Methodological approaches to development of bioactive resorption glass-ceramic materials for bone endoprosthetics

O.V. Savvova (ORCID ID 0000-0001-6664-2274), O.V. Babich (ORCID ID 0000-0003-0821-1585), O.I. Fesenko (ORCID ID 0000-0003-3888-9493)

National Technical University «Kharkiv Polytechnic Institute», 2, Kirpichova St., Kharkiv, 61002, Ukraine
Tel.: +380577076600
E-mail: savvova_oksana@ukr.net

Article info: received 12.09.2018, revised 20.09.2018, accepted 28.09.2018

Savvova, O.V., Babich, O.V., Fesenko, O.I. (2018) Methodological approaches to development of bioactive resorption glass-ceramic materials for bone endoprosthetics 3(40), doi: 10.26909/csl.3.2018.2

The importance of creation of innovative resorption biocompatible glass-ceramic materials for bone endoprosthetics with high mechanical properties and a significant level of bioactivity which based on calcium-silicophosphate glasses is determined. A methodological approach to the development of bioactive resorption glass-ceramic materials for bone endoprosthetics was developed. Theoretically justified the direction of obtaining biocompatible inorganic glass-materials for the replacement of defects in bone tissue and the basic principles of their creation. A set of modern complementary research methods necessary to determine the basic physico-chemical and operational properties of these materials is established. Specific features of designing compositions and structure of glass-ceramic materials for bone endoprosthetics and a complex of necessary operational properties are determined. Developed bioactive glass-ceramic materials based on calcium-silicophosphate glasses, which are characterized by optimal physicochemical, medical and biological properties. The developed materials can be used as implants to replace statically and dynamically loaded sections of bone tissue in the maxillo-facial surgery.

Based on the results of experimental studies on glass formation and on the basis of analysis of structural coefficients, glass warehouses have been selected and synthesized. The mechanism of structure and phase formation of calcium silicofosphate glass materials has been experimentally determined. The conditions of formation of apatite-like layer on the surface of SCM in vitro are established. The possibility of adsorption of proteins on the surface of SCMs developed to provide a strong bonding layer of the implant with bone at high loads is confirmed.

The approach formulated the importance of creating materials for bone endoprosthesis with the slick terms of merging, the purpose and objectives of the study, the basic hypothesis, a system of criteria for obtaining resorptive glass-ceramic materials, taking into account the requirements for their operational properties, and the choice of the system for the obtaining of glue-based materials has been substantiated.

Clinical and microbiological studies allowed to establish non-toxicity, bactericidality and biocompatibility of developed glass-ceramic materials and confirmed the possibility of their use as implants in bone endoprosthetics with shortened joining lines.

Key words: calciumsilicatephosphate glass, glass-ceramic materials, methodological approach, bone endoprosthetics.

Методологічний підхід до розробки біоактивних резорбційних склокерамічних матеріалів для кісткового ендопротезування

О.В. Саввова, О.В. Бабіч, О.І. Фесенко

Національний технічний університет «Харківський політехнічний інститут», Харків, Україна

Визначена актуальність створення інноваційних резорбційних біосумісних склокерамічних матеріалів для кісткового ендопротезування з високими механічними властивостями та значним рівнем біоактивності на основі кальційсилікофосфатних стекол. Розроблено методологічний підхід до розробки біоактивних резорбційних склокерамічних матеріалів для кісткового ендопротезування. Теоретично обґрунтовано напрямки одержання

біосумісних неорганічних матеріалів для заміщення дефектів кісткової тканини та основні принципи їх створення. Встановлено комплекс сучасних взаємодоповнюючих методів дослідження необхідних для визначення основних фізико-хімічних та експлуатаційних властивостей даних матеріалів. Визначено особливості проектування складів та структури склокерамічних матеріалів для кісткового ендопротезування та комплекс необхідних експлуатаційних властивостей. Розроблено біоактивні склокерамічні матеріали на основі кальційсилікофосфатних стекол, які характеризуються оптимальними фізико-хімічними, медикобіологічними властивостями та можуть бути використані як імплантати для заміни статично та динамічно навантажених ділянок кістки у щелепно-лицевій хірургії.

Вступ

На сьогоднішній день розробка біоматеріалів для відновлювальної медицини є невід'ємною часткою програми охорони здоров'я та покращення якості життя населення. Це пов'язано із загальним зростанням соціальних норм, спрямованих на збереження здорової нації.

Екологічні проблеми, криміногенний стан та військові дії призводять до різкого зростання чисельності травм і захворювань серед працездатного населення і пов'язані з «омолодженням» захворювань, які є характерними для людей похилого віку. Соціальні програми спрямовані на покращення медичного обслуговування населення, охорону здоров'я та подовження життя людей, особливо в мегаполісах, мають орієнтир на широке використання сучасних методів лікування, зменшення строків лікування, зниження кількості рецидивів захворювань [1]. Тому важливою соціально-практичною задачею є впровадження сучасних технологічних рішень та високоефективних матеріалів у галузях охорони здоров'я та медицини. До таких матеріалів медичного призначення відносять біосумісні керамічні матеріали для кісткового ендопротезування, які здатні задовольнити зростаючі потреби в ефективних імплантатах.

