

А.М. Аронов, Е.Н. Больбасов, В.В. Гузеев,
М.В. Дворниченко, С.И. Твердохлебов, И.А. Хлусов

БИОКОМПОЗИТЫ НА ОСНОВЕ ФТОРПОЛИМЕРОВ С ГИДРОКСИАПАТИТОМ ДЛЯ ИНТРАМЕДУЛЛЯРНЫХ ИМПЛАНТАТОВ

Аннотация

В работе рассматривается новый тип композиционных материалов для применения в качестве биопокровов интрамедуллярных и иных титановых имплантатов, применяемых в ортопедии и травматологии. Основой применения данного материала в медицине является, во-первых, способность фторполимеров выступать в качестве биологически инертного связующего и, во-вторых, биологически активные свойства наполнителя из мелкодисперсных порошков гидроксиапатита, за счет которых обеспечиваются процессы остеиндукции и остеоиндукции. Представлена технология получения покрытий и нанесения их на титан ВТ-6, результаты исследований адгезионных, механических и морфометрических характеристик, токсикологических свойств биопокровов из предложенных композитов, определен их химический состав. Проведены испытания *in vivo* имплантатов с биопокровом, показано что композиционные материалы, нанесенные на титан, не вызывают отрицательных тканевых реакций и стимулируют процессы остеогенеза в тесте эктопического костеобразования.

Введение

Одним из основных признанных способов исправления и лечения патологий опорно-двигательного аппарата является методика аппаратного остеосинтеза по Г.А. Илизарову. Работы, проводимые в ФГУ «РНЦ ВТО» им. акад. Г.А. Илизарова по развитию данного метода, привели к созданию технологии напряженного интрамедуллярного армирования [1], суть которой состоит во введении в полость костномозгового канала различного вида имплантатов, в частности спиц. Установка интрамедуллярного имплантата позволяет обеспечить дополнительную жесткость при фиксации костных отломков, а также стимулировать процессы репаративного остеогенеза. В работах ФГУ «РНЦ ВТО» им. акад. Г.А. Илизарова также установлено, что наилучшие клинические результаты достигаются, когда поверхность интрамедуллярного имплантата покрыта кальций-фосфатной керамикой [2].

Кальций-фосфатные (КФ) покрытия для интрамедуллярных титановых имплантатов должны обладать совокупностью определенных физико-механических, химических и биомиметических свойств. Сложность задачи состоит в том, что для формирования трехмерной архитектоники, обеспечивающей стимулирование остеогенеза, требуется существенная толщина покрытия – более 150 мкм – и его высокая пористость (при размере пор более 100 мкм). В то же время, с учетом условий применения, обязательны высокая эластичность и достаточная адгезия к основному материалу. Отношение Ca/P в таких покрытиях должно быть около 1,67...2,1, что соответствует отношению Ca/P в естественной костной ткани [3].

Как показывает изучение известных методов нанесения КФ-покрытий [3]–[5], большинство из них не позволяют получить результаты, одновременно удовлетворяющие всем перечисленным требованиям. В частности, магнетронный метод позволяет получать эластичные покрытия с регулируемым

отношением Ca/P [6], но с его помощью технологически сложно нанести покрытия толщиной в сотни микрометров, а технологии МДО и шликерного метода достаточно эффективно позволяют получить «толстые» покрытия, но в итоге они не обладают требуемой для задач остеосинтеза эластичностью. С учетом этого является актуальным решение проблемы формирования на металлических имплантатах покрытий, обладающих всем комплексом необходимых свойств.

Материалы и методы

Для формирования на металлических имплантатах покрытий, способствующих протеканию процессов остеиндукции и остеоиндукции, нами были использованы полимерные композиты, представляющие собой материал, состоящий из двух фаз [7]:

- 1) органической фазы в виде биологически инертного полимерного связующего, обладающего эластичностью, адгезивной способностью к используемому совместно с ним материалам, биологической инертностью, устойчивостью к стерилизации;
- 2) неорганической фазы, представляющей собой биологически активный наполнитель, например, мелкодисперсный порошок кальций-фосфатов (химическая формула может включать в себя также легирующие добавки) [8].

С целью изучения вариантов наиболее целесообразного сочетания обеих фаз, также было предпринято изготовление биополимерных композитов с различным массовым соотношением обеих составляющих.

