УДК 661.882.27:666.651.4:616-089.843

ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПОКРЫТИЯ ДЛЯ ИМПЛАНТАЦИОННЫХ МАТЕРИАЛОВ

С.В. Гнеденков[1], *Ю.П. Шаркеев*[2], *С.Л. Синебрюхов*[1], *О.А. Хрисанфова*[1], *Е.В. Легостаева*[2], *А.Г. Завидная*[1], *А.В. Пузь*[1], *И.А. Хлусов*[3, 4]

[1]Институт химии ДВО РАН (690022 г. Владивосток, пр. 100 лет Владивостоку, 159), [2]Институт физики прочности и материаловедения СО РАН (634021 г. Томск, Академический пр-т, 2/4), [3]Российский научный центр «Восстановительная травматология и ортопедия» им. акад. Г.А. Илизарова (640014 г. Курган, ул. М. Ульяновой, 6), [4]НОЦ «Биосовместимые материалы и биоинженерия» при Томском политехническом университете и Сибирском государственном медицинском университете (634050 г. Томск, Московский тракт, 2).

Ключевые слова: имплантаты, покрытия, гидроксиапатит, биоактивность/биоинертность.

Обзор результатов научных исследований по модификации поверхности титановых сплавов, используемых в имплантационной хирургии, на примере изучения антикоррозионных биоинертных композиционных покрытий на никелиде титана и биоактивных кальцийфосфатных слоев, содержащих гидроксиапатит, на титане ВТ1-0. Представлены результаты модификации поверхности титановых сплавов с использованием плазменного электролитического оксидирования. Условия получения покрытий определяют их функциональное назначение. Показано, что целенаправленный подбор электролитов, используемых для формирования покрытий, позволил получить на поверхности технически чистого титана ВТ1-0 кальциево-фосфатные слои, биологическая активность которых подтверждена экспериментальными данными *in vivo* и *in vitro*. Показана перспективность применения метода плазменного электролитического оксидирования для формирования на поверхности никелида титана композиционных биоинертных покрытий, улучшающих его морфологическую структуру и электрохимические свойства, существенно снижая выход ионов никеля в организм.

Современная медицина широко использует искусственные материалы для замены поврежденных тканей и органов. В зависимости от их назначения вводимые в организм имплантаты должны замещаться живой тканью и/или функционировать в течение длительного времени. Большую часть металлических имплантатов, используемых в настоящее время в медицине, изготавливают из титана и титановых сплавов. Титановые сплавы, как материалы с приемлемыми (но небезупречными) для этих целей коррозионными и коррозионно-механическими свойствами, широко применяются в имплантационной хирургии.

В целом материалы, претендующие на роль имплантатов, должны удовлетворять ряду требований, а именно: не подвергаться коррозии, иметь характеристики, близкие к механическим характеристикам костной ткани, не вызывать реакций иммунной системы, интегрироваться с костной тканью и стимулировать процесс остеогенеза.

Одним из способов повышения прочности соединения костной ткани с имплантатом является нанесение на него покрытий, состоящих из родственных организму материалов. В силу сходства химического состава соединения на основе фосфатов кальция находят широкое применение в медицине при операциях по восстановлению целостности поврежденной кости в качестве биоактивной керамики [19]. В частности, физические и химические свойства гидроксиапатита, $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$, обеспечивают ему идеальную биосовместимость, активно стимулируя остеогенез и восстановление костной ткани. Иногда для повышения биосовместимости с костной тканью применяют гидроксиапатит нестехиометрического состава ($Ca_{10-x}(HPO_4)_x(PO_4)_{6-x}(OH)_{2-x}$, где $0<x<1$), разбавляя более растворимыми фосфатами кальция, например трехзамещенным ортофосфатом [12]. Вместе с тем установлено, что не только химический состав, но и морфология поверхности имплантата является важной характеристикой, определяющей реакцию организма на чужеродный материал [28]. С целью повышения адгезионной прочности покрытий к титановой основе в ряде случаев перед их нанесением необходимо проводить обработку поверхности для создания определенной шероховатости. Это может быть пескоструйная обработка или химическое травление, что позволяет сформировать многоуровневую (многомодальную) поверхность с высокопористой структурой, которая обеспечивает повышение адгезионной прочности кальцийфосфатного покрытия к титановой основе [11].

Кроме того, важнейшей проблемой для некоторых имплантационных материалов является создание на их поверхности биологически инертных покрытий. Одним из таких материалов, используемым в имплантационной хирургии, является никелид титана (46÷52 ат. % – Ti и 48÷54 ат. % – Ni), обладающий уникальным эффектом памяти формы [25]. В частности, он используется для изготовления фиксаторов при лечении позвоночно-спинальных травм и дегенеративно-дистрофических заболеваний, имплантатов-скрепок, применяемых для соединения грудины при кардиологических операциях, и т.д. Однако диффузия и накопление ионов никеля в мягких тканях может приводить к негативным последствиям, в частности, к развитию новообразований.

