

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ ПРОБЛЕМ МАТЕРІАЛОЗНАВСТВА
ім. І.М. ФРАНЦЕВИЧА

*Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису*

УЛЬЯНЧИЧ НАТАЛІЯ ВОЛОДИМИРІВНА

УДК 666.3.12; 661.842; 616-74; 606.61

ДИСЕРТАЦІЯ
ФОРМУВАННЯ ВЛАСТИВОСТЕЙ КАЛЬЦІЙ-ФОСФАТНОЇ КЕРАМІКИ ДЛЯ
РЕГЕНЕРАТИВНОЇ МЕДИЦИНИ

Спеціальність: 05.02.01 – Матеріалознавство

Подається на здобуття наукового ступеня кандидата технічних наук

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

_____ (Ульянчич Н.В.)

Наукові керівники: академік НАН України, професор, д.ф.-м. н.
Фірстов Сергій Олексійович

д.т.н., професор Уварова Ірина Володимирівна

Київ – 2021

АНОТАЦІЯ

Ульянчик Н.В. Формування властивостей кальцій-фосфатної кераміки для регенеративної медицини. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата технічних наук за спеціальністю 05.02.01 "Матеріалознавство". - Інститут проблем матеріалознавства ім.І.М.Францевича НАН України, Київ, 2021.

Дисертація присвячена рішення актуальної науково-технічної задачі в області біматеріалознавства, яка полягає у виявленні впливу технологічних параметрів обробки синтезованого осаду нестехіометричного гідроксиапатиту (ГАП) розчинами органічних кислот та легування його кремнієм на фізико-хімічні та біологічні властивості отриманої кальційфосфатної кераміки (КФК); створення наноструктурованої композитної кераміки, що містить компоненти різні за розчинністю; створення біосумісної антибактеріальної поверхні з ГАП зі сріблом на титанових імплантатах для розробки матеріалів, що використовуватимуться в регенеративній медицині з метою пластики великих кісткових дефектів, що надалі дозволить науково-обґрунтовано створювати нові композиційні матеріали зі заздалегідь заданими фізико-хімічними та біологічними характеристиками і структурою. Застосування розроблених матеріалів дозволить їх використовувати в новому напрямку медицини-регенеративній медицині, а саме інженерії кісткової тканини, де важливі такі критерії відбору матеріалів, як геометрія структури, нанорозмірність та здатність матеріалу до активної взаємодії на клітинному рівні з фізіологічним середовищем.

У вступі наводиться обґрунтування актуальності обраної теми дисертаційної роботи, сформульовано мету й основні завдання дослідження, об'єкт, предмет дослідження, зазначена наукова новизна та визначена практична цінність отриманих результатів, показано особистий внесок автора та відомості про апробацію результатів дослідження, зазначена кількість публікацій, в яких відображено результати роботи.

У першому розділі проведено аналіз сучасного стану і шляхів розвитку матеріалознавства в області біоактивних біоматеріалів з фосфатів кальцію, їх властивостей і можливості використання в сучасному напрямку медицини – регенеративній медицині. Приведені дані по основним властивостям мінерального компоненту кісткової тканини, умовам його кристалізації та дослідженню його структури, методам синтезу його аналогів, (фосфатів кальцію), впливу параметрів синтезу на властивості кінцевого матеріалу. Визначені існуючі проблеми методу інженерії кісткової тканини. Показано перспективність використання саме КФК в інноваційних біомедичних тканино-інженерних імплантатах на основі клітин людини та синтетичних керамічних імплантатів. Розглянуто та узагальнено основні вимоги до матеріалів, які можуть бути носіями (scaffold) для клітин і визначено, якими властивостями має володіти КФК для задоволення цих вимог. Розглянуті перспективні методи отримання КФК з остеоіндуктивними властивостями створенням поліфазної кераміки, композитної та легованої остеотропними елементами. Розглянуті питання іонних заміщень в структурі гідроксиапатиту, їх впливу на властивості, зокрема увага приділена легуванню КФК кремнієм та сріблом.

У **другому розділі** викладено методики досліджень, подано характеристики вихідних матеріалів, описано технологічні процеси обробки осаду нестехіометричного гідроксиапатиту органічними кислотами, введення кремнію і срібла, отримання β -ТКФ, що складався з частинок голчатого типу та отримання антибактеріальних покриттів на титанові імплантати двох типів.

У **третьому розділі** визначено особливості впливу змін рН осаду нестехіометричного гідроксиапатиту від 7 до 4 з застосуванням розчинів аскорбінової кислоти та лимонної кислоти на фазові перетворення, параметри ґратки, розчинність та сорбційні властивості після термообробки нестехіометричного ГАП в інтервалі 800 °С-1300 °С. Виявлено суттєві відмінності впливу аскорбінової і лимонної кислот на властивості отриманих матеріалів, відпалених у вказаному інтервалі температур. Вперше показано, що обробка нестехіометричного осаду аскорбіновою кислотою, незалежно від рН

обробленого осаду, сприяє утворенню фази α -ТКФ в температурному інтервалі 800 -1100 °С, а β -ТКФ, в інтервалі 1100 -1300 °С, що забезпечило можливість вперше отримати трифазну КФК (α -ТКФ, β -ТКФ, ГАП) в температурному інтервалі 800 °С – 1300 °С. Обробка осаду лимонною кислотою, на відміну від аскорбінової кислоти, не сприяє утворенню α -ТКФ в модифікованій КФК в інтервалі температур 800 °С – 1000 °С, трифазна КФК утворюється тільки при 1100 °С, а при 1200 °С утворюється двофазна КФК з α -ТКФ і β -ТКФ.

Вперше розроблені методи отримання двофазної ТКФ (α -ТКФ та β -ТКФ) та трифазної КФК, які відрізняються суттєвою простотою і зручністю отримання у порівнянні із такими відомими методами їх отримання як гідротермальний синтез, мікрохвильовий в поєднанні з водним синтезом, твердофазний синтез та ін.

Встановлено, що зниження рН осаду нестехіометричного ГАП під впливом аскорбінової кислоти від 7 до 6, приводить до збільшення фази α -ТКФ в модифікованій КФК в температурному інтервалі від 850 °С до 1200 °С майже вдвічі, але при цьому максимум розчинності в обох випадках на 950 °С. Максимуми сорбційних властивостей після обробки оцтово-ацетатним буфером КФК (рН 7) – 231,6 мг/г при температурі відпалу 950 °С; КФК(рН 6) - 223,8 мг/г при температурі відпалу 850 °С в порівнянні з 123,4 мг/л немодифікованої КФК.

Вперше встановлено, що введення тонкодисперсного колоїдного діоксиду кремнію до осаду нестехіометричного ГАП, призводить до утворення трифазного КФК (ГАП, β -ТКФ, α -ТКФ) в інтервалі 800 °С – 1200 °С. Показано, що модифікування КФК кислотами та кремнієм сприяє утворенню наноструктури, при цьому адсорбційна активність модифікованих матеріалів збільшується майже вдвічі в порівнянні з немодифікованою КФК. Проведені дослідження закономірностей формування структури, фазового складу та вплив їх на розчинність та адсорбційну активність дозволив виявити матеріали більш схильні до резорбції та з більшою адсорбційною активністю, що є важливим, як

для визначення функціональних властивостей порошків і гранул з КФК, відпалених в інтервалі температур 800 – 900 °С так і для виготовлення з них об'ємних керамічних виробів, що спікаються в інтервалі температур 1100-1300 °С. Оптимізована за структурою, фазовим складом та адсорбційними властивостями КФК, модифікована кремнієм має виражені остеоіндуктивні властивості, що підтверджено доклінічними дослідженнями.

Четвертий розділ роботи присвячено дослідженню впливу морфології частинок, наноструктуруванню кераміки та сполученню фаз з різною розчинністю на фізико-хімічні та біологічні властивості композитної КФК. Від інших композитних КФК цей матеріал відрізняється тим, що складається не з голчатих кристалів ГАП, які отримують високовартісним методом, а голчатих кристалів β -ТКФ, отриманих методом хімічного осадження. Досліджено зміни архітектури мікроструктури композитної кераміки під впливом оцтово-ацетатного буферу, що імітує фізіологічну рідину, а також під впливом рідини з меншим рН, для дослідження еволюції порової структури. Вперше показано, що розроблений композиційний наноструктурований матеріал з трифазної КФК, армованої голкоподібними частинками β -ТКФ, завдяки різній розчинності компонентів, зберігає свій об'єм в процесі розчинення матеріалу. Сполучення більш розчинних наночасток сфероїдної форми, які в свою чергу складаються з трьох фаз різної розчинності, і менш розчинних часток голчатої структури, приводить до збільшення адсорбційної активності матеріалу завдяки створеній системі пор від нано- до макророзміру, що сполучаються між собою і поступово збільшуються під впливом фізіологічної рідини. Виявлено, що більш активні наночастинки трифазної ГАП розчиняючись та утворюючи нанопори, виділяють в фізіологічну рідину іони кальцію і фосфату. Це сприяє взаємодії матеріалу з фізіологічним середовищем на клітинному рівні, в чому і проявляються остеоіндуктивні властивості КФК. Біологічні властивості матеріалу підтверджені доклінічними дослідженнями.

В п'ятому розділі роботи досліджено антибактеріальні покриття з гідроксиапатиту на титанових імплантатах. Отримано антибактеріальні

покриття з гідроксиапатиту методом мікроплазмового напилення ГАП, легованого сріблом, та покриття з ГАП, на яке нанесені наночастинки срібла плазмовим диспергуванням у вакуумі. Вперше встановлено, що покриття нанесені мікроплазмовим напиленням на титанові імплантати, з ГАП, легованого сріблом, та покриття з ГАП, на яке нанесені наночастинки срібла плазмовим диспергуванням у вакуумі, мають майже однаковий антибактеріальний вплив на відомі збудники госпітальних гнійно-запалювальних захворювань - грамнегативні (*Escherichia coli* та *Pseudomonas aeruginosa*) та грампозитивні (*Staphylococcus aureus*) бактерії. Антибактеріальні властивості покриттів підтверджені ДП "Науковий центр превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки імені академіка Л.І. Медведя МОЗ України" відповідно до стандартів ДСТУ ISO 10993.

