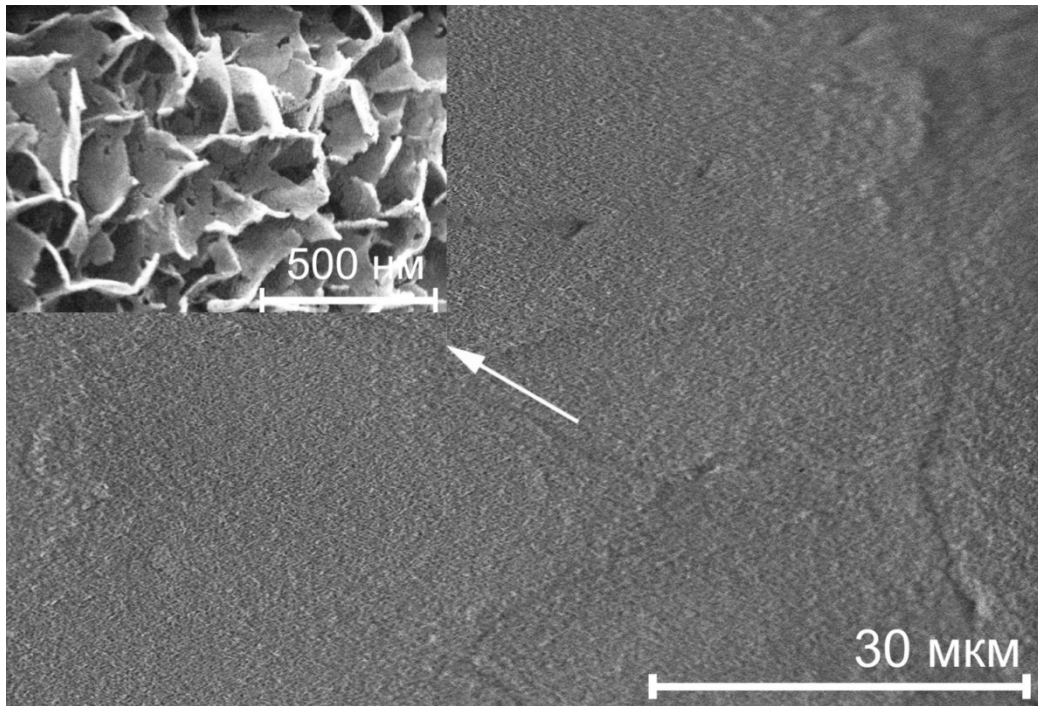


Рисунок 4.14 – СЭМ-изображение поверхности образца с ПЭО-покрытием после обработки кипячением в 1М растворе NaOH и последующей выдержки в SBF-растворе в течение 30 суток. Вставкой иллюстрируется наноразмерная субструктура изучаемой поверхности

В результате проделанной работы мы пришли к выводу, что размер зерна материала подложки влияет несущественно на динамику роста гидроксиапатита на поверхности кальций-фосфатного покрытия в искусственном физиологическом растворе. Образцы наноструктурированного и крупнокристаллического титана ВТ1-0 имеют одинаковый состав и морфологию поверхности и схожие результаты испытаний на биологическую активность.

Таким образом, на поверхности исследуемых образцов, содержащих синтезированные методом ПЭО кальций-фосфатные соединения, после пребывания в искусственном физиологическом растворе происходит образование гидроксиапатита, что подтверждает их биоактивность.

4.4. Определение биоактивности кальций-фосфатных покрытий *in vivo*

Установлено, что эффективность остеоинтеграции, т. е. врастания имплантатов, зависит от многих факторов, в том числе от состояния кости, от

структуры и свойств имплантируемого изделия, его адгезии, механических свойств, процессов, протекающих на границе раздела покрытие / костная ткань и покрытие / имплантат [160], что можно выяснить только в результате прямого эксперимента на биологическом объекте.

В результате проработки различных кальцийсодержащих электролитических систем, а также режимов оксидирования показано, что методом ПЭО на поверхности титана VT1-0 можно формировать различные кальций-фосфатные покрытия, в том числе содержащие гидроксиапатит.

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 дисков не вызвала побочных эффектов, связанных с воспалительными и аллергическими явлениями. Было установлено, что для возникновения остеоиндуктивных свойств в покрытии необходимо наличие в нем соединений фосфора и кальция в определенном количественном соотношении. Однако, судя по результатам эксперимента, этот фактор является не единственным значимым параметром. Важны также шероховатость кальций-фосфатного слоя и абсолютная концентрация Са и Р в покрытии [149].

На гистологических препаратах тканевых пластинок, выросших на искусственных поверхностях с ПЭО-слоями, при окраске гематоксилином-эозином выявлена грубоволокнистая костная ткань с полостями, заполненными костным мозгом (рисунок 4.15).

Количественные параметры гистологического состава (кость, костный мозг) тканевых пластинок, показатель шероховатости R_a , фазовый состав и отношение Са/Р покрытий приведены в таблице 4.2. Из анализа этих 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 рентгенофазового анализа, 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 Ca/P в образцах, содержащих только TiO_2 . В составе образца 5 (таблица 4.2) обнаружены гидроксиапатит и фосфат кальция. Отношение Ca/P в нем 1,92. Критерием оценки биоактивных свойств полученных покрытий является количество сформированной на их поверхности костной ткани.

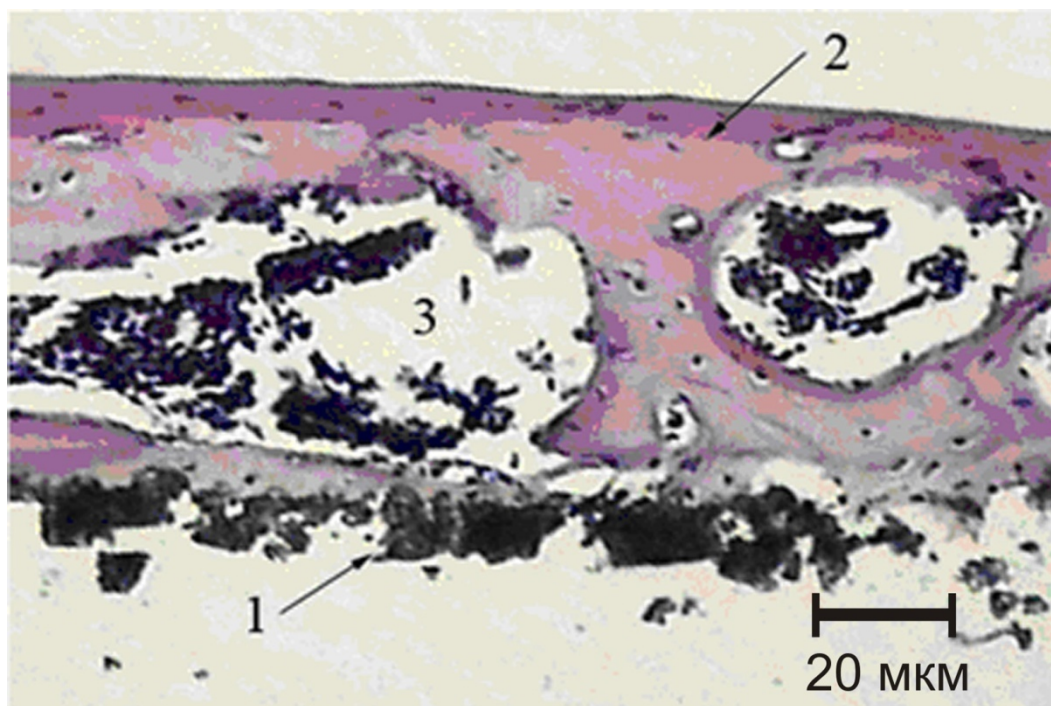


Рисунок 4.15 – Морфологическая структура тканевых пластинок, выросших на кальций-фосфатных покрытиях в тесте эктопического костеобразования у мышей. 1 – фрагменты кальций-фосфатного покрытия, 2 – костная пластинка, 3 – лакуны, заполненные красным костным мозгом

В результате исследования влияния параметра шероховатости R_a на количественные показатели остеогенеза *in vivo* не было выявлено линейной зависимости показателей площади кости (S кости, мм^2) и площади костного мозга (S костного мозга, мм^2) от параметра шероховатости искусственных поверхностей R_a (рис. 4.16). Однако на графике обнаружены точки экстремума биоактивности при шероховатости покрытий в диапазоне 2–3 мкм.

Таблица 4.2 – Некоторые параметры исследуемых в условиях *in vivo* поверхностных ПЭО- слоев

№ образца	Состав электролита, г/л; режим поляризации	Количество срезов	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	17	2,15	TiO ₂ + рентгено-аморфная 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	17	2,86	TiO ₂ + рентгено-аморфная 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	11	9,13	TiO ₂ + рентгено-аморфная 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	9	1,97	TiO ₂ + рентгено-аморфная 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; биполярный	17	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

Кроме шероховатости важную роль в образовании костной ткани, как мы отметили, играют абсолютное содержание в покрытии фосфора и кальция и их соотношение. Согласно данным таблицы 4.2, максимальное костеобразование наблюдалось для образцов 4 и 5. При различии их фазового состава (TiO_2 , рентгеноаморфная фаза для образца 4 и гидроксиапатит, $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ для образца 5) отношение Ca/P у них высокое. В образце 3 также высокое значение отношения Ca/P , но содержание Ca и P меньше по сравнению с образцами 4 и 5. К тому же параметр шероховатости R_a для образца 3 имеет максимальное значение (9,13 мкм) среди исследуемых поверхностей. В то же время образцы 1 и 2 при оптимальной величине шероховатости R_a – 2,15 мкм и 2,86 мкм, соответственно (рисунок 4.16, таблица 4.2), имеют существенно более низкие величины концентрации Ca и P , а также отношение Ca/P , чем образцы 4 и 5.

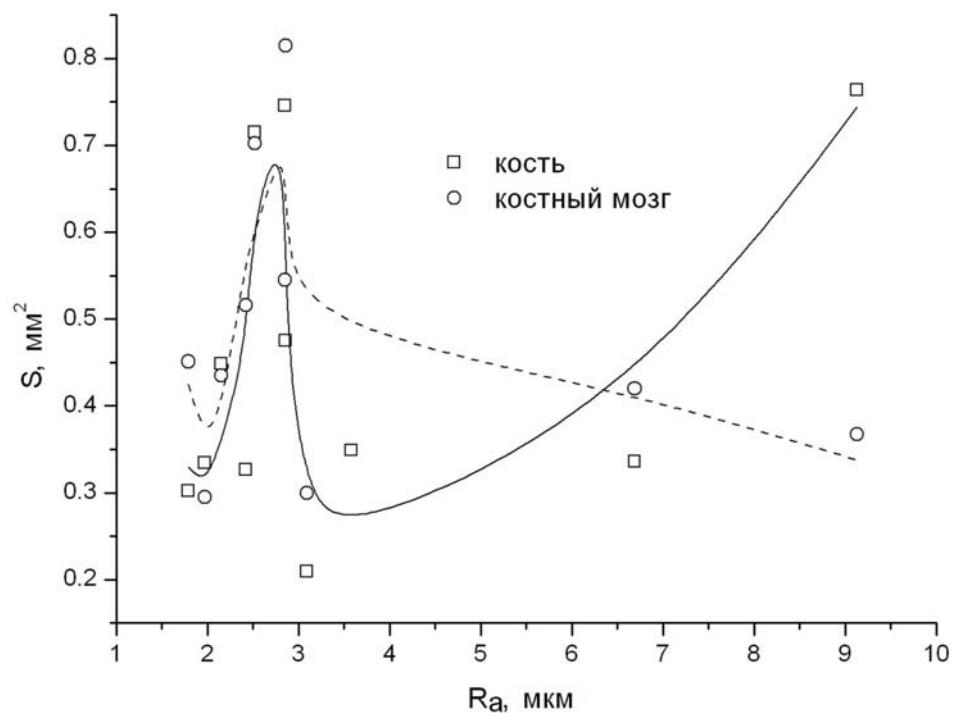


Рисунок 4.16 – График зависимости площади кости и костного мозга от шероховатости покрытия

Вероятно, в силу этих причин рост костной ткани на этих поверхностных слоях (образцы 1, 2, 3) невысокий. Таким образом, значение шероховатости поверхности является важным, но недостаточным условием костеобразования.

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.

4.5. Исследование влияния физико-химических параметров кальций-фосфатных ПЭО-покрытий на молекулярно-клеточные и тканевые аспекты остеогенной дифференцировки стромальных стволовых клеток

В последнее время в зарубежной литературе начали появляться единичные работы, посвященные изучению цитокинового профиля, секретируемого стромальными, в том числе стволовыми, клетками [55]. Все больший интерес исследователи стали проявлять к пониманию возможных механизмов цитокиновой регуляции процессов физиологического и репаративного ремоделирования костной ткани. В связи с этим в сравнительном аспекте мы в рамках совместного проекта с коллективом под руководством д.ф.-м.н., профессора Ю.П. Шаркеева изучали морфо-функциональный профиль культуры мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток (ММСК) человека при контакте с кальций-фосфатными покрытиями с различной шероховатостью, полученными методом ПЭО [161].

Данные покрытия имеют идентичный фазовый состав: TiO_2 – рутил, анатаз; $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ – гидроксиапатит; $Ca_3(PO_4)_2$ – трикальцийфосфат.

Исследование морфологии сформированных гетерослоев показало, что покрытия негомогенны по составу: наряду с ровными плотными областями темного цвета встречаются чешуйчатые светлые образования, наросты и углубления (рисунок 4.17 а, б, в). Элементный состав покрытий был исследован выборочно в различных областях (рисунок 4.17).

При изучении морфологии и элементного состава отдельных участков покрытий было обнаружено, что содержание элементов по поверхности образца неравномерно (рисунок 4.17). Содержание фосфора в покрытии по отдельным участкам примерно одинаково (5–6 ат. %), в то время как кальций распределен неравномерно. Наибольшее содержание кальция (23–28 ат. %) отмечается в светлых образованиях (рисунок 4.17 б, точки 2 и 3) на участках поверхности, имеющих чешуйчатую форму. С большой вероятностью в состав этих участков входит смесь гидроксиапатита и трикальцийфосфата. Более высокое значение отношения кальция к фосфору по сравнению с величинами, характерными для фосфатов (1,5 – 2), вероятно, свидетельствует о присутствии в покрытии титаната кальция. Титан на различных участках покрытия варьируется в пределах 4 – 15 ат. %. Низкое содержание кальция на отдельных участках покрытия – 6,99 ат. % (точка 7 на рисунке 4.17 в) и высокое содержание углерода в пленке может быть объяснено повышенным содержанием в составе покрытия оксида титана и карбоната кальция. Количество углерода в покрытии варьирует от 12 до 25 ат. %. В условиях высокоэнергетического ПЭО-процесса ацетат-ионы, входящие в состав электролита, разрушаются, обеспечивая высокую концентрацию углеродсодержащей компоненты в поверхностном слое. Исследование морфологии покрытий методом сканирующей электронной микроскопии показало, что поверхность развитая, имеет поры, наличие которых благоприятно для создания композитных гетероструктур, а также врастания в них костной ткани и формирования более прочного соединения имплантата с костью (рисунок 4.17 а). Установлен следующий усредненный состав покрытия: Са – 23–28 ат. %, Р – 5–6 ат. %, Тi – 4–15 ат. %, С – 12–25 ат. %, О – 43–55 ат. %. Скорее всего, биологическая активность полученных покрытий определяется совокупностью факторов, связанных с морфологией, химическим, фазовым и элементным составом (соотношением кальция к фосфору, абсолютным содержанием этих элементов и титана в покрытии), шероховатостью.