Аналіз і узагальнення світових досягнень в області створення і застосування нових біосумісних імплантаційних матеріалів для кісткового ендопротезування свідчить про їх широкі можливості і перспективи розвитку. За даними аналізу сучасних тенденцій розвитку біоматеріалів найбільшу кількість публікацій присвячено біосумісним керамічним матеріалам на основі гідроксиапатиту (ГАП) та трикальційфосфату (ТКФ), а лідерами за кількістю публікацій є США (15,0 %), Японія (19,1 %) та Німеччина (31,2 %) [2]. Частка українських публікацій, що стосується матеріалів для кісткового ендопротезування, найбільш помітна в галузі композитів (0,8 %), кераміки (0,7 %) та металічних матеріалів (0,6 %) [2]. Незважаючи на значні досягнення в області створення біосумісних кісткових ендопротезів, спроби виготовити штучний кістковий матеріал зі складною, подібною до природної, структурою, високою біосумісністю і стабільністю впродовж тривалого часу, який є придатним для клінічного використання, мають лише відносний успіх. Так, відомі біосумісні титанові імплантати не здатні утворювати міцного зв'язку з кісткою, а керамічні та скломатеріали на основі фосфатів кальцію – характеризуються тривалими строками зрощування з кісткою та можуть використовуватися лише під дією незначних навантажень на неї [3].

Рішенням цієї проблеми є створення інноваційних резорбційних біосумісних склокристалічних матеріалів для кісткового ендопротезування з високими механічними властивостями та певним рівнем біоактивності на основі кальційсилікофосфатних стекол. Важливим аспектом для успішного виконання вказаної задачі є теоретичне обґрунтування основних концепцій розробки кісткових ендопротезів у розрізі створення та впровадження сучасних технологічних рішень та ефективних матеріалів.

Використання матеріалознавчих підходів при розробці біосумісних матеріалів для кісткового ендопротезування. Теоретичним обґрунтуванням напрямів спрямованих на застосування біосумісних матеріалів, як внутрішньокісткових імплантатів, для заміщення дефектів кісткової тканини, у хірургії і медичному матеріалознавстві, є закон Дж. Вольфа (1872 р.), відповідно до якого в основі кожної регенерації лежить прагнення природи відновити не форму, а функцію [4]. Стосовно кістково-пластичної хірургії В. Раукс (1893 р.) встановив, що кістка має функціональну форму і будову внаслідок функціонального подразнення клітин, що підсилює живлення кістки і веде до її збільшення, і навпаки, зменшення живлення призводить до її атрофії [5]. Тому сучасні методи хірургічного лікування в різних галузях медицини направлені не на видалення пошкодженого органа, а на відновлення його біомеханічних властивостей.

Основною ідеєю, яку покладено в основу створення біосумісних матеріалів, є відтворення хімічного і фазового складу мінеральної частини людської кістки [1]. Окрім іонів Ca^{2+} та груп $[PO_4]^{3-}$ елементний склад кісткової тканини представлений іонами Na^+, K^+, Mg^{2+}, F^-, Cl^- і групою $[CO_3]^{2-}$ тощо. Мінеральна складова природної кістки поряд з кристалічними і аморфними фосфатами кальцію містить (мас. %): 5,90 $CaCO_3$; 0,72 MgO; 0,99 Na_2O; 0,07 K_2O; 0,04 SiO_2; 3,48 CO_2; 0,07 F; 0,08 Cl.

Природна кістка також включає ряд мікроелементів, найважливішими з яких є Cu, Zn, Sr, Ba, Be, Al, Mo, Au, Mn, Fe і Si. Вважається, що дефіцит або збільшення вмісту цих елементів може відігравати вирішальну роль у процесах оновлення кристалічних ґраток кісткових мінералів і визначає їх просторову структуру, від якої багато в чому залежать міцнісні характеристики кісткової тканини. Тому проектування складів біосумісних матеріалів з визначеним видом та вмістом кристалічних фаз є важливою практичною задачею при створенні зміцнених біоактивних матеріалів зі скороченими строками зрощування.

Основні етапи проектування біоактивних матеріалів. Першим кроком на шляху створення концепції біосумісних ендопротезів для кісткового ендопротезування є розробка комплексу вимог до них, що включають [6]:

- *медико-біологічні властивості*: нетоксичність і біологічна сумісність, тобто відсутність імунологічних, канцерогенних, бактеріологічних ефектів, алергічних і запальних реакцій організму; не провокувати злоякісного переродження тканин і їх травмування; стимулювання процесу утворення кісткової тканини (остеосинтезу);
- *хімічні властивості*: регульована хімічна стійкість у фізіологічному середовищі організму, що забезпечує необхідний «час життя» імплантату; стійкість до окиснення, що виключає накопичення шкідливих продуктів взаємодії в різних органах; відсутність гальваноелектричних явищ, які призводять до металозу навколишніх тканин; тромбостійкість; витримування різних видів стерилізації та стійкість до випромінювання;
- *механічні властивості*: близькість значень міцнісних та пружних характеристик до відповідних показників живої кісткової тканини; висока і тривала міцність при впливі фізіологічного середовища в умовах змінних статичних і динамічних навантажень;
- *технологічні властивості*: простота виготовлення виробів різноманітного розміру та форми; можливість регулювання структури та поруватості виробів для швидкого проростання кісткової тканини в імплантат (наскрізні пори розміром 100 ÷ 150 мкм [11]); машинооброблюваність; економічність.

