

## Заключение

Таким образом, предложенный метод интервальной гипоксически-гипероксической тренировки (ИГГТ) с биорегулируемой подачей газовых смесей существенно повышает эффективность гипоксических тренировок, а его внедрение открывает дополнительные перспективы в расширении средств немедикаментозной терапии реабилитации и профилактики. Режим ИГГТ легко переносится, не сопровождается побочными эффектами и осложнениями, а замена нормоксических пауз гипероксическими позволяет интенсифицировать процесс тренировки, увеличивая получаемую «дозу» гипоксии при сокращении количества отпускаемых процедур. Повышение эффективности способа применения коротких интервалов гипоксии-гипероксии обусловлено увеличением диапазонов концентраций кислорода в гипо- и гипероксических газовых смесях. Опытная эксплуатация устройства доказала его надежность и эффективность.

Дополнительные перспективы предложенный метод и разработанное устройство для гипокситренировок могут иметь в повышении кардиореспираторной выносливости и медицинской реабилитации пациентов и спортсменов с ограниченными возможностями при последовательном сочетании с физическими нагрузками.

### Список литературы:

1. *Serebrovskaya T.V., Manukhina E.B., Smith M.L., Downey H.F., Mallet R.T.* Intermittent hypoxia: Cause of or therapy for systemic hypertension? // *Exp. Biol. Med.* (Maywood). 2008. Vol. 6. PP. 627-650.
2. *Горанчук В.В., Сапова Н.И., Иванов А.О.* Гипокситерапия. – СПб., 2003. 536 с.
3. *Чижов А.А., Потиевская В.И.* Интервальная нормобарическая гипоксия в профилактике и лечении гипертонической болезни. – М.: Издательство РУДН, 2002. 187 с.
4. *Ищук В.А.* Применение интервальных нормобарических гипоксических тренировок у больных пожилого возраста с ишемической болезнью сердца // *Украинский кардиологический журнал.* 2011. № 4. С. 12-18.
5. *Burtscher M., Gatterer H., Szubski C., Pierantozzi E., Faulhaber M.* Effects of interval hypoxia on exercise tolerance: special focus on patients with CAD or COPD // *Sleep Breath.* 2009. Vol. 2. PP. 29-34.
6. *Spriggs M.* Hypoxic air machines: Performance enhancement through effective training – or cheating? // *J. Med. Ethics.* 2005. Vol. 31. PP. 112-113.

7. *Дворников М.В., Ушаков И.Б., Кукушкин Ю.А. и др.* Пути повышения эффективности применения интервальной гипокситерапии для профилактики стресс-индуцируемых нарушений кардиореспираторной системы / Тез. Пятой российской конф. «Гипоксия: механизмы, адаптация, коррекция». – М., 2008. С. 32.
8. *Sazontova T., Arkhipenko Y.* Intermittent hypoxia in resistance of cardiac membrane structures: Role of reactive oxygen species and redox signalling // *Intermittent Hypoxia: From molecular mechanisms to clinical applications* / Eds. L. Xi and T. Serebrovskaya. – Nova Science Publishers, 2009. PP. 113-150.
9. *Архипенко Ю.В., Сазонтова Т.Г., Глазачев О.С., Платоненко В.И.* Способ повышения неспецифических адаптационных возможностей человека на основе гипоксически-гипероксических газовых смесей / Патент РФ на изобретение № 2289432 от 20.12.2006 г.
10. *Костин А.И., Глазачев О.С., Платоненко А.В.* Устройство для создания гипоксических и гипероксических смесей / Патент РФ на изобретение № 2414250 от 20.03.2011 г.
11. *Сазонтова Т.Г., Глазачев О.С., Болотова А.В., Дудник Е.Н. и др.* Адаптация к гипоксии и гипероксии повышает физическую выносливость: роль активных форм кислорода и редокс-сигнализации (экспериментально-прикладное исследование) // *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова.* 2012. № 6. С. 793-807.
12. *Глазачев О.С., Звенигородская Л.А., Ярцева Л.А., Дудник Е.Н. и др.* Интервальные гипо-гипероксические тренировки в коррекции индивидуальных компонентов метаболического синдрома // *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология.* 2010. № 7. С. 51-56.
13. *Glazachev O.S., Pozdnyakov Yu., Urinskiy A., Platonenko A., Spirina G.* Adaptation to intermittent hypoxia-hyperoxia as cardio-protective technology in patients with coronary artery disease // *EuroPrevent2012: European Congress on Preventive Cardiology. Abstract Book.* – Dublin, Ireland, 2012. Vol. 19. SUPPL.1. S55. P. 342.