Встановлено, що обидва типи покриттів чинять антибактеріальний вплив на всі досліджені патогенні тест-культури мікроорганізмів.

Проведені дослідження показують розширення можливості використання КФК в сучасних медичних технологіях регенеративної медицини.

За результатами доклінічних досліджень КФК та покриттів на титанових імплантатах отримано Сертифікати відповідності технічному регламенту №753 щодо медичних виробів згідно з вимогами ISO 13485, №UA.TR.039.1204, №217 та №UA.TR.039.1380, №229 від 15.09.2020 року, це дає дозвіл на використання розроблених матеріалів в клініках України.

Ключові слова: гідроксиапатит, трикальційфосфат, біоактивність, наноструктура, адсорбційна активність, біодеградація, фазові зміни, кремній, срібло, аскорбінова кислота, лимонна кислота, антибактеріальні покриття.

ABSTRACT

Ulyanchich N.V. Formation the properties of calcium-phosphate ceramics for regenerative medicine. Candidate's degree of technical sciences (Ph.D.) thesis. Frantsevich Institute for Problems of Materials Science National Academy of Sciences of Ukraine, Kiev, 2021.

The dissertation is devoted to the solution of the actual scientific and technical problem in the field of biomaterial science which consists in revealing influence of technological parameters of processing of the synthesized sediment of nonstoichiometric hydroxyapatite (HAP) by solutions of organic acids and its doping with silicon on physicochemical and biological properties; creation of nanostructured composite ceramics containing components of different solubility; creation of a biocompatible antibacterial surface with HAP with silver on titanium implants for the development of materials to be used in regenerative medicine for the plastics of large bone defects, which will further scientifically create new composite materials with predetermined physicochemical and biological characteristics and structure. The application of the developed materials will allow their use in a new direction of medicine - regenerative medicine, namely bone engineering, where such material selection criteria as structure geometry, nanoscale and ability of material to actively interact at the cellular level with the physiological environment are important.

The introduction substantiates the relevance of the chosen topic of the dissertation, formulates the purpose and main objectives of the study, object, subject of research, scientific novelty and practical value of the results, shows the personal contribution of the author and information about the approbation of research results, the number of publications in which the results of work is reflected.

The **first section** analyzes the current state and ways of development of materials science in the field of bioactive biomaterials from calcium phosphates, their properties and possibilities of use in the modern direction of medicine - regenerative medicine. Data on the main properties of the mineral component of bone tissue, the conditions of its crystallization and study of its structure, methods of synthesis of its

analogues (calcium phosphates), the influence of synthesis parameters on the properties of the final material. The existing problems of the bone tissue engineering method are determined. The prospects of using CPC in innovative biomedical tissue-engineered implants based on human cells and synthetic ceramic implants are shown. The basic requirements for materials that can be carriers (scaffold) for cells are considered and generalized and it is determined what properties CPC should have to meet these requirements. Promising methods of CPC production with osteoinductive properties by creating polyphase ceramics, composite and doped with osteotropic elements are considered. The issues of ionic substitutions in the structure of hydroxyapatite, their influence on the properties, in particular attention is paid to the doping of CPC with silicon and silver.

The **second section** describes research methods, characteristics of raw materials, describes the technological processes of treatment of non-stoichiometric hydroxyapatite sludge with organic acids, introduction of silicon and silver, obtaining β -TCP consisting of needle type particles and obtaining antibacterial coatings on titanium implants of two types.

The **third section** identifies the effects of changes in the pH of the sediment of nonstoichiometric hydroxyapatite from 7 to 4 using solutions of ascorbic acid and citric acid on phase transformations, lattice parameters, solubility and sorption properties after heat treatment of nonstoichiometric HAP in the range of 800-1300 °C. Significant differences in the effect of ascorbic and citric acids on the properties of the obtained materials annealed in the specified temperature range were revealed. It was first shown that treatment of non-stoichiometric precipitate with ascorbic acid, regardless of the pH of the treated precipitate, promotes the formation of α -TCP phase in the temperature range of 800 - 1100 °C, and β -TCP in the range 1100-1300 °C, which provided the first time to obtain three-phase CPC (α -TCP, β -TKF, HAP) in the temperature range of 800 – 1300 °C. Treatment of the precipitate with citric acid, in contrast to ascorbic acid, does not promote the formation of α -TCP in the modified CPC in the temperature range of 800 – 1000 °C, three-phase CPC is formed only at 1100 °C, and at 1200 °C two-phase CPC with α -TCP and β -TCP is formed.

For the first time developed methods for obtaining two-phase TCP (α -TCP and β -TCP) and three-phase CPC, which are significantly simple and easy to obtain in comparison with such known methods for their production as hydrothermal synthesis, microwave in combination with aqueous synthesis, solid phase synthesis and etc.

It was found that lowering the pH of the sediment of nonstoichiometric HAP under the influence of ascorbic acid from 7 to 6, leads to an increase in the phase of α -TCP in modified CPC in the temperature range from 850 °C to 1200 °C almost twice, but the maximum solubility in both cases at 950 °C. Maximum sorption properties after treatment with acetic-acetate buffer CPC (pH 7) - 231.6 mg / g at annealing temperature of 950 °C; CPC (pH 6) - 223.8 mg / g at an annealing temperature of 850 °C compared with 123.4 mg / l of unmodified CPC.

For the first time it was found that the introduction of fine colloidal silicon dioxide to the precipitate of nonstoichiometric HAP, leads to the formation of three-phase CPC (HAP, β -TCP, α -TCP) in the range of 800 °C – 1200 °C. It is shown that the modification of CPC with acids and silicon promotes the formation of nanostructure, while the adsorption activity of modified materials is almost doubled compared to unmodified CPC. Studies of the patterns of structure, phase composition and their effect on solubility and adsorption activity revealed materials more prone to resorption and with higher adsorption activity, which is important for determining the functional properties of powders and granules of CPC annealed in the temperature range of 800 °C - 900 °C and for the manufacture of three-dimensional ceramics, sintered in the temperature range of 1100 - 1300 °C. Optimized in structure, phase composition and adsorption properties of CPC, modified with silicon has pronounced osteoinductive properties, which is confirmed by preclinical studies.

The **fourth section** is devoted to the study of the influence of particle morphology, nanostructuring of ceramics and the combination of phases with different solubility on the physicochemical and biological properties of composite CPC. This material differs from other composite CPC in that it does not consist of needle-shaped HAP crystals obtained by a high-cost method, but of β -TCP needle

crystals obtained by chemical deposition. Changes in the architecture of the microstructure of composite ceramics under the influence of acetoacetate buffer, which mimics physiological fluid, as well as under the influence of liquid with a lower pH, were studied to study the evolution of the pore structure. It has been shown for the first time that the developed composite nanostructured material from three-phase CPC reinforced with needle-like β -TCP particles, due to the different solubility of the components, retains its volume in the process of dissolving the material. The combination of more soluble spheroidal nanoparticles, which in turn consist of three phases of different solubility, and less soluble particles of needle structure, leads to an increase in the adsorption activity of the material due to the created pore system from nano to macro size, interconnected and gradually increasing under the influence physiological fluid. It was found that more active nanoparticles of three-phase HAP dissolve and form nanopores, emit calcium and phosphate ions into the physiological fluid. This promotes the interaction of the material with the physiological environment at the cellular level, which manifests itself in the osteoinductive properties of CPC. The biological properties of the material have been confirmed by preclinical studies.

The **fifth section** examines the antibacterial coatings of hydroxyapatite on titanium implants. Antibacterial coatings were obtained from hydroxyapatite by the method of microplasma spraying of GAP doped with silver, and a coating from HAP, on which silver nanoparticles were applied by plasma dispersion in vacuum. It was found for the first time that coatings applied by microplasma spraying on titanium implants, with HAP doped with silver, and coatings with HAP, on which silver nanoparticles were applied by plasma dispersion in vacuum, have almost the same antibacterial effect on known pathogens of hospital diseases. coli and *Pseudomonas aeruginosa*) and gram-positive (*Staphylococcus aureus*) bacteria. Antibacterial properties of coatings are confirmed by SE "Scientific Center for Preventive Toxicology, Food and Chemical Safety named after Academician LI Medved of the Ministry of Health of Ukraine" in accordance with the standards of DSTU ISO 10993.

It was found that both types of coatings have an antibacterial effect on all studied pathogenic test cultures of microorganisms.

Studies show the expansion of the use of CPC in modern medical technologies of regenerative medicine.

According to the results of preclinical studies of CPC and coatings on titanium implants, the Certificate of Conformity to the Technical Regulation №753 for medical devices in accordance with the requirements of ISO 13485, №UA.TR.039.1204, №217 and №UA.TR.039.1380, №229 dated 15.09.2020 was obtained, it gives permission to use the developed materials in clinics of Ukraine.

Key words: hydroxyapatite, tricalcium phosphate, bioactivity, nanostructure, adsorption activity, biodegradation, phase changes, silicon, silver, ascorbic acid, citric acid, antibacterial coatings.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Монографії:

1. Наноматеріали медичного призначення: монографія / І.В. Уварова, П.П. Горбик, С.В. Горобец, О.А. Иващенко, **Н.В. Ульянович**. Київ, 2014. 415с. (*Особистий внесок здобувача: написання розділу 2*).