Исходя из требуемого сочетания свойств органической фазы, в частности:

- химической стойкости;
- удовлетворительных физико-механических характеристик;
- термостойкости и термостабильности;
- биологической инертности,

для проведения исследования был выбран сополимер тетрафторэтилена с винилиденфторидом (ТЭФ/ПВДФ) [9], который, по имеющимся данным [10], уже нашел применение в медицине (протезы для хирургического лечения грыж «Унифлекс» [11]) и обладает указанными свойствами.

Дополнительным преимуществом этого материала является его технологичность, т. к. такие полимеры могут перерабатываться из раствора, что упрощает аппаратную реализацию процесса приготовления композита.

В качестве неорганической минеральной фазы использовался гидроксипатит (ГА) биологического происхождения, полученный путем обжига свиных костей с последующим размолом, многократной промывкой, сушкой и просеиванием. Соответствие полученного материала гидроксипатиту было доказано методом рентгенофазового анализа на дифрактометре «Shimadzu XRD 6000».

Применение материала животного происхождения было обусловлено лишь его наличием в распоряжении авторов, но представляется, что использование ГА, получаемого из химического сырья, не повлияет на окончательные свойства биопокровы.

Раствор сополимера ТЭФ/ПВДФ был приготовлен в стеклянной мензурке объемом 100 мл посредством растворения порошка сополимера в ацетоне при непрерывном перемешивании и постоянной температуре 70 °С.

Дисперсию ГА готовили путем перемешивания порошка ГА в этилацетате в шаровой мельнице при 30 °С в течение 2 ч.

Далее к раствору сополимера при постоянном перемешивании добавляли дисперсию ГА.

Таким образом, нами был получен раствор биокompозита ТЭФ/ПВДФ-ГА (далее в тексте – биокompозит), пропорции содержания первой и второй фазы в котором могут регулироваться за счет технологических режимов. В эксперименте были получены образцы биокompозита с содержанием ТЭФ/ПВДФ и ГА (в процентах) соответственно 70:30, 50:50, 30:70.

Нанесение раствора биокompозита на пластины из титана марки ВТ-6, предварительно нагретые до 70 °С, производили методом пневматического распыления.

Полученные образцы для удаления остатков растворителя помещали в сушильный шкаф на 12 ч при температуре 150 °С.

Готовые образцы для дальнейших испытаний на лабораторных животных стерилизовали этиленоксидом. Они представляли собой диски из сплава ВТ-6, диаметром 1 мм, с биокompозитным покрытием толщиной 150...200 мкм.

Подопытные животные – 40 самцов мышей линии BALB/C, массой 18...21 г. Имплантация образцов производилась подкожно.

Биологическую совместимость и костеобразующую способность композитов оценивали *in vivo* в тесте эктопического костеобразования [3]. Поскольку известен эффект положительного влияния клеток костного мозга на биоактивность ГА-имплан-

татов [6], в эксперименте на образцы наносили столбик костного мозга, извлеченный из бедренной кости животных (клеточность $1,5 \times 10^6$ клеток/мл; среда DI-MEM (ISN) с 10%-ной эмбриональной телячьей сывороткой – изготовитель «НПО Вектор», г. Новосибирск).

Длительность эксперимента составила 1,5 месяца, после чего образцы были извлечены из животных. После извлечения срезы биоткани, выросшей на образцах, были проанализированы в соответствии с методиками гистологических исследований на срезах толщиной 10 мкм.

Характеристики полученных биокompозитов были исследованы с помощью следующих приборов и методик:

1) толщину покрытий определяли прибором для измерения геометрических параметров «Константа К5» и преобразователем ПД 1. Предел основной допускаемой погрешности прибора с преобразователем ПД 1 составляет $\pm(0,02h + 0,002)$ мм;

2) эластичность многослойных пленок биокompозита толщиной до 200 мкм, нанесенных на подложки $120 \times 35 \times 0,3$ мм из титанового сплава марки ВТ-6, определяли прибором «Изгиб», методом, предложенным в ИСО 1519;

3) адгезию биокompозита толщиной до 200 мкм к подложке $35 \times 35 \times 5$ мм из титанового сплава марки ВТ-6 при нормальном отрыве определяли прибором «Адгезиометр ОР», методами, описанными в ИСО 462;