*Олег Станиславович Глазачев,  
д-р мед. наук, профессор,  
кафедра нормальной физиологии,  
Первый МГМУ им. И.М. Сеченова,  
г. Москва,  
e-mail: glazachev@mail.ru*

*А.А. Фомин, А.Б. Штейнгауэр, И.В. Родионов, Н.В. Петрова, А.М. Захаревич,  
А.А. Скапцов, А.Н. Грибов*

## Наноструктура покрытий из диоксида титана, модифицированного гидроксиапатитом, на медицинских титановых имплантатах

### Аннотация

В работе исследованы перспективные композиционные биоактивные покрытия из диоксида титана, модифицированного наночастицами гидроксиапатита, полученные на медицинских имплантатах из технически чистого титана ВТ1-00. Определены морфологические характеристики, закономерности изменения нанометровых показателей кристаллической структуры, механические свойства и биологическая совместимость экспериментальных покрытий титановых имплантатов, полученных комбинированным воздействием процессов оксидирования и поверхностного модифицирования гидроксиапатитом при индукционно-термической обработке.

В медицинской практике металлы, особенно титан (ВТ1-00, ВТ1-0) и его сплавы (ВТ6, ВТ16), широко используются при изготовлении функциональных элементов чрескостных ортопедических конструкций, эндопротезов крупных суставов и стоматологических имплантационных систем [1]. Особый интерес представляет получение на поверхности таких медикотехнических изделий функциональных биосовместимых покры-

тий, которые улучшают остеоинтеграционные процессы (приживление). Металлическая основа данных конструкций обеспечивает сопротивление механическим нагрузкам распределенного типа, однако при их установке с натягом в подготовленное костное ложе, возникают значительные усилия среза и сдвига. В данных экстремальных условиях уделяется особое внимание механическим характеристикам поверхностного

слоя, а именно твердости в сочетании с достаточной упругостью. Биосовместимое покрытие должно иметь высокие показатели морфологической гетерогенности, пористости, а также однородную микро- и наноструктуру [2], [3].

Структурная модификация поверхности обычно производится газотермическими, вакуумно-конденсационными методами осаждения и оксидирования. Отличительными чертами данных методов являются большая энергоёмкость и стоимость используемых материалов, низкий коэффициент использования материала для покрытия, сложная технологическая последовательность, относительно большая длительность процесса получения необходимого фазово-структурного состояния, пониженная механическая прочность и трещиностойкость при высоких значениях пористости, а также ограниченность или отсутствие возможности образования нанометровых элементов структуры.

Достаточно широко известны теоретико-экспериментальные исследования П. Кофстада, Д.И. Лайнера, Р.Ф. Войтовича, в которых исследуются процессы и закономерности окисления тугоплавких металлов, в том числе технически чистого титана. Современные исследования, выполненные К.А. Солнцевым, А.В. Коршуновым и рядом других ученых, касаются изучения кинетики образования оксидных покрытий в изотермических условиях [4], [5]. Остается открытой проблема получения на поверхности металлических материалов механически прочных интерфейсных покрытий, характеризующихся высокими качествами биосовместимости при функционировании в медицинской биотехнической системе «имплантат – кость». В связи с вышеуказанным, целью рассматриваемой работы является разработка технологии получения на титане биосовместимых механически прочных покрытий с развитой морфологией микро- и наноструктуры за счет использования высокоэффективного метода индукционно-термической обработки (ИТО) и структурной модификации наночастицами гидроксиапатита (ГА).

#### Методика эксперимента

Образцы представляют собой пластины толщиной 2 мм из технически чистого титана ВТ1-00, поверхность которых подвергается пескоструйной обработке корундовым абразивом, травлению в водном растворе 1,5 М HF + 1,5 М HNO<sub>3</sub> и очистке в ультразвуковой ванне. Поверхность подготовленных образцов интенсивно оксидируется в воздушной среде при воздействии токов высокой частоты (ТВЧ). Далее производится модификация коллоидными наночастицами ГА и завершающая индукционно-термическая обработка (ИТО) продолжительностью не более 300 с. При этом устанавливается влияние ИТО в диапазоне температуры 600...1200 °С на показатели микро- и наноструктуры получаемых покрытий, а также на их механические свойства. Режимам обработки экспериментальных образцов покрытий присвоена двойная нумерация: первое число соответствует температуре ИТО титановой основы (06 – 600 °С, ..., 12 – 1200 °С), второе – продолжительности процесса термообработки. Например, режим 06-120 соответствует температуре ИТО 600 °С и продолжительности выдержки при заданной температуре 120 с; режим 12-030 – температуре 1200 °С и продолжительности выдержки 30 с и т. д.