Существует прямое (свойства поверхности) и опосредованное, через продукты деградации, влияние имплантатов на жизнедеятельность клеток и

тканей. Ранее, в тестах эктопического костеобразования, использованные в работе [149] имплантаты с ПЭО-покрытиями индуцировали остеогенную активность клеток костного мозга мышей, что подчеркивает их влияние на пул ММСК.

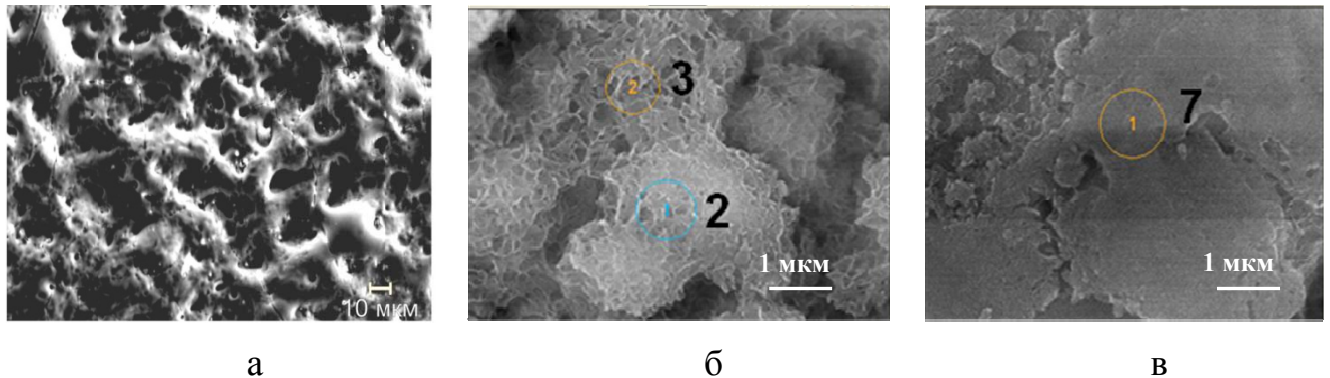


Рисунок 4.17 – СЭМ-изображения поверхности образцов с ПЭО-покрытиями на титане: а – общий вид поверхности; б, в – фото различных участков покрытия с выделенными областями (обозначены цифрами), в которых проводился ЭДС-анализ

Постановка текущего эксперимента *in vitro* позволила выяснить морфофункциональное состояние популяций клеток, прикрепляющихся к поверхности покрытия, а также к пластику вне зоны непосредственного контакта с искусственным материалом, находящимся в культуральной среде. В последнем случае реакция клеточной культуры связана с суммарным воздействием, опосредованным через секреторную активность клеток и продукты деградации искусственного материала. Результаты показали, что культура стромальных стволовых клеток реагировала на добавление в лунки титановых дисков с кальций-фосфатным ПЭО-покрытием усилением секреции фактора некроза опухоли $TNF-\alpha$ (таблица 4.3). В то же время выход интерлейкинов $IL-1$ и $IL-6$ достоверно снижался.

Кальций-фосфатные покрытия выступали для клеток в качестве источника минеральных веществ, поскольку в их присутствии резко (в 1,5 раза) возрастало, в сравнении с культурой клеток на пластике, содержание фосфатных PO_4^{3-} -групп в культуральной жидкости за счет клеточной деградации поверхности. Фосфатные группы являются активными регуляторами жизнедеятельности стволовых и

зрелых клеток костного мозга и кости. Их концентрация в биологических жидкостях взаимосвязана с содержанием ионов кальция, в том числе за счет образования апатитов и их отложения в костном матриксе. В данном эксперименте увеличение неорганического фосфора в биологической среде без изменения концентрации кальция свидетельствовало, по-видимому, о растворении покрытий, дефицитных по катионам. Можно предполагать, что именно растворимость / резорбция покрытия индуцирует секреторную активность ММСК. Действительно, использованные в экспериментах *in vitro* диски с кальций-фосфатным покрытием активно растворяются в модельных биологических жидкостях и стимулируют костеобразование *in vivo*. Тем не менее, согласно корреляционному анализу (таблица 4.4), при повышении шероховатости кальций-фосфатных покрытий концентрация кальция в межклеточной жидкости снижается ($r_s = -0,94$; $n = 6$; $<0,005$).

Таким образом, сложный рельеф, по-видимому, увеличивает вероятность отложения аморфных фосфатов кальция на поверхности изделий. В свою очередь, физический (R_a) и химический (уровень концентрации кальция) факторы тесно связаны с индексами метаболического (ЩФ) и функционального (интерлейкины) состояния клеток. Изменение метаболического (функционального) статуса клеток является непременным условием их адаптивной реакции на контакт с раздражителями [161].

Ответ клеток *in vitro* на контакт с искусственными поверхностями, включая цитокиновый профиль, активно изучается и различается в зависимости от свойств искусственных материалов. Известна секреция провоспалительных молекул TNF- α , IL-1 и IL-6 3-суточной культурой некоммутированных ММСК на пластике в процессе ранней пролиферации и дифференцировки клеток. Контакт с кальций-фосфатным ПЭО-покрытием на титане, согласно данным, представленным в таблице 4.4, модулировал их провоспалительную функциональную активность, также направленную *in vivo* на запуск процессов молекулярного ремоделирования как кости, так и имплантата. ЩФ считается маркером остеобластов, дифференцирующихся в процессе культивирования из стромальных прекурсоров.

Таблица 4.3 – Метаболические и молекулярные показатели культуры пренатальных клеток легкого человека при 4-суточном культивировании на кальций-фосфатном покрытии, нанесенном методом ПЭО, $X \pm SD(m)$

Группа	R_a , мкм	Число ЩФ клеток на диске в 1 мм ²	Концентрация в супернатантах, пг/мл								
			Са, мМ/л	Р неорг., мМ/л	ЩФ, Е/л	TNF α	IL-1 β	IL-6	IFN γ	IL-2	IL-4
Фибробластоподобные клетки на пластике	–	–	1,20 \pm 0,12 (0,07) $n = 3$	0,98 \pm 0,09 (0,05) $n = 3$	35,43 \pm 1,07 (0,62) $n = 3$	3,44 \pm 0,40 (0,23) $n = 3$	0,60 \pm 0,22 (0,13) $n = 3$	5,16 \pm 0,99 (0,57) $n = 3$	2,88 \pm 0,26 (0,15) $n = 3$	24,0 \pm 2,98 (1,72) $n = 3$	0,17 \pm 0,16 (0,09) $n = 3$
ПЭО-покрытия	2,08 \pm 1,43 (0,58) $n = 6$	50 \pm 21 (9) $n = 6$	1,11 \pm 0,22 (0,09) $n = 6$	1,45 \pm 0,07* (0,03) $n = 6$ <0,0006	29,32 \pm 4,32 (1,93) $n = 5$	6,52 \pm 1,60* (0,65) $n = 6$ < 0,015	0,03 \pm 0,17* (0,07) $n = 6$ <0,004	3,06 \pm 0,53* (0,22) $n = 6$ <0,004	3,79 \pm 2,29 (0,94) $n = 6$	23,13 \pm 8,51 (3,47) $n = 6$	-0,025 \pm 0,11 (0,04) $n = 6$

* различия с клетками на пластике по U -критерию Манна–Уитни.

Обозначения: ЩФ – щелочная фосфатаза, TNF α – фактор некроза опухоли-альфа, IFN γ – фактор интерферона-гамма, IL-1 β , IL-6, IL-2, IL-4 – интерлейкины.

Таблица 4.4 – Матрица корреляционных связей молекулярных параметров культуральной среды при 4-суточном культивировании стромальных стволовых клеток на образцах ВТ1-0 с кальций-фосфатным ПЭО-покрытием

Показатели	R_a	Число ЩФ + клеток на диске	П-2	П-4	Кальций	Щелочная фосфатаза
R_a		–	$r_s = -0,89;$ $n = 6;$ $< 0,019$	–	$r_s = -0,94;$ $n = 6;$ $< 0,005$	$r_s = -1,0;$ $n = 6;$ $< 10^{-6}$
Число ЩФ + клеток на диске	–		–	$r_s = 0,81;$ $n = 6;$ $< 0,05$	–	–
П-2	$r_s = -0,89;$ $n = 6;$ $< 0,019$	–		–	$r_s = 0,83;$ $n = 6;$ $< 0,042$	$r_s = 0,89;$ $n = 6;$ $< 0,019$
П-4	–	$r_s = 0,81;$ $n = 6;$ $< 0,05$	–		–	–
Кальций	$r_s = -0,94;$ $n = 6;$ $< 0,005$	–	$r_s = 0,83;$ $n = 6;$ $< 0,042$	–		$r_s = 0,95;$ $n = 6;$ $< 0,005$
Щелочная фосфатаза	$r_s = -1,0;$ $n = 6;$ $< 10^{-6}$	–	$r_s = 0,89;$ $n = 6;$ $< 0,019$	–	$r_s = 0,95;$ $n = 6;$ $< 0,005$	

В связи с тем, что секреция ЩФ в жидкую среду не возрастала (таблица 4.3), можно считать, что на искусственных поверхностях ММСК приобретали фибробластоподобную морфологию, но в функциональном плане оставались недифференцированными. Оптическая микроскопия в проходящем свете (для прозрачных объектов) показала, что в культуральной среде, с дисками или без таковых, стромальные стволовые клетки практически не проявляли фибробластоподобную морфологию. В единичных случаях через 4 суток клонирования округлые клетки различного диаметра (от 10 до 40 мкм) начинали образование мелких выростов цитоплазмы в виде ложноножек. Клетки слабо окрашивались щелочной фосфатазой, что подчеркивает их незрелое состояние (рисунок 4.18 а). Оптическая микроскопия в отраженном свете (для непрозрачных объектов) подтвердила слабое созревание культуры ММСК и на кальций-фосфатных покрытиях (рисунок 4.18 б).

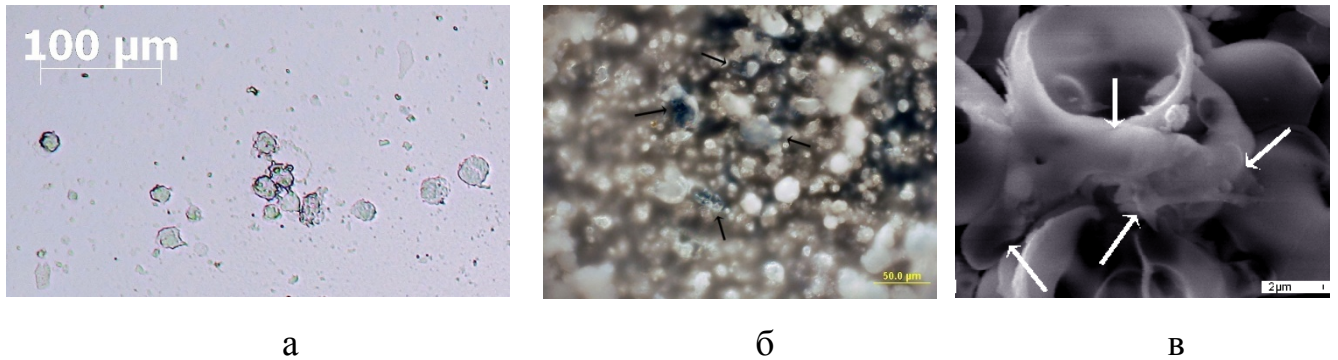


Рисунок 4.18 – Культура ММСК на кальций-фосфатных покрытиях; а – состояние культуры ММСК через 4 сут культивирования на пластике; б – расположение окрашенных на щелочную фосфатазу стромальных стволовых клеток на поверхности кальций-фосфатного покрытия; в – РЭМ стромальных стволовых клеток на поверхности ПЭО-покрытия (растровый электронный микроскоп)

Большая площадь поверхности (показатель активного распластывания клеток) и незначительная стимуляция клеточной ЩФ свидетельствуют об отсутствии коммутирования стромальных стволовых клеток. Другими словами, ММСК остаются преимущественно незрелыми.

При этом стволовые клетки имеют фибробластоподобную морфологию и располагаются в основном на сферолитах или их боковых поверхностях (отмечено стрелками на рисунке 4.18 в).

Таким образом, проведен анализ влияния физико-химических параметров покрытий на остеогенную дифференцировку стромальных стволовых клеток и продукции костного матрикса. Изучено влияние фазового и элементного состава и шероховатости кальций-фосфатных поверхностных слоев на механизмы дифференцировки культуры стволовых стромальных клеток в системе *in vitro*. Выявлено, что в условиях контакта фибробластоподобных клеток с кальций-фосфатными покрытиями их шероховатость и химический состав являются важнейшими параметрами, определяющими влияние покрытий на остеогенную дифференцировку клеточно-тканевого уровня.

ГЛАВА 5. БИОРЕЗОРБИРУЕМЫЕ ПОКРЫТИЯ НА СПЛАВЕ МАГНИЯ МА8

5.1. Формирование биорезорбируемых покрытий на сплаве МА8

Разработка способов формирования покрытия, являющегося биологически активным (ускоряющим остеогенез и остеоинтеграцию кости), с одной стороны, и антикоррозионным защитным (снижающим скорость растворения магниевого имплантата в физиологической среде), с другой, является важной научно-практической задачей, решение которой существенно ускорит прогресс "магниевого" имплантационной хирургии.

Метод плазменного электролитического оксидирования позволяет получать кальций-фосфатные покрытия на магниевых сплавах. Такие покрытия могут обладать биоактивностью и имеют перспективу применения в медицине в качестве имплантов. Формирование на сплавах магния покрытий, состоящих из гидроксиапатита и обладающих высокими антикоррозионными свойствами, является перспективной задачей в практике медицинской имплантологии. Решение данной задачи предполагает создание на низколегированных сплавах магния защитного слоя, обладающего антикоррозионными свойствами и биоактивностью. Было показано [162], что поверхностные слои состоящие из оксида и фторида магния, обладают высокими антикоррозионными свойствами. Таким образом, оксид магния может являться основой, на которую предполагалось нанесение слоя гидроксиапатита, то есть образование двухслойного покрытия. В данной работе, с этой целью в состав электролита вводили глицерофосфат кальция $(C_3H_7O_6P)Ca \cdot 2H_2O$ и фторид натрия NaF.

Глицерофосфат кальция представляет собой кальциевую соль фосфорногликолевой кислоты. Глицерофосфат-ион $(C_3H_7O_6P)^{2-}$ содержит в своем составе как органическую часть – радикалы трехатомного спирта – глицерина $C_3H_4(OH)_3$, так и неорганическую часть – анионы ортофосфорной кислоты H_3PO_4 .

Органические радикалы в процессе ПЭО способствуют более длительному горению высокотемпературного плазменного разряда, что приводит к

интенсивному термолизу электролита и синтезу в составе покрытия на магнии гидроксиапатита [163]. На рисунке 5.1 приведены данные рентгенофазового анализа покрытия.