4) морфологию поверхности биокompозита (общая поверхностная пористость; минимальная, максимальная и средняя площадь пор; минимальный, максимальный и средний периметр пор) исследовали методом оптической микроскопии «Motic» при увеличении 40, с последующей компьютерной обработкой полученных изображений посредством программного пакета «Motic Image Life plus»;

5) исследование поверхности биокompозитов проводили методом растровой электронной микроскопии (РЭМ) на установке «Philips SEM 515» с увеличением 300;

6) химический состав биокompозита ТЭФ/ПВДФ-ГА был исследован методом рентгенофлуоресцентного анализа на установке «Shimadzu XRF 1800». Образцы ТЭФ/ПВДФ-ГА для исследований в виде дисков диаметром 5 мм были изготовлены методом холодного прессования;

7) токсикологические испытания, оценка местнораздражающего действия и гемолитической активности композиционных материалов были проведены в соответствии с ГОСТ Р ИСО 10993. Образцы для испытаний стерилизовались этиленоксидом и представляли собой диски из титанового сплава ВТ-6, на которые со всех сторон был нанесен биокompозит;

8) биологическая совместимость и костеобразующая способность биокompозитов были оценены *in vivo* посредством теста эктопического костеобразования стандартными методиками гистологических исследований.

Таблица 1

Основные результаты технологического эксперимента

Группа, изображение (см. рис.)	Содержание ТЭФ/ПВДФ, %	Содержание наполнителя (ГА), %	Толщина покрытия* h , мкм	Эластичность** ζ , мм	Адгезия при отрыве* ψ , кг/м ²
I группа, рис. 1а	70	30	122 ± 2,4	2	12,1 × 10 ⁶
II группа, рис. 1б	50	50	146 ± 2,92	3	9,2 × 10 ⁶
III группа, рис. 1в	30	70	187 ± 3,74	3,5	7,1 × 10 ⁶

Примечание: * определяется по 5 образцам;

** определяется по 3 образцам

Таблица 2

Основные морфометрические характеристики поверхности биокompозита

Группа биокompозита	Общая площадь пор, см ²	Общая пористость, %	Мин. площадь пор, мкм ²	Макс. площадь пор, мкм ²	Средняя площадь пор, мкм ²	Мин. периметр пор, мкм	Макс. периметр пор, мкм	Средний периметр пор, мкм
I группа	104542	9,63	1,4	5473,4	44,8	4,7	825,2	17,2
II группа	209501	19,29	0,8	9464,0	34,5	4,7	1118,0	13,8
III группа	441280	37,79	0,8	25379,6	90,0	4,7	3393,1	22,7

Результаты и обсуждение

В ходе выполнения работы были получены образцы биокompозита с содержанием ТЭФ/ПВДФ и ГА по группам, как показано в табл. 1.

Полученные результаты измерения толщины h биопокровов показывают, что она имеет тенденцию к увеличению при увеличении в композиционном материале массовой доли наполнителя ГА, при этом ζ и ψ имеют в этих же условиях тенденцию к уменьшению.

Данный тренд объясняется увеличением пористости биопокровов при увеличении содержания наполнителя, как показано на рис. 1. Увеличение пористости соответственно влечет за собой уменьшение эластичности и адгезионной прочности при нормальном отрыве. Полученные данные хорошо согласуются с результатами исследований [12], проведенными на хитозане.

Результаты исследования основных морфометрических характеристик поверхности биокompозита представлены в табл. 2.

По приведенным данным видно, что с увеличением содержания ГА в биокompозите монотонно

увеличиваются все морфометрические характеристики.

Гистограммы распределения пор по размерам представлены на рис. 2-4.

Анализ полученных гистограмм позволяет выделить как минимум три условных уровня пористости биокompозита:

- капиллярная пористость, с размерами пор 100 мкм²;
- микропористость, с размерами пор до 5000 мкм²;
- макропористость, с размерами пор более 5000 мкм².

На наш взгляд, наличие нескольких уровней пористости говорит о наличии нескольких механизмов образования пор, изучению которых будут посвящены последующие работы.

Во всех трех группах биокompозита наибольший вклад в общую поверхностную пористость (ОПП) вносят микропоры размерами до 5000 мкм². Однако при увеличении содержания ГА до 70 мас. % появляются поры размерами более 17000 мкм².