При исследовании структурного состояния покрытий использовалась растровая электронная микроскопия (РЭМ) на электронном микроскопе «MIRA II LMU». Обработка изображений покрытий была выполнена с использованием комплекса для анализа геометрических параметров микрообъектов АГПМ-6М. Механические свойства оценивались методом наноиндентирования, позволяющим исследовать тонкослойные покрытия при малой (10 мН) нагрузке, прикладываемой к индентору Берковича на тестере механических свойств «NANOVEA Ergonomic Workstation» (ISO 14577, ASTM E 2546). Проверка биосовместимости изучаемых образцов покрытий проводилась в условиях *in vitro*. Для исследования были использованы дермальные фибробласты человека, выделенные методом миграции из фрагментов нормальной кожи взрослых доноров. Продолжительность культивирования составила 14 и 28 суток. Далее образцы покрытий с клетками подвергались

фиксирующей обработке химическими реагентами и последующему изучению с применением РЭМ.

#### Результаты исследования и их анализ

Структура поверхности металлооксидного матричного слоя функциональных покрытий обусловлена процессами интенсивного окисления при теплофизическом воздействии ТВЧ. При описании кристаллической структуры с позиции геометрических характеристик выявляются несколько типов морфологии. Форма кристаллов TiO<sub>2</sub> (рутил) зависит преимущественно от температуры ИТО; так, при 600 °С образуются округлые и пластинчатые оксидные структуры. С увеличением температуры до 800 °С и продолжительности ИТО размер кристаллов данного типа достигает (70 ± 10) нм. При продолжительности ИТО свыше 150...180 с в покрытии возрастает число дефектов, что способствует формированию кристаллов игольчатой, расколотой пластинчатой и призматической формы. При температуре ИТО, равной 1000 °С, величина кристаллов оксидного покрытия достигает 70 нм. Однако при дальнейшей ИТО свыше 3...5 с происходит интенсивное дробление структурных элементов. При температуре ИТО, равной 1200 °С, наблюдается ускоренное и самопроизвольное отделение внешнего толстого оксидного слоя.

Влияние пескоструйной обработки поверхности титановой основы на морфологию покрытий из TiO<sub>2</sub> характеризуется образованием субмикрометровых выступов и впадин, а также неупорядоченным ростом нанокристаллов. Дополнительное активационное механическое воздействие на оксидируемую поверхность способствует трансформации структуры и образованию следующих типов кристаллов:

- 1) игольчатые разнонаправленные нанокристаллы, располагаемые по поверхности микрометровых выступов и впадин (рис. 1);
- 2) пластинчатые субмикрометровые кристаллы, способствующие сглаживанию микрорельефа;
- 3) призматические кристаллы, образующие пористый и одновременно механически прочный каркас.

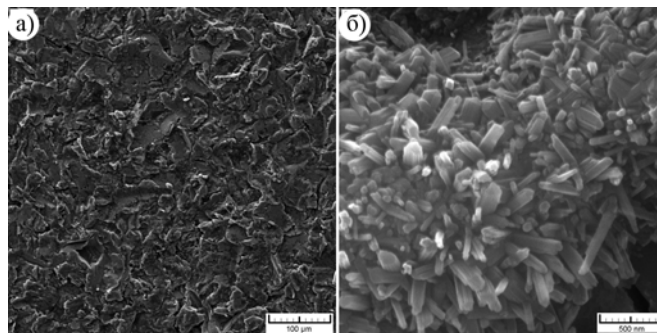


Рис. 1. Морфология покрытия TiO<sub>2</sub>, полученного при режиме ИТО 600-30: а) микроструктура; б) наноструктура

Рост покрытия TiO<sub>2</sub> на такой морфологически гетерогенной поверхности сопровождается трансформацией игольчатых кристаллов, характеризующихся толщиной 30...80 нм и длиной около 0,6...1,3 мкм, в пластинчатые образования раздробленной структуры с характерным размером около 1...2 мкм. Как отмечалось ранее, при изучении роста металлооксидных покрытий на плоской поверхности при температуре ИТО свыше 1000 °С происходит образование подслоя из призматических кристаллов величиной 0,2...0,4 мкм. Установлено, что при температуре свыше 800 °С и продолжительности процесса ИТО более 120 с морфологическая гетерогенность, которая определяется количеством и характером распределения выступов и впадин, снижается на 30...50 %. По этой причине целесообразно использовать диапазон ИТО от 600 до 800 °С при ее продолжительности от 30 до 120 с.