Для защиты имплантата от коррозионно-активной биологической среды и для лучшей адаптации костных

Гнеденков Сергей Васильевич – д-р хим. наук, профессор, заместитель директора Института химии ДВО РАН, тел.: +7 (423) 231-25-90; e-mail: svg21@hotmail.com

тканей к инородному телу оптимальным вариантом является создание гетерооксидных композиционных биоинертных (в случае присутствия в них полимера) или биоактивных (в случае присутствия в них гидроксилапатита кальция, фосфатов, антибиотиков и т.д.) слоев на поверхности титансодержащих материалов с использованием метода плазменного электролитического оксидирования (ПЭО) [1–9, 15].

Метод ПЭО основан на анодной или переменнотоковой поляризации обрабатываемого материала при высоких напряжениях, вызывающих протекание плазменных микроразрядов 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 [4, 10]. Свойства таких слоев отличаются от свойств обычных анодных оксидных пленок. Последующей обработкой созданной методом ПЭО поверхностной структуры (заполнение пор биоактивными и/или биоинертными композитами) можно сформировать композиционное покрытие, имеющее перспективу практического использования в имплантационной хирургии.

В данном обзоре представлены результаты научных исследований, связанные с модификацией поверхности титановых сплавов, используемых в имплантационной хирургии, на примере изучения антикоррозионных биоинертных композиционных покрытий на никелиде титана и биоактивных кальцийфосфатных поверхностных ПЭО-слоев, содержащих гидроксиапатит, на титане ВТ1-0 [1, 5–9, 16–18, 27].

Антикоррозионные покрытия на никелиде титана

В научной литературе к настоящему времени чрезвычайно мало представлена информация о получении защитных покрытий на никелиде титана (в отличие от титановых и алюминиевых сплавов), а тем более об обработке поверхности с использованием ПЭО. В результате проведенного поиска для формирования защитных поверхностных слоев был выбран электролит, содержащий алюминат натрия ($NaAlO_2$), карбонат натрия (Na_2CO_3) и трехзамещенный фосфат натрия ($Na_3PO_4 \cdot 12H_2O$). На основе ранее разработанных принципов направленного плазменно-электролитического синтеза предполагалось, что в данном составе электролита на поверхности никелида титана могут формироваться слои, содержащие в своем составе соединения алюминия (оксиды, фосфаты) и диоксид титана (TiO_2) [13]. Кроме того, в электролит добавляли диметилглиоксим, который, как известно, связывает в растворе катионы никеля (Ni^{2+}) в хелатное соединение – диметилглиоксимат никеля, $Ni(HC_4H_6N_2O_2)_2$, имеющее красный цвет. Предполагалось, что катионы никеля, образующиеся в растворе электролита в процессе оксидирования при анодном растворении никеля из никелида титана, будут

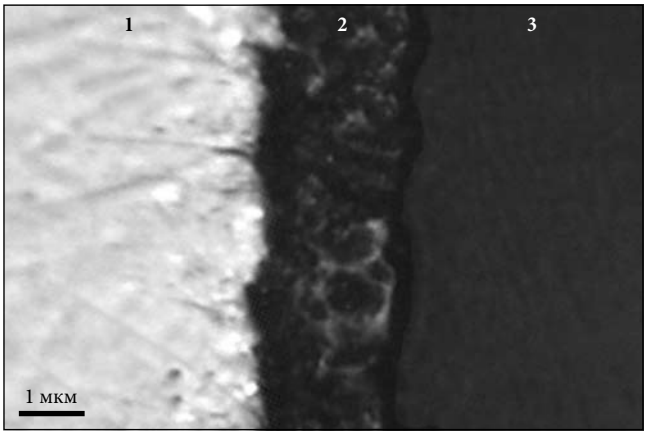

Рис. 1. Фотография поперечного шлифа ПЭО-покрытия, сформированного на поверхности никелида титана:
1 – никелид титана, 2 – покрытие, 3 – полимер [5].

связываться диметилглиоксимом в комплексное соединение, стабильное при комнатной температуре и нерастворимое в водном электролите. Согласно предполагаемому механизму, осадок будет способствовать уменьшению пористости формируемого анодного слоя, увеличивая его антикоррозионные свойства. О наличии же диметилглиоксимата никеля 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 ($NiAl_2O_4$) [5, 27]. При анализе дифрактограмм поверхностных слоев на некоторых образцах было установлено присутствие кислородсодержащего соединения никеля и титана (Ni_3Ti_3O), концентрация которого мала. В то же время в составе поверхностных слоев не было обнаружено оксидов титана. На рис. 1 представлена оптическая фотография поперечного шлифа образца с ПЭО покрытием на поверхности. Толщина ПЭО покрытия составляет 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.

Поскольку состояние поверхности изделия существенно влияет на его поведение в коррозионно-активной среде [25], с целью изменения состояния поверхности исходного материала и последующего выявления этого влияния образцы никелида титана были обработаны несколькими способами:

1) нанесением на поверхность ультрадисперсного политетрафторэтилена с последующим отжигом при 100 °C в течение часа;

2) плазменно-электролитическим оксидированием в потенциодинамическом монополярном режиме до 180 В со скоростью развертки напряжения 0,25 В/с и в знакопеременном биполярном комбинированном

Таблица 1

Коррозионные свойства исследуемых образцов никелида титана с различными покрытиями [5, 27]