Другим кроком при створенні кісткових ендопротезів є вибір біосумісного матеріалу, тип якого визначається з урахуванням вищенаведених вимог.

Біоінертні матеріали (сплави титану, корунд, діоксид цирконію та ін.), які, за класифікацією Уільямса Д.Ф. [3], не викликають імунних та запальних реакцій та успішно використовуються на навантажуваних ділянках кісткової тканини при ендопротезуванні хребта та суглобів [6].

Біоактивні (*резистивні, поверхнево-біоактивні*) [7] матеріали (керамічний гідроксиапатит, склокерамічні матеріали, зокрема, біоситали на основі систем $CaO – P_2O_5 – Al_2O_3 – SiO_2$), які здатні утворювати біохімічні зв'язки з навколишніми тканинами живого організму та *біорезорбційні* матеріали (трикальційфосфат, наноструктурний ГАП, карбонат апатит (КАП), біостекла та біоситали на основі системи $Na_2O – CaO – P_2O_5$, сульфат кальцію та ін. [8, 9]), які повністю розчиняються в організмі та заміщуються на натуральні тканини, здебільшого використовуються на статично навантажуваних ділянках кістки або при заліковуванні дефектів кістки. Високоміцні біоактивні ситали та біоактивні склокерамічні покриття по сплавах металів ефективно використовуються при значних динамічних навантаженнях кісткової тканини щелеп та кінцівок при протезуванні суглобів та хребта.

Особливий інтерес з точки зору відновлювальної остеохірургії, становлять біоактивні резорбційні склокерамічні матеріали. Необхідність скорочення строків зрощування імплантатів з кістковою тканиною визначила розвиток резорбційних фосфатних стекол на основі системи $P_2O_5 – CaO – Na_2O$ та склокерамічних матеріалів (СКМ) на їх основі, з механічними властивостями, що відповідають вимогам для навантажених ділянок кісткової тканини. Саме на розробку методологічного підходу при створенні вказаних матеріалів і спрямована дана робота.

Методологічні засади при створенні біосумісних високоміцних резорбційних склокерамічних матеріалів Теоретичні основи при створенні резорбційних склокерамічних матеріалів. Біоактивність кераміки, стекол і ситалів реалізується шляхом утворення на поверхні матеріалу перехідної аморфно-кристалічної зони, що включає полікристалічний кальційфосфатний шар з апатитоподібною структурою, яка є близькою до структури кісткового гідроксиапатиту, та проходженням на поверхні матеріалу біохімічних процесів за участі колагену, протеїнів, пектинів, макрофагів, які обумовлюють остеогенез, у перехідній зоні [6]. Досягнення біоактивності кальційсилікофосфатних СКМ може бути реалізовано за рахунок варіювання вмісту та співвідношення склофази та кристалічних фаз. Це досягається, по-перше, за рахунок забезпечення тонкодисперсної кристалізації модельного скла з утворенням біоактивних фаз фосфатів кальцію (ГАП та КАП) при співвідношенні $CaO : P_2O_5 = 1 \div 2$ у структурі СКМ шляхом спрямованої кристалізації, по-друге, визначеним рівнем його розчинності необхідним для протікання процесу апатитоутворення на його поверхні *in vivo*.

Для забезпечення активного прикріплення клітин, їх проліферації, диференціації, синтезу колагену і остеогенних маркерів біоактивні матеріали синтезують на основі кальційфосфатосилікатних стекол. Перспективність використання апатитсилікатних скломатеріалів обумовлена можливістю формування на їх поверхні, за рахунок силікатної скломатриці, гідратованого шару в умовах *in vivo*. Багаточисленні дослідження показали, що силіцій зв'язаний з поліцукровою матрицею і входить в структуру глюкозаміноглікану, гіалуронової кислоти та хондротинсульфату [10].

Задля забезпечення тонкодисперсної кристалізації передбачається реалізація ліквацiйного механізму зародкоутворення скломатеріалу за рахунок самоорганізації нанорозмірних флуктуацій – попередників нуклеаторів кристалізації з подальшим їх ростом. Утворення дрібних кристалів з розміром близько 0,1 ÷ 1,0 мкм, які міцно сполучені між собою, а також наявність тонких прошарків скла між ними наблизить міцність СКМ до теоретичної, що поряд з попередженням розвитку тріщин по межам кристалів, є запорукою високої міцності та стабільності фізико-механічних властивостей в умовах тривалого змінного навантаження, яке відповідає такому для кісткової тканини в людському організмі [11].

Важливим чинником забезпечення одночасно зміцненої та резорбційної структури є виникнення у склі вторинного розшарування, як етапу гетерогенного зародження кристалічних центрів, що пов'язано з утворенням стабілізованих кластерів – гетерофазних флуктуацій, які формують самоорганізовану наноструктуру. Вказана структура з погляду на ближній порядок є найбільш спорідненою зі структурою скла. Це приведе до зниження енергетичних бар'єрів при зародженні кристалів, які легко можуть бути подолані при відносно низьких температурах, при яких ведеться кристалізація скла [11].