Результаты РЭМ поверхности образцов с композиционными покрытиями показали наличие пористой структуры, состоящей из металлооксидного каркаса TiO<sub>2</sub>, модифицированного наночастицами ГА-керамики (рис. 2).

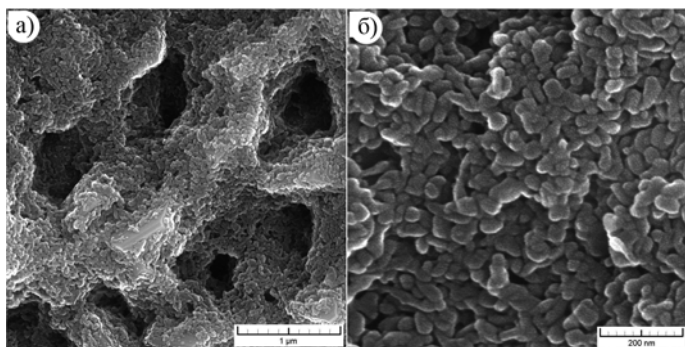


Рис. 2. Морфология микро- (а) и наноструктуры (б) покрытий, полученных при температуре ИТО 800 °С и выдержке 120 с

Микроструктура поверхности представляет собой рельеф исходной металлической основы после подготовительных операций и окисления. Исследование в нанометровом масштабе позволяет выявить тонкую структуру, представленную округлыми зернами, их агломератами и мельчайшими порами. Каркас такой структуры образует металлооксидная матрица, при этом элементы рельефа (выступы, открытые поры) равномерно модифицированы тончайшим слоем наночастиц ГА со средним размером 30...50 нм (рис. 2б). Увеличение температуры ИТО способствует коалесценции наночастиц с образованием слоистой пористой структуры, при этом размер пор находится в широком диапазоне от 50 до 500 нм.

Покрытия диоксида титана и его композиция с наночастицами ГА также характеризуются определенными механическими свойствами, в частности твердостью и модулем упругости (табл. 1). При этом особое внимание в рассматриваемой работе отводится изучению твердости в нанометровом масштабе.

Таблица 1

**Механические свойства биоактивных покрытий**

№ обр.	Твердость, ГПа	Твердость по Виккерсу, НВ	Модуль упругости, ГПа
BT1-00	2,27 ± 0,41	215 ± 39	119 ± 4
06*	7,14 ± 3,04	675 ± 287	158 ± 123
08*	4,87 ± 3,17	460 ± 300	122 ± 119
12*	9,46 ± 2,38	894 ± 225	260 ± 80
06	5,69 ± 1,56	538 ± 147	95 ± 20
08	16,38 ± 0,70	1548 ± 66	173 ± 18
12	14,98 ± 0,28	1416 ± 27	234 ± 55

\* – Металлооксидное покрытие без наночастиц ГА-керамики.

Зависимость твердости покрытий на основе диоксида титана от температуры ИТО носит параболический характер. Локальный минимум соответствует диапазону 840...870 °С, что может объясняться как изменением кристаллической структуры самой титановой основы (фазовый переход α-Ti ↔ β-Ti), так и визуальной отмеченной коалесценцией игольчатых кристаллов по результатам РЭМ. Дальнейшее повышение твердости обеспечивается при условии ограниченного доступа кислорода воздуха, в противном случае твердость покрытия резко снижается. Таким образом, пластинчатая структура помимо сниженной морфологической гетерогенности характеризуется низкими показателями механической прочности. В целом полученные показатели твердости характеризуют данные покрытия как высокопрочные, причем запас по механическим свойствам в сравнении с костной тканью в 8...12 раз больше относительно максимальных величин твердости для компактной костной ткани.

Твердость покрытий, модифицированных наночастицами ГА, при температуре ИТО 600 °С характеризуется трехкратным возрастанием до 6 ГПа по сравнению с титановой основой. При дальнейшем увеличении температуры ИТО до

800...1200 °С нанотвердость достигает максимальных значений и составляет 15...16 ГПа, что в 7,5 раз превышает твердость титана BT1-00. Модуль упругости образцов покрытий, полученных при температуре ИТО 600 °С, несколько ниже, чем у титана, однако при 800 и 1200 °С происходит его увеличение до 173...234 ГПа.