№ образца	Режим формирования покрытия, электролит	R_P, Ом·см^2	I_C, А/см^2	E_C, В
1	Без покрытия	$1{,}57\cdot10^5$	$1{,}66\cdot10^{-7}$	–0,215
2	УПТФЭ* (отжиг при 100 °С, 1 час)	$2{,}34\cdot10^5$	$1{,}11\cdot10^{-7}$	–0,261
3	ПЭО в монополярном режиме: $Na_3PO_4\cdot12H_2O$ – 10 г/л, $NaAlO_2$ – 20 г/л, Na_2CO_3 – 10 г/л	$6{,}39\cdot10^5$	$4{,}09\cdot10^{-8}$	–0,262
4	ПЭО в биполярном режиме: $Na_3PO_4\cdot12H_2O$ – 10 г/л, $NaAlO_2$ – 20 г/л, Na_2CO_3 – 10 г/л	$6{,}60\cdot10^6$	$3{,}95\cdot10^{-9}$	–0,273
5	ПЭО в монополярном режиме: $Na_3PO_4\cdot12H_2O$ – 10 г/л, $NaAlO_2$ – 20 г/л, Na_2CO_3 – 10 г/л, ДМГО** – 1 г/л	$8{,}12\cdot10^5$	$2{,}34\cdot10^{-8}$	–0,080
6	Как образец № 3 + УПТФЭ*	$6{,}05\cdot10^6$	$4{,}31\cdot10^{-9}$	–0,055
7	Как образец № 4 + УПТФЭ*	$9{,}11\cdot10^6$	$3{,}67\cdot10^{-9}$	–0,082

* Ультрадисперсный политетрафторэтилен.
** Диметилглиоксим.

режиме. Комбинированный режим представляет собой сочетание анодного потенциостатического (dU/dt = 0,25 В/с) и катодного гальваностатического ($j_к$=0,5 А/см^2) режимов поляризации. Соотношение длительностей анодного и катодного периодов поляризации составляло $\tau_а/\tau_к$ = 4;

3) плазменно-электролитическим оксидированием (в режимах, соответствующих пункту 2) с последующим нанесением на поверхность ПЭО-слоя ультраполитетрафторэтилена и отжигом структуры при 100 °С в течение часа.

Анализ электрохимического поведения образцов в физиологическом растворе показывает, что наибольшими защитными свойствами обладают композиционные покрытия с ПЭО-слоем, обработанным ультрадисперсным политетрафторэтиленом (рис. 2, кривые 6 и 7). Такая обработка приводит к облагораживанию стационарного потенциала (потенциала свободной коррозии) образца (E_C) 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 обр. № 3 и 5). В табл. 1 представлены сравнительные коррозионные характеристики образцов никелида титана, обработанных различными способами, также приведено значение поляризационного сопротивления образца (R_P), определенное по линейному участку поляризационной кривой в области стационарного потенциала.

Анализ результатов электрохимических исследований [5, 27] показывает, что обработка поверхности никелида титана ультрадисперсным политетрафторэтиленом мало влияет на состояние границы раздела электрод/электролит, лишь незначительно уменьшая уровень анодного тока (рис. 2). Низкий эффект от такой обработки, вероятнее всего, связан со слабой адгезией полимера к металлической подложке и недостаточной сплошностью образовавшегося защитного слоя. Обработка образца методом ПЭО приводит к повышению его устойчивости в исследуемой среде [18]. Добавление в электролит диметилглиоксима несколько увеличивает защитные свойства покрытий (рис. 2, кривая 5), однако отличие весьма незначительное. На поляризационных кривых (рис. 2, кривая 5) фиксируется заметное увеличение только потенциала свободной коррозии. Анодный ток для такого покрытия, соизмеримый на начальном участке с анодным током для образца с ПЭО-слоем, сформированным в биполярном комбинированном 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 его концентрация в пленке невысока (менее 10 %), так как рефлексы, соответствующие этой фазе, не фиксируются на дифрактограмме. Являясь термически нестойким соединением, 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

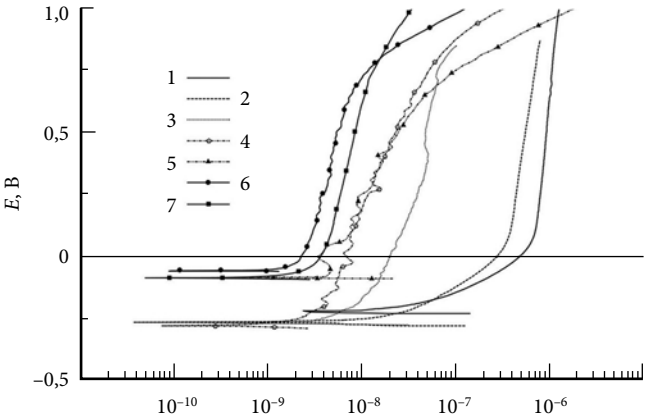

Рис. 2. Поляризационные кривые, снятые в физиологическом растворе со скоростью развертки v=10 мВ/мин. Условные обозначения образцов в соответствии с таблицей в тексте статьи [5].