2. Эндопротезы суставов человека: материалы и технологии: монография/ Киев. ИСМ им. В.Н. Бакуля НАН Украины. 2012, 528 с. (*Особистий внесок здобувача, приймала участь в написанні семи розділів*):

Статті:

3. Ivashchenko O. A., Perekos A. O., **Ulianchych N.V.**, Uvarova I.V., Protsenko L. S., Budylna O.M., Holovkova M.Y., Yarmola T.M. Interaction of Ag-free and Ag-Doped hydroxyapatite with Ciprofloxacin solutions. *Materialwissenschaft und Werkstofftechnik. Special Issue: Nanoscience and Nanotechnology: Biotechnologies*. 2011. Vol. 42, Issue 2. p. 98-108. (Wiley-VCH GmbH, Weinheim, indexed in SCOPUS, (режим доступу: <https://doi.org/10.1002/mawe.201100739>) (*Особистий внесок здобувача: синтез легованого сріблом ГАП, проведення досліджень, участь у написанні статті*))

4. Ivashchenko O. A., Protsenko, L.S., Budylyna, O.M., **Ulianchich, N.V.**, Uvarova I.V., Yarmola T.M. Influence of Silver Doping on Hydroxyapatite Properties. *Advanced Science, Engineering and Medicine*. 2013, Vol. 5, pp. 266-274. (режим доступу: <https://doi.org/10.1166/ asem.2013.1248> (Особистий внесок здобувача: проведення досліджень, обговорення отриманих результатів, участь у написанні статті).
5. O. Sych, O. Otychenko, **N. Ulianchych**, T. Tomila, A. Bykov, L. Protsenko, O. Budylyna, I. Uvarova, V. Kolomiets, Mariia Demyda. Structure and adsorption activity of hydroxyapatite of different origin Advanced. *Nano-Bio-Materials and Devices*. 2018. Vol. 2(3). pp. 287-293; (режим доступу: https://sciedtech.eu/AdvNanoBioMD/ANBMD_2018_2_3_Sych.pdf (Особистий внесок здобувача: синтез синтетичного ГАП, обговорення отриманих результатів, участь у написанні статті).
6. L.D. Kisterskaya, O.B. Loginova, **N.V. Ulyanchich**, V.V. Kolomiets, V.N. Tkach, A.M. Panova, I.V. Uvarova. Antibacterial surfaces formed by silver nanoparticles on bone implants with bioactive coatings. *Powder Metallurgy and Metal Ceramics*. 2019. Vol. 58, issue 3-4, pp.189-196. (Springer, indexed in Scopus режим доступу: <http://www.materials.kiev.ua/article/2817> DOI 10.1007/s11106-019-00063-2 (Особистий внесок здобувача: синтез синтетичного ГАП, участь у проведенні досліджень, обговорення отриманих результатів, участь у написанні статті).
7. M. V. Rublenko, V. A. Chemerovskiy, V. G. Andriiets, **N. V. Ulyanchich**, V. V. Kolomiets, A. S. Koryak. Evaluation of usage of silicon-doped hydroxyapatite ceramics for treatment of fragmented bone fractures in dogs. *Науковий вісник ЛНУВМБ імені С.З. Гжицького. Серія: Ветеринарні науки*, 2020, т 22, № 99. р.29-37, (режим доступу: doi:10.32718/nvlvet9905. (Особистий внесок здобувача: підготовка та дослідження матеріалів, обговорення результатів, участь у написанні статті)
8. **Ульянчич Н. В.**, Кулак Л. Д., Борисов Ю. С., Войнарович С. Г., Алексеева Т. А., Свирид Е. С., Ксензова О. В., Семенцов Ю. И. Особенности

биоактивных покрытий на титановых имплантатах. *Літопис травматології та ортопедії*. 2014, № 1-2. С.76-79. (Особистий внесок здобувача: підготовка матеріалів, участь у проведенні досліджень, написання статті).

9. **Ульянчич Н.В.**, Иващенко Е.А., Уварова И.В., Ксензова О.В., Свирид Е.С., Проценко Л.С., Будилина О.Н., Дацкевич О.В. Возможность использования кальцийфосфатной керамики в качестве носителя лекарственных средств. *Український морфологічний альманах*. 2010, Том 8, № 2, с. 44-46. (Особистий внесок здобувача: підготовка матеріалів, участь у проведенні досліджень, участь у обговоренні результатів, написання статті).

10. М.В. Рубленко, В.О. Чемеровський, В. М. Власенко, **Н.В. Ульянчич**. Оцінка остеointegraційних і остеoіндуктивних властивостей кераміки, легованої кремнієм, за модельних переломів стегнової кістки кролів. *Науковий вісник ветеринарної медицини*. 2018. №2. С.44-53. (Особистий внесок здобувача: підготовка матеріалів, участь у проведенні досліджень, обговорення результатів, участь написанні статті).

11. Шимон В.М., Дедух Н.В., Меклеш Ю.Ю., Шимон М.В., **Ульянчич Н.В.** Регенерация кости после заполнения дефекта гранулами керамического биоматериала биомин ТГГ-2. *Georgian Medical News*. No 4 (301) 2020, p.170-177 (indexed in Scopus). (Особистий внесок здобувача: планування методу отримання композиту, дослідження його фізико-хімічних властивостей та фазового складу, участь у написанні статті).

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації

Матеріали наукових конференцій:

12. **Ульянчич Н.В.**, Кулак Л.Д., Фірстов С.О., Кузьменко М.М. Нові біоматеріали для відновлення кісткової тканини та функції пошкодженого органу при обширних травмах опорно-рухового апарату. *Перспективи науково-технологічного забезпечення оборонно-промислового комплексу України: матеріали інформаційно-комунікативного заходу* (м. Київ, 22-23 вересня 2015 р.). Київ, 2015. С. 129-130. (Особистий внесок здобувача: участь у підготовці

та дослідженні матеріалів, обговорення результатів, написання роботи, доповідь, очна участь)

13. **Ulianchych N.V.**, Firstov S.O., Kolomiets' V.V., Bykov O.I., Tamila T.V. Phase transformations of non-stoichiometric hydroxyapatite upon thermal treatment and their effects on its solubility in a biological solutionimitation: book of Abstracts of the 6th International conference High Math Tech (Kyiv, 28 - 30 October 2019). Kyiv, 2019. p.138. *(Особистий внесок здобувача: участь у підготовці та дослідженні матеріалів, обговорення результатів, написання роботи, доповідь, очна участь)*

14. **Ulianchych N. V.**, Firstov S. O., Rublenko M. V., Andriiets V. G., Kolomiets' V. V., Bykov O. I., Tamila T. V. Composite osteoinductive material based on bioactive ceramics and blood plasma enriched with platelets: book of Abstracts of the 6th International conference High Math Tech (Kyiv, 28 - 30 October 2019). Kyiv, 2019. P.139. *(Особистий внесок здобувача: участь у підготовці та дослідженні матеріалів, обговорення результатів, написання роботи, доповідь, очна участь)*

15. **Ульянчич Н.В.**, Фірстов С.О., Логінова О.Б., Коломієць В.В., Коряк О.С. Дослідження впливу ультразвуку на питому поверхню та розподіл пор по розмірах у гранулах композитів з кальцій фосфатної кераміки. *Якість, стандартизація, контроль: теорія та практика: тези 20 міжнар. конф. (м. Одеса, 07-11 вересня 2020 р.).*Київ, 2020. С. 140-142. *(Особистий внесок здобувача: участь у підготовці та дослідженні матеріалів, обговорення результатів, участь у написанні роботи, заочна участь)*

16. **Ульянчич Н.В.**, Логінова О.Б., Кістерська Л.Д., Коломієць В.В. Створення антибактеріальної поверхні на імплантатах із біоактивним покриттям з кальційфосфатної кераміки. *Інженерія поверхні та реновація виробів: матеріали 19 міжнар. науково-техн. конф. (м. Свалява 20-24 травня 2019 р.).* Свалява, 2019. С. 174-176. *(Особистий внесок здобувача: участь у підготовці та дослідженні матеріалів, обговорення результатів, участь у написанні роботи, заочна участь)*

17. Ульянович Н.В., Кулак Л.Д., Фірстов С.О. Вітчизняні біоматеріали в реконструктивній хірургії. Впровадження сучасних досягнень медичної науки в практику охорони здоров'я України: матеріали II міжнародного медичного конгресу (м. Київ, 16-19 квітня 2013 р.). Київ, 2013. С.19. (Особистий внесок здобувача: участь у підготовці та дослідженні матеріалів, обговорення результатів, написання роботи, доповідь, очна участь)

18. Чемеровський В.А., Ульянович Н.В., Рубленко М.В. Гистоморфологическая оценка репаративного остеогенеза при использовании керамики, содержащей α -трикальцийфосфат. *Актуальные вопросы и пути их решения в ветеринарной хирургии: материалы международной научно-практической конференции, посвященной 80-летию со дня рождения профессора Э. И. Веремея.* (30 октября - ноября 2019 г. ВГАВМ 2019 р.). 2019. С. 116-118. (Особистий внесок здобувача: участь у підготовці та дослідженні матеріалів, обговорення результатів, участь у написанні роботи, заочна участь).

Наукові праці, які додатково відображають наукові результати дисертації

Патенти на винаходи та корисні моделі:

19. Патент №48695 Україна А61F2/28, А61К6/033, А61L27/00 Керамічний матеріал для пластики кісткових дефектів/ Ашукіна Н. О., Дедух Н.В., Корж М.О., Філіпенко, Ульянович Н.В., Ліхнякевич Т. Г., В.А.,Авакумов А.Б., Малишкіна С. В., Авакумов О.Б. Заявл. 12.11.2001; Опубл. 15.08.2002 р. -Бюл. № 8.

20. Патент №45292 Україна А61В17/00 Металокерамічний імплантат для міжтілового спондилодезу/ Брехов О.М., Єлісеєв С.Л., Ульянович Н.В., Борисов Ю.С., Войнарович С.Г., Авакумов О.Б. Заявл. 03.12.2001; Опубл. 15.03.2002 р. - Бюл. № 3.

21. Патент № 47362 Україна А61Р19/10 Спосіб одержання порошку гідроксилапатиту/ Ульянович Н.В., Поворознюк В.В., Авакумов А.Б., Григорьева Н.В. Заявл. 01.03.2002; Опубл. 17.06.2002 р. -Бюл. № 6.

22. Патент № 95634 МПК А61L 27/46 Спосіб прискорення репаративного остеогенезу в собак/ Рубленко М. В., Семеняк С. А., **Ульянчич Н.В.** Заявл. 30.07.2014; Опубл. 25.12.2014 р.- Бюл. № 24

23. Патент України № 70469 А61К35/78, А61К38/56. Лікарський засіб для профілактики та лікування системного остеопорозу в постменопаузальному періоді/ Поворознюк В. В., Григор'єва Н. В., Карпенко П. О., Вареник М. П., **Ульянчич Н. В.**, Аввакумов А. Б. Заявл. 09.10.2003.; Опубл. 15.10.2004.; Бюл. №10.