Для забезпечення вмісту кристалічної фази фосфатів кальцію в умовах термообробки в межах 50 об. % з розміром < 1 мкм до складу вихідних стекол вводять каталізатори кристалізації TiO_2, ZrO_2 та ZnO. Їх наявність сприятиме зародкоутворенню кристалів ГАП не тільки в структурі, а й на поверхні матеріалів *in vivo*, оскільки на гідратованих поверхнях матеріалів, модифікованих групами $Ti\text{-}OH^-$, $Zn\text{-}OH^-$ та $Zr\text{-}OH^-$, розвиток апатитового шару спостерігається значно інтенсивніше [6]. Для зміцнення структури та корегування процесів вилуговування і забезпечення нетоксичності та термостійкості скломатеріалів до їх складу вводять оксиди бору та алюмінію.

Для поліпшення остеоіндуктивних властивостей біоактивних СКМ використовують модифікований ГАП, наприклад, карбонатгідроксиапатіт (КГАП), який більш чітко відтворює склад кісткової тканини у порівнянні з ГАП і характеризується підвищеною біорезорбцією внаслідок мікровикривлень, які виникають при входженні карбонат-іону в структуру апатиту [12]. Кристалізація КГАП у структурі біоактивних матеріалів можлива, зокрема, при введенні до їх складу карбонатвміщуючих органічних компонентів, таких як імуноінертний полісахарид – хітозан [13].

Для уникнення зараження кісткової тканини, при імплантації, стафілококом, стрептококом, кишковою паличкою, що може призвести до остеомієліту в зоні фіксації кісток, до складу скломатеріалів вводять денатуруючі агенти – катіони важких металів арґентуму, цинку, міді та ін.

Забезпечення високоміцної структури СКМ поряд з їх біологічною активністю, нетоксичністю та здатністю до бактерицидної дії дозволить отримати на їх основі біосумісні імплантати зі структурою та властивостями наближеними до кісткової тканини. Впровадження даних імплантатів дозволить суттєво скоротити реабілітаційний період, особливо на ділянках кісткової тканини, які динамічно навантажуються.

Метою даної роботи є розробка методологічного підходу при створенні біоактивних кальційсилікофосфатних склокристалічних матеріалів для кісткового ендопротезування зі скороченим терміном зрощування з кістковою тканиною.

Для реалізації вказаної мети були поставлені наступні задачі:

- аналіз накопиченого досвіду у напрямку створення скломатеріалів для кісткового ендопротезування;
- розробка методологічного підходу та вибір критеріїв їх синтезу;
- обґрунтування базової оксидної системи для одержання резорбційних склокристалічних матеріалів;
- експериментальне дослідження закономірностей формування структури і фазового складу СКМ на основі модельних стекол;
- визначення впливу фазового складу на функціональні властивості, що обумовлюють біоактивність матеріалів;
- визначення умов формування апатитоподібного шару на поверхні розроблених матеріалів СКМ в середовищі живого організму (*in vitro*);
- розробка складів біоактивних резорбційних СКМ для кісткового ендопротезування зі скороченими термінами зрощування з кістковою тканиною;
- проведення дослідно-лабораторних, і клініко-біологічних досліджень в умовах середовища живого організму (*in vivo*).

Матеріали та методи дослідження

Фазовий склад, кристалізаційну здатність та структуру модельних стекол визначали з використанням комплексу сучасних фізико-хімічних методів аналізу (рентгенофазового, петрографічного, диференційно-термічного, градієнтно-термічного, спектрального, електронно-мікроскопічного).

Характер поверхні матеріалів досліджували за допомогою прямого методу електронної мікроскопії на растровому електронному мікроскопі-мікроаналізаторі РЕММА-101А, мікрорельєф поверхні – за допомогою профілографу типу *Surtronic 3+ profilometer* (ГОСТ-19300-86). Елементний склад поверхневого шару матеріалів визначають рентгенофлуоресцентним аналізом на спектрометрі-аналізаторі «СПРУТ» та електронно-зондовим мікроаналізом на скануючому електроному мікроскопі РЭМ *Tescan Mira 3LMU* з використанням енергодисперсійного спектрометру *Oxford X-max 80mm*.

Вільну енергію поверхні (ВЕП) досліджують за методом Оуенса – Вендта – Кабле. Температурний коефіцієнт лінійного розширення (ТКЛР) встановлювали з використанням кварцового дилатометру ДКВ-5А (ASTM C 372-94 (2007)), мікротвердість, твердість матеріалів за Віккерсом та тріщиностійкість матеріалів – на ПМТ-3 і ТМВ-1000 (ГОСТ 9450-76), твердість за Роквелом на твердомірі КТ-2 (ГОСТ 9013-59).

Розчинність матеріалів визначають з використанням фізіологічних рідин: дистильована вода, фізіологічний розчин, розчин Рінгера (ГОСТ Р 52770-2007) та 10 мас. % розчин альбуміну. Оцінку біологічної дії матеріалів проводили за методами екстремального та модельного розчину (ГОСТ ISO 10993-14-2011) та у модельній рідині організму (МРО) (ISO 23317:2012). Вміст іонів у розчинах визначають на полум'яному фотометрі ПФМ-УЧ.І, на фотоколориметрі КФК-2 та атомно-адсорбційному спектрометрі МГА-915МД. Значення pH розчину – на іономірі ЕВ-74.