Наличие пор размерами от 2000 до 5000 мкм² в биокompозите I группы можно объяснить наличием впадин и гребней на его поверхности [13].

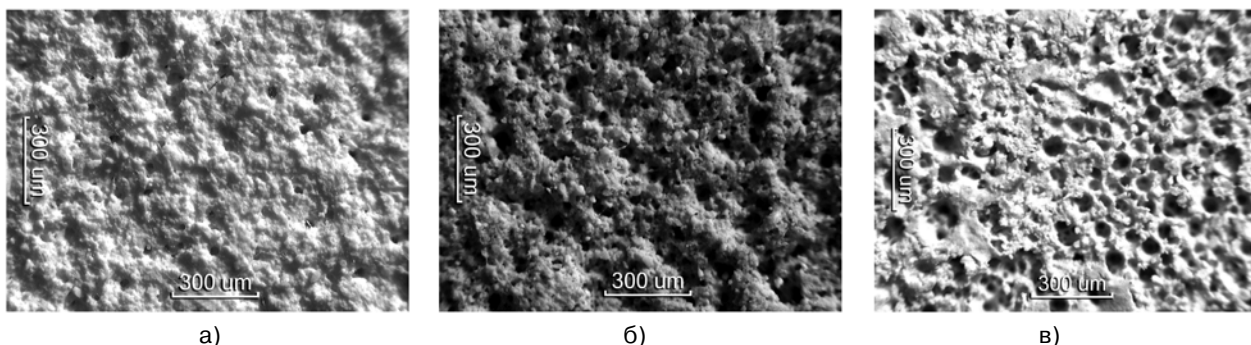


Рис. 1. Оптическая микроскопия поверхности биокompозита ТЭФ/ПВДФ-ГА (оптический микроскоп «Motic», увеличение 40); группа композита: а) – I; б) – II; в) – III

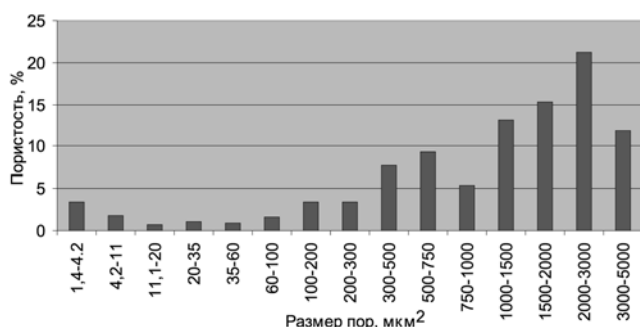


Рис. 2. Распределение площади пор в общей пористости для биокompозита I группы

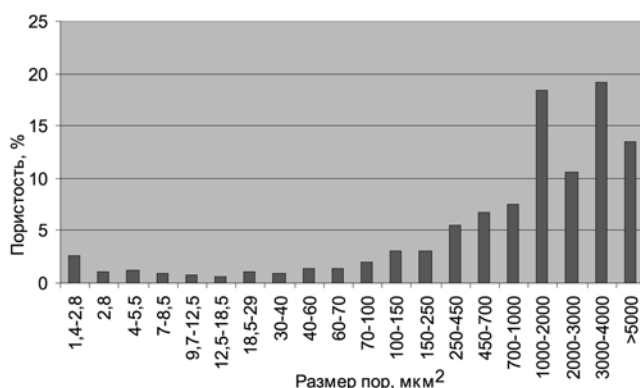


Таблица 3

Химический состав биокompозита

Группа биокompозита	Содержание элементов, %							
	Ca	P	O	F	Mg	K	Na	Остальные
I группа	30,4206	12,8093	19,9447	32,9557	0,5536	0,0444	0,4163	2,8554
II группа	35,1171	15,4181	29,1980	16,9024	0,6624	0,0346	0,5282	2,1392
III группа	37,1635	16,3777	32,6303	11,7968	0,6010	0,0444	0,5422	0,8441

Таблица 4

Результаты исследования токсичности, местнораздражающего действия, апиногенности и стерильности биокompозита I группы