ЗМІСТ

АНОТАЦІЯ	2
ЗМІСТ.....	17
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ.....	20
ВСТУП.....	21
РОЗДІЛ 1 АНАЛІЗ СУЧАСНОГО СТАНУ ДОСЛІДЖЕНЬ В ГАЛУЗІ МАТЕРІАЛОЗНАВСТВА КАЛЬЦІЙ-ФОСФАТНИХ МАТЕРІАЛІВ ДЛЯ РЕГЕНЕРАТИВНОЇ МЕДИЦИНИ.....	31
1.1 Особливості методу інженерії кісткової тканини.....	32
1.2 Властивості мінерального компоненту кісткової тканини.....	37
1.3 Синтетичні аналоги мінерального компоненту кісткової тканини...	45
1.3.1 Біосумісні фази фосфатів кальцію.....	49
1.3.2 Особливості методів синтезу кальцій-фосфатної кераміки.....	52
1.3.3 Легування кальцій-фосфатної кераміки	56
1.4 Антибактеріальні покриття з біоактивної кераміки на титанових імплантатах.....	61
1.5 Сучасний стан виготовлення біоматеріалів з остеоіндуктивними властивостями. Постановка завдань досліджень.....	62
РОЗДІЛ 2 ХАРАКТЕРИСТИКА ВИХІДНИХ МАТЕРІАЛІВ, ТЕХНОЛОГІЯ ОДЕРЖАННЯ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ СТРУКТУРИ І ВЛАСТИВОСТЕЙ КАЛЬЦІЙ-ФОСФАТНОЇ КЕРАМІКИ.....	69
2.1 Матеріали і реактиви.....	69
2.2 Методи одержання покриттів.....	73
2.3 Методи досліджень.....	75

РОЗДІЛ 3 ВПЛИВ ОБРОБКИ ОСАДУ НЕСТЕХІОМЕТРИЧНОГО ГІДРОКСИАПАТИТУ РОЗЧИНАМИ ОРГАНІЧНИХ КИСЛОТ ДО PH ВІД 7 ДО 4 ТА ЛЕГУВАННЯ КРЕМНІЄМ НА ФАЗОВІ, СТРУКТУРНІ ЗМІНИ ТА ФІЗИКО-ХІМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ПІСЛЯ ВІДПАЛУ В ТЕМПЕРАТУРНОМУ ІНТЕРВАЛІ 800 °С-1300 °С.....	81
3.1 Фазові зміни та фізико-хімічні властивості кальцій-фосфатної кераміки, отриманої відпалом осаду нестехіометричного гідроксиapatиту в інтервалі температур 800-950 °С.....	82
3.2 Модифікування кальційфосфатної кераміки аскорбіновою кислотою	86
3.3 Модифікування кальційфосфатної кераміки лимонною кислотою.....	95
3.4 Легування кальційфосфатної кераміки кремнієм.....	101
3.5 Висновки до розділу 3.....	116
РОЗДІЛ 4 КОМПОЗИТНА НАНОСТРУКТУРОВАНА КАЛЬЦІЙ-ФОСФАТНА КЕРАМІКА.....	119
4.1 Вплив комбінації компонентів композитної кераміки з різною морфологією на фазові зміни та фізико-хімічні властивості.....	120
4.2 Дослідження еволюції порової структури композитної біокераміки під впливом рідин, що імітують фізіологічне середовище.....	122
4.3 Дослідження біологічних властивостей композитної КФК.....	126
4.4 Висновки до розділу 4	
РОЗДІЛ 5 МЕТОДИ СТВОРЕННЯ БІОАКТИВНИХ ПОКРИТТІВ З АНТИБАКТЕРІАЛЬНИМИ ВЛАСТИВОСТЯМИ	127
5.1 Дослідження порошків на основі гідроксиapatиту для нанесення на титанові імплантати методом мікроплазмового напилення.....	127
5.2 Дослідження покриттів з антибактеріальними властивостями на титанових імплантатах.....	131

5.3 Порівняння антибактеріальних властивостей отриманих покриттів..	136
5.4 Висновки до розділу 5.....	138
ВИСНОВКИ	139
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	141
Додаток А Практичне застосування результатів досліджень	
Додаток Б Список опублікованих праць за темою дисертації.....	

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

ГАП	гідроксиапатит
α -ТКФ	трикальційфосфат
β -ТКФ	трикальційфосфат
КФК	кальцій-фосфатна кераміка
КТ	кісткова тканина
МККТ	мінеральний компонент кісткової тканини
БК	Біоактивна кераміка
МСК	мезенхімальні стовбурові клітини

ВСТУП

Актуальність теми. Зважаючи на стрімкий розвиток можливостей реконструктивно-відновлювальної медицини, яка заснована не на заміщенні, а на регенерації кісткової тканини, виникла нагальна потреба в біосумісних матеріалах, які б стимулювали утворення кісткової тканини і могли використовуватись в тканино-інженерних конструкціях як носії живих клітин. Завдяки аналогії з мінеральним компонентом кісткової тканини, найбільш поширеними до використання в пластиці кісткової тканини з синтетичних матеріалів є кальцій-фосфатна кераміка (КФК) на основі гідроксиапатиту (ГАП) та β -трикальційфосфату (β -ТКФ), яка має ідеальну біосумісність та спорідненість до кісткової тканини. Значний внесок у розвиток синтетичних матеріалів на основі фосфатів кальцію для відновлення кісткової тканини зроблений вітчизняними вченими: Є.П. Подрушняк, В. А. Дубок, Л.А. Іванченко, З.З. Зиман, В.Л. Карбівський, та закордонними дослідниками з яких основними засновниками цього напрямку досліджень є K. de Groot, L.L. Hench, M. Vallet-Regi, T. Kanazawa, D.F. Williams, R. LeGeros, J. LeGeros, J.C. Elliott, H. Aoki, M. Jarcho, J. Kay, D.H. Kim, H.E. Kim, У. Ньюман, М. Ньюман, Л. Слуцкий, Я. Ветра., С.М. Баринов, М. Еппле та ін. [1-14]. В результаті цих робіт отримано однофазні керамічні матеріали з ГАП та β -ТКФ та двофазну КФК, властивості яких ретельно досліджено в залежності від способу отримання та параметрів синтезу. З появою нового напрямку в медицині - інженерії кісткової тканини, почався пошук матеріалів, які б взаємодіяли з організмом на клітинному рівні [12, 13, 15-17].

Відомо, що на остеоіндуктивні властивості КФК впливає поліфазність кераміки, легування остеотропними елементами, наноструктурування, геометрія мікроструктури поверхні, структура пор. Є інформація, що трифазна КФК (α -ТКФ, β -ТКФ і ГАП) володіє остеоіндуктивними властивостями за рахунок різної розчинності трьох фаз [4, 18]. Створення трифазної кераміки ускладнюється тим, що фаза з найбільшою розчинністю (α -ТКФ) утворюється при високих температурах внаслідок фазового переходу β -ТКФ \rightarrow α -ТКФ [4, 8,

10, 12-15]. Відомо, що для одержання трифазної КФК використовують досить складні високотемпературні методи [18-20]. Є також інформація про отримання метастабільної фази α -ТКФ з аморфного фосфату кальцію при низьких температурах, яка при температурі 800 °С знову переходить в β -ТКФ [4], та стабілізацію α -ТКФ кремнієм вже при високих температурах [21-23], але вплив технологічних параметрів на утворення трьох фаз КФК більш простим методом хімічного осадження в даний час не досліджений. Відомостей про утворення, трифазної КФК та встановлення закономірностей впливу співвідношення фаз на її властивості в даний час недостатньо.

Теоретично передбачається, що чим більше складових з різною розчинністю, з яких складається композиційна КФК, тим ефективніше вона буде заміщуватись регенератом [15,18]. Основні вимоги до такої кераміки, це наявність наноструктури, система пор різного розміру, що сполучаються між собою та швидко розчинний компонент, який виділяючи в фізіологічне середовище іони кальцію та фосфату, продовжує змінювати пористу структуру КФК та покращує сорбційні властивості композиту [12,13]. Є інформація про створення композитної КФК, армованої менш розчинними частинками ГАП голчатої форми для зміцнення КФК, але вплив такої структури на остеоіндуктивні властивості композитної кераміки не досліджено [4].

Інша проблема, що виникає в регенеративній медицині в умовах пластики великих дефектів в комбінації з процедурою заміщення дефекту остеогенними матеріалами, полягає в необхідності застосування титанових імплантатів, поверхні яких повинні мати остеointegrativні і антибактеріальні властивості [24-26]. При використанні антибіотиків відразу гальмуються регенеративні процеси, тому більш перспективним для створення антибактеріальної поверхні є срібло. В останній час з'явилась інформація, що наносрібло нанесене на поверхню імплантатів ефективно для створення її антибактеріальних властивостей [27-31]. Вплив комбінованих покриттів з ГАП та наносрібла на антибактеріальні властивості поверхні імплантатів не досліджено.