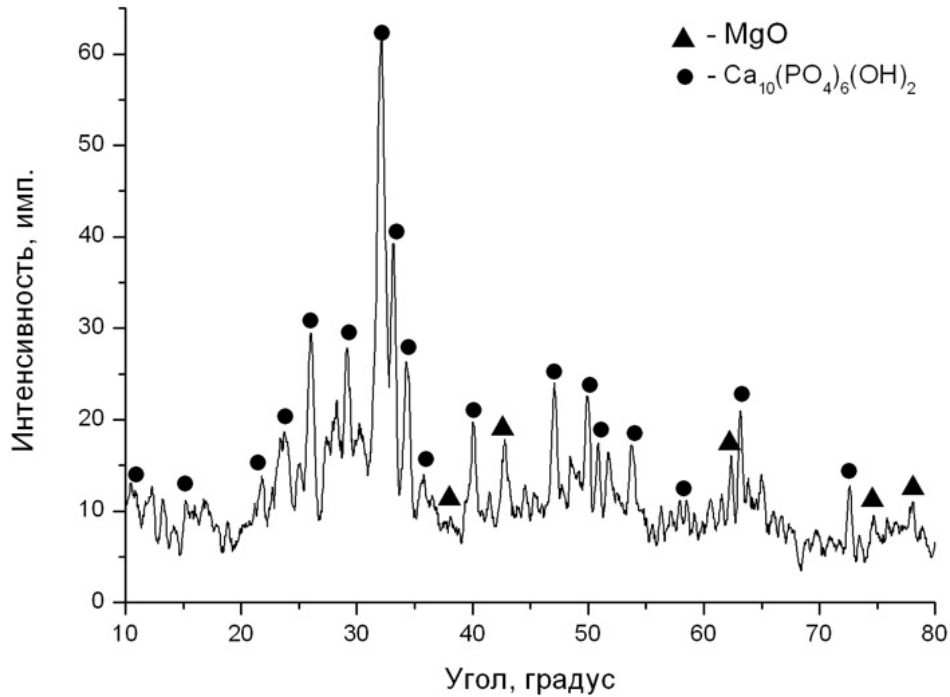


Рисунок 5.1 – Дифрактограмма поверхности образца на сплаве магния МА8, полученного в глицерофосфат-фторидном электролите

Из данных рентгенофазового анализа следует, что в состав поверхностного слоя на магнии входит оксид магния и гидроксиапатит. Толщина покрытия, согласно результатам измерений, полученных на поперечных шлифах, составляет около 60 мкм. На рисунке 5.2 а, б представлены изображения поверхности покрытий на магнии.

При исследовании морфологии сформированного покрытия (рисунок 5.2 а) было установлено, что его поверхность является развитой и неомогенной. Наряду с ровными плотными областями темного цвета (рисунок 5.2 б) встречаются чешуйчатые светлые образования (рисунок 5.2 в), наросты и углубления, а также поры.

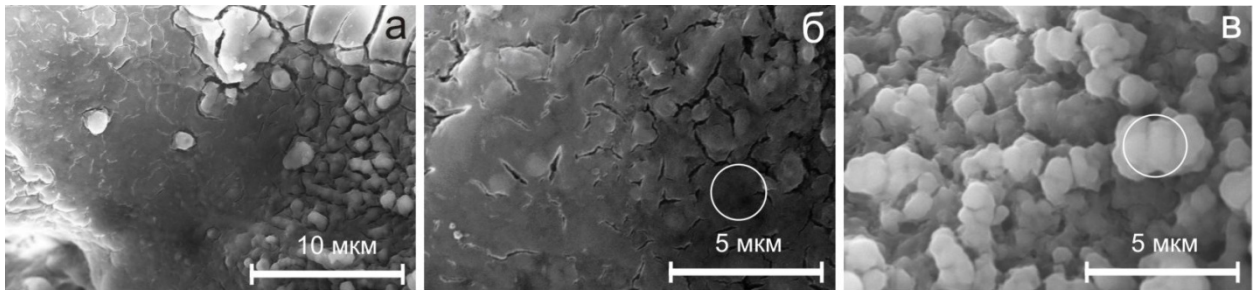


Рисунок 5.2 – СЭМ-изображение поверхности ПЭО-покрытия, полученного на магнии: а – общий вид покрытия; б – темный участок покрытия; в – светлый участок покрытия

Данные элементного состава свидетельствуют о наличии в составе покрытий таких элементов, как Ca, P, Mg, Na, O, C, F (таблица 5.1). Если проанализировать элементный состав различных по цвету областей покрытий (темные и светлые участки), то можно сделать следующие выводы: в светлых участках ПЭО-покрытия содержание кальция в пленке больше, чем в темных областях покрытий (таблица 5.1). Согласно данным, приведенным в работе [164], на темных участках покрытия возможно также присутствие бинарного соединения, состоящего из фторидов натрия и магния NaMgF_3 . Отношение Ca/P на темном участке намного меньше 0,76, чем на светлом. Согласно данным таблицы 5.1 темные участки покрытий содержат вдвое меньше кальция и в 3,5 раза больше магния. Предположительно, данная фаза, обедненная кальцием, и состоит преимущественно из MgO. Отношение Ca/P в светлых участках покрытий выше чем в темных (0,76) и составляет 1,61 (таблица 5.1). Это значение близко к отношению Ca/P для костной ткани (1,67).

Таблица 5.1 – Элементный и фазовый состав ПЭО-покрытий на сплаве МА8

Исследуемая область	Элементный состав, ат. %								Фазовый состав
	Ca	P	Mg	Na	O	C	F	Ca/P	
Светлая	14,20	8,84	2,39	4,56	38,56	19,60	11,85	1,61	MgO
Темная	6,60	8,70	8,31	0,83	33,00	35,56	7,00	0,76	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$

Наличие углерода в составе покрытия является результатом адсорбированных и/или не сгоревших в каналах плазменных микропробоев при ПЭО органических компонентов электролита, а именно глицерофосфата кальция. Именно поэтому на светлых участках, где концентрация углерода ниже, по сравнению с темными участками, наблюдается повышенное содержание $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$.

Подобные содержащие гидроксиапатит ПЭО-покрытия, сформированные на сплавах титана, согласно экспериментальным данным, полученным как *in vitro*, так и *in vivo* [153], обладают высокой биологической активностью, значительно ускоряя рост костной ткани на поверхности имплантата.

В работе исследованы электрохимические свойства полученных биоактивных ПЭО-слоев на сплаве магния.

Вид поляризационных кривых (рисунок 5.3) свидетельствуют о том, что ПЭО-покрытие существенно снижает скорость растворения образца в активной области. Рассчитанные для образцов с покрытиями значения тока свободной коррозии ($1,2 \cdot 10^{-6}$ А/см²), поляризационного сопротивления ($2,7 \cdot 10^4$ Ом·см²), потенциала свободной коррозии (-1,52 В) в сравнении с величинами данных параметров для образцов без покрытия ($I_k = 5,1 \cdot 10^{-5}$ А/см²; $R_p = 4,9 \cdot 10^2$ Ом·см²; $E_k = -1,56$ В) свидетельствуют о повышении антикоррозионных свойств магниевого сплава в результате ПЭО (таблица 5.2). Данные импедансных измерений (рисунок 5.4) представлены в форме диаграмм Бode (зависимостей модуля импеданса $|Z|$ и фазового угла θ от частоты f).

Таблица 5.2 – Электрохимические характеристики покрытий на сплаве МА8

Образец	E_k , В (х.с.э.)	I_k , А/см ²	R_p , Ом·см ²	$ Z _{f \rightarrow 0}$ Гц, Ом·см ²
Без покрытия	-1,56	$5,1 \cdot 10^{-5}$	$4,9 \cdot 10^2$	$8,1 \cdot 10^2$
С покрытием	-1,52	$1,2 \cdot 10^{-6}$	$2,7 \cdot 10^4$	$5,1 \cdot 10^4$

Импедансный спектр в диапазоне частот 10^2 – 10^6 Гц образца с ПЭО-покрытием имеет сложный характер, что обусловлено развитой морфологической

структурой поверхностного слоя (вторая временная константа в диапазоне частот 10^4 – 10^6 Гц, рисунок 5.4). Значение модуля импеданса на низких частотах, характеризующее защитные свойства покрытия, составило $|Z|_{f \rightarrow 0 \text{ Гц}} = 5,1 \cdot 10^4$ Ом·см², что более чем в 62 раза выше, чем сопротивление образца без покрытия ($|Z|_{f \rightarrow 0 \text{ Гц}} = 8,1 \cdot 10^2$).

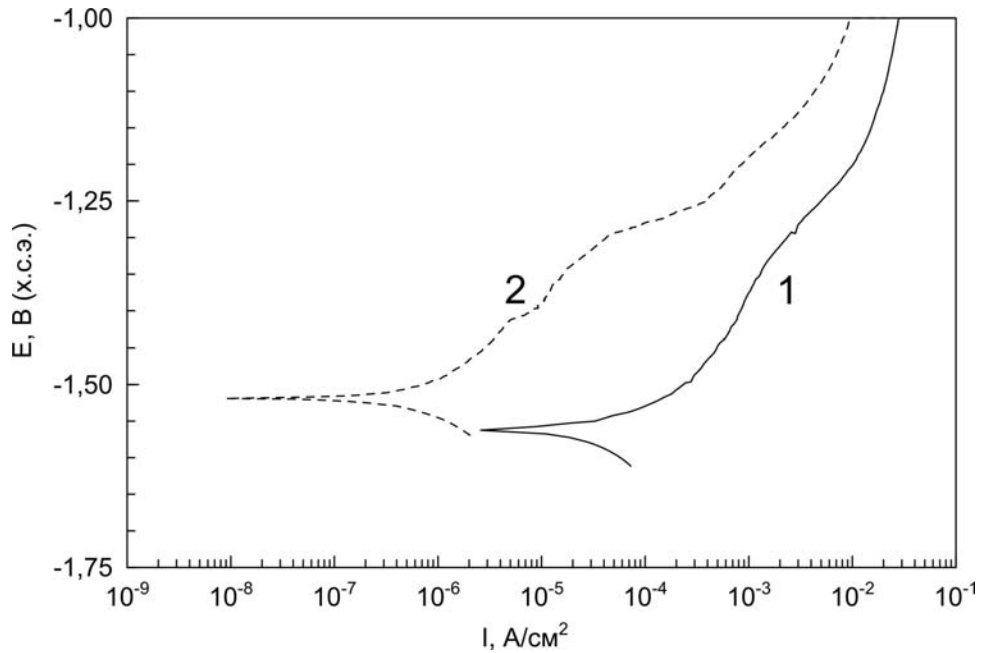


Рисунок 5.3 – Поляризационные кривые, снятые в 3 % растворе NaCl, для образцов из магниевого сплава МА8: 1 – без покрытия; 2 – с ПЭО-покрытием

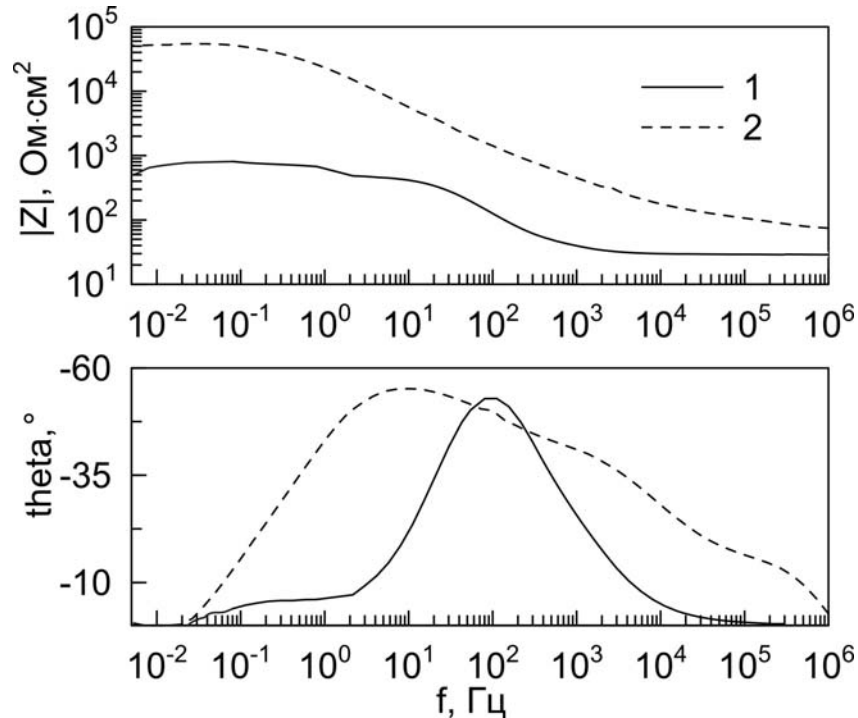


Рисунок 5.4 – Диаграмма бode снятые для образцов из магниевого сплава МА8, в 3 % растворе NaCl: 1 – без покрытия; 2 – с ПЭО-покрытием

Изучение механических свойств полученных слоев (микротвердость, модуль упругости), проводили с использованием динамического ультрамикротвердомера. Микротвердость полученных покрытий составила $1200 \text{ МПа} \pm 20 \text{ МПа}$. Значения модуля упругости (модуля Юнга), рассчитанного по начальному линейному участку разгрузочной кривой, составил 36 ГПа .

Адгезивные свойства полученных кальций-фосфатных покрытий исследовали методом скретч-тестирования, при следующих параметрах эксперимента: начальная нагрузка 1 Н , конечная нагрузка 35 Н , скорость нагружения $7,48 \text{ Н/мин}$, длина трассы 7 мм , тип индентора Rockwell, радиус вершины индентора 200 мкм . Возникновение шевронных трещин наблюдается при нагрузке 11 Н . Критическая нагрузка для данного материала составила $22,8 \text{ Н} \pm 1,5 \text{ Н}$ (рисунок 5.5).

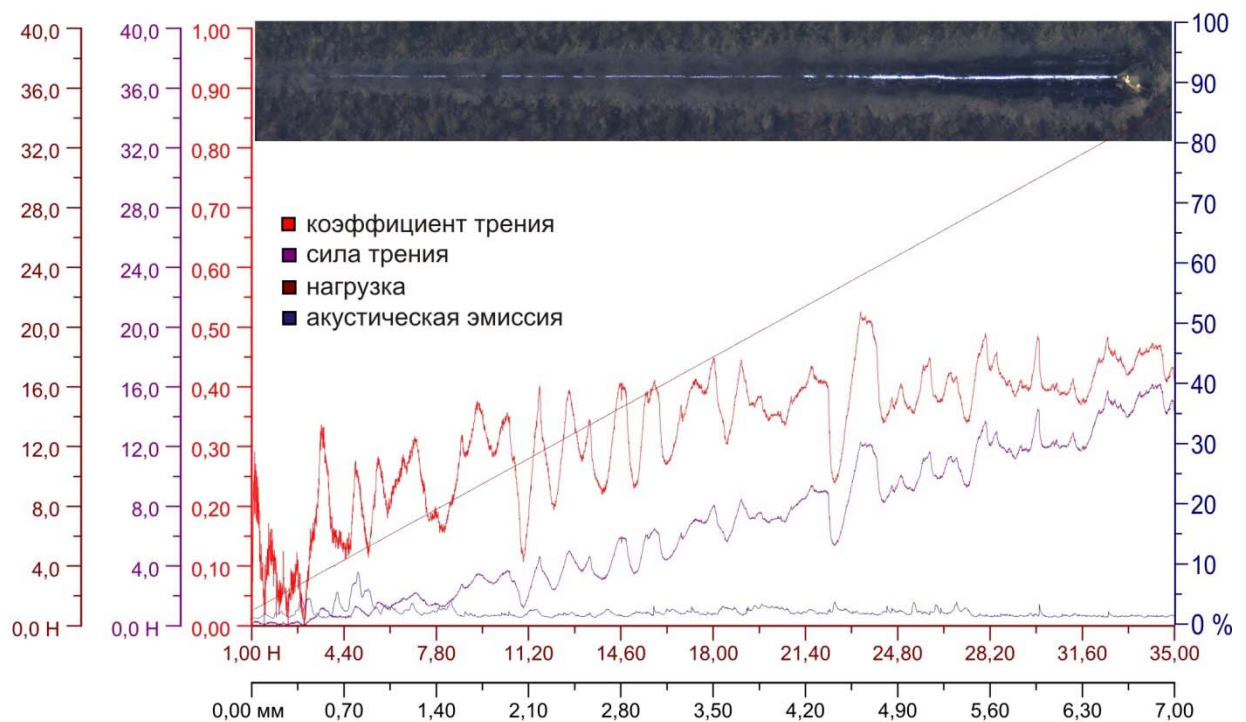


Рисунок 5.5 – Адгезионные характеристики покрытия, содержащего в составе гидроксиапатит, на сплаве МА8

Таким образом, в результате проведенных исследований показано, что на сплаве магния МА8 в растворе электролита, содержащего глицерофосфат кальция и фторид натрия, в гальваностатическом режиме ПЭО получены защитные

покрытия, содержащие гидроксиапатит, при отношении Ca/P=1,61, что близко к показателю костной ткани 1,67.