№ п/п	Наименование показателя	Допустимые значения	Результаты испытаний	Вывод о соответствии
1 1.1	Токсикологические испытания Раздражающее действие на кожу и слизистые оболочки животных в баллах: • кожа; • слизистая глаза кролика	0 0	0 0	Соотв. Соотв.
1.2	Острая токсичность при в/бр. введении: • смертность Клинические симптомы: • макроскопические изменения органов и тканей; • весовые коэффициенты внутренних органов (наличие достоверных изменений)	Нет Нет Нет Нет	Нет Нет Нет Нет	Соотв. Соотв. Соотв. Соотв.
3	Определение гемолитической активности	Не более 2 %	0,7	Соотв.
4	Определение индекса токсичности	70...120 %	88,4 %	Соотв.
5	Определение пирогенности	Повышение температуры не более чем на 3 °С	0,4 °С	Соотв.
6	Микробиологические показатели	Стерильно	Стерильно	Соотв.

Таблица 5

Количественная оценка биологической активности биокompозитов

Группа, изображение (см. рис.)	Воспаление в месте имплантации	Инкапсуляция имплантата	Тканевая пластинка, %	Гистологическая оценка	Эффективность роста костной ткани, %
I группа, рис. 6а	Отсутствие реакции	Слабая реакция	100	Кость	73
II группа, рис. 6б	Отсутствие реакции	Слабая реакция	100	Кость с костным мозгом	84
III группа, рис. 6в	Отсутствие реакции	Слабая реакция	100	Кость с костным мозгом	93

жания ГА в исходном материале. С увеличением содержания ГА увеличивается общее содержание Са и Р в композите. Массовое отношение Са/Р не зависит от массового содержания ГА в композиционном материале и равно 2,27.

В табл. 4 приведены данные о токсичности, местнораздражающем действии, апиногенности и стерильности биокompозита с наибольшим содержанием сополимера ТФЭ/ВДВ (I группа), полученные в соответствии с ГОСТ Р ИСО10993. Результаты исследования свидетельствуют о возможности при-

менения предложенных покрытий из композитных материалов ТФЭ/ВДВ-ГА в медицинских имплантатах.

Результаты исследования биокompозита *in vitro* представлены в табл. 5.

Отмечено, что животные легко переносили оперативное вмешательство. В ходе проведения эксперимента не отмечалась естественная гибель животных, а также локальные либо общие воспалительные и токсические реакции на имплантат, при этом биосовместимость всех образцов имплантата

с покрытием биоккомпозитом была удовлетворительной. Поверхность имплантата имеет тонкую стромальную капсулу. Гистологические срезы полученных препаратов представлены на рис. 6.

На гистологических срезах (рис. 6) видны костная ткань (1) и костномозговые полости, заполненные костным мозгом (2). На наиболее пористых материалах (II-III группы) наблюдается врастание кости в поры покрытия (ingrowth) (см. рис. 6б, в). В то же время на наименее пористом материале (I группа) рост костной ткани происходит на поверхности биоккомпозита (apgrowth), образуется плотная кость без костного мозга (см. рис. 6а).

Количественная оценка эффективности роста костной ткани на биоккомпозитах приведена в табл. 5 и в целом совпадает с результатами, полученными на других типах биопокровов [4].

Уменьшение процента образования костной ткани по мере уменьшения массовой доли ГА очевидно связано с уменьшением пористости и увеличением гидрофобности материала [14] и, как следствие, уменьшением «доступности» ГА для костномозговых клеток.

Выводы

1. Предложены метод приготовления исходных материалов и технология формирования биоактивного покрытия на основе сополимера тетрафторэтилена с винилиденфторидом и гидроксиапатитом (ТФЭ/ВДВ-ГА) для интрамедуллярных металлических имплантатов.

2. Метод позволяет формировать биопокровы с различными морфометрическими характеристиками поверхности, зависящими от массовой доли гидроксиапатита, вводимого в полимер. Показано, что поверхностная пористость покрытия представляет собой многоуровневую структурированную систему, состоящую как из микро-, так и из макропор. Наибольший вклад в пористость вносят поры размерами до 5000 мкм², что способствует прорастанию костной ткани в поры композита.

3. Химический состав биоккомпозита в основном представлен кальцием, фосфором, кислородом и фтором. Количественные соотношения между элементами зависят от содержания гидроксиапатита, вводимого в полимер. Массовое отношение Ca/P = 2,27 и не зависит от количества гидрокси-

апатита в композите, а определяется химическим составом исходного ГА.

