

Влияние ионно- и электронно-лучевой модификации поверхности на коррозионные свойства и биосовместимость никелида титана в экспериментах *in vivo*

**Л. Л. Мейснер, И. В. Никонова, А. И. Лотков,
В. В. Раздорский, М. В. Котенко**

Представлены результаты исследований *in vivo* закономерностей формирования тонких пленок, мягких и твердых (костных) тканей органической природы на поверхностях имплантатов из никелида титана с поверхностными слоями, модифицированными ионными и электронными пучками, их коррозионной стойкости, анализа накопления продуктов коррозии – металлических ионов в удаленных от имплантата органах животного (сердце, легкие, печень, селезенка, почки) и в тканях, прилежащих к имплантату. Обнаружено, что структура органических тканей, формирующихся на поверхности имплантата, зависит от материала имплантата. Сформированные на поверхностях имплантата из никелида титана ткани – более однородны по структуре, равномернее обволакивают имплантат, чем на поверхностях имплантата из титанового сплава ВТ6. Установлено, что морфология органических тканей зависит от способа поверхностной модификации металлического имплантата. Показано, что модификация поверхности с использованием ионов циркония, молибдена, а также электронно-лучевая обработка весьма эффективно повышает коррозионную стойкость и биосовместимость имплантатов из никелида титана, что проявляется в формировании тонкостенной обволакивающей капсулы, быстром восстановлении капиллярной системы вокруг имплантата, отсутствии (выше контрольных пределов) накопления металлических элементов (например, циркония, никеля) в тканях внутренних органов животных. Полученные результаты позволяют рекомендовать обработки ионными (со специальным выбором сорта иона) и электронными пучками в качестве финишных обработок поверхностей материалов и изделий, предназначенных для изготовления имплантатов для медицины.

Введение

Большинство современных конструкционных материалов для медицины не являются индифферентными для организма человека. Поэтому часто после операций, связанных с протезированием (имплантацией) металлических объектов во внутренние органы, наблюдаются как субъективные симптомы низкой биосовместимости имплантата — металлический привкус и искажение вкусовой чувствительности, жжение, обильное слюноотделение или сухость во рту, покраснение и отеки мягких тканей лица (век, носа, губ, щек), так и объективные симптомы — гальванические токи, приводящие к разнообразным нарушениям —

угнетение секреторной функции слюнных желез, нарушение процессов минерализации и др. [1, 2].

В то же время, в результате коррозии металлические изделия могут потерять ряд своих основных свойств: уменьшаются прочность и пластичность материала, ухудшаются его электрические и оптические свойства, портится поверхность изделия, компоненты сплавов в виде металлических ионов безвозвратно растворяются в жидкостях и тканях организма, накапливаясь в некоторых удаленных органах, в полости рта образуются оксиды металлов, вредно действующие на слизистую оболочку полости рта и организм.

Многообразный научно-практический опыт использования металлических материалов в медицине

указывает материаловедов на два возможных пути повышения биосовместимости этих материалов: первый — поиск и разработка новых сплавов, лишенных отрицательных физико-химических свойств. На сегодняшний день этот путь в большей степени исчерпан. Второй путь — модификация свойств поверхностных слоев с целью повышения их биосовместимости у тех материалов, которые по своим медико-биологическим показателям и физико-химическим свойствам наиболее подходят для изготовления медицинских имплантатов. В настоящее время этот путь приобретает большую популярность из-за своей экономичности и возможности использования обработок уже готовых изделий.

Очевидно, что, несмотря на то, что сами материалы подчас хорошо изучены, новые физико-химические, коррозионные свойства и биосовместимость приповерхностных областей материала, сформировавшихся в результате их модификации, нуждаются в самостоятельных исследованиях.

В настоящее время среди неорганических материалов для медицины хорошо зарекомендовали себя керамические материалы на основе диоксида циркония, обладающие высокой биоинертностью [3]. Электронная структура чистого циркония такова, что он не вступает в активные взаимодействия с элементами органического материала и, легко окисляясь, создает устойчивые окислы. Все это оказывает положительное влияние на биосовместимость данных материалов.

Серебро как природный антибактериальный элемент в небольших добавках может оказывать обеззараживающее, противовоспалительное действие на травмированные ткани, прилежащие к имплантату [4].

Присутствие никеля как токсичного элемента в равной с титаном пропорции в никелиде титана и его сплавах долгое время закрывало путь к медицинскому применению этого замечательного материала, проявляющего упругие свойства сверхэластичности и памяти формы, подобные свойствам живых тканей. Наличие барьерных слоев из комбинации толерантных к живой ткани элементов, таких как цирконий и молибден, ограничивая (вплоть до полного изолирования) выход никеля во внешнюю среду, позволил бы существенно снизить риск токсических реакций на его присутствие в имплантате.

В предыдущих работах авторов [5–7] детально изучены физико-химические и физико-механические свойства тонких поверхностных слоев никелида титана, модифицированного ионными и электронными пучками. Сделан вывод об их положительном влиянии на целый комплекс свойств никелида титана, в том числе — повышение коррозионной стойкости

в экспериментах *in vitro*, сохранение эффектов памяти формы и сверхэластичности, улучшение пластичности поверхностных слоев и, как следствие, изделия в целом. Однако, для обеспечения надежных результатов по изучению биосовместимости новых материалов, необходимо проведение полного комплекса их исследований, начиная с изучения коррозионной стойкости в искусственных и естественных биосредах, экспериментах *in vitro* и *in vivo*.

Цель данной работы — исследование *in vivo* закономерностей формирования тонких пленок, мягких и твердых (костных) тканей органической природы на поверхностях имплантатов из титанового сплава ВТ6 и никелида титана с поверхностными слоями, модифицированными ионными и электронными пучками, их коррозионной стойкости, анализ накопления продуктов коррозии имплантатов в виде металлических ионов в удаленных от имплантата органах подопытных животных (сердце, легкие, печень, селезенка, почки) и в тканях, прилежащих к имплантату.

Материалы, описание эксперимента и методы исследования

Приготовление образцов

Для исследования использованы сплавы составов Ti – 50,5 ат.% Ni, Ti – 44 ат.% Ni – 6 ат.% Zr, выплавленные электродуговым шестикратным переплавом, и сплав ВТ6 (Ti – 6 % Al – 4 % V). Все сплавы были приготовлены из химически чистых компонентов. Образцы в виде плоских пластинок и шайб толщиной около 0,3 мм и линейными размерами до 10 мм — для имплантации в костные и мышечные ткани животных были вырезаны из слитка методом электроэрозионной резки. Для гомогенизации структурного состояния все образцы были отожжены в вакууме не ниже 10^{-3} Па в течение 1 ч при 1073 К, а затем охлаждены вместе с печью. Поверхностный слой убирала механической шлифовкой и, далее, электролитически.

Модификация поверхности

Модификацию поверхности ионными и электронно-лучевыми методами проводили только на образцах сплавов на основе никелида титана. Финишной обработкой поверхности титанового сплава являлась электрохимическая полировка.