Вивчення біоцидних властивостей СКМ здійснюють за ISO 27447:2009, ISO 22196:2011, МУ 2.1.674-97, ASTM G 21-96, ГОСТ 9.049-91. Токсичність СКМ визначають за зміною дегідрогеназної активності (ДГА). Клініко-біологічні випробовування матеріалів проводять згідно з Національними стандартами України щодо біологічного оцінювання медичних виробів за ГОСТ ISO 10993-6-2011. Дослідження характеру адгезії СКМ проводять при культивуванні на клітинах-попередниках. Як клітинний компонент біоінженерних конструкцій найбільш перспективним є використання мезенхімальних стовбурових клітин (МСК), здатних до спрямованого мультилінійного диференціювання в клітини кістки, хряща, жиру.

Експериментальна частина. Встановлення комплексу критеріїв-вимог до скломатриці розробка біоактивних резорбційних склокристалічних матеріалів. На першому етапі проектування склокристалічних матеріалів з заданою структурою та властивостями необхідним є встановлення можливості їх одержання на основі кальційсилікофосфатних стекол. Зважаючи на те, що вказані стекла схильні до кристалізації вже в процесі охолодження після варки, ефективною, при проектуванні складів модельних стекол, є оцінка їх кристалізаційної здатності з використанням коефіцієнту прозорості ($K_{пр}$) та коефіцієнту кристалічності ($K_{кр}$). Авторами [14] встановлено, що для отримання закристалізованих СКМ необхідно, щоб структурні коефіцієнти модельних стекол мали наступні значення: $K_{кр} \geq 3{,}5$, $K_{пр} \geq 2{,}1$.

У зв'язку з вимогами за ГОСТ Р 52770-2007 до медичних виробів на основі стекол та кераміки, які обмежують до 0,5 мг/мл вилуговування іонів Al^{3+} та B^{3+}, необхідним є забезпечення показників Ψ_B та $\Psi_{Al} > 1$ [15], що дозволить створити умови для формування у структурі стекол тетраедрів $[BO_4]$ та $[AlO_4]$.

При формуванні апатитоподібного шару в умовах *in vivo* на поверхні імплантату важливою є наявність у структурі скломатеріалів сиботаксичних угруповань майбутніх кристалічних фаз, які є потенційними нуклеаторами фосфатів кальцію. Формування у структурі стекол метафосфатів, ультрафосфатів та поліфосфатів визначається співвідношенням $R_2O : P_2O_5$. При співвідношенні $R_2O : P_2O_5 < 1$ більш вірогідною є наявність ультра фосфатів $[P_nO_{3n+p}]^{(n+2p)}$, при співвідношенні $R_2O : P_2O_5 > 1$ – поліфосфатних груп $[PO_3]^{n-}_n$, при $R_2O : P_2O_5 = 1$ – метафосфатних груп $[PO_4]^{3-}_n$, які можуть виконувати роль сиботаксичних угруповань майбутніх кристалічних фаз [16].

Поряд з забезпеченням об'ємної тонкодисперсної кристалізації стекол важливим проявом їх біоактивності є рівень резорбції. Висока реакційна здатність скломатеріалів може бути реалізована при $f_{Si} \leq 0{,}32$ [17].

Як показник рівня резорбції скла та його біоактивності *in vivo* в залежності від складу запропоновано критерій *GR* (glass reaction) [18]. Що стосується склокристалічних матеріалів, їх значення *GR* залежить як від ступеня розчинності склофази так і від розчинності кристалічної фази. Тому для склокристалічних матеріалів розрахунок реакції *in vivo* (*GR*) не є достатнім, а визначається тільки для прогнозування біоактивних властивостей певного складу модельного скла.

З урахуванням аналізу складів і властивостей відомих склокерамічних матеріалів для кісткового ендопротезування [19] були розроблені склади скломатеріалів на основі системи Na_2O – K_2O – Li_2O – MgO – CaO – ZnO – ZrO_2 – TiO_2 – Al_2O_3 – B_2O_3 – P_2O_5 – SiO_2 зі співвідношенням CaO : P_2O_5 = 1,5 ÷ 4,0 і високою реакційною здатністю при ступені зв'язності кремнекисневого каркасу скла $f_{Si} < 0,32$:

– серій Б і БС, що характеризуються CaO : P_2O_5 = 1,5 ÷ 4,0, f_{Si} = 0,24 ÷ 0,29 і сумарним вмістом каталізаторів кристалізації TiO_2 і ZrO_2, рівним 0,0 ÷ 10,0 мол. %;
– серії ЦФ, яка характеризується CaO : P_2O_5 = 1,5 ÷ 4,0, f_{Si} = 0,26 ÷ 0,29 і змістом каталізатора кристалізації ZnO в кількості 5,0 ÷ 8,0 мол. %.

З урахуванням вищенаведеного обрані критерії синтезу до вихідної скломатриці як основи для одержання резорбційних біоактивних СКМ:

– коефіцієнт кристалічності $K_{кр} \geq 3,5$;
– коефіцієнт прозорості $K_{пр} \geq 2,1$;
– протікання об'ємної тонкодисперсної кристалізації ГАП, КАП та ФАП при забезпеченні співвідношень CaO : P_2O_5 = 1 ÷ 4 та R_2O : $P_2O_5 \geq 1$ для утворення стехіометричних груп $[PO_3]^{n-}_n$;
– забезпечення контрольованої розчинності скломатриці при $f_{Si} < 0,32$, $\Psi_в$ та $\Psi_{Al} > 1$ з наступним утворенням на поверхні матеріалів апатитоподібного шару при GR = 3 ÷ 4.