Данные покрытия обладают разветвленной пористой поверхностью, антикоррозионными свойствами и приемлемыми механическими характеристиками, что позволяет говорить о перспективе их применения в качестве биорезорбируемых слоев для медицинских имплантов [165].

5.2. Электрохимическое поведение ПЭО-покрытий на сплавах магния в физиологическом растворе Хэнка

Для получения более полной картины поведения резорбируемых магниевых сплавов в организме человека были проведены исследования в физиологическом растворе Хэнка (глава 2.3.4.) при 37 °С, т.е. при условиях, максимально приближенных к реальным.

Покрытия были сформированы на отличающихся по коррозионной стойкости различных магниевых сплавах: МА8 (1,5 – 2,5 масс. % Mn; 0,15 – 0,35 масс. % Се; 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. % Се; Mg – остальное) в электролите, содержащем глицерофосфат кальция и фторид натрия (глава 5.1).

Для повышения антикоррозионных свойств биоактивных покрытий на магниевых сплавах ПЭО-покрытия были дополнительно обработаны ультрадисперсным политетрафторэтиленом. Использование различной кратности нанесения слоев полимера, режимов термической обработки композиционного слоя позволяет обеспечить регулируемое проникновение полимера в поры с образованием поверхности необходимой нам сплошности.

На рисунке 5.6 представлены СЭМ-изображения композиционного покрытия на образцах из магниевых сплавов при однократной (рисунок 5.6 а), и при трехкратной (рисунок 5.6 б) обработке УПТФЭ. Обработка ПЭО-покрытия полимерным материалом уменьшает негативное влияние дефектов различного уровня. Этот способ оказался весьма значимым и эффективным.

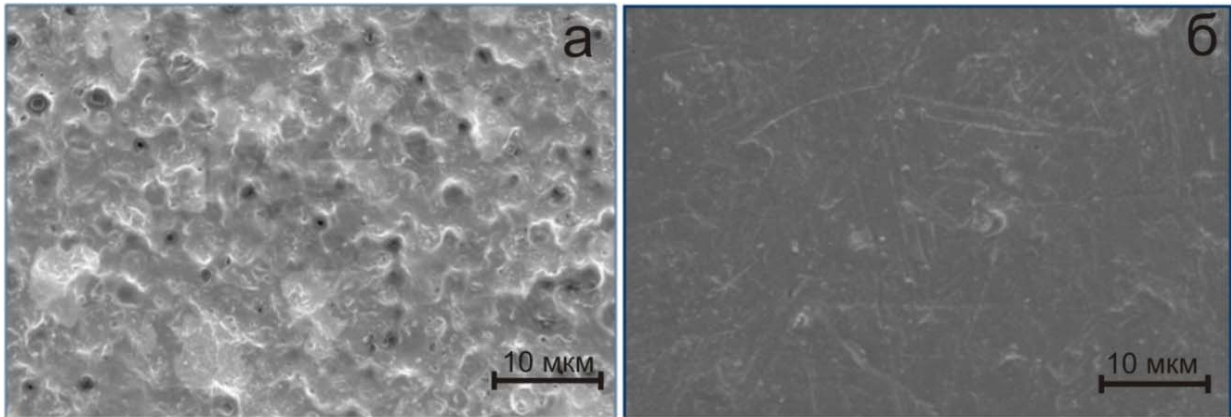


Рисунок 5.6 – Различная степень обработки поверхности с применением УПТФЭ, где а – частичное запечатывание пор (однократная обработка), б – полное заполнение пор (трехкратная обработка)

В результате анализа потенциодинамических кривых для образцов из магниевых сплавов, снятых в растворе Хэнка (рисунок 5.7), можно утверждать, что наличие поверхностных слоев существенным образом изменяет электрохимические характеристики образцов из магниевых сплавов, снижая токи коррозии во всем диапазоне поляризующего потенциала. В случае сплава МА8 разница в значениях токов коррозии между образцом без покрытия и с ПЭО-покрытием на поверхности составляет 1,5 раза, для МА14 2,4 раза, для МА20 2,5 раза (таблица 5.3). Это обусловлено более высокой коррозионной стойкостью сплава МА8 без покрытия по сравнению со сплавами МА14 и МА20 [166].

Потенциодинамические кривые образцов из магниевых сплавов без покрытия, представлены на рисунке 5.7 – анодная ветвь поляризационной кривой для необработанных сплавов сразу стремится к току пробоя, что обуславливает необходимость расчета электрохимических параметров по пересечению катодной ветви поляризационной кривой с перпендикуляром, опущенным из значения потенциала свободной коррозии.

Наиболее существенно защищают металл композиционные слои, созданные на базе ПЭО-покрытий (таблица 5.3). 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. 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.

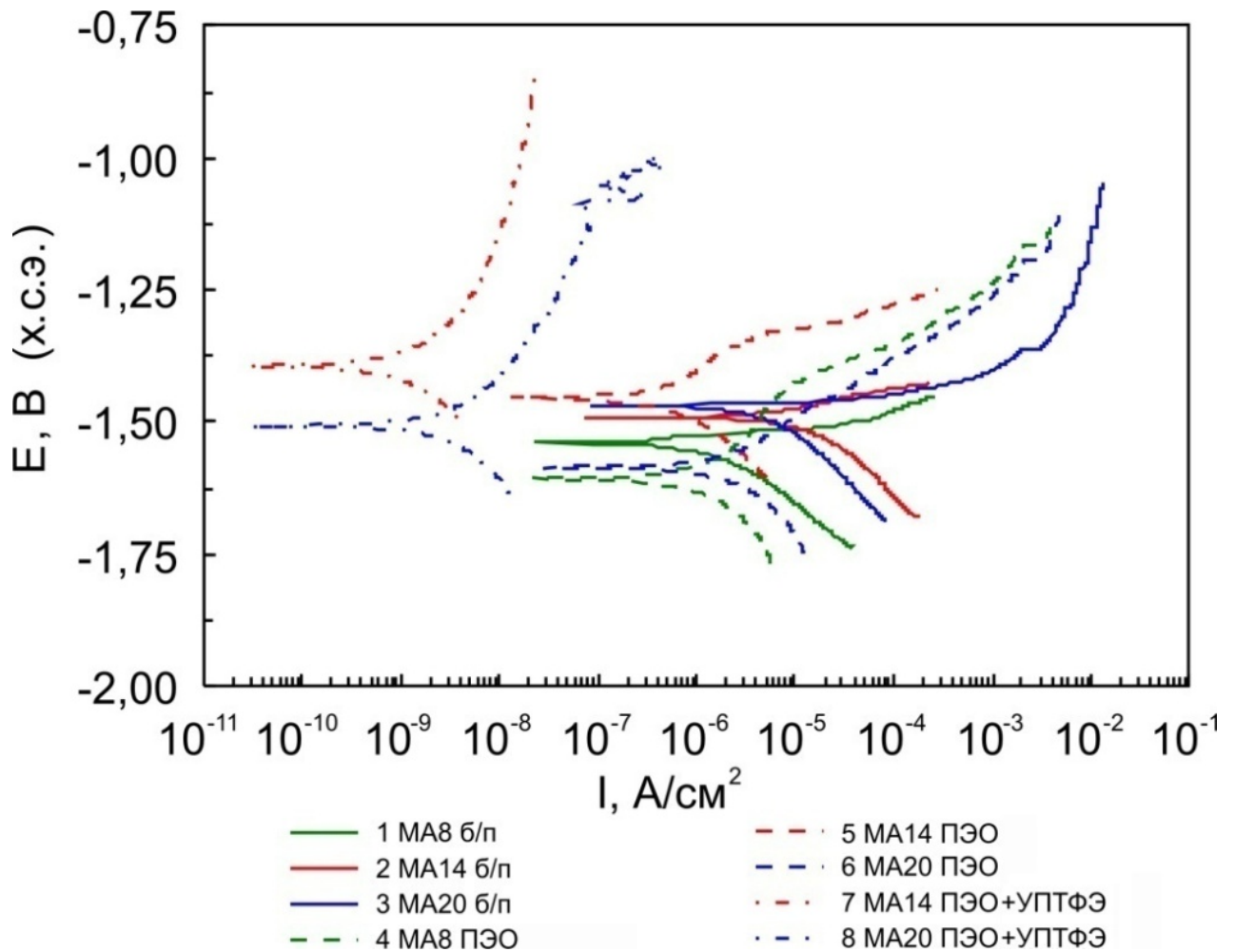


Рисунок – 5.7. Поляризационные кривые, полученные в растворе Хэнка при 37 °С, для образцов из магниевых сплавов

Исследование образцов методом электрохимической импедансной спектроскопии позволило детализировать информацию об электрохимических свойствах и морфологическом строении покрытий. Так, образцы из сплавов магния без покрытия (рисунок 5.8, кривые 1–3) характеризуются временной константой в области частот 1000–10 Гц, обусловленной наличием на поверхности естественной оксидной пленки. Изменение фазового угла θ на

частотах 1–0,01 Гц отражают процессы растворения и образования пленки гидроксида магния. В спектрах образцов с ПЭО-покрытиями на диаграмме Бode в явном виде присутствует перегиб в области частот 10–0,1 Гц, ответственный за существование тонкого беспористого слоя на границе раздела покрытие/металл. Зависимость θ от частоты f для образцов с ПЭО-покрытиями имеет экстремум в области высоких частот, характерный для пористой части ПЭО-слоев барьерного типа. Значения фазового угла в этой области спектра в диапазоне варьируется от -20° до -30° , что обусловлено развитой морфологией и гидрофильностью покрытий.

Таблица 5.3 – 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=0,01,2}$ 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	$8,0 \cdot 10^{-9}$	$9,7 \cdot 10^6$	$1,9 \cdot 10^7$

Создание слоя полимера на поверхности приводит к существенным трансформациям в структуре покрытий и характере их взаимодействия с электролитом. Значения модуля импеданса, измеренные на низких частотах увеличиваются более чем на три порядка по сравнению с образцами без покрытий. На кривых зависимости фазового угла от частоты в области высоких частот появляется ярко выраженная временная константа, характеризующаяся высокими значениями θ , что свидетельствует об емкостном характере и сплошности композиционного слоя.

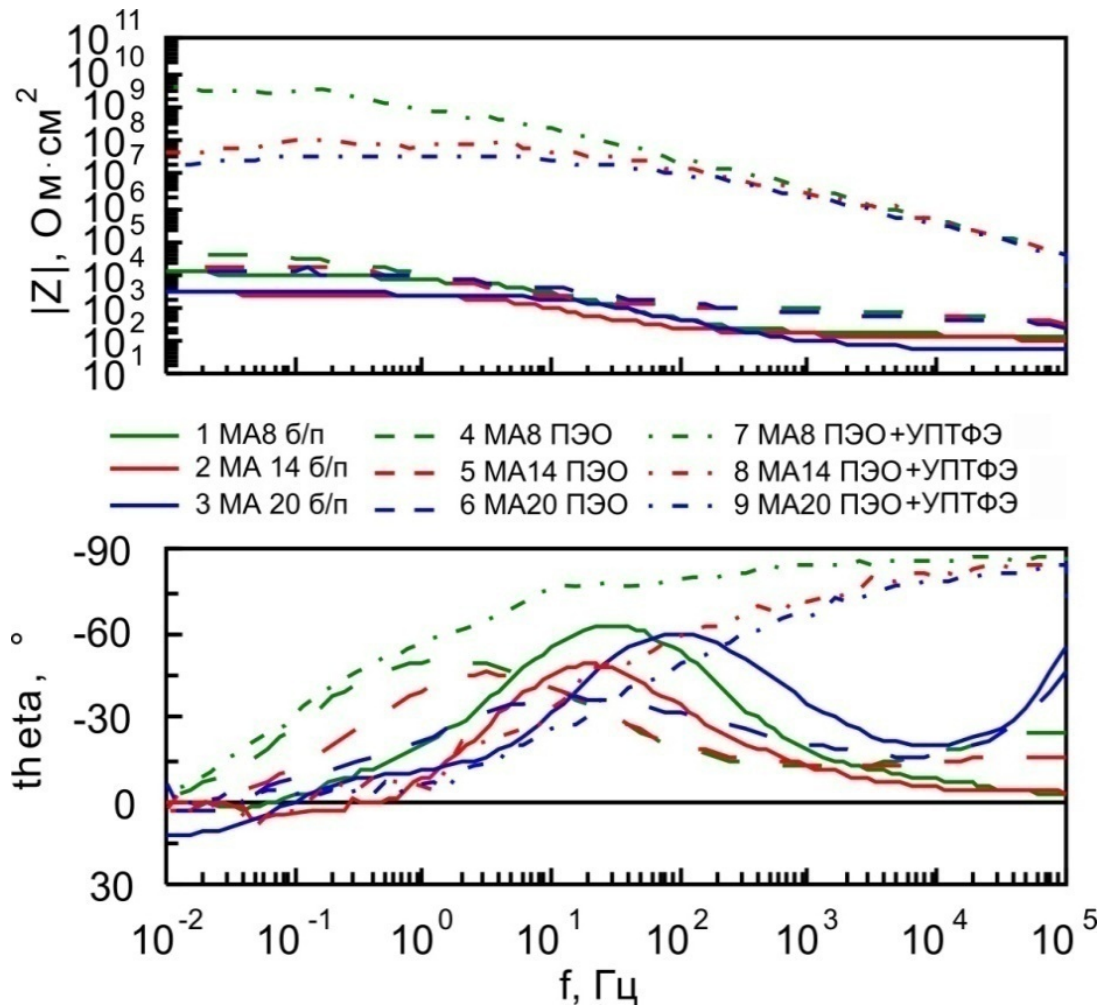


Рисунок 5.8 – Диаграмма Бode для образцов из магниевых сплавов, данные получены в растворе Хэнка при 37 °С

На зависимости модуля импеданса от частоты кривые на высоких значениях не достигают значения сопротивления электролита, что свидетельствует о наличии на поверхности образцов слоя, обладающего гидрофобными свойствами. Как и в случае поляризационных измерений, импедансные спектры образца из сплава МА8 демонстрируют наилучшие защитные свойства. Анализ значений фазового угла свидетельствует, о том что в данном случае удалось создать наиболее сплошную пленку полимера, проникшую глубоко в поры покрытия.