Ионная обработка поверхности выполнялась с помощью вакуумно-дугового частотно-импульсного ионного источника “ДИАНА-2”. Ионы Zr, Mo и Ag

Таблица 1

Составы сплавов, способы и параметры поверхностных ионно- и электронно-лучевых обработок образцов для исследований *in vivo*

№ образца	Сплав	Финишная поверхностная обработка
1	Ti – 50,5 ат.% Ni	Обработка низкоэнергетическим сильноточным электронным пучком: $E_s = 6 - 7 \text{ Дж/см}^2$, $N = 10$
2		Шаг 1: обработка низкоэнергетическим сильноточным электронным пучком: $E_s = 6 - 7 \text{ Дж/см}^2$, $N = 10$; Шаг 2: высокодозовая ионная имплантация ионов циркония с дозой облучения $1,4 \cdot 10^{17} \text{ см}^{-2}$
3		Высокодозовая ионная имплантация ионов серебра с дозой облучения $1,4 \cdot 10^{17} \text{ см}^{-2}$
4	Ti – 44 ат.% Ni – 6 ат.% Zr	Высокодозовая ионная имплантация ионов молибдена с дозой облучения $2,05 \cdot 10^{17} \text{ см}^{-2}$
5	Ti–6 % Al–4 % V	Электролитическая полировка

имплантировались при среднем значении ускоряющего напряжения 60 кВ с частотой следования импульсов 50 Гц. Дозы облучения для всех типов ионов составляли $\sim 1,5 \cdot 10^{17} \text{ см}^{-2}$. Перед облучением ионами Mo и Ag поверхности образцов электролитически полировали, тогда как перед облучением ионами Zr — поверхность образцов подвергали электронно-лучевой обработке. Маркировка образцов исследуемых сплавов и параметры их обработок приведены в табл. 1.

Электронно-лучевая обработка поверхности заключалась в многократном (до 50 импульсов) облучении поверхности образцов низкоэнергетическим (до 30 кэВ) сильноточным (до 30 кА) электронным пучком в режимах поверхностного плавления (2 – 3 мкс, 3 – 10 Дж/см²) в условиях высокого вакуума.

Испытания по биосовместимости с костной тканью

Испытания *in vivo* проводили на кроликах в строгом соответствии с правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных (Приказ Минздрава от 12 августа 1977 г. № 755 “О мерах по дальнейшему совершенствованию организационных форм работы с использованием экспериментальных животных”). Для изучения влияния морфологии и физико-химических свойств поверхности имплантата на биосовместимость с костной тканью, образцы №1 – 5 были имплантированы в правый и левый гребни подвздошной кости кролика, как показано на рис. 1, для обеспечения одинаковых условий взаимодействия “имплантат – кость”. В течение 7 месяцев животное находилось в лабораторных условиях под медицинским наблюдением. После этого срока кролик был выведен из эксперимента без применения фармакологических препаратов. Имплантаты с окружающими их тканями

были извлечены для исследований. Сразу после извлечения имплантатов были измерены размеры капсулы вокруг имплантата, изучены морфологические особенности формирования капсулы и прилежащих к ней тканей. Образцы тканей вдоль поперечного сечения капсулы были взяты на гистологический анализ. После этого образцы вместе с тканями помещали в сушильный шкаф и высушивали при температуре 70 – 80°C в течение 4 – 5 дней. В результате такой обработки органические ткани легко отслаивались от металлической поверхности имплантата, а на поверхности имплантата сохранялся промежуточный (переходный) слой между неорганическим и органическим материалом. Приготовленные таким образом биопробы (имплантат + соседствующие ткани) хранили в холодильнике и извлекали только на период проведения исследований методами оптической металлографии. После этих исследований образцы тщательно отмывали в дистиллированной воде и снова анализировали их поверхность на предмет обнаружения следов коррозионного рельефа.

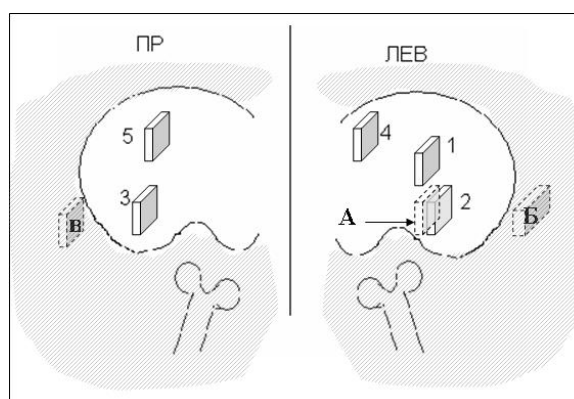


Рис. 1. Схема расположения образцов сплавов титана и никелида титана, имплантированных в крылья подвздошных костей подопытного кролика. Номер на схеме соответствует номеру образца.

Дополнительно к этому, органы кролика и костные ткани, в которые были имплантированы пять металлических пластинок с модифицированными поверхностными слоями, также были подвергнуты анализу на присутствие металлических ионов.

Физические методы исследования

Оптическую металлографию поверхностей имплантатов перед и после испытаний *in vivo*

проводили на оптическом микроскопе высокого разрешения Axiovert 200 MAT (Carl Zeiss, Германия) по следующей схеме — анализ морфологии исходных поверхностей имплантатов, поверхностей сразу после контакта с тканями (не отмытых), поверхностей, тщательно отмытых от остатков тканей после эксперимента *in vivo*. Для всех образцов делали панорамные изображения полной поверхности контакта (создавалась карта поверхности). Анализ коррозионного рельефа на поверхностях имплантатов