Розробка біоактивних резорбційних склокристалічних матеріалів. Для одержання монолітних СКМ, що статично навантажуються і призначені для заповнення дефектів та ділянок кістки при використанні СКМ Б-11 та БС-11 необхідним є нагрів від 20 ºС до 880 та 1080 ºС, відповідно, впродовж 2-х годин з 0,5 годинною ізотермічною витримкою при 880 та 1080 ºС, відповідно. Для одержання монолітних СКМ, що динамічно навантажуються і передбачені для заповнення дефектів кістки при використанні СКМ ЦФ-1 необхідним є нагрів від 20 ºС до 880 ºС впродовж 2-х годин з 0,5 годинною ізотермічною витримкою при 880 ºС.

Фазовий склад розроблених скломатеріалів представлений кристалічними фазами:

– хімічно стійкими, що забезпечують міцність: гідроксиапатитом $Ca_5(PO_4)_3OH$ (≈ 5 ÷ 30 об. %), фторапатитом $Ca_5(PO_4)_3F$ (≈ 16 ÷ 20 об. %) (табл. 1);
– розчинними, які зумовлюють високу біоактивність: ренанітом (β-$NaCaPO_4$) (≈ 15 об. %,) і карбонатапатитом $Ca_5(PO_4)_3CO_3$ (≈ 5 ÷ 10 об. %).

Результати та їх обговорення

Оцінка рівня резорбції та біологічної дії склокерамічних матеріалів. Розчинність СКМ у фізіологічних рідинах корелює з розчинністю модельних стекол та залежить від показника f_{Si}, вмісту і виду фосфатів кальцію у складі СКМ. Підвищення показників втрат маси у дистильованій воді для СКМ пов'язані зі значним вмістом у їх складі резорбційних фаз ренаніту та КАП. Для СКП, які вміщують лише ГАП, розчинність лімітується хімічною стійкістю фосфатосилікатної склофази. Важливим показником можливості формування апатитоподібного шару є вихід іонів Na^+, Ca^{2+} та P^{5+} у дистильовану воду впродовж 30 діб. Процес вилуговування інтенсифікується з ростом їх розчинності СКМ. Оптимальний вихід іонів Ca^{2+} та іонів P^{5+} (табл. 1) з матеріалів серій Б та ЦФ забезпечується при pH ≈ 7,3 ÷ 7,4, що є необхідним для формування апатитоподібного шару через виділення прекурсорів аморфного фосфату кальцію (АФК) та нестехіометричного гідроксиапатиту (нГАП) на поверхні *in vitro.* Зниження виходу іонів Ca^{2+} та P^{5+} для СКМ, які вміщують ГАП, позначається на зменшенні pH до 5,3 ÷ 6,4, що дозволяє сформувати апатитовий шар на поверхні статично навантажуваних ділянок кістки у більш тривалий термін. Витримка у екстремальному та модельному розчинах впродовж 120 годин дозволяє встановити низький рівень їх деструкції та можливість використання як виробів медичного призначення (ГОСТ ISO 10993-14-2011).

Для моделювання кінетики осадження компонентів плазми *in vivo* необхідним є дослідження розчинності матеріалів в МРО. Для дослідних СКМ після трьох діб втрати маси в МРО, є практично однаковими. Після більш тривалого терміну витримки 30 ÷ 60 діб спостерігався приріст маси, що свідчить про осадження компонентів МРО на поверхні розроблених СКМ. Крива приросту маси має експоненціальний характер, який після 90-то денної витримки переходить у прямолінійну залежність внаслідок інтенсифікації процесу осадження. Це пояснює прискорене утворення апатитоподібного шару на поверхні розроблених СКМ завдяки вищенаведеним особливостям їх структури.

На поверхні матеріалів після витримки в МРО відбувається зміна співвідношення елементів Si, Ca та P. На поверхні вихідних матеріалів співвідношення Si : Ca : P відповідає даному співвідношенню у складі вихідних стекол та складає 1 : (0,50 ÷ 0,93) : (0,20 ÷ 0,66). Після витримки в МРО впродовж 180 діб співвідношення Si : Ca : P складає 1: (2,54 ÷ 6,00) : (2,97 ÷ 7,00) і є наближеним до співвідношення, яке, в загальному випадку, спостерігається на межі зрощування біоскла з кісткою. Зниження співвідношення Ca : P = 0,82 ÷ 0,86 (табл. 1) для СКМ після витримки їх в МРО є свідченням можливої наявності в осадженому по-

верхневому шарі АФК (Ca : P = 1,0), який є попередником кристалізації нГАП (Ca : P = 1,5 ÷ 1,67).

Дослідженнями морфології поверхні визначено мікрошорсткість розроблених матеріалів з R_a = 2,5 ÷ 6,0 мкм, що є додатковим стимулюючим чинником прикріплення кісткоутворюючих клітин до поверхні СКМ. Забезпечення на поверхні СКМ ВЕП у межах 51,0 ÷ 55,9 мДж/м^2 підвищує адгезійну здатність до альбуміну та підтверджує перспективність застосування СКМ при одержанні кісткових імплантатів.