Проверка биосовместимости *in vitro* получаемых покрытий TiO<sub>2</sub> показала, что высокая морфологическая гетерогенность поверхностной структуры позволяет обеспечить стабильное закрепление клеток фибробластов (рис. 3). В качестве контрольного образца использовался образец титана BT1-00, подвергнутого пескоструйной обработке (рис. 3а, б).

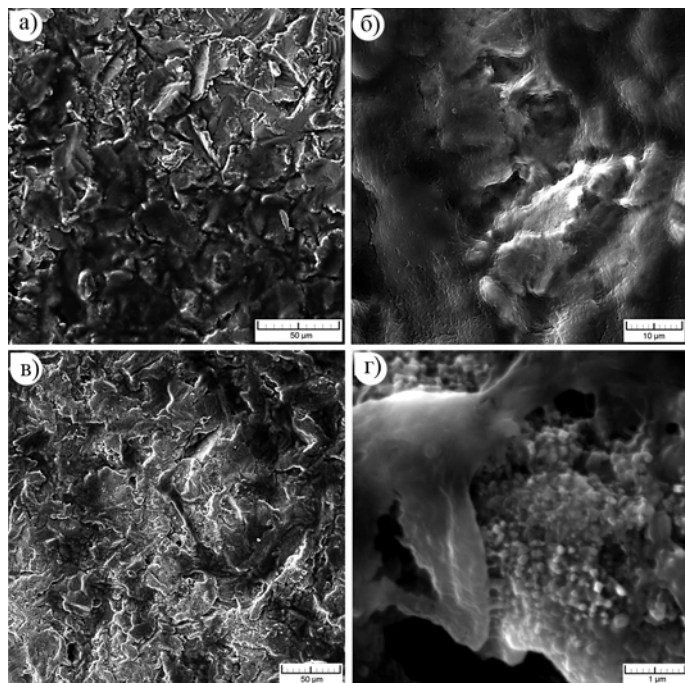


Рис. 3. Морфология структуры поверхности образцов технического чистого титана (а, б) и покрытия TiO<sub>2</sub>, полученного при режиме ИТО 800-120 (в, г) после испытаний *in vitro* в течение 14 суток

Установлено, что повышенная морфологическая гетерогенность игольчатой структуры покрытий TiO<sub>2</sub> активно стимулирует образование целостного комплекса «биосовместимое покрытие – биологическая ткань». Многочисленные нанометровые поры не препятствуют проникновению биоструктур, а напротив, способствуют процессу клеточной адгезии (рис. 3г). На данных электронных изображениях клетки представлены темными рассеивающими объектами, оценить их характерный размер, а также равномерность распределения по поверхности можно с помощью РЭМ при использовании детектора отраженных электронов. Неоднородность химического элементного состава проявляется на таких изображениях в виде темных участков (рис. 3а, в). В результате анализа данных изображений установлено, что клетки закрепляются преимущественно в микрометровых порах, средний размер которых около 5...15 мкм. Адгезия клеток наиболее активно происходит в присутствии субмикрометровых и нанометровых кристаллов. Таким образом, можно утверждать, что покрытия из диоксида титана TiO<sub>2</sub> характеризуются высокой биомеханической совместимостью, а именно геометрической биоактивностью в сочетании с повышенной твердостью.

Модификация покрытий TiO<sub>2</sub> наночастицами ГА стабилизирует клеточную адгезию. Повышенная биоактивность ГА-керамики и морфологическая гетерогенность такой композиционной пористой структуры обеспечивают ускоренное формирование клеточного монослоя и минимизацию участков покрытия без закрепленных клеток (рис. 4). Анализ результатов измерения твердости позволяет утверждать, что композиционные пористые покрытия из диоксида титана, модифици-

рованного наночастицами ГА, являются наиболее перспективным функциональным элементом биотехнической системы «имплантационная конструкция – костная ткань».