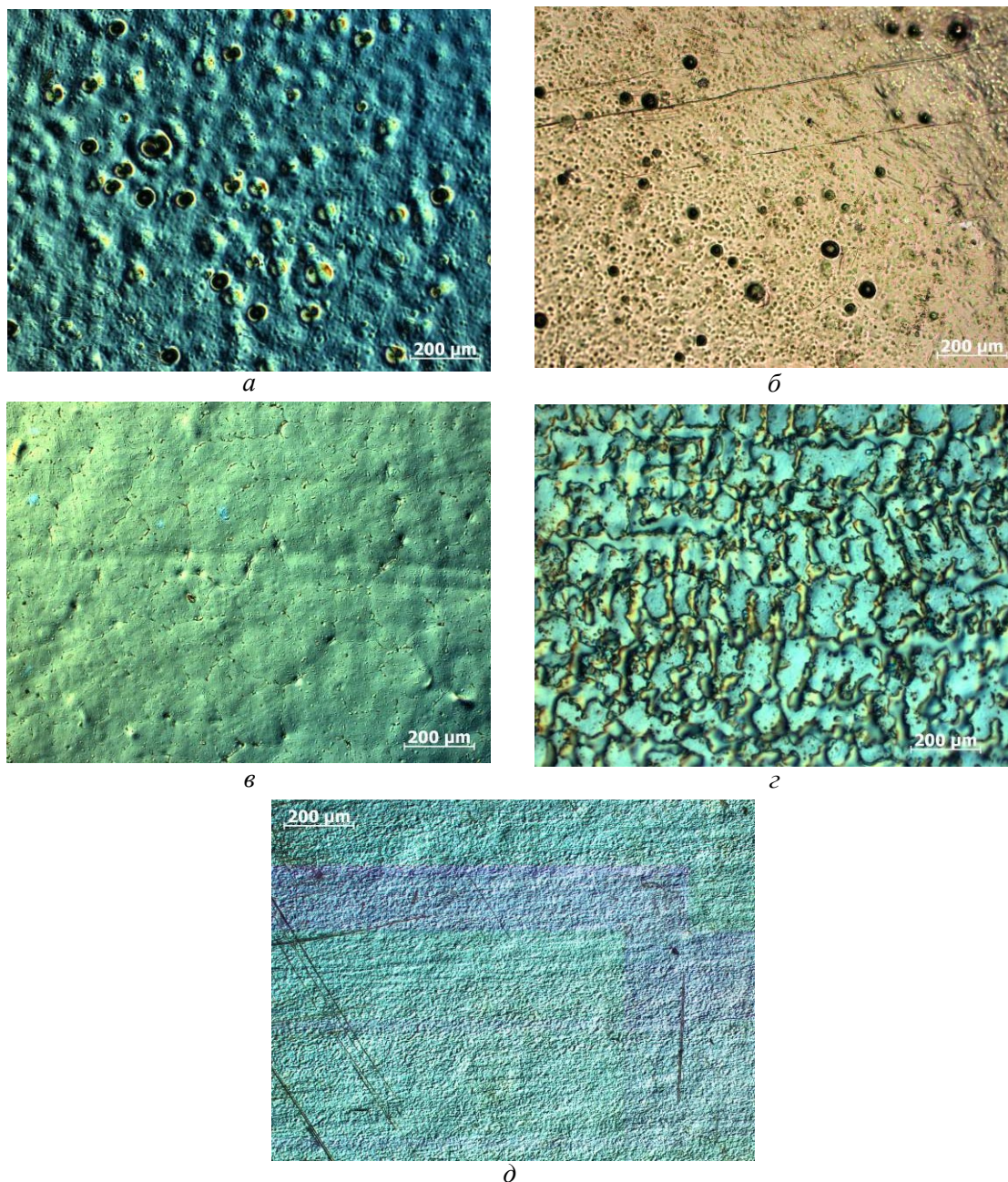


Рис. 2. Оптические изображения исходных поверхностей имплантатов перед началом испытаний *in vivo*: а – д — образцы 1 – 5, соответственно.

изучали с использованием методов фазоконтрастной микроскопии.

Данные оптической металлографии, полученные на имплантатах с различными типами модифицированных поверхностей, сравнивали между собой с целью оценки их коррозионной стойкости и биосовместимости.

Анализ присутствия металлических элементов в тканях и органах подопытных животных проводили с использованием рентгено-флуоресцентного спектрометра Quant'X 600. Количественный элементный анализ в биопробах осуществляли по зависимости интенсивности характеристического излучения от концентрации элемента с использованием калибровочных кривых, определяемых экспериментально. Относительная погрешность количественного анализа не превышает 1 %. Поскольку в данной работе анализ проводили без использования стандартных образцов, в статье приводятся данные в условных единицах, позволяющие выявить присутствие или отсутствие элементов и качественно характеризующие закономерности изменения их концентрации.

Результаты

Оптические изображения поверхностей образцов перед испытаниями на биосовместимость с костными тканями приведены на рис. 2. Как видно, все исходные поверхности имплантатов имеют различную морфологию. Так, на поверхностях образцов № 1 и 2, обработанных электронным пучком, имеются овальные углубления различных диаметров, глубины и плотности расположения на поверхности имплантата. Эти углубления были сформированы по механизмам кратерообразования при быстром затвердевании из жидкофазного состояния тонкого слоя материала имплантата, расплавленного электронным пучком. Минимальный диаметр кратера составлял 1 – 2 мкм, максимальный достигал — 50 – 70 мкм. Следует отметить, что образцы подбирали таким образом, что образец № 1 имел примерно в 2 раза большую плотность кратеров промежуточного размера (30 – 40 мкм) на поверхности по сравнению с образцом № 2.

Образец № 4 также имел развитую поверхность, сравнимую по степени шероховатости с образцами

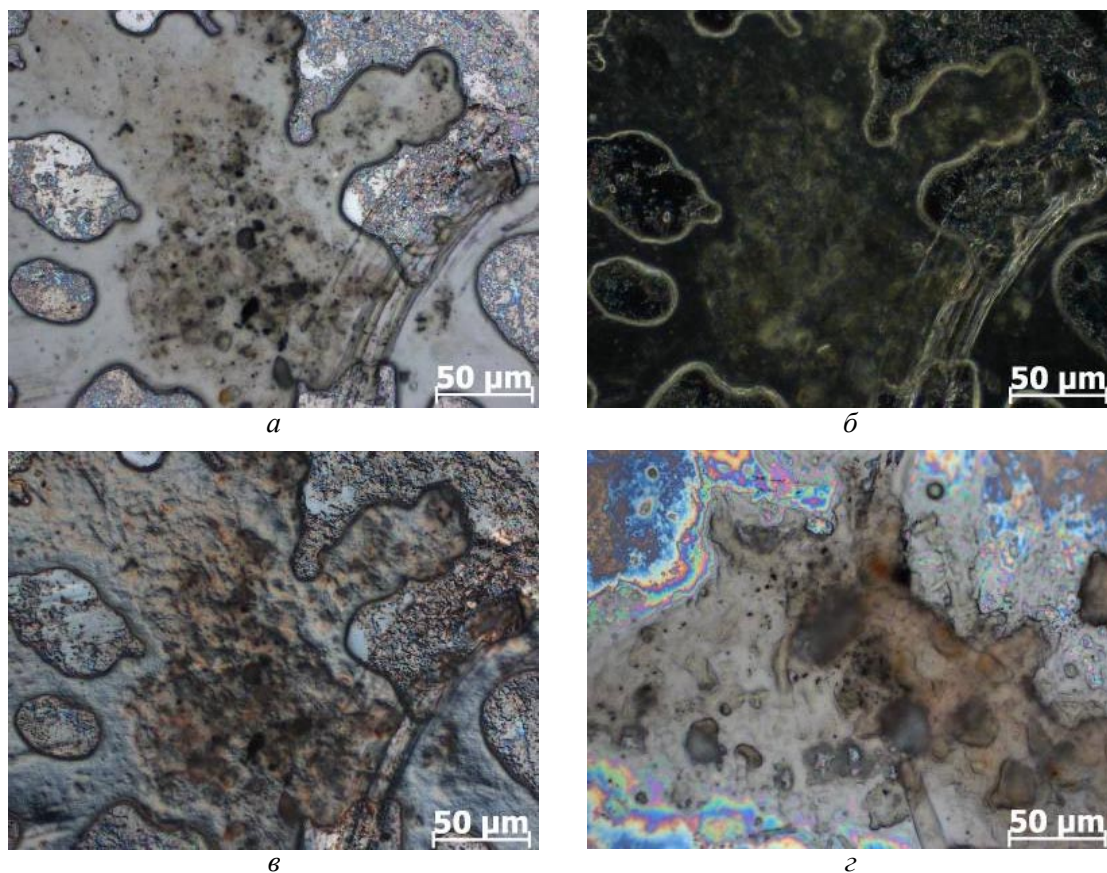


Рис. 3. Поверхность образца №1 с расположенным на нем переходным слоем на границе раздела "имплантат – биоткань": а — светлое поле, б — темное поле, в — ДИК, г — другая сторона образца, светлое поле.

№ 1 и 2. Однако эта шероховатость обеспечивалась структурным состоянием сплава Ti – 44 ат.% Ni – 6 ат.% Zr с высокотемпературным эффектом памяти формы — при комнатной температуре этот сплав находился в мартенситном состоянии со структурой мартенсита B19' [7].

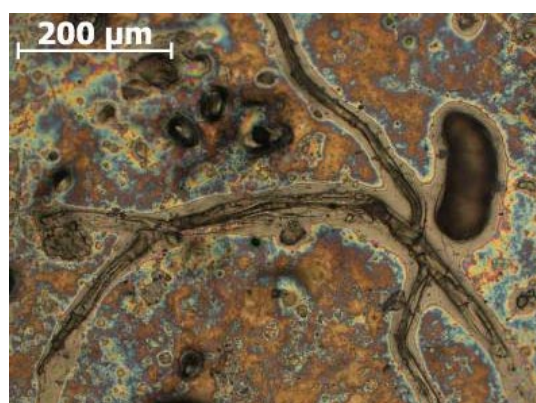
Образцы № 3 и 5 имели практически гладкие поверхности.