Таким чином, **актуальність роботи** обумовлена необхідністю: виявлення впливу технологічних параметрів обробки синтезованого осаду нестехіометричного ГАП розчинами органічних кислот та легування його кремнієм на фізико-хімічні та біологічні властивості отриманої КФК; створення наноструктурованої композитної кераміки, що містить компоненти різні за розчинністю; створення біосумісної антибактеріальної поверхні з ГАП зі сріблом на титанових імплантатах для розробки матеріалів, що використовуватимуться в регенеративній медицині з метою пластики великих кісткових дефектів.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертація відповідає основним науковим тематикам Інституту проблем матеріалознавства ім. І. М. Францевича НАН України та виконана в рамках тем відомчого замовлення НАН України та конкурсних проєктів № 0115U004616 "Розробка та впровадження у виробництво нових біоматеріалів для відновлення кісткової тканини та функції пошкодженого органу при обширних травмах опорно-рухового апарату" 2015-2016 рр.; № 0116U004773 "Розробка та дослідження нового покоління біосумісних матеріалів для реконструктивно-відновлювальної хірургії на основі сплавів титану, кальційфосфатних матеріалів, біоситалів та біоінертної кераміки" 2016-2018 рр.; № 0117U001807 "Відпрацювання технологій виготовлення та використання новітніх біосумісних титанових сплавів з оптимальними механічними властивостями в комбінації з біологічно активними матеріалами для реконструктивно-відновлювальних операцій опорно-рухового апарату" 2017-2021 рр.; № 0117U800180 "Розробка новітніх технологій створення наноструктурних матриць на основі вуглецю та фосфатів кальцію з підвищеними адсорбційними та бактерицидними властивостями" 2017-2021рр.; №0118U006216 "Розробка технології виготовлення заготовок з нового титанового сплаву та порошків з біоактивної кераміки з різними функціональними властивостями для дентальних імплантатів" 2018-2019рр.; № 0118U006214 "Створення біоматеріалів з остеоіндуктивними властивостями для відновлення кісткової

тканини та функцій травмованих кісток" 2018-2019 рр.; № 0118U001671 "Розробка технологічного процесу виготовлення ендопротезів кульшового суглобу з використанням нових біосумісних матеріалів та технологій " 2018 р.; № 0119U100819 "Новітні біоматеріали із підвищеними біологічною та механічною сумісністю" 2019-2021 рр.; № 0119U102083 "Розробка та доведення до впровадження в клінічну практику кісткових імплантатів різного призначення з новітніх біоматеріалів для відновлення кісткової тканини та функції кісток після поранень в бойових діях" Етап 2019 року"; № 0115U002983 "Нові композиційні наноматеріали медичного призначення" 2015-2019

Мета і завдання дослідження. Мета роботи - виявлення закономірностей впливу технологічних параметрів обробки синтезованого нестехіометричного ГАП та добавок до нього кремнію і срібла, на фізико-хімічні та функціональні властивості отриманих матеріалів, створення наноструктурованої композитної кальційфосфатної кераміки та дослідження її фізико-хімічних та біологічних властивостей.

Досягнення цієї мети вимагало вирішення наступних **задач**:

1. Визначити вплив змін рН (від 7 до 4) осаду нестехіометричного гідроксиапатиту, під дією аскорбінової та лимонної кислот, на фазові, структурні та фізико-хімічні властивості після термообробки в температурному інтервалі 800-1300 °С.

2. Визначити вплив легування синтезованого нестехіометричного ГАП кремнієм на фазові, структурні зміни та фізико-хімічні властивості КФК після термообробки в інтервалі температур від 800 °С та 1300 °С, перевірка біологічних властивостей матеріалу визначеного за результатами досліджень.

3. Дослідити фізико-хімічні та біологічні властивості КФК з наноструктурованою композитною структурою.

4. Дослідити вплив структурного стану срібла та способу його введення на антибактеріальні властивості покриттів з ГАП.

Об'єкт дослідження: процеси структурних перетворень та фазових змін КФК, їх вплив на розчинність в рідині, що імітує фізіологічну, та адсорбційну активність, модифікування покриттів сріблом.

Предмет дослідження: вплив обробки осаду нестехіометричного ГАП органічними кислотами та легування, кремнієм на фазові зміни та фізико-хімічні властивості КФК після відпалу в температурному інтервалі 800-1300 °С, сполучення нанорозмірних компонентів з різною розчинністю на фізико-хімічні та біологічні властивості КФК, вплив структурного стану срібла на антибактеріальні властивості покриттів.

Методи дослідження. Структурний склад контролювали методами: рентгенофазового аналізу (РФА) з використанням рентгенівського дифрактометра Ultima IV ("Rigaku", Японія) при довжині хвилі λ (Cu-K α -випромінювання) = 0,154187 нм; Отримані дані обробили у програмі «PowderCell 2.4» та інфрачервоної (ІЧ) спектроскопії в діапазоні частот 4000–400 см⁻¹, застосовуючи Фур'є-спектрофотометр ФСМ1202 ("Инфраспектр", РФ); синтезовані та відпалені на різні температури гранули КФК було досліджено методом скануючої та просвічуючої електронної мікроскопії (СЕМ, ПЕМ). Стан кремнію та НЧ срібла на поверхні покриття з ГАП вивчали методами електронної мікроскопії (СЕМ). Мікроскоп було укомплектовано системою NKL CHANNEL 5 фірми OXFORD — для дифракції електронів із локальної ділянки з розміром понад 10 нм.; хімічний склад визначали за допомогою енергодисперсійного рентгенфлуоресцентного поелементного аналізу із застосуванням експрес-аналізатора хімічного складу Expert 3L ("ІНАМ", Україна); визначення адсорбційної активності КФК проводили згідно з ГОСТ 4453-74. Насичення порошків та гранул проводили водним розчином метиленового синього; розчинність матеріалів визначалась по кількості виділених іонів кальцію в розчин, що імітує рідину організму, методика експерименту полягала у витримці зразків КФК протягом доби при 37°C в оцтово-ацетатному буферному розчині при рН-5,5, близькому до рН фізіологічної рідини при розчиненні біологічного гідроксиапатиту. Іони

кальцію в розчині визначали методом прямої потенціометрії з використанням іонселективного електроду, дослідження остеогенних властивостей *in vitro* та *in vivo* проводились в ДП «Інститут генетичної та регенеративної медицини НАМН України», Інституті молекулярної біології і генетики Національної академії наук України, Білоцерківському національному аграрному університеті та Державне підприємство "Науковий центр превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки імені академіка Л.І. Медведя МОЗ України" відповідно до стандартів ДСТУ ISO 10993.

Наукова новизна одержаних результатів

1. Вперше виявлено фазу α -ТКФ в температурному інтервалі 800 -1100 °С шляхом обробки осаду нестехіометричного ГАП аскорбіновою кислотою та легування кремнієм.
2. Вперше отримано трифазну КФК (ГАП, β -ТКФ, α -ТКФ) після відпалу в інтервалі температур 800 - 1300 °С осаду нестехіометричного ГАП, модифікованого органічними кислотами та встановлено закономірності зміни співвідношення фаз і фізико-хімічні властивості, отриманих матеріалів
3. Вперше запропонована методика оцінки здатності біоматеріалу до резорбції шляхом моделювання процесу деградації матеріалу під ультразвуковим впливом в оцтово-ацетатному розчині при рН 5,5, що імітує фізіологічну рідину.
4. Встановлено особливості впливу кремнію, введеного в вигляді тонкодисперсного колоїдного діоксиду кремнію до осаду нестехіометричного ГАП, на фазові зміни, що призводить до утворення трифазного КФК (ГАП, β -ТКФ, α -ТКФ) в інтервалі 800 – 1200 °С, та на фізико-хімічні властивості. Оптимізований за структурою, фазовим складом та адсорбційними властивостями матеріал має виражені остеоіндуктивні властивості.
5. Вперше створено композиційний наноструктурований матеріал з трифазної КФК, армованої голкоподібними частинками β -ТКФ, для збереження об'єму матеріалу в процесі заміщення кістковою тканиною. Отримана КФК може індукувати розвиток кісткових клітин за рахунок сполучення більш розчинних

наночасток сферичної форми і менш розчинних часток голчатої структури, та завдяки створеній системи пор від нано- до макророзміру, що сполучаються між собою і поступово збільшуються під впливом фізіологічної рідини, ефективно заміщуватись повноцінною кістковою тканиною.

6. Вперше отримано антибактеріальні покриття методом мікроплазмового напилення ГАП, легованого сріблом, та покриття з ГАП, на яке нанесені наночастинки срібла плазмовим диспергуванням у вакуумі. Встановлено, що обидва типи покриттів чинять антибактеріальний вплив на всі досліджені патогенні тест-культури мікроорганізмів. Мікробіологічні дослідження з використанням тест-штамів відомих збудників госпітальних гнійно-запальовальних захворювань - грамнегативних (*Escherichia coli* та *Pseudomonas aeruginosa*) та грампозитивних (*Staphylococcus aureus*) бактерій проведені ДП "Науковий центр превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки імені академіка Л.І. Медведя МОЗ України" відповідно до стандартів ДСТУ ISO 10993.

Практичне значення одержаних результатів

Отримані результати дозволять визначати технологічні параметри модифікування синтезованого нестехіометричного ГАП та оптимальну температуру його термообробки з метою отримання КФК з контрольованою резорбцією та здатністю до заміщення.

На основі проведених в роботі досліджень розроблено і отримано принципово нову наноструктуровану композиційну КФК, яка завдяки високій біоактивності та здатності зберігати свій об'єм в кістковому дефекті до повного заміщення, може використовуватись як самостійно, так і в якості основи для культивування кісткових клітин в регенеративній медицині. Використання такого матеріалу в великих кісткових дефектах збереже міцність травмованої кістки до повного відновлення кісткової тканини.

Дослідження КФК, легової кремнієм перспективне для використання в інженерії кісткової тканини. Попередні дослідження його використання в сполученні з плазмою крові, збагаченої тромбоцитами, показали не тільки

виражені остеоіндуктивні властивості, але й сприяння утворенню хрящової тканини, що дуже перспективно для відновлення суглобів.

Отримання антибактеріальних покриттів з гідроксиапатиту на титанові імплантати по розробленим методикам дозволить уникнути їх розхитування та відторгнення шляхом сприяння надійної інтеграції з кістковою тканиною та уникнення загрози інфікування. На відміну від інших методів забезпечення антибактеріальних властивостей, розроблені матеріали не впливають негативно на репаративні процеси.

На основі досліджень нестехіометричного ГАП в поєднанні з аскорбіною кислотою, створена БАД «Остеїн» для нормалізації мінерального обігу в організмі.

Остеоіндуктивні властивості оптимізованих за адсорбційною активністю матеріалів підтверджені звітами по дослідженням їх остеогенних властивостей *in vitro* та *in vivo* ДП «Інститут генетичної та регенеративної медицини НАМН України», та Білоцерківського національного аграрного університету.

По розробленим матеріалам та покриттям отримано Сертифікати відповідності технічному регламенту №753 щодо медичних виробів згідно з вимогами ISO 13485, №UA.TR.039.1204, №217 та №UA.TR.039.1380, №229 які дають дозвіл на використання в клініках України.