Таблица 2

Некоторые параметры исследуемых в условиях in vivo поверхностных ПЭО-слоев [9]

№ образца	Состав электролита, г/л; режим поляризации	Кол-во срезов	*Ra*, мкм	Фазовый состав покрытий	S кости, мм^2	S костного мозга, мм^2	Содержание хим. элементов, ат. %			Ca/P
							Ti	Ca	P	
1	$Ca_3(C_6H_5O_7)_2 \cdot 4H_2O$, 30; $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$, 30; монополярный	17	2,15	TiO_2 + рентгеноаморфная фаза	0,4483	0,4318	11,32	3,18	3,69	0,86
2	$Ca_3(C_6H_5O_7)_2 \cdot 4H_2O$, 20; $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$, 20; монополярный	17	2,86	TiO_2 + рентгеноаморфная фаза	0,4749	0,8140	11,49	3,11	3,28	0,95
3	$Ca_3(C_6H_5O_7)_2 \cdot 4H_2O$, 40; $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$, 40; монополярный	11	9,13	TiO_2 + рентгеноаморфная фаза	0,3346	0,2950	6,29	9,28	5,24	1,77
4	$Ca_3(C_6H_5O_7)_2 \cdot 4H_2O$, 20; $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$, 20; биполярный	9	1,97	TiO_2 + рентгеноаморфная фаза	0,7635	0,3670	19,07	11,73	7,21	1,63
5	$Ca(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$, 50; Na_2HPO_4, 25; биполярный	17	1,79	$Ca_5(PO_4)_2OH + Ca_3(PO_4)_2$	0,7453	0,5450	2,57	17,22	8,85	1,94

каналу областей покрытия [20, 24]. Таким образом, низкое содержание диметилглиоксимата никеля в порах покрытия не позволяет обеспечить существенной коррозионной защиты при больших полевых смещениях.

Следует учитывать, что ПЭО-покрытие представляет собой слой, состоящий из внешней пористой и внутренней беспористой частей. Пористый подслой, как правило, имеет кратероподобные углубления с диаметром до нескольких микрон. Таким образом, размеры пор несколько больше размеров частиц порошка ультрадисперсного политетрафторэтилена (порядка 1 мкм), применяемого для обработки поверхности пленки. Создание пористой структуры поверхности может быть дополнительным преимуществом 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 происходит значительное увеличение модуля импеданса, который становится на порядок выше, чем у образца без покрытия [27]. Это свидетельствует о том, что обработка политетрафторэтиленом позволяет заполнить поры покрытия полимером и создать на поверхности дополнительный барьер, препятствующий выходу ионов металла в раствор.

Таким образом, показана перспективность применения метода ПЭО 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 [18]. Сочетание поляризационного и плазменного воздействий на поверхности 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, гидроксилапатита или других фосфатсодержащих 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 предшествующих исследований, после наполнения пор ультрадисперсным порошком политетрафторэтилена, который может быть использован в качестве полимера, для получения сглаженных гидрофобных поверхностных слоев необходима термообработка [2, 14, 17, 18]. Полимер в этом случае запечатывает поры, в которые можно предварительно ввести лекарственные препараты и, таким образом, уменьшить их диффузию из поверхностного слоя. Это увеличивает продолжительность терапевтического действия лекарства, находящегося в поре. Кроме того, формируемые антикоррозионные защитные покрытия, значительно уменьшая диффузию ионов никеля из никелида титана, препятствуют его аккумуляции в тканях человека [16].

Биоактивные кальциево-фосфатные покрытия на титане

В результате проработки различных кальцийсодержащих электролитических систем, а также режимов оксидирования было установлено, что методом ПЭО на поверхности титана ВТ1-0 можно формировать различные кальциево-фосфатные покрытия, в том числе содержащие гидроксиапатит [6, 7, 9, 11]. Различные кальцийсодержащие соли были выбраны в качестве компонентов электролита с целью формирования ПЭО-покрытий на титане ВТ1-0 с отношением Ca/P, близким к отношению в костной ткани человека (1,67). В табл. 2 приведены составы электролитов, условия формирования, фазовый и элементный составы и

отношение Ca/P для покрытий, полученных на титане в электролитах, содержащих цитрат и ацетат кальция с добавлением двузамещенного фосфата натрия. Как следует из анализа результатов эксперимента, приведенных в таблице, покрытия, полученные в ацетатсодержащем электролите, включают в свой состав гидроксиапатит. Покрытия, сформированные в цитратсодержащем электролите, хотя и содержат в составе кристаллической фазы только диоксид титана, но, судя по величине отношения Ca/P, в их состав входят кальциево-фосфатные соединения, присутствующие в виде рентгеноаморфной фазы.

Важным фактором, определяющим синтез гидроксиапатита в поверхностном слое, является характер поляризации при ПЭО. Только в биполярном режиме ПЭО в ацетатсодержащем электролите был получен гидроксиапатит, $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$, а в цитратсодержащем электролите были достигнуты большие концентрации Ca и P в составе покрытия при невысоких концентрациях электролита (табл. 2). 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 поляризации – ионами, которые, взаимодействуя, образуют молекулы кальциево-фосфатных соединений: $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$, $Ca_3(PO_4)_2$, $CaHPO_4 \cdot 2H_2O$. Кроме того, в биполярном режиме плазменно-электролитической обработки в состав плазмы вовлекается большее количество элементов электролита, что обеспечивает на поверхности имплантата более интенсивный электрохимический синтез кальциево-фосфатных соединений из соответствующих элементов, чем в монополярном режиме. Биполярный режим плазменного электролитического формирования покрытий имеет некоторые преимущества перед монополярным. 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 слоя, увеличивающего сопротивление переносу заряда (область пространственного заряда) в материале самого покрытия. 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. Выделяемая при термической деструкции цитратсодержащих и ацетатсодержащих 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 метастабильного состояния соединений, входящих в материал покрытия, в стабильные. Это влияет на морфологию поверхностных слоев, изменяет антикоррозионные характеристики покрытий.