Динамика изменения значений стационарного потенциала (рисунок 5.9) 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 после различной обработки УПТФЭ (рисунок 5.6 и рисунок 5.9).

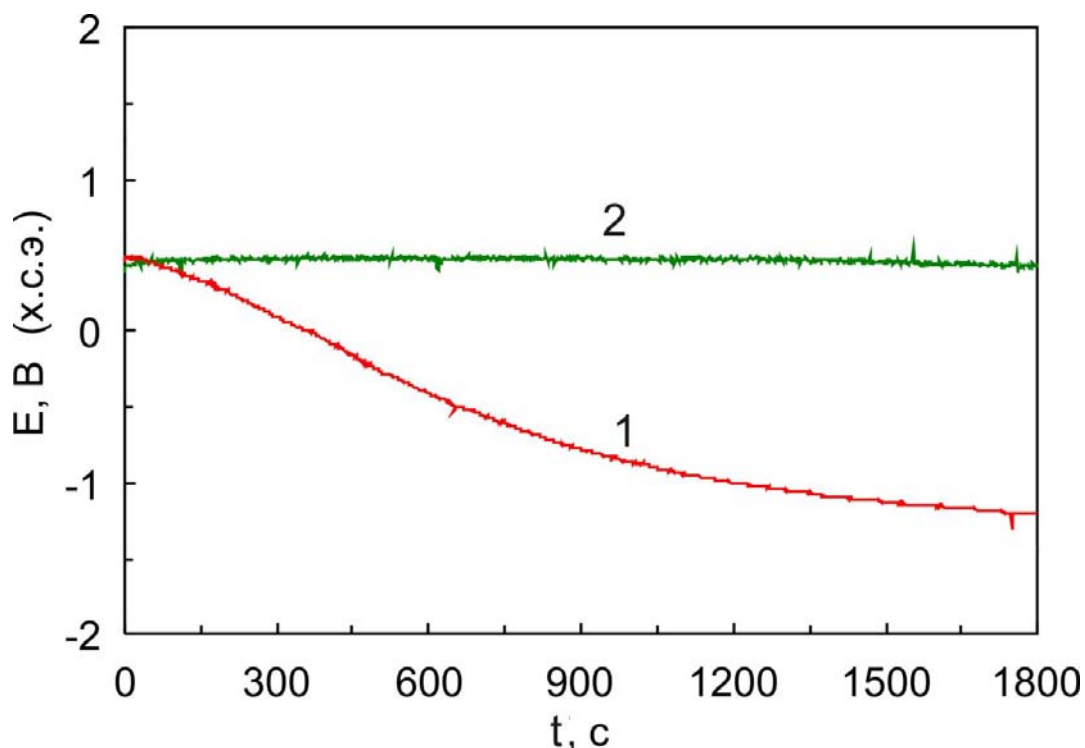


Рисунок 5.9 – Хронопотенциограммы образцов из магниевого сплава МА8 с композиционными покрытиями в растворе Хэнка при 37 °С после однократной (1) и трехкратной (2) обработки УПТФЭ

При однократной обработке УПТФЭ ПЭО-покрытия с последующей термообработкой при $t = 300$ ° в течение часа происходит запечатывание только пор покрытия при сохранении максимально свободной от полимера поверхности. Согласно данным энергодисперсионной спектроскопии, фтор преимущественно находится в порах покрытия (рисунок 5.10). Содержание фтора в точках 2 и 3 (рисунок 5.10) равно 23 и 36 ат. % соответственно, что значительно выше чем в точке 1 (около 8 ат. %).

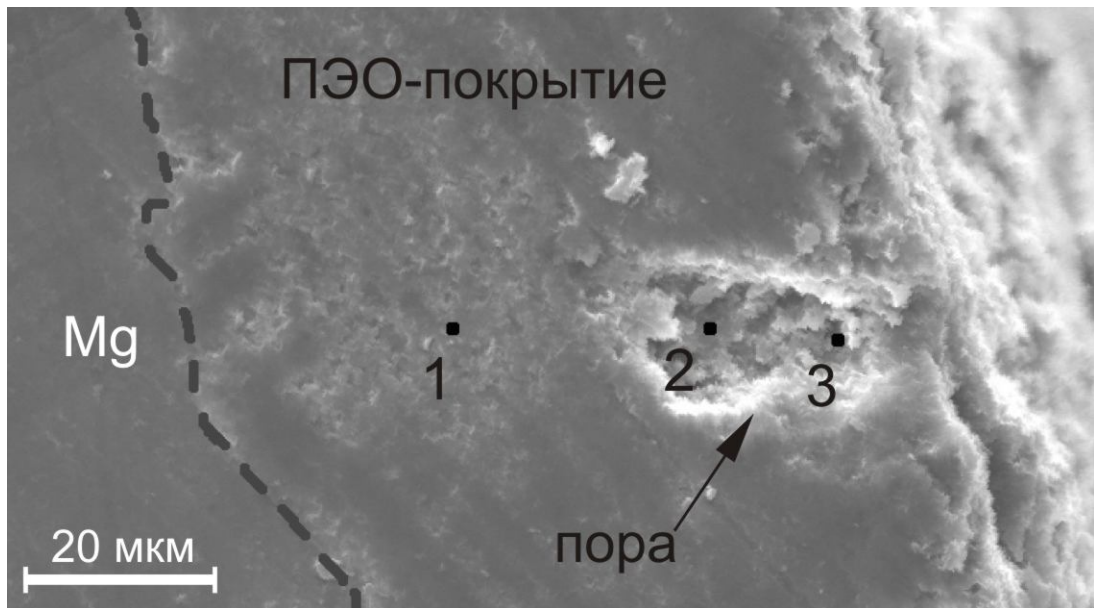


Рисунок 5.10 – СЭМ-изображение поперечного шлифа ПЭО-покрытия после обработки УПТФЭ

Установлено, что применение различных низкомолекулярных фракций политетрафторэтилена позволяет запечатывать поры ПЭО-покрытия на магниевых сплавах, создавать в порах полимерные пробки, а также сужать входные отверстия пор. Такая герметизация обеспечивает снижение скорости протекания коррозионного процесса. Но при этом поверхность покрытия, содержащего гидроксиапатит, остается открытой для контакта с окружающей средой, такой композиционный слой сохранив биологическую активность, существенно повышает сопротивление коррозии.

5.3. Определение антикоррозионной стойкости и биоактивности кальций-фосфатных покрытий на сплаве магния *in vitro* в SBF-растворе

Для исследования образцов с ПЭО-покрытиями в лабораторных условиях был выбран способ их выдержки в физиологическом SBF-растворе (при еженедельной замене раствора на свежий).

По результатам проведенного эксперимента определена потеря массы для образцов с различными способами обработки поверхности (рисунок 5.11). Из анализа представленных данных следует, что потеря массы для сплава МА8 без

покрытия за 6 недель составила 30 %. ПЭО-покрытие препятствует быстрому растворению материала, что свидетельствует о защитных свойствах получаемого покрытия на сплаве магния. Потеря массы образцов с ПЭО-покрытиями за тот же срок 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 с УПТФЭ позволяет регулировать скорость коррозии и обеспечить заданную скорость резорбции материала.

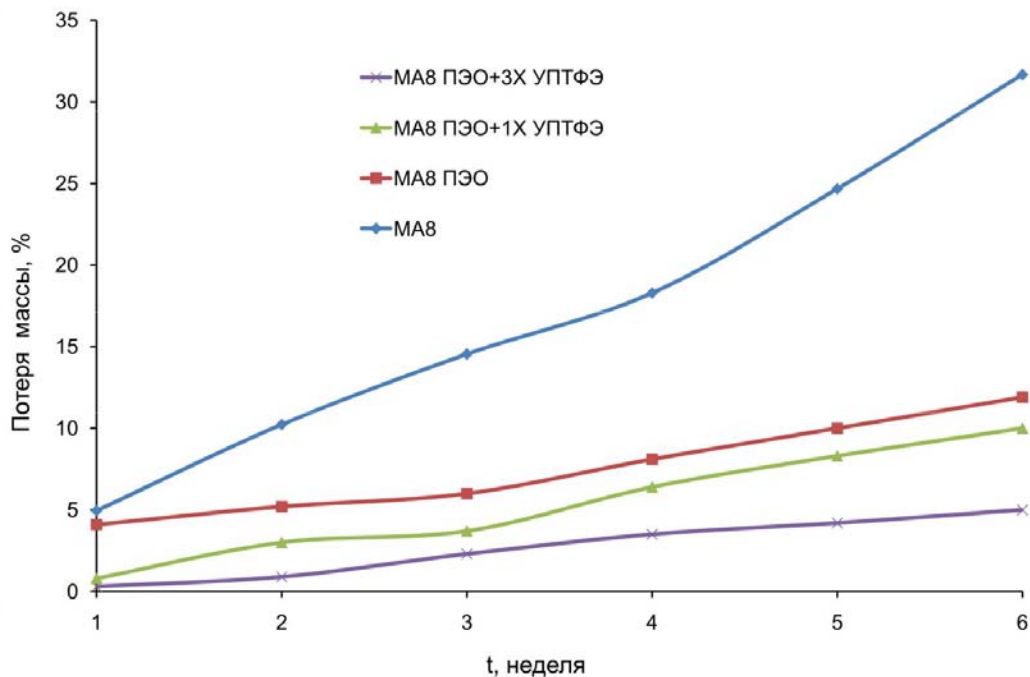


Рисунок 5.11 – Потеря массы для образцов сплава магния без покрытия, с ПЭО-покрытием, различной степенью обработки УПТФЭ, в SBF растворе в течение шести недель

Известно, что гидроксипатит играет важную роль в процессах минерализации и образования костной ткани. Исследование элементного состава поверхности образцов методом энергодисперсионной спектроскопии после проведения экспериментов показывает, что в продуктах коррозии магния в SBF растворе обнаружены такие элементы, как Mg, Ca, P, O, что подтверждает

возможное образование в составе поверхности гидроксида магния $Mg(OH)_2$ и гидроксиапатита $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$.

Данные энергодисперсионного анализа позволяют изучить распределение элементов, входящих в состав поверхностных слоев на магнии и вычислить отношение кальция к фосфору, которое показывает степень соответствия состава поверхностных слоев, полученных в SBF растворе, составу минеральной составляющей костной ткани. С увеличением времени выдержки образцов в SBF-растворе в составе поверхностных слоев уменьшается содержание кислорода и магния (3 – 4 недели выдержки рисунок 5.12).

На образце без покрытия наблюдается постепенное увеличение содержания кальция и фосфора до 20 % на шестой неделе эксперимента. При этом отношение Ca/P близко к 1 (рисунок 5.13). В то же время на образце с ПЭО-покрытием содержание кальция и фосфора остается практически постоянным, показывая незначительное увеличение на первой неделе эксперимента. Следует отметить, что содержание кальция составляет около 36 ат. %, а фосфора около 22 ат. %. Следовательно, отношение Ca/P для образца с ПЭО-покрытием составляет 1,64 (рисунок 5.13). Таким образом, установлено, что на поверхности исследуемых магниевых образцов, как без покрытия, так и с ПЭО-покрытием в SBF-растворе, насыщенном по кальцию, формируются кальций-фосфатные соединения.

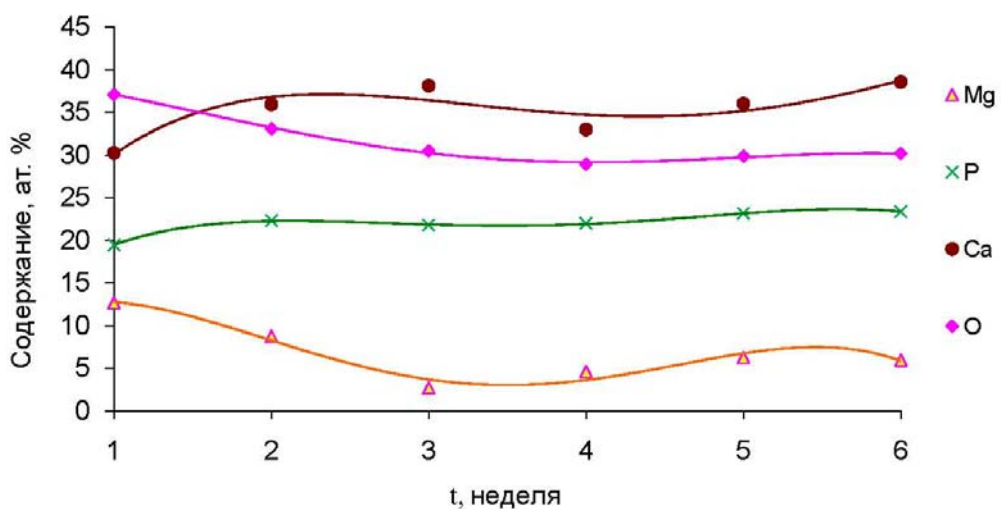


Рисунок 5.12 – Зависимость элементного состава поверхности сплава магния с ПЭО-покрытием от времени выдержки в SBF растворе в течение шести недель

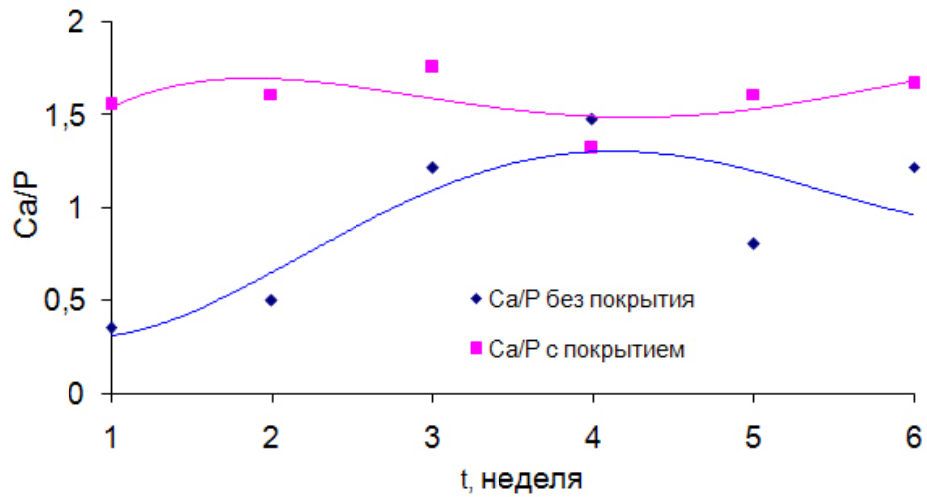


Рисунок 5.13 – Зависимость отношения Ca/P в поверхностных слоях на магнии без покрытия и с ПЭО-покрытием от времени выдержки в SBF-растворе