Клініко-біологічні дослідження біосумісності склокристалічних матеріалів. Порівняльний морфологічний аналіз структурної кістки та репаративного процесу кістки у ділянці імплантації титанового зразку ВТ-16 та дослідних СКМ матеріалів ЦФ-1 і БС-11, а також їх остеоінтеграції дозволив встановити, що навколо зразків впродовж 90 діб спостереження формується грануляційна, фіброретикулярна, щільна сполучна та кісткова тканини. Одержані дані патоморфологічного дослідження внутрішніх органів щурів, яким у кісткову тканину імплантували зразки БС-11 та ЦФ-1 впродовж 90 діб, свідчать про відсутність у аналізованих матеріалах явищ токсичної дії. Дослідні зразки БС-11 та ЦФ-1 при імплантації у кістку впродовж 90 діб виявляють біосумісність та нетоксичність, вони мають вищі остеоінтеграційні якості ніж титанові зразки. Одержані результати є експериментальним підґрунтям для висновку про можливість використання дослідних матеріалів БС-11 та ЦФ-1 для одержання біосумісних імплантатів для щелепно-лицевої хірургії зі скороченими термінами зрощування близько 3 місяців. Дослідження характеру адгезії МСК при культивуванні на дослідних склокристалічних матеріалах Б-11 для кісткового ендопротезування

Таблиця 1.

Порівняльна характеристика біоактивних відомого та розроблених СКМ

Параметр	Керамічний (Росія)	Розроблені СКМ (Україна)		
		Б-11	БС-11	ЦФ-1
Ступінь зв'язаності кремнекисневого каркасу	–	0,19	0,28	0,26
Коефіцієнт кристалічності	–	14,63	6,24	7,67
Коефіцієнт прозорості	–	2,9	2,8	2,69
Критерій *GR*	–	4	4	4
Вид та вміст кристалічної фази, об. %	ГАП 100	ГАП 17, ренаніт 23	ГАП 55	ГАП 30 КАП 15
Розмір кристалів, мкм	1	1	1 ÷ 3	1
Твердість по Віккерсу, МПа	4500 ÷ 6000	5900	4200	4800
Твердість по Роквелу, МПа	46 ÷ 56	–	42	46
Міцність на стиснення, МПа	50 ÷ 80	100	100	120
ТКЛР, $\alpha \cdot 10^7$ (25–600) ,1/°C	110	150	86	42,5
Розчинність у модельному розчині, %	–	8,0	2,0	5,5
Розчинність у розчині лимонної кислоти, %	–	2,0	0,2	1,25
Вільна енергія поверхні *in vitro*, мДж/м^2	–	55,9	51,0	53,6
Морфологія поверхні (R_a), мкм	–	2,5	6,0	4,0
Формування апатитоподібного шару *in vitro* як співвідношення Ca : P на поверхні матеріалів	1,3	0,86	0,87	0,82
Токсичність	–	не виявляє	не виявляє	не виявляє
Бактерицидна дія	–	проявляє	проявляє	проявляє
Біосумісність	проявляє	проявляє	проявляє	проявляє
Термін зрощування з кісткою, місяць	12 ÷ 24	–	3	3

дозволило встановити можливість створення біоінженерної конструкції зі стовбуровими клітинами.

Дослідження токсичності та бактерицидної дії матеріалів. Оцінка зміни ДГА біотестових культур *Escherichia coli* (*E.coli*) та *Staphylococcus aureus* (*St. Aureus*) при їх контакті з розробленими СКМ, які вміщують бактерицидні агенти (катіони цинку або міді або мангану), дозволили встановити, що концентрація формазану, як показнику ДГА, *E.coli* та *St. Aureus* в середовищі з дослідними зразками та біотестовими культурами (без зразків) є близькими. Це свідчить про відсутність токсичної дії дослідних СКМ на культури бактерій. При цьому розроблені СКМ проявляють бактеріостатичну та фунгістатичну дію відносно *E. Coli* та *S. Aureus*, що дозволить попередити можливе інфікування при імплантуванні.

Порівняльна оцінка розроблених склокерамічних матеріалів та відомого представника біосумісних кальційфосфатних матеріалів (кальційфосфатна кераміка) дозволили встановити, що за значеннями міцносних властивостей та терміну зрощування з кісткою розроблені матеріали переважають відомий керамічний матеріал (табл. 1). Це дозволить суттєво скоротити строки зрощування з кісткою імплантату в умовах динамічних навантажень.

Висновки

На основі проведених теоретичних досліджень визначено методологічний підхід до розробки біоактивних резорбційних склокерамічних матеріалів для кісткового ендопротезування. У рамках підходу сформульовано актуальність створення матеріалів для кісткового ендопротезування зі скороченими термінами зрощування, мету та задачі дослідження, основну гіпотезу, обрано систему критеріїв одержання резорбційних склокерамічних матеріалів з урахуванням вимог до їх експлуатаційних властивостей та обґрунтовано вибір системи для одержання склокерамічних матеріалів.

За результатами проведених експериментальних досліджень склоутворення і на основі аналізу структурних коефіцієнтів обрано та синтезовано склади стекол. Експериментально визначено механізм структуро- та фазоутворення кальційсилікофосфатних скломатеріалів. Встановлено умови формування апатитоподібного шару на поверхні СКМ *in vitro*. Підтверджена можливість адсорбції протеїнів на поверхні розроблених СКМ для забезпечення міцного шару зчеплення імплантату з кісткою при значних навантаженнях.