Исследование элементного состава покрытий показало, что во всех образцах присутствуют кальций и фосфор (см. табл. 2), в то время как рентгенофазовый анализ не подтвердил наличия кальциево-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. Данные энергодисперсионной спектроскопии позволяют вычислить отношение кальция к фосфору, которое показывает степень соответствия состава покрытия, полученного методом ПЭО, составу минеральной составляющей костной ткани [9].

При исследовании методом электронной сканирующей микроскопии морфологии покрытий, полученных в цитрат-фосфатном и ацетат-фосфатном электролитах, было установлено, что поверхность развитая, имеет поры, наличие которых благоприятно для врастания в них костной ткани и формирования более прочного соединения имплантата с костью. Одним из преимуществ пористых покрытий является перспектива их использования для создания композиционных гетероструктур. Поры и неровности в поверхности покрытий могут быть заполнены различными лекарственными веществами, например, антибиотиками, чтобы дополнительно снизить вероятность воспалительных процессов [9]. Развитая пористая поверхность полученного покрытия и его состав, близкий к минеральному составу костной ткани, предполагают быстрое вживление имплантата за счет того, что костная ткань прорастает в поры его поверхности.

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 ГПа (при микротвердости H=2,7 ГПа), что значительно больше по сравнению с естественной костью, для которой E=20 ГПа (при H=1,2 ГПа,). Несоответствие этих параметров является причиной возникновения краевых напряжений в месте соединения имплантата с окружающей костью. При определенных величинах деформаций, возникающих при нагрузках, иногда случается отслоение кости от имплантата, приводящее к некрозу. Поэтому в данной работе были изучены механические и упруго-пластические характеристики кальцийфосфатных поверхностных слоев на титане.

Согласно проведенным измерениям, микротвердость поверхностного ПЭО-слоя составила 2,2 ГПа, что несколько меньше микротвердости титана ВТ1-0 (H=2,7 ГПа) [9]. В то же время модуль Юнга для покрытия (E=30 ГПа) почти в 2,5 раза меньше по сравнению с подложкой (E=80 ГПа). Таким образом,

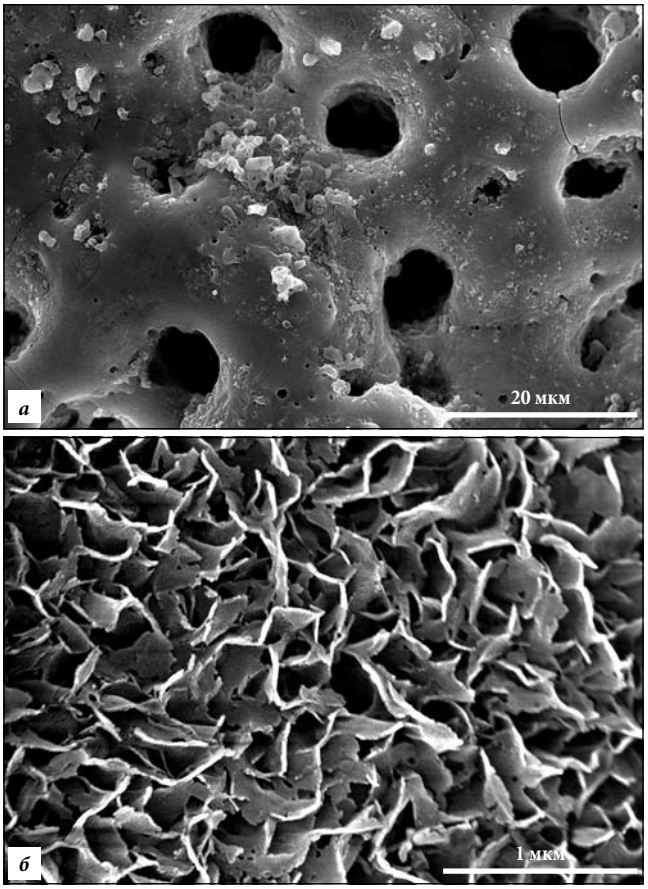

Рис. 3. Поверхность образца титана ВТ1-0 с покрытием, полученным в ацетатно-фосфатном электролите:
а – до, б – после выдержки в SBF-растворе в течение 30 сут. Сканирующая электронная микроскопия [9].

сформированное на поверхности титана кальцийфосфатное 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. Кальциево-фосфтное покрытие в этой ситуации, может выполнять функции демпфера, минимизируя вероятность отслоения кости от имплантата при деформациях [9].