Особистий внесок здобувача

Автором проведено аналіз літератури, визначено мету і задачі роботи, за участю наукового керівника узагальнені одержані результати, сформульовані висновки. В співробітництві з фахівцями Інституту проблем матеріалознавства ім. І. М. Францевича НАН України (Гарбузом В.В., Кузьменко Л.М.) обговорювались особливості отримання β -ТКФ та методи визначення розчинності КФК), в співробітництві з фахівцями, Інституту електрозварювання ім. Є.О. Патона НАН України (Борисовим Ю.С., Войнаровичем С.Г.), Інституту надтвердих матеріалів ім. В.М. Бакуля НАН України (Логінова О.Б.) були визначені методичні підходи до постановки і проведення експериментів по біосумісним та антибактеріальним покриттям.

Були сплановані і реалізовані спільно з фахівцями з Білоцерківського національного аграрного університету (Рубленко М.В., Андрійцем В.Г., Чемеровським В.О.), ДУ «Інститут травматології та ортопедії НАМН України» (Гайко Г. В., Підгаєцьким В.М.), ДП «Інститут генетичної та регенеративної медицини НАМН України» (Васильєвим Р. Г., Новіковою С. М.), Інституту молекулярної біології і генетики Національної академії наук України (Півень О.О), Ужгородським медичним університетом (Шимоном В.М.), ДП «Науковий центр превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки імені академіка Л.І. Медведя МОЗ України» (Харченко Т.Ф.), дослідження *in vitro* та *in vivo* біологічних властивостей розроблених матеріалів.

Отримання та проведення експериментальних досліджень нестехіометричного ГАП, модифікованої КФК проведено спільно з Коломійцем В.В.; рентгенофазовий аналіз проведено спільно з Биковим О.І.; ІЧ-спектроскопію проведено спільно з Тамілою Т.В.; скануюча електронна мікроскопія виконана спільно з Ковалем О.Ю. та в ТОВ «Наномедтехніка» спільно із Скориком А.М.

Апробація результатів дисертації Основні результати дисертаційної роботи доповідалися та обговорювалися на VI міжнародному медичному форумі: Інновації в медицині – здоров'я нації та IV Міжнародний медичний конгрес. Впровадження сучасних досягнень медичної науки у практику охорони здоров'я України, «Актуальні питання біомедичної та реабілітаційної інженерії» (Київ, 2015), на Першій науково практичній конференції біомедичних інженерів і технологів України: Сучасний стан та перспективи біомедичної інженерії і медичної промисловості України. (Київ, 2015, КПІ), міжнародному форумі «Інноваційні напрямки в генетичній та регенеративній медицині» (Київ, 2016), Участь у Тижні виробництва високотехнологічного обладнання(Китай, м. Фошань, 2017), в Науково-практичній конференції з міжнародною участю «Інноваційні напрями в генетичній та регенеративній медицині»,(2017, Київ), в міжнародній конференції «Передові методики лікування патології кульшового та колінного суглобів», (Харків, 2019), в

Міжнародній науково-технічній конференції «Інженерія поверхні і реновація виробів», (2019, м. Свалява), в 6-тій міжнародній конференції HighMatTech,(2019 Київ, КПІ), в Міжнародній конференції: Наука, технології, таланти (2019, Китай, Шаньтоу), в Міжнародній конференції: Наука, технології, таланти (2019, Китай, Гуканджоу), в інформаційно-комунікативному заході «Перспективи науково-технологічного забезпечення оборонно-промислового комплексу України», (2015, Київ), в 20 Міжнародній конференції «Якість, стандартизація, контроль: теорія та практика», (2020, м. Одеса) та ін.

Публікації

За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано **23** наукових праць з яких **2** монографії, **5** статей - у фахових з технічних наук вітчизняних та закордонних виданнях, які індексуються наукометричними базами даних "Scopus" та ін., **7** тез доповідей у збірниках відповідних наукових конференцій та отримано **5** патентів України на корисну модель.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота складається із анотації, переліку умовних скорочень, вступу, п'яти розділів, висновків, списку використаних джерел і 2 додатків. Загальний обсяг дисертації складає 6,7 авторських аркушів, що включає 51 рисунок, 8 таблиць. Список використаних літературних джерел складається із 171 найменувань.

РОЗДІЛ 1

АНАЛІЗ СУЧАСНОГО СТАНУ ДОСЛІДЖЕНЬ В ГАЛУЗІ МАТЕРІАЛОЗНАВСТВА КАЛЬЦІЙ-ФОСФАТНИХ МАТЕРІАЛІВ ДЛЯ РЕГЕНЕРАТИВНОЇ МЕДИЦИНИ

Через подібність хімічного складу фосфатів кальцію мінеральному компоненту кісткової тканини, матеріали на їх основі знаходять все більш широке застосування в медицині при операціях з відновлення цілісності ушкодженої кістки. Зважаючи на особливості взаємодії КФК з кістковою тканиною, з утворенням прямого контакту та поступовим заміщенням регенератом, її ще називають біоактивною керамікою (БК). В залежності від умов отримання КФК можна змінювати її біоактивність в досить широких межах і отримувати БК від майже біоінертної, до активно приймаючої участь в мінералізації кісткової тканини. Це стимулювало дослідження по взаємодії КФК з тканинами та рідинами організму для встановлення їх остеокондуктивності (інтеграції з кістковою тканиною та підтримкою регенеративних процесів по відновленню кісткової тканини) [5, 10, 11, 1, 15] .

Інтенсивні дослідження біологічної поведінки КФК та можливості підвищення її біоактивності розпочалися в 70-х роках ХХ століття і продовжують збільшуватись і до теперішнього часу в зв'язку з розвитком клітинних технологій в новому напрямку - інженерії кісткової тканини. Новітні технології регенеративної медицини, які базуються на штучному створенні фрагментів втрачених органів, що отримують завдяки диференціюванню аутологічних стовбурових клітин в необхідні клітини, в даному випадку кісткові клітини, гостро потребують нових біосумісних резорбуємих матеріалів, які б ініціювали диференціацію стовбурових клітин в кісткові клітини. Число наукових праць щодо впливу морфології кристалів, хімічного, фазового складу, пористості КФК на відклик кісткової тканини зростає, але чіткого визначення властивостей КФК, які впливають на її остеоіндуктивні властивості дуже мало [12, 15, 16, 18].

Існує точка зору, що ідеальним синтетичним матеріалом для імплантації в кістку, є матеріал, хімічний склад і гранулометрія якого подібні кістковому біомінералу [5, 10, 13]. Враховуючи кристалохімічну аналогію синтетичного і біологічного ГАП, дослідження біологічного мінерального компоненту кісткової тканини та механізмів утворення і резорбції кісткової тканини ретельно досліджуються з метою виявлення факторів впливу на синтетичні кальцій-фосфатні для придання їм остеоіндуктивних властивостей [8, 17, 32].

Зважаючи на те, що КФК має низькі механічні властивості дуже багато дослідницьких робіт проводиться по зміцненню КФК матеріалами, які є біоінертними і іноді навіть токсичними. Не завжди приймається до уваги те, що КФК все таки розчиняється в фізіологічному середовищі, виділяючи в нього і ті матеріали, які використовуються для зміцнення, більш того вони ще й мають малий розмір, що значно погіршує біосумісність композиту. На сьогоднішній день вирішити цю проблему можна за допомогою створення покриттів з ГАП на титанові імплантати, які мають оптимальні механічні властивості. Зараз інтенсивно проводяться дослідження по створенню якісних біосумісних покриттів з антибактеріальними властивостями на титанові імплантати, біосумісність яких недостатня, щоб не мати негативного впливу на кісткову тканину [5, 25, 26].

Зростання наукових праць по даним проблемам свідчить про необхідність вирішення як прикладних, так і фундаментальних досліджень в межах матеріалознавства.

1.1 Особливості методу інженерії кісткової тканини

В останнє десятиліття активно розвивається принципово нова концепція в реконструктивно-відновлювальній хірургії опорно-рухового апарату - так звана інженерія кісткової тканини. Тканинна інженерія базується на принципах молекулярної біології, клітинної біології та науки про біоматеріали. Вона заснована не на заміщенні кісткового дефекту

біоматеріалом, а на регенерації кісткової тканини до повного усунення дефекту. Метод цей базується на використанні гібридних імплантатів нового покоління, які складаються з каркасу «scaffold» і кісткових аутоклітин пацієнта, які диференційовані з аутологічних стовбурових клітин (рис.1.1) [32-35].

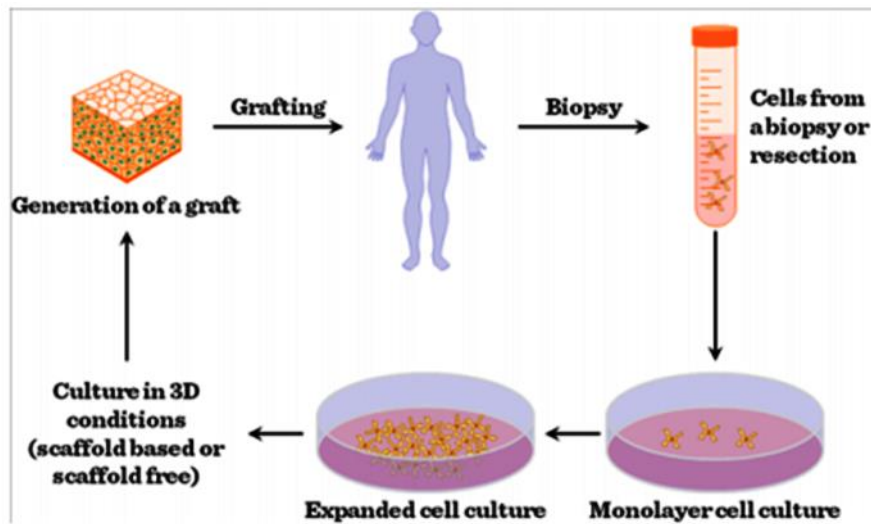


Рисунок 1.1 – Схематичне зображення процесу отримання тканино-інженерних живих еквівалентів тканин [34].

