

*Канд. техн. наук О. В. Савцова, д-р техн. наук Л. Л. Брагіна,  
канд. біол. наук С. В. Малишкіна, О. В. Бабіч  
(НТУ «Харківський політехнічний інститут»,  
м. Харків, Україна)*

## **Формування апатитоподібного шару на поверхні кальційсилікофосфатних склокерамічних матеріалів в умовах живого організму**

### **Вступ**

Важливим етапом при створенні біосумісних кісткових ендпротезів є розробка та впровадження біоактивних матеріалів зі структурою та властивостями, близькими до властивостей натуральної кістки, які можуть використовуватися на навантажених ділянках скелету [1]. Одержання кісткових імплантатів на основі кальційфосфатних матеріалів дозволить суттєво підвищити їх фізико-хімічні та медико-біологічні властивості за рахунок регулювання їх фазового складу [2].

Невідповідність механічних властивостей біоактивних керамічних матеріалів до таких для кісткової тканини не дозволяє їх використовувати при тривалих статичних та динамічних навантаженнях. Актуальним є використання склокерамічних матеріалів як біосумісних кісткових імплантатів при змінних навантаженнях. Забезпечення їх біологічної активності та структурної міцності є результатом здатності даних матеріалів до об'ємної тонкодисперсної кристалізації фосфатів кальцію — гідроксиапатиту (ГАП) та карбонатгідроксиапатиту (КГАП). Карбонат-іони в структурі ГАП можуть займати дві еквівалентні позиції, заміщаючи гідроксил і / або фосфат-іони з утворенням КГАП А- і В-типу відповідно.

Встановлення можливості формування апатитового шару на поверхні біоактивних склокерамічних матеріалів в умовах живого організму (*in vivo*) є визначальним при виявленні їх біологічної сумісності з кістковими тканинами людини. Відомо, що для поверхнево-активних керамічних кальційфосфатних матеріалів утворення апатитового шару *in vivo* є достатньо тривалим, що збільшує строк мінералізації імплантату та позначається на терміні реабілітації пацієнтів. При використанні як

імплантатів резорбційних кальційфосфатних склокерамічних матеріалів завдяки прискоренню розчинення та осадження на поверхні імплантатів катіонів кальцію та аніонів фосфору формується міцний зв'язок кісткової тканини з поверхнею імплантату та спостерігається повне заміщення імплантату молодю кісткою зі строком мінералізації близько 6 місяців [1].

Перспективним напрямком підвищення біологічної сумісності склокерамічних кальційфосфатних матеріалів є введення до їх складу оксиду кремнію — важливого елементу в процесах формування і розвитку хрящових та кісткових структур. Відомо, що силікатні матеріали гідролізуються з утворенням гелеподібного багатокремнеземистого шару, насиченого групами  $\text{OH}^-$  [3], який відіграє важливу роль у механізмі апатитоутворення. Вважається, що структурні елементи  $\text{Si-OH}^-$  забезпечують місця для гетерогенного зародкоутворення кристалів апатиту. Аналізуючи результати досліджень біоактивності силікофосфатних склокерамічних матеріалів, К. Карлсон [4] переконливо показав, що біоактивними є лише ті матеріали, які містять лужні оксиди в кількості, достатній для утворення силікагелю при їх вилугуванні. Залежно від ступеня реакції в умовах *in vivo* на поверхні кальційсилікофосфатних матеріалів поряд з утворенням силікагелю може спостерігатися пошарова структура силікагелю та катіонів  $\text{Ca}^{2+}$  та  $\text{P}^{5+}$ , що може суттєво позначитися на механізмі апатитоутворення та подовжити термін його утворення. Гальмування нуклеації кристалів гідроксіapatиту при утворенні пошарової структури є основною проблемою при одержанні кісткових ендопротезів, які використовуються в умовах змінних навантажень скелету. Лише одночасне утворення силікагелю та катіонів  $\text{Ca}^{2+}$  та  $\text{P}^{5+}$  на поверхні біоактивних склокерамічних матеріалів дозволить забезпечити формування апатитового шару *in vivo* та отримати імплантати зі скороченими строками зрощування з кісткою.

Метою даної роботи було дослідження особливостей формування апатитового шару на поверхні кальційсилікофосфатних склокерамічних матеріалів в умовах живого організму.