Все имплантаты отличались по химическому составу в поверхностных слоях. При этом образец № 1 имел на поверхности эквивалентную композицию Ti + 50,5 Ni, а в поверхностных слоях остальных образцов, кроме основных компонентов сплавов (см. п. Материалы и методики эксперимента), присутствовали ионы внедрения после ионно-лучевой обработки (табл. 1). Кроме изменения химического состава в поверхностном слое ионная модификация поверхности сплавов приводила к сглаживанию шероховатостей исходных поверхностей и заживлению микротрещин на ней вследствие распыления материала образца под ионным пучком.

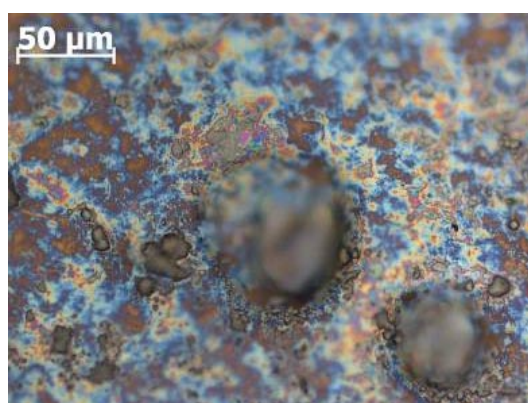
На рис. 3 изображены поверхности образца № 1 с расположенным на нем переходным слоем на границе раздела “имплантат – биоткань”. Использование фазового контраста в оптической микроскопии высокого разрешения позволило достоверно идентифицировать ткани, составляющие этот слой. Из сравнения светопольного, фазоконтрастного (полученного методом оптического дифференциально-интерференционного контраста, ДИК) и темнопольного изображений одной и той же характерной области поверхности образца видно, что переходный слой состоит из двух типов тонкопленочных покрытий разной толщины, обволакивающих полностью поверхность имплантата. При этом значительная площадь образца покрыта пленкой большей толщи-

ны, имеющей серо-черную окраску и форму “кляксы” на рис. 3а – в и 3г (другая сторона образца). Толщина такой пленки, которую удастся измерить при помощи фокусировки на разных уровнях поверхности материала на ДИК-изображениях, может достигать от 1 до 2 мкм. Другой тип тонких пленок на поверхности имплантата дает радужный контраст, имеет значительно меньшую толщину, чем первый тип пленок и занимает около 1/3 всей площади образца. Следует отметить, что кратерообразные углубления, описанные выше для исходных образцов, в основном заполнены первым типом пленок. Судя по виду, первый тип пленок состоит из коллагеновых тканей, тогда как второй тип пленок больше подходит под описание протеиновых тонких пленок [8]. Поскольку гистологический анализ тканей, сформированных в течение эксперимента вокруг имплантатов, еще не завершен, то первый тип пленок в работе назван коллагено-подобным, а второй — протеино-подобным.

Структура и морфология переходного слоя, сформированного на поверхности имплантата № 2, который был вначале обработан электронным, а затем ионным (ионы Zr) пучком, существенно отличается от описанного выше. Несмотря на то, что так же, как и в первом случае, на поверхности этого имплантата обнаружены два типа органических пленок, наблюдается существенная неоднородность в их расположении. Как видно из рис. 4, коллагено-подобные пленки распределены на поверхности либо в виде отдельных образований округлого типа со средними размерами от 3 до 20 мкм, либо в виде протяженных волокон с поперечным размером ~20 мкм и примерно одинаковым соотношением площадей на поверхности имплантата. Как и в первом случае, именно этим типом пленок заполнены все кратерообразные углубления на поверхности имплантата (рис. 4б).



а



б

Рис. 4. Структура и морфология переходного слоя, сформированного на поверхности имплантата №2 (а), кратерообразные углубления на его поверхности (б).

Весьма любопытные результаты получены при анализе поверхности имплантата, модифицированного ионными пучками с применением ионов Ag (образец № 3, табл. 1). Прежде всего, обращает внимание факт, что в отличие от всех остальных имплантатов, поверхность этого имплантата сразу после извлечения из капсулы выглядела практически не изменившейся с характерным металлическим блеском, без видимых следов органических пленок. Более детальные исследования на предмет наличия таких пленок и особенностей их морфологии позволили обнаружить их присутствие. Было установлено также, что это тонкие, в основном, коллагеноподобные пленки, которые занимают на поверхности небольшие площади и неоднородно распределены на ней в основном в виде протяженных волокон (рис. 5в, г) с неоднородным распределением ткани внутри волокон (рис. 5а, б).

Следует отметить, что выявить и проанализировать тонкую структуру промежуточного тонкопленочного покрытия, которое сохраняется на поверхности имплантата, удастся только с привле-

чением метода фазоконтрастной микроскопии в отраженном свете. Основной принцип формирования изображения в этом методе основан на появлении контраста, усиленного интерференцией когерентных оптических лучей с разностью фаз, возникающей в результате прохождения ими оптически прозрачных пленок различной толщины. Представляется, что этот метод является весьма перспективным для проведения исследований, в которых желательно не использовать разрушающие методы анализа, а сохранять на поверхности образовавшееся тонкое органическое покрытие, которое, как известно, не дает отражения оптических лучей.

На поверхности образца № 4 с характерным мартенситным рельефом, который был сглажен финишной ионной обработкой с использованием ионов Mo, наблюдалось неравномерное распределение плотных коллагеноподобных тканей, расположенных на поверхности имплантата редко и случайным образом (рис. 6а). Кроме этого, также наблюдаются тонкие пленки протеиноподобного типа, которые удастся хорошо выявить с помощью