Матриця цього імплантату повинна бути небіологічного походження, біосумісною, забезпечити місця для закріплення й розвитку живих клітин; доставку й утримання клітин і гормонів; підведення живильних речовин і відводу продуктів життєдіяльності; мати біологічний вплив на розвиток клітинної фази і поступово біодеградує заміститись повноцінною кістковою тканиною. Відомо, що нанотопографія пористої поверхні порівняно із гладкою, впливає на морфологічні особливості поведінки клітин, а на їх проліферацію синергетично впливає топографія мікро- й наномасштабів [31, 36]. У матриці необхідної форми відбувається нарощення кістки при введенні стимулів для остеогенезу, тобто у пористому матриксі, сумісному з організмом, культивують стромальні стовбурові клітини пацієнта й певні біомолекули, а потім такий імплантат поміщають у дефектну ділянку кістки. В результаті проліферації (активного поділу) і диференціювання стромальних клітин

формується нова кісткова тканина в поровому просторі матриксу. Звичайно, повинні використовуватися стовбурові клітини самого пацієнта, здатні стати зрілими кістковими клітинами [32-35]. Особлива увага дослідників прикута до унікальних властивостей стовбурових клітин перетворюватися в інші, диференційовані види клітин, що відкриває майже необмежені перспективи розробки нових методів лікування. З розвитком біотехнологій (комплекс маніпуляцій з клітинами і тканинами, виконуваних поза організмом, з метою збільшення їх числа і зміни властивостей) та технологій одержання основи (каркасу) для вирощування живих клітин, стало можливим створювати поза організмом штучний біотехнологічний продукт, функціональний і анатомічний еквівалент частини організму і виникла гостра проблема, пов'язана з матеріалами, які будуть слугувати каркасом для культивування аутоклітин. [36-40]. Існуючі біоматеріали по здатності впливати на остеогенетичні процеси розподіляються на остеокондуктивні, остеоіндуктивні і остеонейтральні матеріали [4, 8, 10 -13] .

Остеоіндуктивні матеріали – спроможні індукувати диференціювання клітин в остеотворні (хондроцити та остеобласти) з оточуючих поверхневих некісткових тканин. Матеріали, які через наявність у їхньому складі чинників зростання мають здатність викликати *in situ* відкладення кісткової речовини, зумовлюючи розвиток (в області їх введення) активного остеогенезу, а, отже, стимулюють формування кістки природним чином.

Остеокондуктивні матеріали – здатні до адгезії та зв'язуванню остеогенних клітин, забезпечуючи біологічні потоки й неоваскуляризацію та підтримуючи процеси проліферації і диференціювання клітин. Ці матеріали відіграють роль матриці, вздовж якої відбувається новоутворення кісткових структур (завдяки чому вони сприяють відновленню цілісності й функціональності кісткового органу). Остеокондуктивністю часто володіють і поруваті біоінертні матеріали, які у контакті з природною кістковою тканиною теж сприяють проникненню кісткових клітин (це, наприклад, пористий титан, тантал та біоінертна кераміка). **Остеонейтральні матеріали** не впливають на

остеогенез і, будучи інертними і нерозчинними, використовуються для забезпечення механічної цілісності дефектів (ендопротези суглобів, деталі для остеосинтезу і т.п.). Для використання біоматеріалу в якості матриці в біоінженерних конструкціях, необхідно, щоб вони володіли остеоіндуктивними властивостями [12,32,34]. Досі вважається, що остеоіндуктивними властивостями можуть володіти тільки трансплантати [41-45], які активно використовують зараз в регенеративній медицині. За походженням біологічні матеріали розподіляються на аутогенні (донором є сам пацієнт), алогенні (донором є інша людина), ксеногенні (донором є тварина) [45-48]. Використання матеріалів біологічного походження має багато недоліків: передача інфекції від донора, складнощі при консервації трупних органів, подолання тканинної несумісності, юридичне та морально-правове забезпечення забору органів, неконтрольована ступінь резорбції та ін. Використання аутокістки теж має багато недоліків, особливо, якщо необхідні великі об'єми, - це додаткові операції, обмеженість в кількості, можливі втрати крові, через посилене кровопостачання кісток, які використовуються для трансплантації, і неконтрольована швидкість резорбції. Таким чином, вищезазвані ускладнення обмежують використання як ало- так і аутологічних матеріалів і спонукають до пошуку альтернативних.

На сьогоднішній день, практично всі імплантати, що використовуються для відновлення кісткових тканин, не володіють властивостями, які відповідають властивостям живих тканин. Більш того, завдяки значному досвіду останніх років, в даний час основний інтерес представляє не тільки заміна пошкоджених тканин імплантатами, але і довгострокове відновлення зі спрямованою регенерацією в місці дефекту [45, 49-50].

Ще в 1975 році Frame [46] перерахував якості, якими повинен володіти ідеальний матеріал, імплантований в кістку: хороша біосумісність; пористість – для забезпечення проростання кістки; біодеградація - щоб уникнути ослаблення або інфікування матеріалу після утворення кістки; можливість стерилізації без зміни якостей; доступність і низька ціна, якщо до цього

переліку додати ще остеоіндуктивність - здатність визивати остеогенез - вийде майже вичерпний список умов, якими керується сучасне медичне матеріалознавство в області конструювання тканинно-інженерних систем, що потенціують репаративний остеогенез.

Отже, до матриці для культивування клітин висуваються наступні вимоги [12, 13, 26, 35, 36, 49, 51-56]:

- 1) за біологічними властивостями – відсутність реакцій із боку імунної системи організму, а, натомість, необхідність зрощування з кістковою тканиною і стимулювання процесу її створення (остеосинтезу);
- 2) за хімічними властивостями – відсутність небажаних хімічних реакцій із тканинами й міжтканинними рідинами, а також виділення у такі рідини сторонніх іонів (оскільки найважливіший вплив на біологічне середовище справляють хімічні, біохімічні та електрохімічні чинники);
- 3) здатність до підтримки клітинної адгезії і проліферації, що в свою чергу сприяє міжклітинній взаємодії і міграції клітин протягом тривалого періоду;
- 4) контрольована біодеградація, яка відповідає швидкості росту кісткової тканини;
- 5) здатність імітувати нативний тривимірний каркас кістки, а саме наявність взаємозв'язаної і розвиненої структури пор від нано- та мікророзміру до макророзміру (500-1000 мкм), що забезпечать можливість прикріплення клітин, їх проліферації та диференціювання, пророщення судин і регенерату;
- 6) особливі механічні властивості, які підходять для відновлення або заміни втрачених, або пошкоджених кісткових тканин;
- 7) здатність до біодеградації у відповідності з експериментальними часовими рамками, тим самим забезпечуючи поступове заміщення біоматеріалу на нову тканину.
- 8) здатність зберігати свій об'єм в дефекті до повного заміщення кістковою тканиною при постійній резорбції з утворенням доступу для регенерату;
- 9) здатність індукувати утворення кісткових клітин захищати інкорпорований агент та підтримувати його біологічну активність. [12, 13, 26, 35, 36, 49].

На думку багатьох вчених, найбільш підходящими матеріалами для використання в тканинній інженерії у якості матриці для іммобілізації різних біологічно активних речовин є кальцій-фосфатна кераміка (КФК), яка складається з біосумісних фаз: ГАП та β -ТКФ [5, 12, 13, 15, 37, 48, 57]. Лідируюче місце серед безлічі біоматеріалів, які використовуються для створення матриці під культивування клітин, займає ГАП, завдяки його подібності до елементного і фазового складу з мінеральним компонентом кісткової тканини. Саме повна аналогія їх структур і є основою цієї впевненості, але в цей же час багато дослідників вважають ГАП повністю інертним матеріалом [8, 9, 14, 15, 50]. Причина цього, залежність властивостей ГАП від багатьох чинників його синтезу, формування виробів, умов термообробки. Зважаючи на високу спорідненість синтетичного ГАП з біологічним ГАП, пошук можливостей підвищити його біоактивність активно продовжується і перш за все базується на результатах дослідження процесів біомінералізації в організмі людини [58-64]. До цього спонукає і те, що розроблені біоматеріали повинні включитися в природні процеси відновлення кісткової тканини не порушуючи, а сприяючи їх нормальному протіканню.

1.2 Властивості мінерального компоненту кісткової тканини

Кістка – це активно функціонуючий і безперервно змінний протягом життя орган, який є неоднорідним за гістологічною будовою та біохімічним складом. Кісткова тканина є натуральним кераміко-органічним композиційним матеріалом, до головних складових якого належать колаген 20-30% (мас%), фосфат кальцію 50-69% (мас.) і вода 9-10% (мас.) [12,13]. Кістка розчиняється і відновлюється за рахунок спеціальних типів клітин, які можна класифікувати за їх функціями: остеобласти і остеокласти. Остеобласти - це диференційовані мезенхімальні стовбурові клітини (МСК), які продукують кістку. Остеокласти розщеплюють кістку, демінералізуючи її лимонною кислотою і розчиняючи

колаген ферментами. Ремоделювання кістки (резорбція і формування) відбувається постійно [1,7,8, 12].

Супрамолекулярна архітектоніка кісткової тканини базується на дуже суворій організації обох її компонентів – органічного та мінерального. Мінералізація – заключний етап процесу кісткоутворення, що розпочинається з розвитку органічного матриксу кісткової тканини, та визначає структуру мінерального компоненту. Важливою якістю кістки є наявність в ній системи взаємопов'язаних пор із розмірами 100–300 нм та 10–50 мкм у кортикальній кістковій тканині й 200–600 мкм – у трабекулярній (губчастій). Розміри й взаємозв'язок пор впливають на біологічні потоки, процеси неоваскуляризації та життєдіяльність (проліферацію) клітин [2,12,13,32].