## Експериментальна частина

Наявність кристалічної фази в дослідних матеріалах на їх основі визначали за допомогою рентгенофазового аналізу (РФА), який проводили на установці ДРОН-ЗМ. Розчинність дослідних матеріалів визначали за втратами маси у дистильованій воді  $V_{\text{д.в}}$

протягом 30 діб та за приростом маси  $P_{м.р.о}$  у модельній рідині організму (МРО) протягом 180 діб [5]. Мікротвердість  $H$  та трициностійкість  $K_{1C}$  визначали шляхом вдавлювання піраміди Вікерса з використанням приладів ПМТ-3 та ТМВ-1000.

Оцінка біосумісності дослідних матеріалів була проведена в ДУ «Інститут патології хребта та суглобів ім. проф. М. І. Сітенка АМНУ» після витримки дослідних матеріалів в живому організмі протягом 7, 14, 30, 60, 90 та 180 діб. Оцінка структури поверхні та хімічного складу апатитового шару була проведена на зразках імплантатів, видалених з кісткової тканини. Також була досліджена структура апатитоподібного шару на межі зрощування імплантату з кісткою *in vivo*. Концентраційний розподіл елементів Ca, P, Si у поверхневих шарах дослідних матеріалів визначали з використанням енергодисперсійного рентгенофлуоресцентного аналізу якісним методом на спектрометрі «СПРУТ» за зміною масової частки елементів  $\omega$  %, яку оцінювали за інтенсивністю ліній елементів ( $I$ ) в імп./с. Характер поверхні матеріалів було оцінено за допомогою растрової електронної мікроскопії (РЕМ) на електронному мікроскопі РЕММА101А.

Як дослідні матеріали були обрані склокристалічні матеріали БС-11 та ЦФ-1, раніше синтезовані на основі стекл систем  $Na_2O-CaO-ZnO-B_2O_3-Al_2O_3-P_2O_5-SiO_2$  [6; 7]. Відповідно до класифікації біоактивності, яка визначається за параметром ступеня зв'язаності їх структури, дослідні матеріали характеризуються високою реакційною здатністю зі ступенем зв'язаності кремекисневого каркасу  $f_{Si} = 0,28$  для БС-11 та 0,27 для ЦФ-1, що узгоджується з даними Н. В. Свентської [8]. Одержані склокерамічні матеріали відносяться до резорбційних матеріалів [2] та характеризуються об'ємною тонкодисперсною кристалізацією фосфатів кальцію (табл. 1) [6]. Для формування бездефектного матеріалу встановлено, що температурний коефіцієнт лінійного розширення (ТКЛР) має бути  $(42 \div 98) \cdot 10^{-7}$  град<sup>-1</sup> [9; 10].

Експлуатаційні характеристики дослідних матеріалів відповідають вимогам до біоактивних матеріалів для кісткового ендпротезування [11]. Характер поведінки дослідних матеріалів у фізіологічних розчинах дозволяє судити про їх високу реакційну здатність при протіканні процесів розчинності, які забезпечують дифузю іонів кальцію та фосфору в середовище живого організму [7]. Механічні властивості склокерамічних матеріалів БС-11 та ЦФ-1 є наближеними до властивостей живої кістки, що дозволяє використовувати їх при змінних навантаженнях (табл. 1) [12].

**Характеристика кристалічної фази та властивості дослідних склокерамічних матеріалів**

До-слідні матері-али	Характеристика кристалічної фази (тип, кількість, розмір)	ТКЛР ( $\alpha \cdot 10^{-7}$ ), град <sup>-1</sup>	Експлуатаційні властивості			
			Розчинність		Механічні властивості	
			В <sub>д.в.</sub> , %	П <sub>м.р.о.</sub> , %	K <sub>1С</sub> , МПа·м <sup>1/2</sup>	Н, МПа
БС-11	ГАП 55 % з розміром 3–8 мкм	98,0	0,11	0,26	2,22	6290
ЦФ-1	КГАП 50 % з розміром 1 мкм	42,0	0,85	0,7	1,48	6290

За комплексом проведених досліджень встановлено, що дослідні склокерамічні матеріали БС-11 та ЦФ-1 характеризуються високою реакційною здатністю з можливістю утворення апатитоподібного шару на поверхні в умовах *in vitro* і механічними властивостями, наближеними до властивостей живої кістки. Забезпечення вищенаведених характеристик дослідних склокерамічних матеріалів є необхідною умовою при формуванні міцного біологічного та механічного зв'язку імплантату з кісткою в умовах *in vivo*.