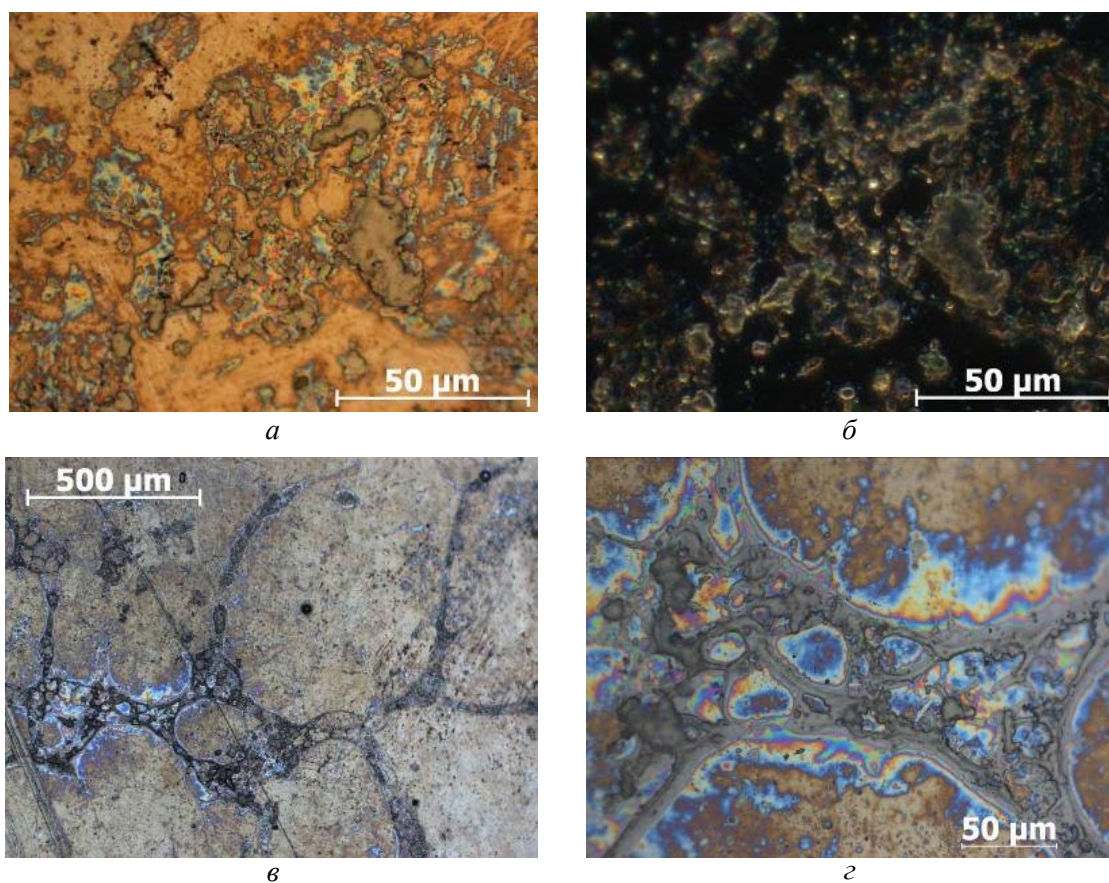


Рис. 5. Структура и морфология переходного слоя, сформированного на поверхности имплантата №3: а — светлое поле, б — темное поле, в, г — протяженные волокна коллагеноподобной пленки.

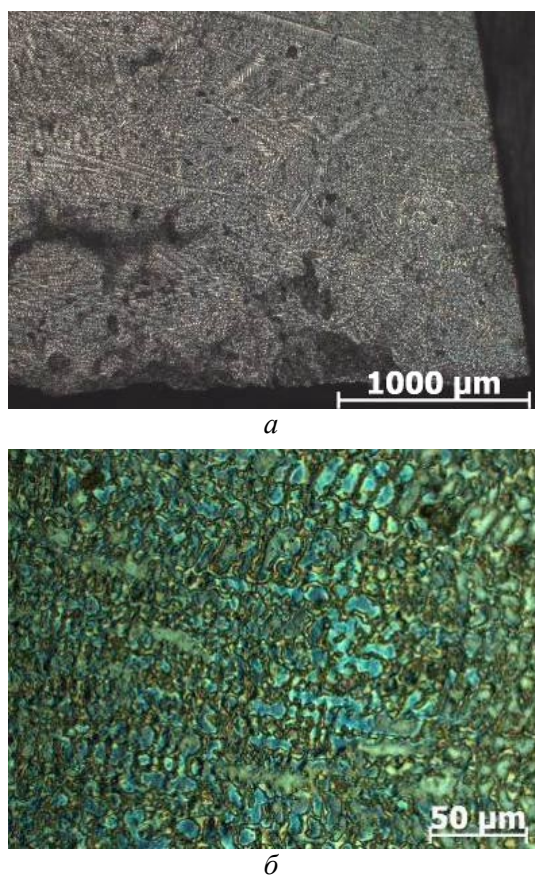


Рис. 6. Структура и морфология переходного слоя, сформированного на поверхности имплантата №4: *а* — светлое поле, *б* — ДИК.

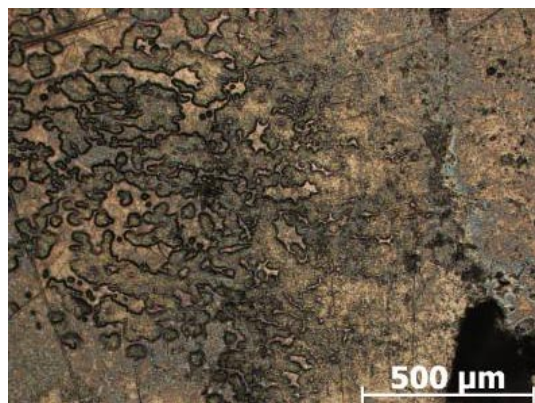


Рис. 7. Структура и морфология переходного слоя, сформированного на поверхности имплантата №5.

темнопольных и ДИК-изображений (ДИК — дифференциально-интерференционный контраст в методе фазоконтрастной микроскопии) (рис. 6б). Последний тип пленок обволакивает поверхность образца как сплошное покрытие.

В отличие от всех предыдущих образцов из никелида титана, на образце № 5, изготовленном из

титанового сплава, наблюдался в основном протеино-подобный тип тонких пленок, неравномерно расположенных на поверхности образца и, как показал металлографический анализ, не покрывающих эту поверхность полностью (рис. 7).

Сравнение поверхностей имплантатов, отмытых от органических пленок, показало, что для всех образцов из сплавов на основе никелида титана с различными типами модифицированных поверхностей наиболее характерной является питтинговая коррозия. Как видно из рис. 8, питтинговая коррозия в виде ямок травления более всего наблюдается на образцах, облученных электронными пучками (рис. 8а, б). В образцах с финишной обработкой ионными пучками наиболее коррозионно стойкими по виду поверхности оказались образцы, модифицированные Ag (рис. 8в) и Mo (рис. 8г). Следует отметить, что, несмотря на морфологически развитую, сложную поверхность образца Ti – Ni – Zr, находившегося в мартенситном состоянии, на его поверхности также наблюдали только редкие следы питтинговой коррозии, тогда как на границах мартенситных доменов коррозионных процессов не выявляется. Наименее коррозионно-стойким в этой группе образцов оказался образец титанового сплава. Как показали исследования, коррозия по поверхности имплантата из этого материала наблюдается в виде эрозионных очагов, расположенных на его поверхности отдельными пятнами (рис. 8д). Внутри отдельного коррозионного пятна явно просматриваются питтинговые очаги с высокой плотностью ямок травления, которые, сливаясь, формируют более глубокий коррозионный рельеф. Как следует из картин ОМ, коррозионный процесс, вероятно, распространяется не только вширь, по поверхности образца, но и вглубь, создавая глубокие впадины, которых, как видно из рис. 2, не наблюдалось в исходном материале.

Относительное содержание основных элементов в образцах мягких тканей, прилежащих к гребню подвздошной кости подопытного кролика с имплантатами из никелида титана с поверхностными слоями, модифицированными ионными (Zr, Mo) пучками (мягкие ткани слева), и гребню подвздошной кости с одним из имплантатов из титанового сплава (мягкие ткани справа), приведены в табл. 2. В этой же таблице (средний столбец) приведены данные по составу и относительной концентрации химических элементов, содержавшихся в костной ткани, непосредственно прилегающей к имплантату из никелида титана с ионно-модифицированным слоем с использованием ионов Zr. Как следует из представленных данных, в костной ткани в области непосредственного