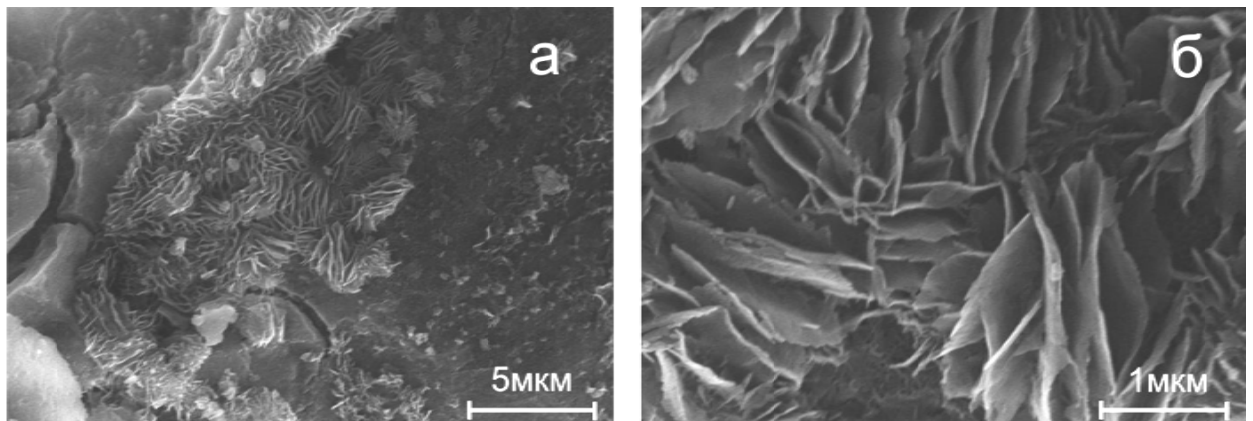


Рисунок 5.14 – СЭМ-изображение поверхности образцов сплава магния без покрытия после выдержки в SBF-растворе

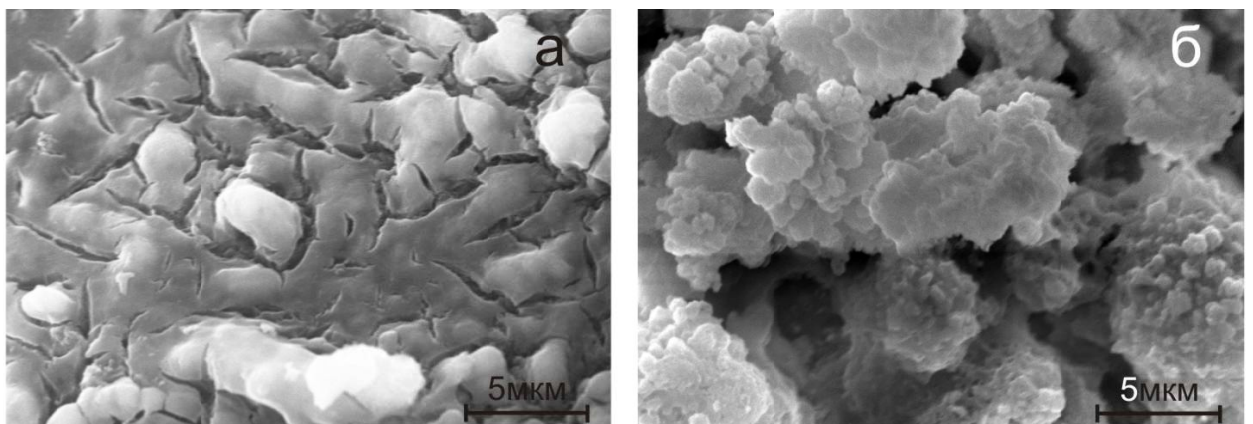


Рисунок 5.15 – СЭМ-изображение поверхности образцов с ПЭО-покрытием на сплаве магния до - а и после выдержки в SBF-растворе - б

Однако на образце с ПЭО-покрытием происходит образование кальций-фосфатных соединений, близких по стехиометрическому составу к гидроксиапатиту. В данном случае ПЭО-слой, содержащий гидроксиапатит служит матрицей, на которой в SBF-растворе происходит дальнейшая кристаллизации гидроксиапатита.

В результате проведенных исследований было установлено, что при выдержке образцов сплава магния МА8 в SBF продуктами коррозии являются фосфаты магния и кальция, в том числе гидроксиапатит (рисунок 5.14). Присутствие фосфатов кальция и гидроксиапатита в составе поверхностного слоя свидетельствует о хороших биомиметических свойствах сплава магния. Однако вследствие слишком высокой коррозионной активности этот материал без необходимой защиты не применим для медицинских целей. Образцы сплава магния МА8 с ПЭО-покрытием на поверхности имеют более стабильное антикоррозионное поведение в SBF растворе. На рисунке 5.15 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 в свою очередь подтверждает биоактивность формируемых слоев на сплаве магния.

Согласно полученным экспериментальным данным сформированные на поверхности магниевого сплава покрытия, с одной стороны, должны ускорять рост костной ткани на поверхности имплантата, так как содержат гидроксиапатит, с другой стороны, существенно снижают коррозию магниевого сплава. Следовательно, разработанный уникальный способ поверхностной обработки обозначил реальную перспективу создания биodeградируемых магниевых имплантатов, который выводит имплантационную хирургию на качественно новый уровень. Применение новых разрабатываемых технологий позволит заменить на более физиологичные и менее травмоопасные для пациентов магниевые сплавы значительную часть материалов, используемых сейчас в имплантологии, сокращая при этом затраты на повторные операции и реабилитацию больных.

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 VT1-0. 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 такими специфическими параметрами, как химический состав, концентрации Ca и P, 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 Ca/P = 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.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гинцбург А.Л., Карягина А.С., Карягина А.С., Семихин А.С. Разработка препаратов нового поколения для эффективной регенерации костной ткани // Лечение и профилактика. 2011. №. 1. С. 80–84.
2. Hench L.L. Bioceramics // Journal of the American Ceramic Society. 1998. V. 81. P. 1705–28.
3. Takemoto S., Kusudo Y., Tsuru K., Hayakawa S. et.al. Selective protein adsorbtion and blood compatibility of hydrohyl-carbonate apatites // Journal of Biomedical Research. 2004. V.69A. №4. P. 544–551.
4. Cardaioli P., Giordan M., Rigatelli G. et al. Nickel allergy in interatrial shunt device-based closure patients // Congenital Heart Disease. 2007. V. 2. № 6. P. 416–420.
5. Белецкий Б.И., Власова Е.Б. Гидроксиапатит для биоактивной стеклокерамики // Неорганические материалы. 1992. Т. 28. № 9. С. 1936–1939.
6. Yashimura M., Suchanek W. Processing and properties of hydroxyapatite-based biomaterials for use as hard tissue replacement implants // Journal of Materials Research. 1998. V. 13. № 1. P. 94–117.
7. Havrda J., Hronikova K., Gregorova E., Pabst W., Kunes K. Stabilization of bioceramic suspension prepared from alumina contained zirconia powders // Ceramics-Silicaty. 2000. V. 44. № 1. P. 1–8.
8. Cook S.D., Dalton J.E. In vivo mechanical and histologica characteristics of HA-coated implants vary with coating vendor // Journal of Biomedical Materials Research. 1995. V. 29. № 2. P. 239–245.
9. Wang G., Zraigat H. Functional Coatings or Films for Hard-Tissue Applications // Materials. 2010. V. 3. № 7. P. 3994–4050.
10. Ravnholt G. Corrosion current and pH rise around titanium coupled to dental alloys // Scandinavian Journal of Dental Research. 1988. V. 96. № 5. P. 466–472.

11. Gustav M., Spiekermann H., Edelhoff D. Yildirim M. Keramische Abutments Ein aktueller Überblick // *Implantologie*. 2003. V. 11. № 2. P. 139–156.
12. Shmitz P., Ngoc-Chang Quach Vu., Geuber I. Metallic medical implants electrochemical characterization of Corrosion Process // *Interface*. 2008. V. 17. № 2. P. 35–40.
13. Hahn J., Vassos D.M. Long-term efficacy of hydroxyapatite-coated cylindrical implants // *Journal of Dental Implants*. 1997. V. 6. № 2. P. 111–115.
14. Jackson M.J., Ahmad W. *Surface Engineered Surgical Tools and Medical Devices*. NY: Springer, 2007. – 581 p.
15. Гнеденков С.В., Хрисанфова О.А., Завидная А.Г. Плазменное электролитическое оксидирование металлов и сплавов в тартратсодержащих растворах. Владивосток: Дальнаука, 2008. – 143 с.
16. Руднев В.С., Медков М.А., Яровая Т.П., Недозоров П.М. Покрyтия с фосфатами кальция и стронция на титане, сформированные плазменно-электролитическим оксидированием // *Журнал прикладной химии*. 2012. Т. 85. № 12. С. 1969–1973.
17. Sameer R. Paital., Narendra B. Dahotre. Calcium phosphate coatings for bio-implant applications: Materials, performance factors, and methodologies // *Materials Science and Engineering R*. 2009. V. 66. № 1. P. 1–70.
18. Колачев Б.А., Елагин В.И., Ливанов В.А. *Металловедение и термическая обработка металлов и сплавов*. М.: МИСИС, 2001. – 416 с.
19. Rondelli G. Corrosion resistance tests of NiTi shape memory alloy // *Biomaterials*. 1996. V. 17. № 20. P. 2003–2008.
20. Pelton A.R., Duerig T.W., Stöckel D. A guide to shape memory and superelasticity in nitinol medical devices // *Applied Technology*. 2004. V. 13. № 4. P. 218–221.
21. McKay G.C., Macnair R., MacDonald C., Grant M.H. Interactions of orthoedic metals with an immortalized rat osteoblast cell line // *Biomaterials*. 1996. V. 17. P. 1339–1344.

22. Shabalovskaya J., Rondelli G., Andereg J., Simpson B., Budko S. Effect of chemical etching and aging in boiling water on the corrosion resistance of nitinol wires with black oxide resulting from manufacturing process // *Journal of Biomedical Materials Research*. 2003. V. 66. № 1. P. 331–340.
23. Es-Souni M., Es-Souni M., Fisher-Brandies H. Assessing the biocompatibility of NiTi shape memory alloys used for applications // *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2005. V. 381. № 3. P. 557–567.
24. Haidopoulos M., Elfeninat F., Mantovani D. Memory metals. *Encyclopedia of Biomaterials and Biomedical Engineering*. New York, 2004. P. 1340-1347.
25. Szeptycka B., Gaewska-Midzialek A. The influence of the structure of the nanocomposite PTFE coatings on the corrosion properties // *Reviews On Advanced Materials Science*. 2007. V. 14. P. 135–140.
26. Shabalovskaya S., Anderegg J., Van Humbeeck J. Critical overview of Nitinol surfaces and their modifications // *Acta Biomaterialia*. 2008. V. 4. P. 447–467.
27. Xiang-Donga S.U., Wang Tian-Minb, Hao Wai-Changa., Lib H.E. Electrolyte Passivation of Nitinol shape memory alloy in different electrolytes // *Chinese Journal of Aeronautics*. 2006. V. 19. P. 113–118.
28. Ahmadi H., Li D.Y., Nauri M. Effect of yttria addition on microstructure, mechanical properties, wear resistance and corrosion wear resistance of TiNi alloy // *Journal of Materials Science & Technology*. 2009. V. 25. № 5. P. 645–648.
29. Yeung K.W., Poon R.W., Liu X.Y., Ho J.P., Chung C.Y., Chu P.K., Lu W.W., Chan D., Cheung K.M. Corrosion resistance, surface mechanical properties, and cytocompatibility of plasma immersion ion implantation-treated nickel-titanium shape memory alloys // *Journal of biomedical materials research. Part A*. 2005. V. 75. №. 2. P. 256–267.
30. Wong M.H., Cheng F.T., Man H.C. Deposition of TiO₂ on TiNi by cathodic synthesis for improving corrosion resistance and apatite forming ability // *Journal of the American Ceramic Society*. 2008. V. 91. №. 2. P. 414–420.

31. Barison S., Cattarin S., Daolio S., Musiani M., Tuisity A. Characterisation of surface oxidation of nickel–titanium alloy by ion-beam and electrochemical techniques // *Electrochimica Acta*. 2004. V. 50. №.1. P. 11–18.
32. Maitz M.F., Shevchenko N. Plasma-immersion ion-implanted nitinol surface with depressed nickel concentration for implants in blood // *Journal of biomedical materials research. Part A*. 2006. V. 76. №. 2. P. 356–365.
33. Итин В.И., Шевченко Н.А., Коростелева Е.Н., Тухфаттулин А.А., Миргазизов М.З., Гюнтер В.Э. Функциональные композиционные материалы “биокерамика-никелид титана” для медицины // *Письма в Журнал экспериментальной и теоретической физики*. 1997. Т. 23. №. 8. С. 2–6.
34. Wong M.H., Cheng F.T., Man H.C. Characteristics apatite forming ability and corrosion resistance of NiTi surface modified by AC anodization // *Applied Surface Science*. 2007. V. 253. P. 7527–7534.
35. Qui D., Yang L., Vin Y., Wang A. Preparation and characterization of hydroxyapatite/titania composite coating on NiTi alloy by electrochemical deposition // *Surface and Coatings Technology*. 2011. V. 205. P. 3280–3284.
36. Xu J.L., Liu F., Wang F.P., Zhao L.C. Alumina coating formed on medical NiTi alloy by microarc oxidation // *Materials letters*. 2008. V. 62. P. 4112–4114.
37. Xu J.L., Liu F., Wang F.P., Yu D.Z., Zhao L.C. Microstructure and corrosion resistance behavior of ceramic coatings on biomedical NiTi alloy prepared by microarc oxidation // *Applied Surface Science*. 2008. V. 254. №. 20. P. 6642–6647.
38. Liu F., Zhang Y.P., Yu D.Z., Wang F.P., Wang H.R. Preparation and properties of titanium oxide film on NiTi alloy by micro-arc oxidation // *Applied Surface Science*. 2011. V. 257. №. 13. P. 5576–5580.
39. Liu F., Xu J.L., Yu D.Z., Wang F.P., Zhao L.C. Effect of cathodic voltages on the structure and properties of ceramic coatings formed on NiTi alloy by microarc oxidation // *Materials Chemistry and Physics*. 2010. V. 121. P. 172–177.

40. Liu F., Xu J.L., Wang F.P., Zhao L.C. Wear resistance of microarc oxidation coatings on biomedical NiTi alloy // *Journal of Alloys and Compounds*. 2009. V. 487. P. 391–394.
41. Gnedenkov S.V., Khrisanphova O.A., Zavidnaya A.G., Sinebrukhov S.L., Kovryanov A.N., Skorobogatova T.M. Production of hard and heat-resistant coatings on aluminium using a plasma micro-discharge // *Surface and coating technology*. 2000. V. 123. P. 24–28.
42. Гордиенко П.С., Гнеденков С.В. Микродуговое оксидирование титана и его сплавов. Владивосток: Дальнаука, 1997. – 198 с.
43. Гнеденков С.В., Хрисанфова О.А., Игнатъева Л.Н., Синебрюхов С.Л., Завидная А.Г. Комплексообразование алюминия с солями винной кислоты // *Журнал неорганической химии*. 2005. Т. 50. №. 12. С. 2050–2058.
44. Firstov G.S., Vitchev R.G., Kumar H., Blanpain B., Van Humbeeck J. Surface oxidation of NiTi shape memory alloy // *Biomaterials*. 2002. V. 23. №. 24. P. 4863–4874.
45. Nam T.-H., Chung D.-W., Lee H.-W., Kim J.-H., Choi M.-S. Effect of the surface oxide layer on transformation behavior and shape memory characteristics of Ti-Ni and Ti-Ni-Mo alloys // *Journal of Materials Science*. 2003. V. 38. №. 6. P. 1333–1342.
46. Лысенко Л.Н. Биоматериаловедение: вклад в прогресс современных медицинских технологий // *Клеточная транспантология и тканевая инженерия*. 2005. Т. I. №. 2. С. 56–61.
47. Singh A.K., Asokamani R., Gogia A.K. Geetha M. Ti based biomaterials, the ultimate choice for orthopaedic implants // *Progress in Material Science*. 2008. V. 54. №. 3. P. 357–425.
48. Лотков А.И., Псахье С.Г., Мейснер Л.Л., Матвеева В.А., Артемьева Л.В., Мейснер С.Н., Матвеев А.Л. Влияние химического состава и шероховатости поверхности никелида титана на пролиферативные свойства мезенхимальных стволовых клеток // *Перспективные материалы*. 2011. №. 4. С. 42–53.