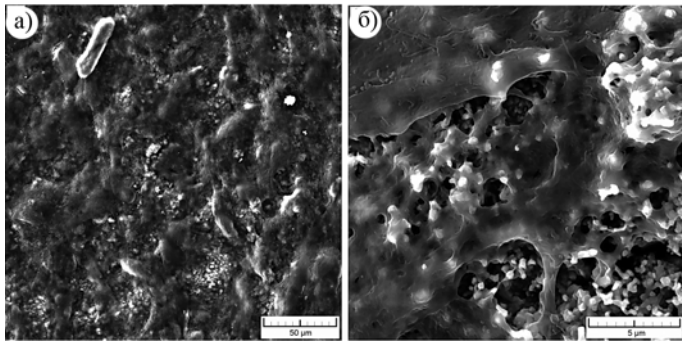


Рис. 4. Морфология поверхности образца покрытия, полученного при оксидировании с последующей модификацией ГА при температуре ИТО 800 °С, после испытаний *in vitro* в течение 14 (а) и 28 (б) суток

#### Выводы

Структура поверхности технически чистого титана после ИТО характеризуется высокой морфологической гетерогенностью и улучшенными механическими свойствами. Покрытия диоксида титана образованы нанокристаллами пластинчатой, игольчатой и призматической формы. Наилучшие показатели морфологии в сочетании с повышенной твердостью достигаются при режимах ИТО 600-120 и 1200-120 и ограничении доступа кислорода. Таким образом, тонкослойное покрытие диоксида титана  $TiO_2$  с игольчатой кристаллической нанометровой структурой характеризуется высокой биосовместимостью, что установлено по результатам испытаний *in vitro*. При необходимости получения толстослойного покрытия (около 5...10 мкм) с повышенными показателями твердости на титановых имплантатах целесообразно формировать кристаллическую пористую структуру, состоящую из призматических субмикрометровых кристаллов.

Обработка ТВЧ и последующее модифицирование при воздействии ИТО титановых медицинских изделий обеспечивает ускоренное образование на поверхности механически прочной композиционной структуры, состоящей из пористой металлооксидной матрицы из диоксида  $TiO_2$  и наночастиц биоактивной керамики на основе ГА. Установлено, что тонкослойное пористое металлооксидное покрытие, модифицированное наночастицами ГА-керамики, формируемое при нагреве от 800 до 1200 °С и выдержке не менее 30 с, характеризуется высокой биоактивностью и твердостью не менее 15...16 ГПа.

*Научные исследования проведены при частичной финансовой поддержке гранта РФФИ № 13-03-00898 Минобрнауки РФ в рамках ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2013 гг., соглашение № 14.В37.21.0571, а также гранта Президента РФ № МД-97.2013.8.*

#### Список литературы:

1. Catledge S.A., Fries M., Vohra Y.K. Nanostructured surface modifications for biomedical implants // Encyclopedia of nanoscience and nanotechnology. 2004. № 1. PP. 741-762.
2. Rodionov I.V., Fomin A.A., Annikov V.V., Korzhagina I.G., Pigareva J.V. Influence microstructure surface medical implants on the integration type of intercommunication with bone fabric // Nauka i Studia. 2012. № 12 (57). PP. 115-119.
3. Fomin A.A., Steinhauer A.B., Lyasnikov V.N., Wenig S.B., Zakharevich A.M. Nanocrystalline Structure of the Surface Layer of Plasma-Sprayed Hydroxyapatite Coatings Obtained upon Preliminary Induction Heat Treatment of Metal Base // Technical Physics Letters. 2012. Vol. 38. № 5. PP. 481-483.
4. Коршунов А.В., Ильин А.П., Лотков А.И., Раточка И.В., Морозова Т.П., Лыкова О.Н. Особенности окисления субмикроструктурного титана при нагревании в воздухе // Известия Томского политехнического университета. 2011. Т. 319. № 3. С. 10-16.
5. Солнцев К.А., Зуфман В.Ю., Аладьев Н.А., Шевцов С.В., Чернявский А.С., Стецовский А.П. Особенности кинетики окисления титана при получении рутила окислительным конструированием тонкостенной керамики // Неорганические материалы. 2008. Т. 44. № 8. С. 969-975.

Александр Александрович Фомин,  
канд. техн. наук, доцент,  
Алексей Борисович Штейнгауэр,  
аспирант,

Игорь Владимирович Родионов,  
д-р техн. наук, профессор,  
ФГБОУ ВПО «Саратовский государственный  
технический университет им. Гагарина Ю.А.»,  
г. Москва,

Наталья Владимировна Петрова,  
мл. научный сотрудник,  
Андрей Михайлович Захаревич,  
канд. физ.-мат. наук, зав. лабораторией,  
Александр Александрович Скапцов,  
канд. физ.-мат. наук, зав. лабораторией,  
Андрей Николаевич Грибов,  
аспирант, инженер,

ФГБОУ ВПО «Саратовский государственный  
университет им. Н.Г. Чернышевского»,  
г. Саратов,  
e-mail: afominalex@rambler.ru

\* \* \* \* \*