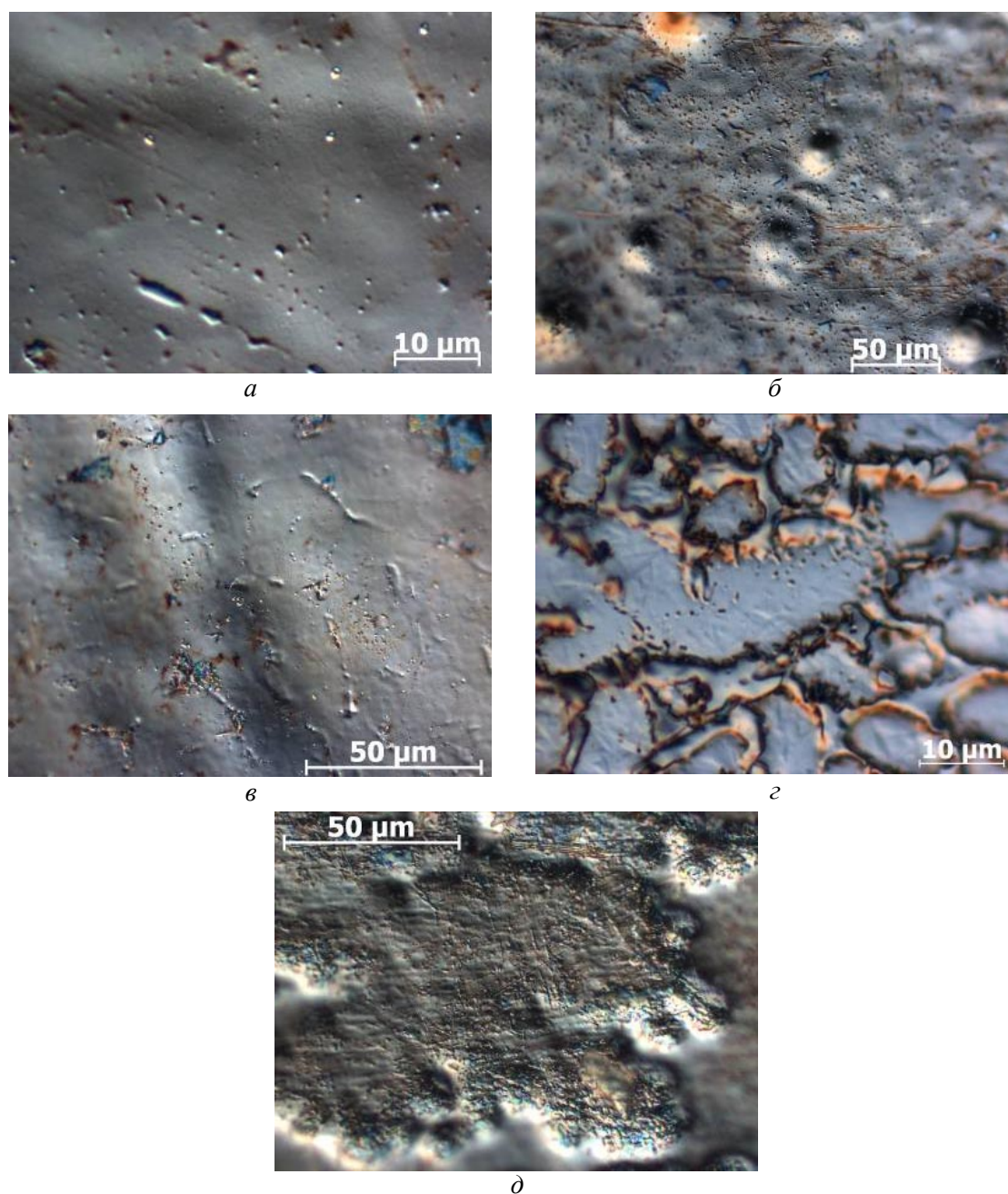


Рис. 8. Оптические изображения (ДИК) поверхностей имплантатов после испытаний *in vivo*, отмытых от органических пленок: а – д – образцы 1 – 5, соответственно.

контакта с имплантатом содержится существенно более высокое количество металлических элементов, являющихся продуктами коррозии имплантата: Ni — почти в 50 раз, Ti — почти в 200 раз, Zr — более чем в 40 раз, чем в прилежащих тканях. Однако, в мягких тканях, окружавших кость с тремя имплантатами из никелида титана (рис. 1), продуктов коррозии (основных компонентов материалов имплантатов Ti и Ni) накопилось значительно меньше,

чем в тканях, окружавших два имплантата, одним из которых был титановый сплав: Ni — почти в 2 раза меньше, Ti — почти в 10 раз меньше. Следует отметить, что Zr был обнаружен только в прилежащих к имплантату тканях (капсуле), а в более удаленных тканях — не обнаружен вообще.

Наконец, содержание Ti, Ni и Zr в органах подопытного кролика, в котором в течение 7 месяцев находились 5 имплантатов из никелида титана и

Таблица 2

Содержание основных элементов в образцах мягких тканей, прилежащих к крылу подвздошной кости с имплантатами из никелида титана с поверхностными слоями, модифицированными ионными (Zr, Mo) пучками (мягкие ткани слева) и крылу подвздошной кости с одним из имплантатов из титанового сплава (мягкие ткани справа)

Элемент	Концентрация, усл. ед.		
	мягкие ткани слева	кость, сторона контакта с имплантатом	мягкие ткани справа
P	17,51	66,65	32,56
S	30,89	51,03	60,02
Zn	19,42	49,809	46,97
Cu	0,81	0	0,53
Ni	2,40	100,56	4,46
Fe	20,63	21,81	10,15
Cr	0,27	20,75	0,11
Ti	0,11	18,63	1,03
Zr	0	49,30	0
Ca	209,59	1578,94	247,94
K	684,88	565,63	795,20

титанового сплава, показало, что основное количество этих элементов обнаруживается только в прилежащих к имплантату тканях (области А, Б, В на рис. 1 и столбцы 6 – 8 на рис. 9). Важно отметить, что концентрация этих элементов в тканях уменьшается по мере их удаления от имплантата так, что в тканях, прилежащих к кости с имплантатами (области Б и В на рис. 1), эти элементы обнаруживаются лишь в предельно малых концентрациях (рис. 9). Вторым органом, в котором выявлено заметное количество продуктов коррозии материала имплантата, является сердце, хотя относительное содержание их здесь от 3, 4 и более чем в 40 раз меньше для Ti, Ni и Zr (соответственно), чем внутри капсулы.

Значительное различие морфологии тканей, сформированных вокруг исследуемых имплантатов, выявляется на уровне визуального осмотра макропрепаратов. Образцы № 4 и № 2 окружает здоровая минерализованная кость. В области образца № 1 наблюдается грубая фиброзно-хрящевая капсула. Образцы № 3, № 5 окружает рубцово-хрящевая оболочка (рис. 10).

Самая неблагоприятная реакция тканей выявлена в области имплантата № 3 (поверхность модифицирована ионами серебра): наблюдается жировая перестройка красного костного мозга с включениями в виде частиц чёрного цвета, а также крайне скудное количество клеточных элементов и сосудов.

Гистологическая картина тканей в области образцов № 1 и № 5 практически одинакова. Сформировавшиеся вокруг имплантатов капсулы имеют характер рубцов с хрящевыми структурами. Приле-

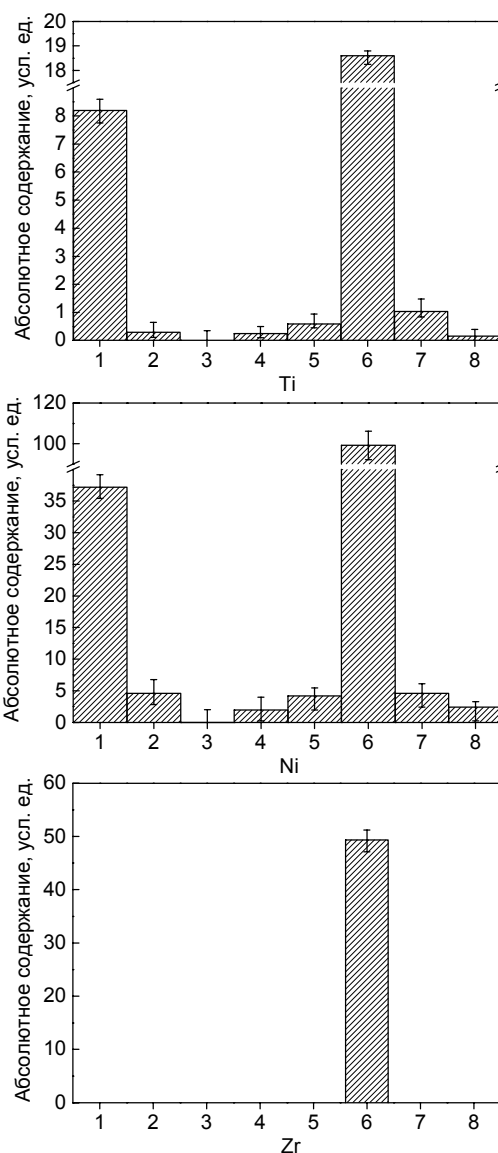


Рис. 9. Распределение Ti, Ni и Zr в органах подопытного кролика с 5 имплантированными пластинками из титановых сплавов после 7-месячных испытаний на биосовместимость. Цифрами на диаграмме обозначены: 1 – сердце, 2 – легкие, 3 – селезенка, 4 – почки, 5 – печень, 6 – область А, 7 – область В, 8 – область Б.