З метою встановлення здатності до утворення апатитового шару на поверхні дослідних матеріалів ЦФ-1 та БС-11 *in vivo* було досліджено характер та хімічний склад поверхні даних матеріалів до та після витримки в живому організмі упродовж 90 діб.

## Результати та їх обговорення

### *Дослідження структури поверхневого шару дослідних матеріалів in vivo*

За результатами РЕМ склокерамічний матеріал ЦФ-1 з вмістом КГАП у структурі після термообробки являє собою багатофазну систему, яка утворена з осовного скла та краплеподібних утворень розміром близько 20 мкм (рис. 1, а). Наявність коротких паралельних мікротріщин, які відходять від краплеподібних утворень, є свідченням флуктуаційної природи даних неоднорідностей (рис. 1, а). Так, у результаті сколу за кожною включеною часткою утворюється мікротріщина, що на фотографії має вигляд характерної картини: від усіх мікронеоднорідностей відходять мікротріщини, які паралельні між собою у напрямку фронту кристалізації. Ці факти дають можливість визначити наявність у структурі дослідного матеріалу початко-

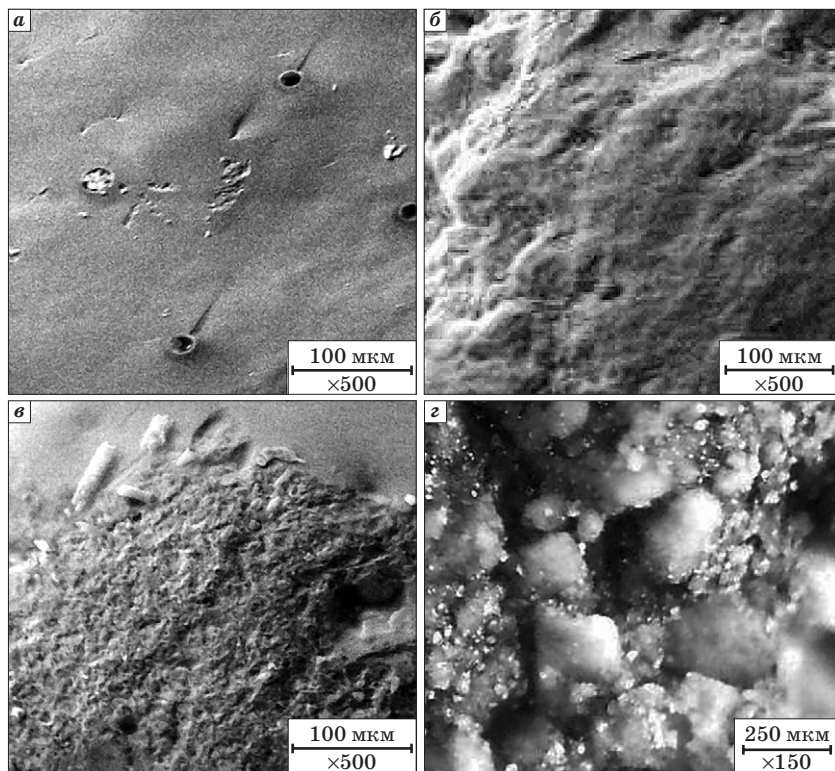


Рис. 1. Мікроструктура поверхні склокерамічного матеріалу BC-11 за даними РЕМ

вих стадій нуклеації кристалічних фаз. Для даного матеріалу спостерігається скупчення напівсфер розміром від 5 до 10 мкм та на їх межах зерен кристалів фосфатів кальцію розміром близько 1 мкм, що підтверджується даними петрографічного аналізу (рис. 1, а). Після витримки в МРО на поверхні матеріалу спостерігається зміна структури його поверхневого шару внаслідок розчинення матеріалу та взаємодії з компонентами середовища (рис. 1, б). Результатом процесу утворення апатитового шару у фізіологічному середовищі після витримки *in vivo* на поверхні даного матеріалу є формування розвиненої структури з чіткими голкоподібними кристалами, можливо, ГАП або КГАП А-типу [13] розміром 20—70 мкм (рис. 1, в). Свідченням мінералізації імплантату на межі зрощування імплантату з кісткою є наявність кристалів КГАП розміром близько 50—100 мкм на поверхні матеріалу (рис. 1, г).