4. Наилучшими показателями эластичности и адгезионной прочности ($\psi = 12,1 \times 10^6$ кг/м²) обладают биоккомпозиты с содержанием гидроксиапатита 30 мас. %.

5. Предложенные биопокровы, подвергнутые стерилизации этиленоксидом, являются нетоксичными, апиригенными и стерильными.

6. Испытания *in vivo* не выявили отрицательных тканевых реакций на имплантируемый материал. Тест эктопического костеобразования продемонстрировал положительный результат имплантации. Вероятность образования кости в тесте эктопического образования зависит от содержания гидроксиапатита в биоккомпозите. Наибольшей вероятностью образования костной ткани обладает биоккомпозит с содержанием гидроксиапатита 70 мас. %.

7. Предложенные биопокровы (с различным содержанием ГА), полученные методом пневматического распыления с последующей сушкой, могут быть рекомендованы для использования на интрамедуллярных металлических имплантатах.

Авторы выражают благодарность сотрудникам Томского материаловедческого центра коллективного пользования ГОУ ВПО ТГУ за помощь в проведении исследований.

Список литературы:

1. Бурлаков Э.В., Алатов Д.В., Попков Д.А., Шутков Р.Б. К расчету основных параметров спицы при интрамедуллярном армировании трубчатых костей // Медицинская техника. 2008. № 3. С. 26-28.
2. Шутков Р.Б. Оперативное удлинение врожденно укороченной голени автоматическим дистрактором с применением интрамедуллярного армирования спицами с гидроксиапатитным покрытием / Диссертация на соискание степени канд. мед. наук. – Курган: ФГУ РНЦ ВТО им. акад. Г.А. Илизарова, 2009.
3. Шаркеев Ю.П., Колобов А.В., Хлусов И.А., Карлов А.В., Легостаева Е.В., Шапкина Г.А. Биокерамические покрытия с высоким содержанием кальция для медицины // Физическая мезомеханика. 2004. Т. 8. Спец. выпуск. Ч. 2. С. 83-86.
4. Карлов А.В., Шахов В.П. Системы внешней фиксации и регуляторные механизмы оптимальной биомеханики. – СТТ: Томск, 2001.

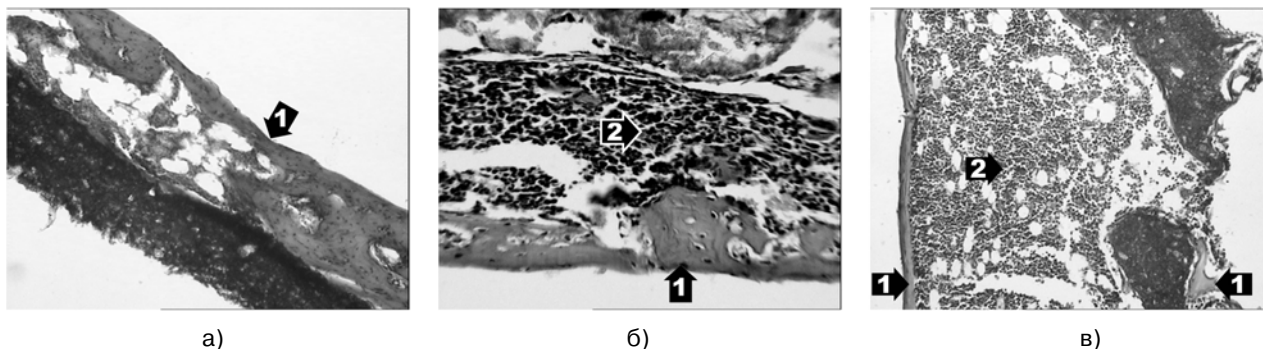


Рис. 6. Гистологические срезы препаратов, выращенных на композитах разных групп, окраска – гематоксилин-эозин, группа композита: а) – I; б) – II; в) – III