жащие кости имеют хаотичную трабекулярную сеть, неравномерную минерализацию, включают хрящевые клетки. На препаратах костной ткани (образец № 1) определяется тонкая рубцовая капсула, к которой прилежит сформированная по типу кортикальной зрелая кость.

Наиболее благоприятная картина наблюдается в области расположения имплантата № 4 (поверхность модифицирована ионами молибдена): вокруг него сформирована очень тонкая фиброзная капсула,

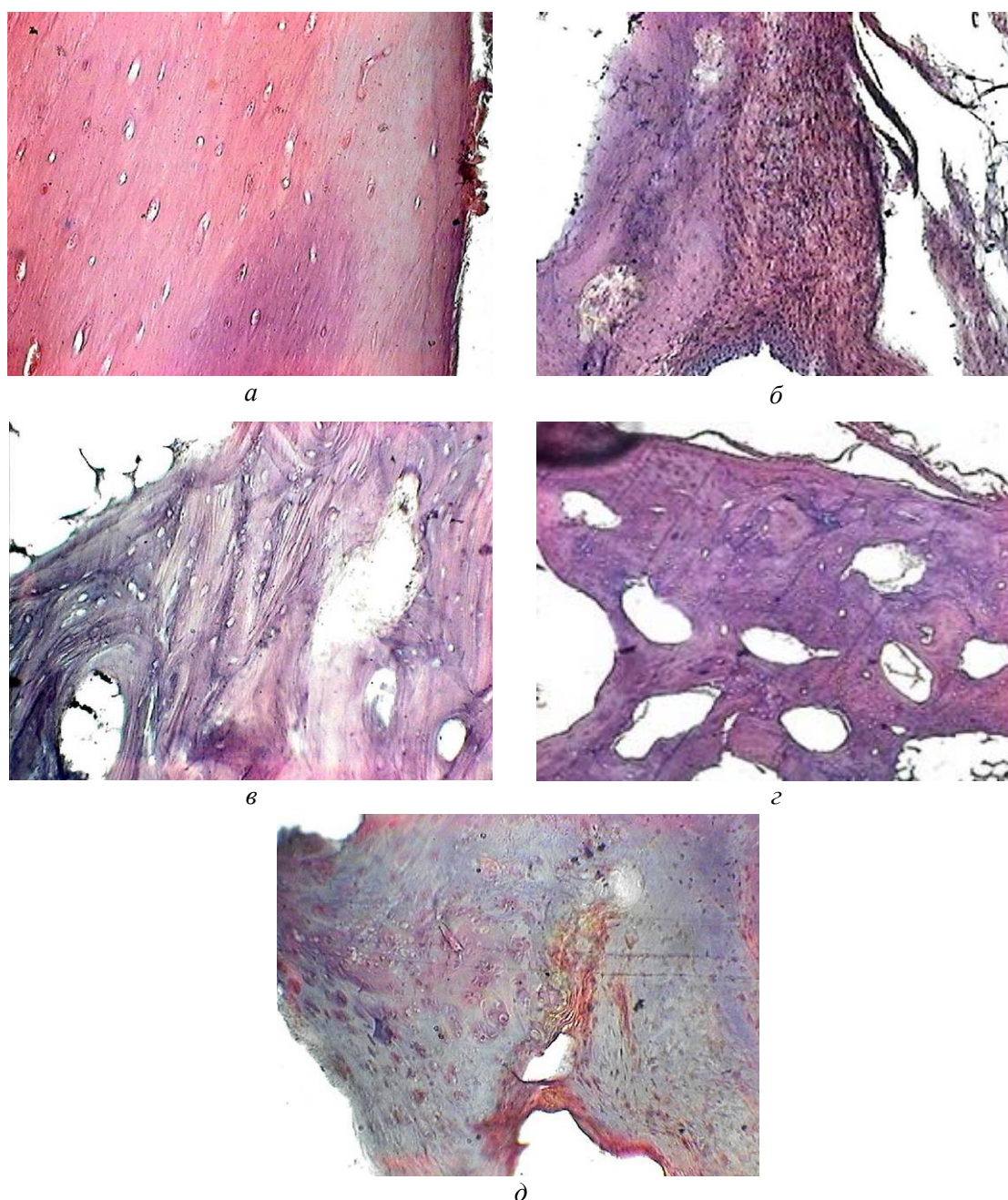


Рис. 10. Гистологическая картина тканей, прилежащих к имплантатам: а – д – образцы 1 – 5, соответственно.

прилежащая к нему кость имеет нормальную структуру.

Образец № 2 (поверхность модифицирована ионами циркония) окружен тонкой фиброзной капсулой, кортикальная кость характеризуется повышенной минерализацией со скудным количеством клеточных элементов. Губчатая кость имеет крупноячеистую структуру, в ряде ячеек миелоидная ткань замещена жировой с включениями волокнистых образований (рис. 10б).

Обсуждение результатов

Выше упоминалось, что вокруг всех имплантатов были сформированы различные по морфологии и по размерам капсулы, ткани которых были переданы для гистологических исследований. Размеры и вид этих капсул также могут характеризовать биосовместимые свойства имплантата. Так, например, вокруг пластинки из титанового сплава наблюдалась толстая грубоволокнистая капсула и сформированная

около нее рыхлая губчатая кость с крупными ячейками. В капсуле и прилежащей кости наблюдалось множество макрофагальных и лимфоцитарных клеток, что свидетельствует о реактивном состоянии живой ткани и местном воспалительном процессе в ней.

В остальных случаях, когда финишной обработкой имплантата была ионная, электронно-лучевая или комбинированная из этих двух обработка, то вокруг имплантатов были сформированы тонкостенные капсулы с окружающими тканями без явных признаков отека, воспаления, инфильтрации.

Сопоставление всех полученных в работе, но далеко не полностью собранных, данных позволяет сделать уверенное заключение, что физико-химические свойства поверхностных слоев и морфология поверхности имплантата оказывают существенное влияние на реактивное состояние тканей, прилегающих к нему. На поверхности имплантата, очищенной и стерилизованной только электронно-пучковыми воздействиями, формируется однородная пленка, играющая роль промежуточного слоя между биологическими структурами живого организма и неорганическим материалом, подобно протеиновой пленке, покрывающей чужеродное тело при попадании его в кровь. Морфология этой пленки, характер ее распределения по поверхности и степень сплошности на образцах, подвергавшихся ионной обработке с применением ионов разного сорта, позволяет высказать предпочтения для выбора ионов облучения. Наиболее предпочтительным представляется облучение ионами Мо или Zr. При обработках этими ионами также формируются сравнительно однородные тонкие пленки, хотя на поверхности имплантата № 2 уже наблюдаются и грубые коллагено-подобные ткани в виде отдельных протяженных волокон, что является показателем реактивного состояния тканей вокруг имплантата. Несмотря на то, что при облучении ионами Ag на поверхности имплантата не наблюдалось сколь угодно значительного количества коллагено-подобных волокон, одновременно отсутствие и сплошной тонкой протеино-подобной пленки на его поверхности настораживает. Учитывая, что Ag является сильным антисептиком, следует с осторожностью использовать обработку с использованием этих ионов, строго контролируя дозу облучения.