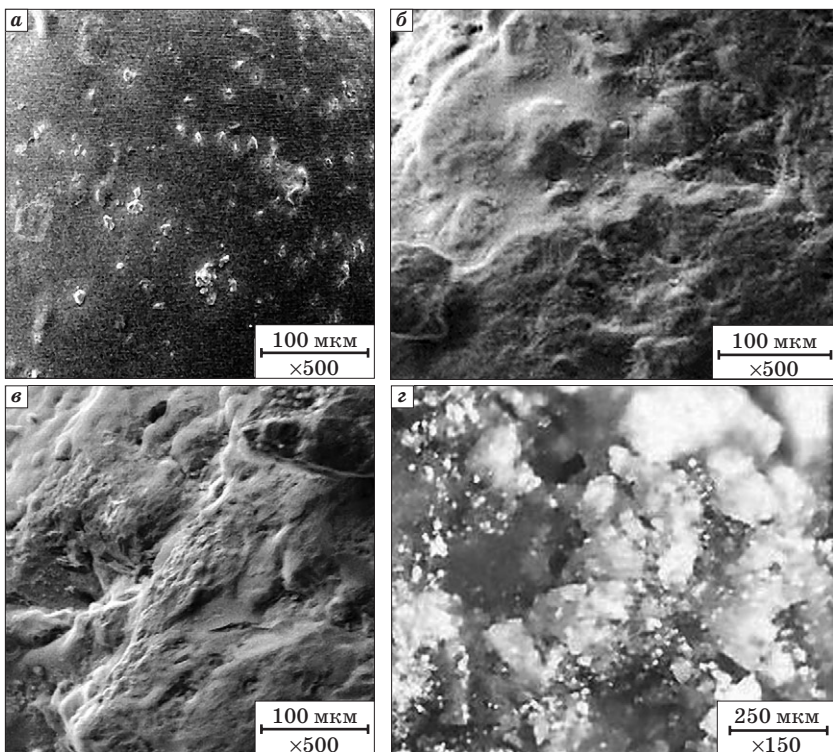


Рис. 2. Мікроструктура поверхні склокерамічного матеріалу ЦФ-1 за даними РЕМ

Для матеріалу БС-11, який характеризується тонкодисперсною об'ємною кристалізацією ГАП після термообробки, чітко простежується топографічний контраст, спостерігається значна кількість рівномірно розподілених на поверхні матеріалу скупчень кристалів розміром від 50 до 100 мкм та окремих кристалів близько 3—10 мкм (рис. 2, а). Після витримки в МРО даний матеріал характеризується вираженим рельєфом поверхні (рис. 2, б). Укрупнення фактури поверхні, яка виникає при утворенні зв'язку імплантату з кісткою після витримки його *in vivo*, є свідченням прикріплення кісткового матриксу та білку колагену до імплантату (рис. 2, в). На межі зрощування матеріалу БС-11 з кісткою (рис. 2, г) спостерігаються окремі зерна КГАП з рівними осями, які є характерними для В-типу [13], що є підтвердженням формування молодого кісткової тканини на поверхні імплантату *in vivo*.

За результатами проведених досліджень встановлено зміну характеру поверхні дослідних склокерамічних матеріалів до та після витримки в живому організмі. Встановлено, що наявність об'ємної кристалізації створює умови для утворення розвиненої структури поверхні *in vivo*, сприятиме прикріпленню кісткового матриксу та білку колагену на поверхні імплантату. Наявність нуклеаторів та кристалічних фаз ГАП та КГАП на поверхні дослідних матеріалів БС-11 та ЦФ-1 створює умови для формування апатитоподібного шару як основного етапу мінералізації кісткової тканини *in vivo* з утворенням КГАП В-типу, характерного при формуванні молодого кісткової тканини.