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

Для оценки в лабораторных условиях биологической активности образцов с ПЭО-покрытиями использовали их выдержку в искусственной среде, имитирующей плазму крови человека (Simulated Body Fluid – SBF) [23] при постоянной температуре 37±0,5 °С. После выдержки покрытий в насыщенном по ионам Ca^{2+} и SBF-растворе происходит минерализация и осаждение кристаллов кальциево-фосфатных соединений на активных центрах поверхности покрытия и формирование чешуйчатой структуры гидроксиапатита, присутствие которого подтверждается методом рентгенофазового анализа (рис. 3) [7, 9].

Полученные результаты [7, 9] согласуются с данными, приведенными в ряде работ [21, 26, 29, 30], где констатируется, что кальциево-фосфатные покрытия с определенным уровнем шероховатости могут индуцировать образование кристаллического гидроксиапатита. P. Huang et al. [21] 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 кальциево-фосфатного покрытия еще и диоксид титана (в модификации рутил и анатаз). Изоэлектрическая точка рутила – 4,6±0,4 и анатаза – 5,9±0,2 [20]. В SBF-растворе рутил и анатаз могут заряжаться отрицательно и электростатически адсорбировать Ca^{2+} на поверхности покрытия. Последние, притягивая анионы OH^-, и создают пересыщение фосфата кальция в приповерхностном слое покрытия. При определенных условиях фосфат кальция может минерализоваться из раствора с образованием гидроксиапатита.

Вместе с тем, установлено, что эффективность остеоинтеграции, т.е. врастания имплантатов, зависит от многих факторов, в том числе от состояния кости, структуры и свойств имплантируемого изделия, его адгезии, механических свойств, процессов, протекающих на границе раздела покрытие/костная ткань и покрытие/имплантат [22], что можно выяснить только в результате прямого эксперимента на биологическом объекте.

Для дальнейшего, более глубокого 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 [9]. Результаты исследований 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 соединений фосфора и кальция в определенном количественном соотношении. Однако, судя по результатам эксперимента, этот фактор является не единственным значимым параметром. Одним из важных условий также служит шероховатость кальциево-фосфатного слоя и абсолютная концентрация кальция и фосфора в покрытии [9].

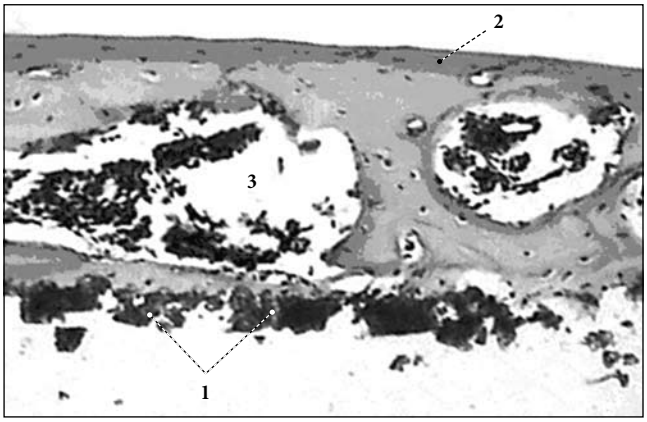

Рис. 4. Структура тканевых пластинок, выросших на кальциево-фосфатных покрытиях в тесте эктопического костеобразования у мышей:

1 – фрагменты кальциево-фосфатного покрытия, 2 – костная пластинка, 3 – лакуны, заполненные красным костным мозгом. Окр. гематоксилином и эозином, ×400 [9].

На гистологических препаратах тканевых пластинок, выросших на искусственных поверхностях с ПЭО-слоями, при окраске гематоксилином и эозином была выявлена грубоволокнистая костная ткань с полостями, заполненными костным мозгом (рис. 4).

Количественные параметры гистологического состава (кость, костный мозг) тканевых пластинок, показатель шероховатости (*R*a), фазовый состав и отношение Ca/P покрытий приведены в табл. 2. Из анализа данных следует, что в режиме ПЭО на титане, в растворах электролитов, содержащих цитрат и ацетат натрия, были получены биологически активные кальциево-фосфатные покрытия. При этом данные рентгенофазового анализа, согласно которым в составе некоторых покрытий обнаружен только диоксид титана, не отрицают присутствия в них кальциево-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 (табл. 2) были обнаружены гидроксиапатит кальция и фосфат кальция. Отношение Ca/P составило 1,92. Ключевым фактором оценки биоактивных свойств полученных покрытий является количество сформированной на их поверхности костной ткани.

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

Вместе с тем шероховатость является важным, но не единственным критерием интенсивного образования костной ткани. Важную роль играет как абсолютное содержание в покрытии фосфора и кальция, так и их соотношение [9]. Согласно данным, приведенным в табл. 2, максимальное костеобразование наблюдалось для образцов № 4 и 5. При различии их фазового состава (TiO_2, рентгеноаморфная фаза – для образца № 4 и гидроксиапатита, $Ca_3(PO_4)_2$ – для образца № 5), отношение Ca/P здесь оказалось выше, чем для остальных образцов. Образец № 3 имеет достаточно высокое значение отношения Ca/P, но содержание Ca и P было меньше по сравнению с образцами № 4 и 5. К тому же параметр шероховатости для образца № 3 имел максимальное значение (9,13 мкм) среди исследуемых поверхностей. С другой стороны, образцы № 1 и 2 имели оптимальную величину шероховатости, равную 2,15 и 2,86 мкм (табл. 2). Однако концентрации Ca и P, а также отношение Ca/P для этих образцов оказалось существенно ниже, чем для образцов № 4 и 5. В силу этих причин, вероятнее всего, рост костной ткани на этих поверхностных слоях (образцы № 1, 2 и 3) был незначительным. Таким образом, значение шероховатости поверхности является важным, но не достаточным условием костеобразования [9].