49. Osborn J.F. Implantatwerkstoff Hydroxiapatitkeramik. Grundlagen und klinische Anwendung. Berlin: Quintessenz, 1985. – 88 p.
50. Strunz V. Enossale Implantatmaterialien in der Zahn-, Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie und ihre Entwicklung auf histomorphologischer Grundlage. Berlin: Habil, 1984. – 79 p.
51. Sul YT., Johansson C., Byon E., Albrektsson T. The bone response of oxidized bioactive and non-bioactive titanium implants // *Biomaterials*. 2005. V. 26. №. 33. P. 6720–6730.
52. Lee K-Y., Park M., Kim H-M., Lim Y-J., Chun H-J., Kim H., Moon S-H. Ceramic bioactivity: progresses, challenges and perspectives // *Biomedical Materials*. 2006. V.1. №. 2. P. 31–37.
53. Hijo'n N., Manzano M., Salinas A.J., Vallet-Regi M. Bioactive CaO-SiO₂-PDMS coatings on Ti6AL4V substrates // *Chemistry Of Materials*. 2005. V. 17. №. 6. P. 1591–1596.
54. Берченко Г.Н. Биология заживления переломов кости и влияние биокомпозиционного наноструктурированного материала коллапан на активизацию репаративного остеогенеза // *Медицинский алфавит*. 2011. Т. 1. №. 2. С. 14–19.
55. Ruiz C., Perez E., Garcia-Martinez O. et al. Expression of cytokines IL-4, IL-12, IL-15, IL-18, and IFN γ and modulation by different growth factors in cultured human osteoblast-like cells // *Journal of Bone and Mineral Metabolism*. 2007. V. 25. №. 5. P. 286–292.
56. 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.
57. Уминский А.А., Цветников А.К. "Способ переработки политетрафторэтилена," 1775419, ноя. 15, 1992. 4872647/05 (22) 10.09.90 (46) 15.11.92. Бюл. М 42 (71) Институт химии Дальневосточного отделения АН СССР.

58. Menno L.W. Knetsch., Leo H. Koole. New strategies in the development of antimicrobial coatings: the example of increasing usage of silver and silver nanoparticles // *Polymers*. 2011. V. 3. №. 1. P. 340–366.
59. Darouiche R.O., Mansouri M.D., Zakarevicz D., Alsharif A., Landon G.C. In vivo efficacy of antimicrobial-coated devices // *The Journal Of Bone And Joint Surgery*. 2007. V.89. №. 4. P. 792–797.
60. Morra M., Cassinelli C., Cascardo G., Carpi A., Fini M., Giavaresi G., Giardino R. Adsorption of cationic antibacterial on collagen-coated titanium implant devices // *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2004. V. 58. №. 8. P. 418–422.
61. Zhao L., Chu PK., Zhang Y., Wu Z. Antibacterial coatings on titanium implants // *Journal Of Biomedical Materials Research*. 2009. V. 91. №. 1. P. 470–480.
62. Колобов Ю.Р., Грабовецкая Г.П., Дударев Е.Ф., Иванов К.В. Получение, структура и механические свойства объемных наноструктурных композиционных материалов для медицины и техники // *Вопросы материаловедения*. 2004. №. 1. С. 56–63.
63. Albarayak O., El-Arwani O., Altintas S. Hydroxyapatite coating on titanium substrate by electrophoretic deposition method: effects of titanium dioxide inner layers on adhesion strength and hydroxyapatite decomposition // *Surface and Coatings Technology*. 2008. V. 202. №. 11. P. 2482–2487.
64. Пичугин В.Ф., Ещенко Е.В., Сурменев Р.А., Шестериков Е.В., Твердохлебов С.И., Рябцева М.А., Сохорева В.В., Хлусов И.А. Применение высокочастотного магнетронного распыления для формирования на поверхности титана тонких кальций-фосфатных биосовместимых покрытий // *Поверхность. Рентгеновские, синхротронные и нейтронные исследования*. 2007. №. 11. С. 67–71.
65. Gonzalez Mcquire R., Tsetsekou A. Hydroxyapatite-biomolecule coatings onto titanium surfaces // *Surface And Coatings Technology*. 2008. V. 203. №. 1-2. P. 186–190.

66. Баринов С.М. Керамические и композиционные материалы на основе фосфатов кальция для медицины // Успехи химии. 2010. Т. 79. № 1. С. 15–32.
67. Путляев В.И., Третьяков Ю.Д., Вересов А.Г. Химия неорганических биоматериалов на основе фосфатов кальция // Российский Химический Журнал. 2004. Т. 68. №. 4. С. 52–61.
68. Suchanek W., Yashima M., Kakihana M., Yoshimura M. Hydroxyapatite ceramics with selected sintering additives // Biomaterials. 1997. V. 18. №. 13. P. 923–933.
69. Баринов С.М., Комлев В.С. Биокерамика на основе фосфатов кальция. М.: Наука, 2005. – 225 с.
70. Путляев В.И. Современные биокерамические материалы // Соросовский образовательный журнал. 2004. Т. 8. №. 1. С. 44–50.
71. Ежова Ж.А., Родичева Г.В., Коваль Е.М., Суханова Г.Е., Тезикова Л.А. Орловский В.П. Изучение условий образования гидроксиапатита в системе $\text{CaCl}_2\text{--}(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4\text{--NH}_4\text{OH--H}_2\text{O}$ (25°C) // Журнал неорганической химии. 1992. Т. 37. №. 4. С. 881–883.
72. Мамаев А.И., Мамаева В.А. Сильноточковые процессы в растворах электролитов. Новосибирск: СО РАН, 2005. – 255 с.
73. Dorozhkin S.V. In vitro mineralization of silicon-containing calcium phosphate bioceramics // Journal of the American Ceramic Society. 2007. V. 90. №. 1. P. 244–249.
74. Kannan S., Goetz-Neunhoffer F., Neubauer J. Ionic substitutions in biphasic hydroxyapatite and β -tricalcium phosphate mixtures: structural analysis by rietveld refinement // Journal of the American Ceramic Society. 2008. V. 91. №. 1. P. 1–12.
75. Bouyer E., Gitzhofer F., Boulos M.I. Morphological study of hydroxyapatite nanocrystal suspension // Journal of materials science:materials in medicine. 2000. V. 11. №. 8 P. 523–531.

76. Агапов Б.Л., Пономарева Н.И., Лесовой М.В., Попрыгина Т.Д., Соколов Ю.В. Кристаллическая структура и состав биокompозитов гидроксиапатита, полученных при избытке иона кальция // Журнал общей химии. 2009. Т.79. №. 2. С. 198–210.
77. Подковкин В.Г. Сундукова Н.В. Влияние повышенной температуры воздуха и инъекций гидроксиапатита на показатели минерального обмена костной ткани // Вестник СамГУ. Естественнонаучная серия. 2007. Т. 58. №. 8. С. 7–14.
78. Ярош Е.Б., Дмитриевский Б.А., Нарыжный В.П., Цветков С.К. Некоторые характеристики синтезируемых образцов гидроксиапатита // Журнал прикладной химии. 2001. Т. 74. №. 6. С. 1029–1031.
79. Mazin A.L., Sulimova G.E., Vanyushin B.F. Granulated hydroxyapatite: preparation and chromatographic properties // Analytical biochemistry. 1974. V. 61. №. 1. P. 62–71.
80. Chung R.J. Hsien M.F., Panda R.N., Chin T.S. Hydroxyapatite layers deposited from aqueous solutions hydrophobic silicon substrate // Surface and Coatings Technology. 2003. V. 165. P. 194–200.
81. Воложин Г.А., Лясникова А.В. Повышение остеointегративных свойств дентальных имплантатов путем электроплазменного напыления биокompозитного покрытия на основе β -трикальцийфосфата // Стоматология. 2007. Т. 8. №. 6. P. 11–16.
82. Иевлев В.М., Костюченко А.В., Домашевская Э.П. Синтез нанокристаллических пленок гидроксиапатита // Конденсированная среда и межфазные границы. 2007. Т. 9. №. 3. С. 209–215.
83. Pang X., Casagrande T., Zhitomirsky I. Electrophoretic deposition of hydroxyapatite –CaSiO₃-chitosan composite coatings // Journal of Colloid and Interface Science. 2009. V. 330. №. 2. P. 323–329.
84. Wei M., Rugs A.Z., Milthorpe B.K., Sorrel C.G. Precipitation of hydroxyapatite nanoparticles: Effects of precipitation method on electrophoretic deposition //

- Journal of Materials Science: Materials in Medicine. 2005. V. 16. №. 4. P. 319–324.
85. Захаров Н.А., Топоров Ю.П., Ключев В.А., Орловский В.П. Механоактивация при синтезе биосовместимого $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ // Письма В Журнал Технической Физики. 2001. Т. 27. №. 17. С. 76–81.
 86. Avinash Kumar Agarwal, Rai KN. Development of high strength hydroxyapatite for hard tissue replacement // Trends in Biomaterials & Artificial Organs. 2005. V. 19. №. 1. P. 45–49.
 87. Shigeki I., Jun T. Longitudinal observation of thin hydroxyapatite layers formed on anodic oxide titanium implants after hydrothermal treatment in rat maxilla model // Prosthodontic Research & Practice. 2008. V. 7. №. 2. P. 82–88.
 88. Kandori K. Horigami N., Yasukawa A., Ishikawa T. Texture and formation mechanism of fibrous calcium hydroxyapatite particles prepared by decomposition of calcium=EDTA chelates // Journal of the American Ceramic Society. 1997. V. 80. №. 5. P. 1157–1164.
 89. Колобов Ю.Р. Шаркеев Ю.П., Карлов А.В., Легостаева Е.В., Шашкина Г.А., Хлусов И.А., Братчиков А.Д., Ерошенко А.Ю., Поженько Н.С., Шашкин А.Б. Биоконпозиционный материал с высокой совместимостью для травматологии и ортопедии // Деформация и разрушение материалов. 2005. №. 4. С. 2–9.
 90. Патент 2291918 Российская Федерация. Кальций-фосфатное покрытие на титане и титановых сплавах и способ его нанесения / Шашкина Г.А., Шаркеев Ю.П., Колобов Ю.Р., Карлов А.В.: № 2005116663/02; Заявл. 31.05.05; Оpubл. 20.01.07, Бюл. № 56.
 91. Патент 2159094 Российская Федерация. Способ нанесения покрытия на имплантат из титана и его сплавов / Карлов А.В., Шахов В.П., Игнатов В.П., Верещагин В.И.: № 99122787/14; Заявл. 01.11.99; Оpubл. 20.11.00.
 92. Шашкина Г.А., Иванов М.Б., Легостаева Е.В., Шаркеев Ю.П., Колобов Ю.Р., Хлусов И.А., Поженько Н.С., Карлов А.В. Биокерамические покрытия с

- высоким содержанием кальция для медицины // Физическая мезомеханика. 2004. Т. 7. №. 2. С. 123–126.
93. Шаркеев Ю.П., Колобов Ю.Р., Карлов А.В., Хлусов И.А., Легостаева Е.В., Шашкина Г.А. Структура, механические характеристики и остеогенные свойства биокomпозиционного материала на основе субмикрoкристаллического титана и микродугового кальций-фосфатного покрытия // Физическая мезомеханика. 2005. Т. 8. №. СпецВ. С. 83–86.
94. Tanahashi M. Yao T., Kokubo T., Minoda M., Miyamoto T., Nakamura T., Yamamuro T. Apatite coating on organic polymers by a biomimetic process // Journal of the American Ceramic Society. 1994. V. 77. №. 4. P. 2805–2808.
95. Spanos N., Misirlis D. Y., Kanellopoulou D. G., Koutsoukos P. G. Seeded growth of hydroxyapatite in simulated body fluid // Journal of Materials Science. 2006. V. 41. №. 6. P. 1805–1812.
96. Jalota S., Bhaduri S.B., Tas A.C. Effect of carbonate content and buffer type on calcium phosphate formation in SBF solutions // Journal of Materials Science: Materials in Medicine. 2006. V. 17. №. 8. P. 697–707.
97. Tas AC. Synthesis of biomimetic Ca-hydroxyapatite powders at 37°C in synthetic body fluids // Biomaterials. 2000. V. 21. №. 14. P. 1429–1438.
98. Jalota S., Bhaduria S.B., Tas A.C. Osteoblast proliferation on neat and apatite-like calcium phosphate-coated titanium foam scaffolds // Materials Science and Engineering: C. 2007. V. 27. №. 3. P. 432–440.
99. Jalota S., Bhaduri A.B., Tas A.C. Using a synthetic body fluid (SBF) solution of 27mM HCO₃⁻ to make bone substitutes more osteointegrative // Materials Science and Engineering. 2008. V. 28. №. 1. P. 129–140.
100. Oliveira A.L., Mano J.F., Reis R.L. Nature-inspired calcium phosphate coatings: present status and novel advances in the science of mimicry // Currant opinion and solid state and material science. 2003. V. 7. №. 4–5. P. 309–318.
101. Ковалева Е.С., Кузнецов А.В., Соин А.В., Вересов А.Г., Путляев В.И., Третьяков Ю.Д. Исследование биоактивности материалов с использованием модельных сред // Доклады Академии наук. 2005. Т. 401. №. 1. С. 61–64.

102. Chen Z.F., Darvell B.W., Leung V.W. Hydroxyapatite solubility in simple inorganic solutions // *Archives of Oral Biology*. 2004. V. 49. №. 5. P. 359–367.
103. Shibli SM., Mathai S. The role of calcium gluconate in electrochemical activation of titanium for biomimetic coating of calcium phosphate // *Journal of Biomedical Materials Research Part A*. 2008. V. 87. №. 4. P. 994–1002.
104. Miller L., Greil P., Müller F.A. Hoffman I. Precipitation of carbonated Ca-P powders from supersaturated SBF solution // *Journal of the American Ceramic Society*. 2007. V. 90. №. 3. P. 821–824.
105. Chen X., Li Y., Hondson P.D., Wen C. Microstructures and bond's strength of the calcium phosphate coatings formed on titanium from different simulated body fluids // *Material Science and Engineering*. 2009. V. 29. №. 1. P. 165–171.
106. Peixin Z., Yoshitake M., Kunihiro K. A novel approach to fabricate hydroxyapatite coating on titanium substrate in aqueous solution // *Journal of the Ceramic Society of Japan*. 2001. V. 109. №. 1272. P. 676–680.
107. Zhu L., Ye X., Tang G., Zhao N., Gong Y., Zhao Y., Zhao J., Zhang X. Biomimetic coating of compound titania and hydroxyapatite on titanium // *Journal of Biomedical Materials Research Part A*. 2007. V. 83. №. 4. P. 1165–1175.
108. Wei D., Zhou Y., Jia D., Wang Y. Biomimetic apatite deposited on microarc oxidized anatase-based ceramic coating // *Ceramics International*. 2008. V. 34. P. 1139–1144.
109. Kim HM., Miyaji F., Kokubo T., Nakamura T. Preparation of bioactive Ti and its alloys via simple chemical surface treatment // *Journal of Biomedical Materials Research Part A*. 1996. V. 32. №. 3. P. 409–417.
110. Wu S., Liu X., Chan Y.L., Chung C.Y., Chu P.K., Chu C.L., Lam K.O., Yeung K.W.K., Lu W.W., Luk K.D.K., et al. In vitro bioactivity and osteoblast response on chemically modified biomaterial porous NiTi synthesized by capsule free hot isostatic pressing // *Science and Coatings Technology*. 2008. V. 202. №. 11. P. 2458–2462.