5. Гузеев В.В., Верещагин В.И., Гузеев В.В. Покрытия на основе фосфатных связующих // Стекло и керамика. 2000. № 6.
6. Аронов А.М., Пичугин В.Ф., Ещенко Е.В., Рябцева М.А., Сурменев Р.А., Твердохлебов С.И., Шестериков Е.В. Тонкие кальций-фосфатные покрытия, полученные методом высокочастотного магнетронного распыления, и перспективы их применения в медицинской технике // Медицинская техника. 2008. № 3. С. 18-22.
7. Хенч Л., Джонс Д. Биоматериалы, искусственные органы и инжиниринг тканей. – М.: Техносфера, 2007.
8. Баринев С.М., Комлев В.С. Биокерамика на основе фосфатов кальция. – М.: Наука, 2005.
9. Катаева В.М., Попова В.А., Сажина Б.И. Справочник по пластическим массам. Т. 1. – М.: Химия, 1975.
10. Графская Н.Д. Сравнительная оценка сетчатых полимерных материалов как алопротезов брюшной сетки при грыжах / Диссертация на соискание степени канд. мед. наук. – М.: Институт хирургии им. А.В. Вишневского Академии медицинских наук СССР, 1967.
11. <http://lintex.ru/page42.html>.
12. Гурин А.Н., Комлев В.С., Федотов А.Ю., Фадеева И.В., Смирнов В.В., Баринев С.М. // Перспективные материалы. 2008. № 3. С. 1-4.
13. Калита В.И., Соколов В.Н., Парамонов В.А. Трехмерные капиллярно-пористые покрытия // Физика и химия обработки материалов. 2000. № 4. С. 55-61.
14. Correa F.J., Ota Rogeroa B.S., Couto A.A., Costa Marques R.F., Ribeiro A.A., Campos J.S. Characterization of PVDF/HAP Composites for Medical Applications // Materials Research. 2007. Vol. 10. №. 3. PP. 247-251.

Анатолий Маркович Аронов,
д-р эконом. наук,
директор по научно-техническому развитию,
Сибирский научно-исследовательский и
испытательный центр медицинской техники,
г. Новосибирск,
Евгений Николаевич Большасов,
научный сотрудник,
Виталий Васильевич Гузеев,
д-р техн. наук, профессор, ст. научный сотрудник,
Марина Владимировна Дворниченко,
канд. мед. наук, научный сотрудник,
Томский филиал ФГУ «Российский научный центр
«Восстановительная травматология и
ортопедия» им. академика Г.А. Илизарова
Росмедтехнологий», г. Томск,
Сергей Иванович Твердохлебов,
канд. физ.-мат. наук, доцент,
кафедра теоретической и экспериментальной физики,
ГОУ ВПО «Томский политехнический университет»,
Игорь Альбертович Хлусов,
и.о. директора,
Томский филиал ФГУ «Российский научный центр
«Восстановительная травматология и
ортопедия» им. академика Г.А. Илизарова
Росмедтехнологий», г. Томск,
e-mail: tverd@tpu.ru

С.А. Лавров, Е.Н. Симонов

АЛГОРИТМ ПРЕОБРАЗОВАНИЯ ПРОЕКЦИОННЫХ ДАННЫХ ВЕРНОЙ ГЕОМЕТРИИ В ПАРАЛЛЕЛЬНУЮ ПРИ РЕКОНСТРУКЦИИ ТОМОГРАФИЧЕСКИХ ИЗОБРАЖЕНИЙ

Аннотация

В статье приведены алгоритмы реконструкции изображения по методу обратного проецирования с фильтрацией сверткой для верной и параллельной геометрий сканирования. Представлен алгоритм «перегруппировки» проекций верной геометрии пучка излучения в проекцию параллельной геометрии.

Приведен анализ влияния параметров «перегруппировки» (число детекторов, число ракурсов) на уровень ошибки между реконструированным изображением в верной геометрии и в параллельной после «перегруппировки» проекционных данных.

Введение

В медицинской рентгеновской компьютерной томографии для получения минимального времени сканирования объекта и сбора информации применяется в основном реконструкция томографического изображения в верных лучах (используется тонкий верный пучок рентгеновского излучения).

Однако время реконструкции томографического изображения с использованием прямых алгоритмов реконструкции для верной геометрии пучка можно уменьшить, используя геометрию парал-

лельных лучей [1]. Для сканирования объекта в верной геометрии требуется значительно меньше времени, чем в параллельной. Поэтому естественным способом уменьшения общего времени сканирования и реконструкции является применение верной геометрии сканирования с последующей «перегруппировкой» верных проекций в параллельные и реконструкция томографического изображения в параллельной геометрии. Но «перегруппировка» приводит к искажениям проекционных данных, вследствие чего происходит потеря качества восстанавливаемого изображения.