Из анализа биопроб основных внутренних органов подопытного животного — сердца, легких, печени, почек, селезенки, а также прилегающих к имплантатам мягких и костных тканей следует, что за достаточно продолжительный срок нахождения имплантатов в теле подопытного животного (7 месяцев) не произошло накопления металлических

ионов основных компонентов сплавов — Ti, Ni или Zr ни в одном органе жизнеобеспечения. Поскольку практически во всех случаях имела место питтинговая коррозия, то основными продуктами коррозии являлись ионы металлов Ti, Ni, Zr, которые оказались задержанными тканями капсул. Иначе, капсула явилась естественным фильтром, не пропускающим выход чужеродных элементов за свои пределы, а реактивное состояние тканей в ней несет информацию о степени биосовместимости породившего ее имплантата. Таким образом, наименее благоприятные результаты показал имплантат из титанового сплава с финишной обработкой поверхности без применения ионных или электронных пучков. Среди имплантатов из никелида титана с модифицированными поверхностями благоприятные и близкие по тканевой реакции результаты получаются после обработок электронными пучками и обработками ионными пучками (ионы Мо и Zr). Следует отметить, что анализ структуры тонких пленок, сформированных на поверхности имплантатов после их отделения от тканей капсулы, также является носителем информации о возможной реакции биотканей на чужеродное тело и при достаточной базе данных может служить методом оценки биосовместимости материала или изделия.

На основе визуального осмотра макропрепаратов из костных образцов с прилежащими имплантатами и гистологического анализа костей и близлежащих тканей можно сделать вывод, что наиболее благоприятной обработкой поверхностей имплантатов является модификация ионами Мо, поскольку в этом случае не выявлено патологической перестройки костной ткани: вокруг образца формируется очень тонкая фиброзная капсула, а прилегающая к нему кость имеет нормальную структуру минерализованной упорядоченной губчатой кости.

Выводы

Таким образом, в работе показано, что физико-химические свойства поверхностных слоев и морфология поверхности имплантатов из сплавов титана оказывают существенное влияние на состояние прилегающих к нему тканей. Поверхность имплантата, подвергавшегося высокой очистке электронными пучками и, одновременно, стерилизации, способствует формированию промежуточного слоя мембранного типа между биологическими структурами и неорганическим материалом в виде сплошной однородной пленки. Близкие результаты наблюдаются при обработках имплантатов ионами Мо и Zr, на поверхности которых также формируются

сравнительно однородные тонкие пленки, хотя наблюдаются и грубые коллагено-подобные ткани в виде отдельных протяженных волокон, что является показателем реактивного состояния тканей вокруг имплантатов.

Установлено, что за достаточно продолжительный срок нахождения имплантатов в теле (7 месяцев) ни в одном органе подопытного животного не произошло накопления металлических ионов основных компонентов сплавов — Ti, Ni или Zr. Большая концентрация этих элементов обнаружена в тканях капсул, которые играют роль естественных фильтров, не пропускающих выход чужеродных элементов за свои пределы.

Оказалось, что наиболее спокойная реакция организма на установленный имплантат с формированием тонкостенной капсулы наблюдается в результате обработок поверхности имплантатов электронными пучками и ионными пучками с Mo и Zr.

В результате гистологического анализа показано, что наиболее благоприятной обработкой поверхностей имплантатов является модификация ионами Mo, поскольку при такой обработке вокруг имплантата формируется очень тонкая фиброзная капсула, а прилежащая к нему кость имеет структуру, характерную для здоровой костной ткани.

Работа выполнена в рамках заданий проекта РАН № 3.6.2.1 (номер гос. регистрации 01.2.007 04646), проектов СО РАН № 2.3 и 91, проекта РФФИ 06-02-08003_офи.

Авторы выражают глубокую благодарность профессору В.А. Копысовой за помощь и активное содействие в проведении экспериментов in vivo.

Литература

1. Протасова Н.В., Лясников А.В., Дударева О.А., Бутовский К.Г., Лясников В.Н. Сравнительная оценка биологических, физико-химических и биомеханических свойств металлических материалов внутрикостных имплантатов и покрытий на них. Клиническая имплантология и стоматология. 2001, №3–4 (17–18), с. 107–109.
2. Подстата Й., Симунек А., Странд Й., Странд Ц., Новак Й. Биоактивный титановый имплантат – STI-Bio. Клиническая имплантология и стоматология. 2001, №3 – 4 (17 – 18), с. 103 – 106.
3. Ikarashi Y., Tsuchiya T., Nakamura A., Toyoda K., Takahashi M., Doi H. et al. Tissue reactions and sensitization of chromium, titanium and zirconium alloys. Fifth World Biomaterial Congress. May 29-June 2, 1996, Toronto, Canada. 1996, p.10.
4. Wataha J.C. Biocompatibility of dental casting alloys: A review. The journal of prosthetic dentistry. 2000, v. 83, no. 2, p. 223 – 234.
5. Мейснер Л.Л., Лотков А.И., Сивоха В.П., Турова А.И., Бармина Е.Г. Влияние модификации поверхности и ее структурно-фазового состояния на коррозионные свойства сплавов на основе TiNi. Физика и химия обработки материалов. 2003, №1, с. 78 – 84.
6. Meisner L.L., Lotkov A.I., Psachje S.G., Barmina E.G., Rotshtein V.P., Karlik K.V., Markov A.B. Effect of the Pulsed Electromagnetic Beam Melting on a Chemical Composition and Surface Layer Microstructure of the TiNi Alloy. Proc. 7th Int. Conf. on Modification of Materials with Particle Beams and Plasma Flows, Tomsk, Russia, 25 – 30 July 2004. 2004, p. 285 – 288.
7. Мейснер Л.Л. Механические и физико-химические свойства сплавов на основе никелида титана с тонкими поверхностными слоями, модифицированными потоками заряженных частиц. Физ. мезомех. 2004, т.7, Спец. вып. ч.2, с. 169 – 172.
8. Ryhanen J., E. Niemi, Serlo, Niemela E., Sandvik P., Pernu H., Salo T. Biocompatibility of nickel titanium shape memory metal and its corrosion behavior in human cell cultures. J. of Biomaterials and Medical Research. 1997, v. 6, p. 451 – 457.

Мейснер Людмила Леонидовна — Институт физики прочности и материаловедения СО РАН (г.Томск), доктор физико-математических наук, ведущий научный сотрудник. Специалист в области материаловедения сплавов с памятью формы, модификации поверхности.

Никонова Ирина Викторовна — Институт физики прочности и материаловедения СО РАН (г.Томск), ведущий технолог. Специалист в области оптической микроскопии.

Лотков Александр Иванович — Институт физики прочности и материаловедения СО РАН (г.Томск), доктор физико-математических наук, заместитель директора по научной работе. Специалист в области материаловедения сплавов с памятью формы.

Раздорский Владимир Викторович — Всероссийский научно-практический центр имплантатов с памятью формы (г. Новокузнецк), кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник. Специалист в области дентальных имплантатов, проведения экспериментов in vivo.

Котенко Мария Викторовна — Всероссийский научно-практический центр имплантатов с памятью формы (г. Новокузнецк), ассистент. Специалист в области проведения экспериментов in vivo.