Это согласуется с данными ранее проведенных *in vitro* исследований, выявивших оптимум шероховатости (*R*a=2–3 мкм) искусственных поверхностей для проявления наилучших остеогенных свойств мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток человека. Можно предположить, что оптимумы значений *R*a для остеогенной дифференцировки этих клеток человека *in vitro* и мыши в тесте эктопического костеобразования во многом аналогичны.

Таким образом, показано, что метод ПЭО позволяет формировать на изделиях из титана ВТ1-0 кальциево-фосфатные и оксидные покрытия. Исследованы их фазовый и элементный составы, морфология поверхности и определено отношение Ca/P. Установлено, что по своим механическим характеристикам кальциево-фосфатные покрытия приближаются к механическим характеристикам костной ткани. Проведенные испытания покрытий в SBF-растворе продемонстрировали биологическую активность изучаемых поверхностных слоев. Показано, что эта активность *in vivo* определяется суперпозицией специфических параметров: химическим составом, в частности, значениями концентраций кальция и фосфора, а также их соотношением и морфологическими особенностями (шероховатостью) кальциево-фосфатного покрытия на поверхности титановых имплантатов.

Заключение

На основании результатов комплексного исследования, проведенного взаимодополняющими, в том числе прямыми (*in vivo*) методами анализа, можно констатировать, что с использованием плазменного электролитического оксидирования разработаны способы формирования биологически инертных и биологически активных поверхностных слоев, существенно расширяющих практические возможности имплантационных материалов.

Литература

1. *Гнеденков С.В. Хрисанфова О.А., Синебрюхов С.Л. и др. Способ получения биосовместимых фторполимерных покрытий на изделиях из нитинола. Патент на изобретение № 2316357. Российская Федерация, 10.02.2008 г.*
2. *Гнеденков С.В., Синебрюхов С.Л., Машталяр Д.В. и др. Композиционные полимерсодержащие защитные слои на титане // Коррозия: материалы, защита. 2007. № 7. С. 37–42.*
3. *Гнеденков С.В., Синебрюхов С.Л., Машталяр Д.В. и др. Формирование композиционных полимерсодержащих слоев на металлах и сплавах // Вестник Дальневосточного отделения РАН. 2009. № 2. С. 98–106.*
4. *Гнеденков С.В., Хрисанфова О.А., Игнатьева Л.Н., и др. Комплексообразование алюминия с солями винной кислоты // Журнал неорганической химии. 2005. Т. 50, № 12. С. 2050–2058.*
5. *Гнеденков С.В., Хрисанфова О.А., Синебрюхов С.Л. и др. Композиционные защитные покрытия на поверхности никелида титана // Коррозия: материалы, защита. 2007. № 2. С. 20–25.*
6. *Гнеденков С.В., Хрисанфова О.А., Синебрюхов С.Л. и др. Способ нанесения кальций-фосфатного покрытия на имплантаты из титана и его сплавов. Патент на изобретение № 2348744. Российская Федерация, 10.03.2009 г.*
7. *Гнеденков С.В., Хрисанфова О.А., Синебрюхов С.Л. и др. Формирование на титане поверхностных слоев, содержащих гидроксиапатит // Коррозия: материалы, защита. 2008. № 8. С. 24–30.*
8. *Гнеденков С.В., Хрисанфова О.А., Синебрюхов С.Л., Пузь А.В. Способ получения защитных покрытий на изделиях из нитинола. Патент на изобретение № 2319797. Российская Федерация, 20.03.2008 г.*
9. *Гнеденков С.В., Шаркеев Ю.П., Синебрюхов С.Л. и др. Кальций-фосфатные биоактивные покрытия на титане // Вестник ДВО РАН. 2010. № 5. С. 47–57.*
10. *Гордиенко П.С., Гнеденков С.В. Микродуговое оксидирование титана и его сплавов. Владивосток: Дальнаука, 1997. 198 с.*
11. *Легостаева Е.В., Шаркеев Ю.П., Толкачева Т.В. и др. Биоактивное покрытие на имплантате из титана и способ его получения. Патент на изобретение № 2385740. Российская Федерация, 10.04.2010 г.*
12. *Путляев В.И. Современные биокерамические материалы // Соросовский образовательный журнал. 2004. Т. 8, № 1. С. 44–50.*
13. *Хрисанфова О.А., Волкова Л.М., Гнеденков С.В., и др. Синтез пленок химических соединений на титане в условиях микроплазменных разрядов // Журнал неорганической химии. 1995. Т. 40, № 4. С. 558–562.*
14. *Gnedenkov S. V., Sinebryukhov S. L., and Sergienko V. I. Electrochemical impedance simulation of a metal oxide heterostructure/electrolyte interface // A Review Russian Journal of Electrochemistry. 2006,. Vol. 42, No. 3. P. 197–211.*
15. *Gnedenkov S.V., Khrisanphova O.A., Zavidnaya A.G., et al. Production of hard and heat-resistant coatings on aluminium using a plasma micro-discharge // Surface and Coatings Technology. 2000. Vol. 123. P. 24–28.*
16. *Gnedenkov S.V., Sinebryukhov S.L. Composite polymer containing coatings on the surface of metals and alloy // Composite Interfaces. 2009. Vol. 16, No. 4–6. P. 387–405.*
17. *Gnedenkov S.V., Sinebryukhov S.L., Khrisanfova O.A., Scorobogatova T.M. Electrochemical and morphological features of the anticorrosion films obtained on the titanium surface // Surface Engineering. 2005. Vol. 2, No. 2A. P. 107–114.*
18. *Gnedenkov S.V., Sinebryukhov S.L., Mashtalyar D.V. at al. Composite polymer-containing protective layers on titanium // Protection of Metals. 2008. Vol. 44, No. 7. P. 67–72.*
19. *Han Y., Hong S.H., Xu K.W. Structure and in vitro bioactivity of titania-based films by micro-arc oxidation // Surface and Coatings Technology. 2003. Vol. 168. P. 249–258.*
20. *Hanawa T., Kon M., Doi H. et al. Amount of hydroxyl radical in calcium-ion implanted titanium and point of zero charge of constituent oxide of the surface modified layers // J. Material Sci.: Mater. Med. 1998. Vol. 9. P. 89–92.*
21. *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. Vol. 59. P. 185–189.*
22. *Kim M., Kawashita M. Novel bioactive materials with different mechanical properties // Biomaterials. 2003. Vol. 24. P. 2161–2175.*
23. *Kokubo T., Takadama H. How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity? // Biomaterials. 2006. Vol. 27. P. 2907–2915.*
24. *Li X., Zhang X., Li Z. at al. Synthesis and characteristics of NiO nanoparticles by thermal decomposition of nickel dimethylglyoximate rods // Solid State Communications. 2006. Vol. 137, No. 11. P. 581–584.*
25. *Rondelli G. Corrosion resistance tests of NiTi shape memory alloy // Biomaterials. 1996. Vol. 17. P. 2003–2008.*
26. *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. Vol. 202. P. 1853–1858.*
27. *Sinebryukhov S.L., Gnedenkov A.S., Khrisanfova O.A. at al. The influence of plasma electrolytic oxidation on the mechanical characteristics of the NiTi alloys // Surface Engineering. 2009. Vol. 25, No. 8. P. 565–569.*
28. *Suchanek W., Yashma M., Kakihana M., at al. Hydroxyapatite ceramics with selected sintering additives // Biomaterials. 1997. Vol. 18. P. 925–933.*
29. *Wei D., Zhow Y., Jia D. at al. Biomimetic apatite deposited on microarc anatase-based ceramic coatings // Ceramic International. 2008. Vol. 34. P. 1139–1144.*
30. *Wei D., Zhow Y., Jia D. at al. Characteristics and in vitro bioactivity of a microarc-oxidized TiO2 –based coating after chemical treatment // Acta Biomaterialia. 2007. Vol. 3. P. 817–827.*