111. Krupa D., Baszkiewicz J., Zdunek J., Smolik J., Słomka Z., Sobczak J.W. Characterization of the surface layers formed on titanium by plasma electrolytic oxidation // *Surface and Coatings Technology*. 2010. V. 205. №. 6. P. 1743–1749.
112. Song WH., Jun YK., Han Y., Hong SH. Biomimetic apatite coatings on micro-arc oxidized titania // *Biomaterials*. 2004. V. 25. №. 17. P. 3341–3349.
113. Metikos-Huković M., Kwokal A., Piljac J. The influence of niobium and vanadium on passivity of titanium-based implants in physiological solution // *Biomaterials*. 2003. V. 24. №. 21. P. 3765–3775.
114. Shukla A.K., Balasubramaniam R., Bhargava S. Effect of replacement of V by Fe and Nb on passive film behavior of Ti-6Al-4V in simulated body fluid conditions // *Journal of Alloys and Compounds*. 2005. V. 389. №. 1–2. P. 144–152.
115. Witte F. Hort N., Vogt C., Cohen S., Kainer K.U., et al. Degradable biomaterials based on magnesium corrosion // *Current Opinion in Solid State and Materials Science*. 2008. V. 12. №. 5–6. P. 63–72.
116. Staigera M.P., Pietaka A.M., Huadmaia J., Dias G. Magnesium and its alloys as orthopedic biomaterials: A review // *Biomaterials*. 2006. V. 27. №. 9. P. 1728–1734.
117. Zeng R., Dietzel W., Witte F., Hort N., Blawert C. Progress and Challenge for Magnesium Alloys as Biomaterials // *Advanced Engineering Materials*. 2008. V. 10. №. 8. P. B3–B14.
118. Witte F. The history of biodegradable magnesium implants: A review // *Acta Biomaterialia*. 2010. V. 6. №.5. P. 1680–1692.
119. Carboneras M., Garcia-Alonso M.C., Escudero M.L. Biodegradation kinetics of modified magnesium-based materials in cell culture medium // *Corrosion Science*. 2011. V. 53. №.4. P. 1433–1439.
120. Hiromoto S., Shishido T., Yamamoto A., Maruyama N., et al. Precipitation control of calcium phosphate on pure magnesium by anodization // *Corrosion Science*. 2008. V. 50. P. 2906–2913.

121. Tan L.L., Wang Q., Geng F., Xi X.S., Qiu J.H., Yang K. Preparation and characterization of Ca-P coatings on AZ31 magnesium alloy // Transactions of Nonferrous Metals Society of China. 2010. V. 20. №.2. P. 648–654.
122. Lee D., Sfeir Ch., Kuneta P. Novel in-situ synthesis and characterization of nanostructured magnesium substituted β -tricalcium phosphate (β -TCMP) // Materials Science and Engineering: C. 2009. V. 29. №.1. P. 69–77.
123. Tomazawa M., Hiromoto S., Yoshimoto H. Microstructure of hydroxiapatite-coated magnesium prepared in aqueous solution // Surface and Coatings Technology. 2010. V. 204. №. 20. P. 3243–3247.
124. Patent of Japan. Biological material and method of manufacturing the same // Kuzukawa K. №. 202782. 16.08.2007.
125. Yao Zh., Li L., Jiang Zh. Adjustment of the ratio of Ca/P in the ceramic coating on Mg alloy by plasma electrolytic oxidation // Applied Surface Science. 2009. V. 255. P. 6724–6728.
126. Shrinivasan P.B., Liang J., Blawert C., Störmer M., Dietzel W. Characterization of calcium containing plasma electrolytic oxidation coatings on AM50 magnesium alloy // Applied Surface Science. 2010. V. 256. №. 12. P. 4017–4022.
127. Purnama A., Hermawan H., Couet J., Mantovani D. Assessing the biocompatibility of degradable metallic materials; state-of-art and focus of the potential of genetic regulation // Acta Biomaterialia. 2010. V. 6. P. 1800–1807.
128. Gu X.N., Zheng Y.F. A review on magnesium alloys as biogradable materials // Frontiers of Materials Science in China. 2010. V. 4. №. 2. P. 111–115.
129. Шаркеев Ю.П. Братчиков А.Д., Колобов Ю.Р., Ерошенко А.Ю., Легостаева Е.В. Наноструктурный титан биомедицинского назначения // Физическая мезомеханика. 2004. №. 7. С. 107–110.
130. Рид С.Дж.Б. Электронно-зондовый микроанализ и растровая электронная микроскопия в геологию. М.: Техносфера, 2008. – 232 с.
131. Гнеденков С.В, Синебрюхов С.Л. Гордиенко П.С. Антикоррозионные покрытия, сформированные методом микродугового оксидирования (МДО) // Вестник ДВО РАН. 2002. Т. 103. №. 3. С. 21–39.

132. Kokubo T., Takadama H. How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity? // *Biomaterials*. 2006. V. 27. №. 15 P. 2907–2915.
133. Кваглино Д., Хейхоу Ф. Г. Дж. Гематологическая цитохимия. М.: Медицина, 1983. – 320 с.
134. Тиц Н. Клиническое руководство по лабораторным тестам. М.: Юнимед–Пресс, 2003. – 943 с.
135. 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; Оpubл. 20.03.08, Бюл. № 8.
136. Гнеденков С.В. Хрисанфова О.А., Волкова Л.М., Кайдалова Т.А., Гордиенко П.С. Синтез пленок химических соединений на титане в условиях микроплазменных разрядов // *Журнал неорганической химии*. 1995. Т. 40. №. 4. С. 558–562.
137. Терентьев А.П., Павлов Б.А. Курс органической химии. М.: Химия, 1969. – 686 с.
138. Li X., Zhang X., Li Z., Qian Y. Synthesis and characteristics of NiO nanoparticles by thermal decomposition of nickel dimethylglyoximate rods // *Solid State Communications*. 2006. V. 137. №. 11. P. 581–584.
139. Гнеденков С.В., Синебрюхов С.Л., Сергиенко В.И. Электрохимическое импедансное моделирование фазовой границы металлооксидная гетероструктура/электролит // *Электрохимия*. 2006. Т. 42. №. 3. С. 235–250.
140. 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.
141. Гнеденков С.В. Синебрюхов С.Л., Машталаяр Д.В., Егоркин В.С., Цветников А.К., Минаев А.Н. Перенос заряда на границе раздела антинакипный композиционный слой/электролит // *Коррозия: материалы, защита*. 2006. № 5. С. 27–33.
 142. González J.A., López V., Bautista A., Otero E., Nóvoa X.R. Characterization of porous aluminium oxide films from ac impedance measurements // *Journal of Applied Electrochemistry*. 1999. V. 29. №. 2. P. 229–238.
 143. Gnedenkov S.V., Khrisanfova O.A., Sinebryukhov S.L., Puz' A.V., Gnedenkov A.S. Composite Protective Coatings on Nitinol Surface // *Materials and Manufacturing Processes*. 2008. V. 23. №. 8. P. 879–883.
 144. Борисова Т.Г., Самсонов Г.В. Физико-химические свойства оксидов. М.: *Металлургия*, 1978. – 472 с.
 145. Oliver W.C., Pharr G.M. An improved technique for determining hardness and elastic-modulus using load and displacement sensing indentation experiments // *Journal of Materials Research*. 1992. V. 7. №. 6. P. 1564–1583.
 146. Sinebryukhov S.L., Gnedenkov A.S., Khrisanfova O.A., Gnedenkov S.V. The Influence of Plasma Electrolytic Oxidation on the Mechanical Characteristics of the NiTi Alloys // *Surface Engineering*. 2009. V. 25. №. 8. P. 565–569.
 147. Alexandrou G.B., Chrissafis K., Vasiliadis L.P., Pavlidou E., Polychroniadis E.K. SEM observations and differential scanning calorimetric studies of new and sterilized nickel-titanium rotary endodontic instruments // *Journal of Endodontics*. 2006. V. 32. №. 7. P. 675–679.
 148. Ren C.C., Bai Y.X., Wang H.M., Zheng Y.F., Li S. Phase transformation analysis of varied nickel-titanium orthodontic wires // *Chinese Medical Journal*. 2008. V. 121. №. 20. P. 2060–2064.
 149. 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.
150. 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; Оpubл. 10.03.09, Бюл. № 7.
151. Zysset P.K. Guo X.E., Hofler C.E., Moore K.E., Goldstein S.A. Elastic modulus and hardness of cortical and trabecular bone lamellae measured by nanoindentation in the human femur // *Journal of Biomechanics*. 1999. V. 32. №. 10. P. 1005–1012.
152. 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.
153. Гнеденков С.В. Шаркеев Ю.П., Синебрюхов С.Л., Хрисанфова О.А., Легостаева Е.В., Завидная А.Г., Пузь А.В., Хлусов И.А. Кальций-фосфатные биоактивные покрытия на титане // *Вестник ДВО РАН*. 2010. №. 5. С. 47–57.
154. 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*. 2011. №. 1. С. 38–43.
155. Wei D. Zhou Y., Jia D., Wang Y. Characteristics of microarc oxidized coatings on titanium alloy formed in electrolytes containing chelate complex and nano- HA // *Applied Surface Science*. 2007. V. 253. P. 5045–5050.
156. Wei D., Zhou Y., Jia D., Wang Y. Characteristics and in vitro bioactivity of a microarc-oxidized TiO_2 -based coating after chemical treatment // *Acta Biomaterialia*. 2007. V. 3. P. 817–827.

157. Ryu H.S., Song W.-H., Hong S.-H. Biomimetic apatite induction of P-containing titania formed by microarc oxidation before and after hydrothermal treatment // *Surface and Coatings Technology*. 2008. №. 202. P. 1853–1858.
158. Huang P., Xu K.-W., Han Y. Preparation and apatite layer formation of plasma electrolyte oxidation film on titanium for biomedical application // *Materials Letters*. 2005. V. 59. P. 185–189.
159. Hanawa T., Kon M., Doi H., Ukai H., Murakami K., Hamanaka H., Asaoka K.. Amount of hydroxyl radical in calcium-ion implanted titanium and point of zero charge of constituent oxide of the surface modified layers // *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. 1998. V. 9. P. 89–92.
160. Kokubo T., Kim M., Kawashita M. Novel bioactive materials with different mechanical properties // *Biomaterials*. 2003. V. 24. №. 13. P. 2161–2175.
161. 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*. 2013. №. 1. С. 142–154.
162. Gnedenkov S.V., Khrisanfova O.A., Zavidnaya A.G., Sinebryukhov S.L., Egorkin V.S., Nistratova M.V., Yerokhin A., Matthews A. PEO coatings obtained on an Mg-Mn type alloy under unipolar and bipolar modes in silicate-containing electrolytes // *Surface & Coatings Technology*. 2010. V. 204. №. 14–15. P. 2316–2322.
163. 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; Оpubл. 20.02.12, Бюл. № 8.

164. Sun P., Lu Y., Yuan Y., Jing X., Zhang M. Preparation and characterization of duplex PEO/MoC coatings on Mg-Li alloy // *Surface & Coatings Technology*. 2011. V. 205. P. 4500–4506.
165. Синебрюхов С.Л., Хрисанфова О.А., Завидная А.Г., Егоркин В.С., Пузь А.В., Сергиенко В.И. Гнеденков С.В. Формирование биосовместимых покрытий для медицины на сплаве магния методом плазменного электролитического оксидирования // *Коррозия: материалы, защита*. 2012. №. 10. С. 38–43.
166. Gnedenkov A.S., Sinebryukhov S.L., Mashtalyar D.V., Gnedenkov S.V. Features of the corrosion processes development at the magnesium alloys surface // *Surface and Coatings Technology*. 2013. V. 225. №. 25. P. 112–118.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- АСМ – атомная силовая микроскопия
- АСУиК – автоматизированная система управления и контроля
- ДСК – дифференциальная сканирующая калориметрия
- ДТА – дифференциально-термический анализ
- ДТГ – дифференциальная термогравиметрия
- ПЭО – плазменное электролитическое оксидирование
- ПЭО-покрытие – покрытие, сформированное методом плазменного электролитического оксидирования
- РФА – рентгенофазовый анализ
- СЭМ – сканирующая электронная микроскопия
- ТГ – термогравиметрия
- ТО – термическая обработка
- УПТФЭ – ультрадисперсный политетрафторэтилен
- ЭЗМА – электронно-зондовый микроанализ
- ЭИС – электрохимическая импедансная спектроскопия
- ЭЭС – эквивалентная электрическая схема
- CPE – constant phase element* – элемент постоянной фазы
- SBF – среда имитирующая плазму крови человека по ионному составу
- ММСК – мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки
- ЩФ – щелочная фосфатаза

Диссертация выполнена под руководством доктора химических наук, профессора Гнеденкова Сергея Васильевича, которому принадлежит постановка целей и задач исследования, участие в обсуждении результатов.

Часть экспериментального материала, используемого в диссертационной работе, была получена при участии сотрудников Института химии ДВО РАН, в том числе:

– формирование ПЭО-слоев на поверхности металлов и сплавов, в том числе в условиях анодно-катодной поляризации, и подготовка образцов к исследованию различными методами проводилось совместно с к.х.н. О.А. Хрисанфовой, к.х.н. А.Г. Завидной, Т.М. Скоробогатовой, к.х.н. М.В. Сидоровой;

– съемки рентгенограмм соединений и анализ полученных результатов проведены сотрудниками группы рентгеноструктурного анализа под руководством к.х.н. Т.А. Кайдаловой;

– формирование композиционных слоев с использованием низкомолекулярных фракций УПТФЭ, и исследование термодинамической стабильности покрытий методом дифференциального термического анализа и термогравиметрии проведены к.т.н. Д.В. Машталяром;

– исследования электрохимических свойств ПЭО-покрытий проведены совместно с к.х.н. В.С. Егоркиным;

– получение СЭМ-изображений поперечных шлифов проведено совместно с к.х.н. В.Г. Курявым;

– исследование термических свойств покрытий методом ДСК проведено совместно с к.х.н. Е.Б. Меркуловым;

– низкомолекулярные фракции ультрадисперсного политетрафторэтилена получены и предоставлены к.х.н. А.К. Цветниковым

– наноструктурированный титан, используемый в работе для нанесения ПЭО-покрытия, был получен в Институте физики прочности и материаловедения СО РАН, научным коллективом под руководством д. ф.-м. н., профессора Ю.П. Шаркеева;

– исследования *in vivo* проведены в Сибирском государственном медицинском университете под руководством д.м.н. профессора И.А. Хлусова.

Выражаю искреннюю благодарность и признательность научному руководителю д.х.н., проф. С.В. Гнеденкову, д.х.н., доценту С.Л.Синебрюхову, к.х.н. О.А. Хрисанфовой за критический анализ и поддержку, оказанную как в ходе проведения экспериментов, так и на этапе завершения диссертации. Благодарен коллективу Института химии ДВО РАН за содействие в выполнении настоящей работы. Искренне признателен всем ученым и специалистам, принявшим участие в проведенных исследованиях и обсуждении полученных результатов.