З метою встановлення можливості утворення апатитоподібного шару були проведені дослідження хімічного складу поверхні дослідних склокристалічних матеріалів після витримки в живому організмі протягом 90 діб.

### **Дослідження співвідношення $Si : Ca : P$ та $Ca : P$ на поверхні дослідних матеріалів *in vivo***

Після витримки дослідних склокристалічних матеріалів в МРО та *in vivo* спостерігається зміна співвідношень  $Si : Ca : P$  та  $Ca : P$  у порівнянні з даними значеннями для вихідних матеріалів при приведенні вмісту кремнію до одиниці (табл. 2). У результаті взаємодії між матеріалами та компонентами середовища співвідношення  $Si : Ca : P$  зростає від  $1 : (2,54-4,0) : (2,9-4,87)$  після витримки в МРО до  $1 : (4,0-6,0) : (5,0-8,0)$  після витримки *in vivo* (табл. 2), що вказує на утворення апатитоподібного шару на поверхні дослідних матеріалів. Зниження співвідношення  $Ca : P$  до та після витримки в фізіологічному середовищі свідчить про те, що кристалізація апатиту відбувається не безпосередньо, а через стадії осадження проміжних фаз-прекурсорів [3] (табл. 2).

Таблиця 2

**Співвідношення  $Si : Ca : P$  та  $Ca : P$  на поверхні дослідних склокерамічних матеріалів після їх витримки в МРО та витримки в живому організмі**

Співвідношення	Дослідні матеріали					
	ЦФ-1			БС-11		
	До витримки	Після витримки в МРО, 180 діб	Після витримки <i>in vivo</i> , 90 діб	До витримки	Після витримки в МРО, 180 діб	Після витримки <i>in vivo</i> , 90 діб
$Ca : P$	2,6	0,82	0,75	2,5	0,875	0,8
$Si : Ca : P$	1 : 0,6 : 0,23	1 : 4 : 4,87	1 : 6 : 8	1 : 0,5 : 0,2	1 : 2,54 : 2,9	1 : 4 : 5

Наближення співвідношення Si : Ca : P до 1 : 7 : 11, яке спостерігається для резорбційних стеклокерамічних систем CaO—P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>—SiO<sub>2</sub> [2], свідчить про наявність гідроксиапатитового шару після витримки in vivo та дозволяє судити про можливість використання дослідних склокерамічних матеріалів як резорбційних імплантатів.

### Оцінка біосумісності дослідних матеріалів

Дослідження, проведені на базі ДУ «Інститута патології хребта та суглобів ім. проф. М. І Сітенко АМНУ», перебудові кістки в ділянці імплантації дослідних матеріалів ЦФ-1 та БС-11 показали, що після трьох місяців вживання у живий організм дослідні матеріали мають високі показники індексу остеоінтеграції (від 42,8 до 44,6 %) завдяки утворенню безпосередніх біохімічних зв'язків з кісткою. Патоморфологічні дослідження внутрішніх органів щурів свідчать про відсутність у аналізованих матеріалах явищ токсичної дії. Отже, дослідні матеріали БС-11 та ЦФ-1 при імплантації у кістку виявляють біосумісність, нетоксичність та характеризуються остеокондуктивними властивостями.

Одержані результати оцінки біосумісності дослідних матеріалів ЦФ-1 та БС-11 свідчать про можливість їх використання як кісткових ендопротезів з терміном зрощування до трьох місяців.

### Висновки

Встановлено особливості формування апатитоподібного шару на поверхні кальційсилікофосфатних склокерамічних матеріалів ЦФ-1 та БС-11 на основі системи Na<sub>2</sub>O—CaO—ZnO—V<sub>2</sub>O<sub>3</sub>—Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>—P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>—SiO<sub>2</sub> в умовах живого організму. Встановлено, що при реалізації співвідношення Si : Ca : P = 1 : (4,0—6,0) : (5,0—8,0) на поверхні дослідних матеріалів in vivo спостерігається утворення апатитоподібного шару.

Комплекс проведених фізико-хімічних та медико-біологічних досліджень дозволяє встановити перспективність використання дослідних склокерамічних матеріалів як замісників статично та динамічно навантажених ділянок кісткової тканини.