Поступила в редакцию 20.04.2011.

FUNCTIONAL COATINGS FOR IMPLANTS

S.V. Gnezdenkov[1], Yu.P. Sharkeev[2], S.L. Sinebryukhov[1], O.A. Khrisanforova[1], E.V. Legostaeva[2], A.G. Zavidnaya[1], A.V. Puz[1], I.A. Khlusov[3, 4]

[1] *Institute of Chemistry (159 100 Year Anniversary of Vladivostok Av. Vladivostok 690022 Russia),* [2] *Institute of Strength Physics and Materials Science of the Siberian Branch of Russian Academy of Sciences (2/4 Akademicheskiy Av. Tomsk 634021 Russia),* [3] *Federal State Institution "Russian Ilizarov Scientific Centre ' Restorative Traumatology And Orthopaedics" of Ministry of Health and Social Development of the Russian Federation (6 Ulyanova St. Kurgan 640014 Russia),* [4] *REC 'Bio-compatible Materials and Biomedical Engineering' of Tomsk Polytechnic University and Siberian State Medical University (2 Moskovskiy Tr. Tomsk 634050 Russia)*

Summary – The paper reviews results of the scientific researches on the surface modification of tita-nium alloys used in implant surgery, considering a specific example of corrosion-resistant bioinert composite coatings made of titanium nickelide and hydroxyapatite-containing bioactive calcium-phosphate layers, and titanium-BT1-0. The authors have modified the titanium alloy surfaces by plasma electrolytic oxidation method. The production conditions determine the planned functions of coatings. As reported, the task-specific selection of electrolytes used to produce coatings allows to obtain calcium-phosphate layers on the surface of technical grade titanium BT1-0. Their biological activity is confirmed by *in vivo* and *in vitro* experiments. The authors offer promising prospects for applying plasma electrolytic oxidation method in an effort to produce on the titanium nickelide the bioinert composite coatings known to improve its morphological structure and electrochemical prop-erties, thus considerably decreasing ingress of nickel ions into organism.

Key words: *implants, coatings, hydroxyapatite, bioactivity/bioinertness.*

Pacific Medical Journal, 2012, No. 1, p. 12–19.