Розроблені біоактивні склокерамічні матеріали на основі кальційсилікофосфатних стекол характеризуються оптимальними механічними властивостями та можуть бути використані як імплантати для заміни статично та динамічно навантажених ділянок кістки у щелепно-лицевій хірургії.

Клініко- та мікробіологічні дослідження дозволили встановити нетоксичність, бактерицидність та біосумісність розроблених склокерамічних матеріалів та підтвердили можливість їх використання як імплантатів у кістковому ендопротезуванні зі скороченими строками зрощування.

References

1. *Строганова, Е.Е.* Новые технологии создания и применения биокерамики в восстановительной медицине / Е.Е. Строганова // Стекло и керамика. – 2008. – № 1. – С. 37 – 38.
2. Биоматериалы: анализ современных тенденций развития на основе данных об информационных потоках / М.А. Тихоновский, А.Г. Шепелев, Х.В. Кутнин [и др.] // Вопросы атомной науки и техники. – 2008. – № 1(17). – С. 166 – 172.
3. Сучасні технології біосумісних матеріалів для кісткового ендопротезування / О.В.Саввова, О.В. Бабіч, О.І. Фесенко, Г.К. Воронов: монографія. – Харків: НТУ «ХПІ». – 2017. – 280 с.
4. *Лысенок, Л.Н.* Остеогенез и возможности остеозамещения / Л.Н. Лысенок // Клиническая имплантология и стоматология. – 2000. – № 1-2. – С. 63 – 65.
5. Керамопластика в ортопедии и травматологии: монография / А.А. Корж, Г.Х. Грунтовский, Н.А. Корж, В.Т. Мыхайлив. – Л.: СВИВТ. – 1992. – 112 с.
6. *Саркисов, П.Д.* Направленная кристаллизация стекла – основа получения многофункциональных стеклокристаллических материалов / Саркисов П.Д. – М.: РХТУ им. Д.И. Менделеева. – 1997. – 218 с.
7. *Дубок, В.А.* Современные неорганические биоматериалы для пластики кости – пути и результаты усовершенствования / В.А. Дубок, Г.В. Гайко, А.Т. Бруско [и др.] // Вісник Української медичної стоматологічної академії. – 2007. – Том 7. – Випуск 1-2. – С. 271 – 280.
8. *Загородько, О.В.* Загальна характеристика основних остеозаміщувальних імплантатів для кісткової пластики / О.В. Загородько, Н.Г. Антонюк, А.Ф. Бурбан // Магістеріум. – Випуск 33: Хімічні науки. – 2008. – С. 29 – 35.
9. *Vogel, J.* Phosphate glasses and glass-ceramics for medical application / J. Vogel, P. Wange, P. Hartman // Glastechnischeberichte-glass science and technology. – Frankfurt: Verlag der Deutschen Glastechnichen Gesellschaft. – 1997. – Vol. 70, № 7. – P. 220 – 223.
10. *Белецкий, Б.И.* Кремний в живых организмах и биокомпозиционных материалах нового поколения /

Б.И. Белецкий, Н.В. Свентская // Стекло и керамика. – М.: Ладья. – 2009. – № 3. – С. 26 – 30.
11. Структура та властивості склокристалічних матеріалів: монографія / Л.Л. Брагіна, О.В. Саввова, О.В. Бабіч, Ю.О. Соболь. – Харків: ООО «Компанія СМІТ». – 2016. – 253 с.
12. *Комлев, В.С.* Влияние содержания карбонат-групп в карбонат-гидроксиапатитовой керамике на ее поведение *in vivo* / В.С. Комлев, И.В. Фадеева, А.Н. Гурин [и др.] // Неорганические материалы. – 2009. – № 45 (3). – С. 373 – 378.
13. *Savvova, O.V.* Biocide apatite glass-ceramic materials for bone endoprosthetics / O.V. Savvova // Chemistry & Chemical Technology. – Lviv.: Lviv Polytechnik National Universiny. – 2013. – Vol. 7, № 1. – P. 109 – 112.
14. Стеклокристаллические покрытия по керамике: монография / Г.В. Лисачук, М.И. Рыщенко, Л.А. Белостоцкая [и др]. – Харьков: НТУ «ХПИ». – 2008. – 480 с.
15. *Брагина, Л.Л.* Технология эмали и защитных покрытий / Под ред. Л.Л. Брагиной, А.П. Зубехина // Харьков: НТУ ХПИ; Новочеркасск: ЮРГТУ (НПИ). – 2003. – 484 с.
16. *Каназава, Т.К.* Неорганические фосфатные материалы / Т.К. Каназава. – К.: Наукова думка. – 1998. – 298 с.
17. Glass ceramic materials and coatings / O.V. Savvova, L.L. Bragina, G.N. Shadrina [et al.] // Glass and Ceramics. – 2017. – Vol. 74, № 1. – P. 29 – 33.
18. Pat. US 006054400A, Int.Cl. C03C 3/097; U.S.Cl. 501/63. Bioactive glasses and their use / Maria Brink, Kaj Karlsson, Antti Yli-Urpo (Finlad). – № 08/860,200; Filled Jan. 2, 1996; date of patent Apr. 25, 2000. – P. 15.
19. *Hench, L.L.* The future of bioactive ceramics / L.L. Hench // J. Mater. Sci. Mater. Med. – 2015. – Vol. 26, № 2. – P. 86 – 90.