## Бібліографічний список

1. *Путляев В. И.* Современные биокерамические материалы / В. И. Путляев // Соросовский образовательный журн. — 2003. — Т. 8, № 1. — С. 44—50.
2. *Саркисов П. Д.* Направленная кристаллизация стекла — основа получения многофункциональных стеклокристаллических материалов / Саркисов П. Д. — М. : РХТУ им. Д. И. Менделеева, 1997. — 218 с.
3. *Белецкий Б. И.* Кремний в живых организмах и биокомпозиционных материалах нового поколения / Б. И. Белецкий, Н. В. Светская // Стекло и керамика. — 2009. — № 3. — С. 26—30.
4. *Карлсон К.* Биологическая активность стекла и ее связь со структурой / К. Карлсон // Физика и химия стекла. — Т. 24, № 3. — С. 405—412.
5. Pat. 006054400A USA, Int. Cl. C03C 3/097; U.S.Cl. 501/63. Bioactive glasses and their use / Maria Brink, Kaj Karlsson, Antti Yli-Urpo. — № 08|860,200; filled. 2.01. 1996 ; date of patent 25.04.2000. — 15 p.
6. *Саввова О. В.* Дослідження впливу цинку на кристалізацію стекел в системі  $\text{Na}_2\text{O}-\text{CaO}-\text{ZnO}-\text{Al}_2\text{O}_3-\text{V}_2\text{O}_5-\text{P}_2\text{O}_5-\text{SiO}_2$  / О. В. Саввова, О. В. Бабіч // Східноєвропейський журн. передових технологій. — X., 2012. — Вип. 2/6 (56). — С. 51—54.
7. Дослідження розчинності спечених кальційсилікофосфатних склокристалічних матеріалів / О. В. Саввова, Л. Л. Брагіна, О. В. Бабіч [та ін.] // Вопр. химии и хим. технологии. — 2011. — № 5. — С. 146—150.
8. *Свентская Н. В.* Силикофосфатные биокомпозиционные материалы с регулируемой поровой структурой для костно-пластической хирургии : автореф. дис. на соискание науч. степени канд. техн. наук : спец. 05.17.11 «Химическая технология тугоплавких неметаллических материалов» / Н. В. Свентская. — М. : РХТУ им. Д. И. Менделеева, 2011. — 19 с.
9. *Саввова О. В.* Вплив оксиду цинку на ТКЛР кальційсилікофосфатних стекел / О. В. Саввова, О. В. Бабіч // Вісник НТУ «ХП». — 2012. — № 9. — С. 109—113.
10. *Саввова О. В.* Дослідження впливу фосфатів кальцію на ТКЛР біосумісних стекел системи  $\text{Na}_2\text{O}-\text{CaO}-\text{RO}_2-\text{R}_2\text{O}_3-\text{P}_2\text{O}_5-\text{SiO}_2$  / О. В. Саввова, О. В. Бабіч // Вісник НТУ «ХП». — 2011. — № 2. — С. 3—6.
11. *Sarkisov P. D.* Structure of Bioglass and Their Interation with water and Other Physiological Media / P. D Sarkisov, N. Yu. Mikhailenko, E. E. Stroganova // Proc. XVII Int. Congr. on Glass. — China, Beijing, 1995. — V. 5. — P. 222—228.
12. *Саввова О. В.* Вплив структури на механічні властивості склокерамічних кальційсилікофосфатних матеріалів для кісткового ендопротезування / [Саввова О. В., Бабіч О. В., Шадріна Г. М., Пантус Д. Є.] // Зб. наук. пр. ПАТ «УКРНДІ ВОГНЕТРИВІВ ІМ. А. С. БЕРЕЖНОГО». — X. : ПАТ «УКРНДІ ВОГНЕТРИВІВ ІМ. А. С. БЕРЕЖНОГО», 2012. — № 112. — С. 282—290.
13. *Климашина Е. С.* Синтез, структура и свойства карбонатзамещенных гидроксипатитов для создания резорбируемых биоматериалов : автореф. дис. на соискание науч. степени канд. хим. наук : спец. 02.00.01 «Неорганическая химия», 02.00.21 «Химия твердого тела» / Е. С. Климашина. — М. : МГУ им. М. В. Ломоносова, 2011. — С. 23.

*Рецензент к. т. н. Криворучко П. П.*