Мінеральний компонент кістки часто намагалися описати як суміш нерозчинних солей, однак переконливих даних щодо існування декількох солей в мінеральному компоненті немає. За належних фізіологічних умов стабільною є лише одна тверда фаза, що містить кальцій і фосфат, – ГАП [4, 7, 12, 14, 65]. В будь-якому разі, мінеральний компонент кісткової тканини завжди містить низку домішок, а саме карбонат (6%), цитрат (1%), натрій (0,7%) магній (0,7%), а також сліди фтору. Ці домішки відіграють певну роль в функціонуванні кісткової тканини. Проведено багато досліджень по впливу карбонат іонів, магнію, фтору і цитрату на властивості мінерального компоненту та мінерального обігу в організмі. Незважаючи на велику кількість досліджень, однозначних відповідей по впливу цих домішок на властивості кістки немає [7, 11, 12, 26, 53, 59]. Дуже багато питань по впливу карбонат іонів [66-70]. Їх підвищена кількість спостерігається в кістковій тканині з певними захворюваннями, що в певній мірі трохі стримало повальне введення карбонат іонів в структуру синтетичного ГАП, хоча такий композит має більшу розчинність, що є його перевагою. Магній сприяє утворенню кристалічної структури вітлокіту [71] (синтетичний аналог β -ТКФ), але досліджень по впливу магнію на якість кісткової тканини немає. Неоднозначне відношення до фтору. Заміщення гідроксид іонів на фтор в структурі апатиту

приводить до її стабілізації і зниженню розчинності [69], завдяки чому почали фторувати зубну пасту та воду, що привело до цілого ряду захворювань в організмі в цілому і зокрема в суглобах і кістковій тканині до того ж і до захворювання емалі та дентину зубів (флюороз). Це відбувається через зміну розчинності кристалів біологічного апатиту, що приводить до порушення мінерального обігу в організмі (гомеостазу кальцію). Роль цитрат іона, як важливого структурно- функціонального компонента кісток, визнається з сорокових років [72]. Майже всі дослідження, проведені по цитрат іону, доводять його важливу роль в синтезі біологічного апатиту. Було виявлено, що цитрат іон прикріплюється до поверхонь кристалів ГАП і пригнічує їх ріст [73-75], але в різному ступені, що формує кристал, потім виявлено вплив лимонної кислоти на утворення і чистоту біологічного апатиту [73, 77]. Дослідження, проведені в роботах [78,79] показали, що іони цитрату можуть міцно зв'язуватися з іонами Са, утворюючи стабільну тримірно-упорядочену фазу Са-цитрат- тетрагідрат (Са-Cit-ТН), уздовж осі [001] на {01 $\bar{1}$ 0} поверхнях кристала ГАП, імовірно ідеально гексагонального, і здатні регулювати ріст кісткового кристалу шляхом адсорбції в певних напрямках. Цитрат також стабілізує ГАП в порівнянні з іншими фосфатами кальцію, можливо, через відповідність відстані між кінцевими групами СОО- в цитраті і параметром решітки *c* в гексагональному ГАП. Крім того, цитрат, пов'язаний з колагеном, ініціює кристалізацію апатиту *in vitro*. Таким чином, цитрат може відігравати важливу роль не тільки в стабілізації існуючих нанокристалів апатиту, а й в зародкоутворенні кристалів під час біомінералізації в кістки.

Мінеральні речовини кістки є кристалами ГАП та аморфного фосфату кальцію, співвідношення між якими змінюється залежно від віку та умов харчування. У метаболічних процесах кісткової тканини активність мінеральної складової, яка на 97% сформована з фосфату кальцію, залежить від швидкості її резорбції. Згідно із законами розчинності та хімії поверхневих явищ, аморфний фосфат кальцію найбільш розчинний і першим бере участь в

обмінних процесах, згодом розчиняються й поступово щезають малі кристали апатиту, а середні розміри тих, що залишилися, інтегрально зростають [7, 65].

При розчиненні мінеральної компоненти іони кальцію та фосфат-іони переходять в інтерстиціальну рідину (рідина, що омиває кристали біогенного ГАП), а потім потрапляють у рідину між клітинами та в кров'яне русло. Цей процес зворотний, тобто обмінні процеси у мінеральній компоненті відбуваються шляхом встановлення хімічної рівноваги між рівнями концентрації кальцію й фосфату в сироватці крові та кристалах біогенного апатиту. При розчиненні мінерального компоненту рН рідини біля кристалів ГАП знижується від нейтрального до 5,5 – 5,0. Сироватка крові є пересиченим розчином мінеральної речовини кістки [7,12,54]. Під час обмінних реакцій іони переходять через поверхню розподілу кристал – розчин. Природа цієї поверхні ще недостатньо добре відома. Ззовні від поверхонь кристалу в оточуючому його просторі створюються сильні електричні поля, під чією дією формується шар іонів, на якому, в свою чергу, з'являється ізолюючий гідратний шар води. Обмін іонами між розчином і цим гідратним шаром відбувається з великою швидкістю, як і між гідратним шаром та поверхнею кристалу.

Існує припущення, що біологічний ГАП формується завдяки утворенню зародків кристалізації на макромолекулах колагену та їх подальшому зростанню за рахунок іонного транспортування й осадження з рідини організму за такими механізмами [7, 12, 54]:

1. Ініціація формування ГАП шляхом епітаксії на органічній матриці. Основним нуклеатором процесу кристалізації є сіалопротеїн. Кістковий сіалопротеїн є важливим компонентом позаклітинного матриксу кістки і становить приблизно 8% всіх неколагенових білків. Тривимірний модель сіалопротеїну передбачає, що білок забезпечує гнучкий шаблон для швидкої самозборки іонів кальцію і фосфату, таким чином, зародка росту кристалів ГАП. Одна з можливостей полягає в тому, що сіалопротеїн діє як ядро для утворення перших кристалів апатиту. Оскільки апатит формується вздовж

колагенових волокон всередині позаклітинного матриксу, сіалопротеїн може допомогти направити, перенаправити або подавити зростання кристалів.

2. Формування ГАП шляхом епітаксії на раніше утворених кристалах (їх гідратному шарі) [7]. Є підстави припускати, що більшість кристалів ГАП формується шляхом епітаксії на гідратній оболонці "первинного" кристала, тобто сформованого на органічній матриці. Утворення гідратного шару обумовлено електричним полем, що виникає навколо мінералу в зв'язку з асиметрією іонних груп, що входять до його складу.

3. Перебудова різних фаз мінералів в ГАП під впливом іонного насоса клітин остеоцитарного ряду. У процесі мінералізації органічного матриксу з різних причин можуть виникати відхилення в структурі мінералу і для перетворення їх в ГАП потрібен механізм, що забезпечує прискорену розбудову. Цей процес визначається дією остеоцитарного насоса, що викликає почергове зменшення і збільшення в інтерстиціалній рідині концентрації мінералоутворюючих іонів (ефект «гойдалок»). Цей механізм забезпечує обмін іонів Ca^{2+} між кістковою тканиною і кров'ю, що забезпечує в тому числі сталість рівня кальцію в крові [66].

Незважаючи на великий масив публікацій, присвячених дослідженню кісткової тканини, остання залишається однією з найменш вивчених структур організму, особливо це відноситься саме до мінерального компоненту кісткової тканини, ГАП [4, 54, 56]. Значною мірою це обумовлено труднощами визначення істинних параметрів мінерального матриксу через те, що кісткова тканина на етапі підготовки до дослідження піддається, хімічним, температурним, механічним та іншим впливам. В результаті, як зазначає Kim зі співавторами [58], можливі трансформації мінеральної фази, пошкодження мінералів, зміна їх розмірів і так далі.

Кістковий мінерал складається з нанорозмірних голкуватих кристалів ГАП - $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ - у вигляді нанопластинок довжиною 40–60 нм, шириною 20–30 нм і товщиною 1,5–5 нм. Кристали зорієнтовані таким чином, що їхня поздовжня вісь паралельна осі фібрил колагену [11-15]. Колагенові

молекули, складаються з трьох спіральних звитих поліпептидних ниток, що збираються у волокна діаметром 100–2000 нм. [34,14, 58].

Біологічний ГАП кристалізується в гексагональній сингонії просторової групи $R\bar{6}_3/m$ ($a = b = 9.432 \text{ \AA}$ і $c = 6.881 \text{ \AA}$, $Z = 1$, $\rho = 3,146 \text{ г / см}^3$), кристали являють собою гексагональні призми, витягнуті уздовж осі c . Хоча в деяких роботах є інформація, що утворення кристалів біологічного ГАП починається з моноклінної структури ($P2_1/b$), аналогічної структурі хлорапатиту, яка може бути отримана в хімічно чистих умовах [78, 80, 81]. Це підтвердження існування моноклінної фази гідроксиapatиту має потенційне значення в декількох областях. Наприклад, підвищується інтерес до дослідження діелектричних властивостей моноклінної фази, як з точки зору фундаментальних властивостей твердого тіла (ймовірно, аналогічних властивостям моноклінного хлорапатиту), так і з точки зору можливої участі біоелектричних ефектів на ріст кісток. Існування моноклінного ГАП також усуває раніше очевидну невідповідність між морфологічною симетрією (стрічковою) розвитку кристалів зубної емалі і їх кристалічної симетрією, яка раніше вважалася обмеженою гексагональною, але тепер визнається, що вона може бути моноклінною. Моноклінна форма ГАП є більш упорядкованою і термодинамічно більш стабільною формою навіть при кімнатній температурі [82, 83]. Стехіометричне співвідношення ГАП $Ca/P = 1,67$; Розрахована теоретична щільність – $3,219 \text{ г/см}^3$ [13,14,59]. В організмі співіснують досить різні варіанти мікрокристалів ГАП (кортикальної і губчастої кісток, дентину й емалі зуба), що відрізняються як за морфологією, так і хімічними властивостями. Кісткові мікрокристали мають голкоподібну або пластинчасту морфологію і середні розміри від $250\text{--}50 \text{ \AA}$ для кістки і до $1300\text{--}300 \text{ \AA}$ для емалі зуба. [4, 12, 59]. Обмінні реакції, що відбуваються у мінеральній складовій, в основному проходять на поверхнях кристалів (їхня ж питома поверхня досягає $200 \text{ м}^2/\text{г}$). Внутрішня решітка, у котрій не вистачає якогось одного іону, надає кристалові заряд, що врівноважується зарядом шару іонів протилежного знаку,

який адсорбувався на кристалічній поверхні. При цьому потяг до мінералізації притаманний саме пересиченим рідинам організму.

З літератури відомо, що позиції кальцію, як у синтетичних, так і в біогенних матеріалах можуть займати одно-, дво- і тривалентні катіони (K, Na, Mg, Sr, Ba, Zn, Cu, Pb, Ni), а позиції аніонних груп PO_4 - одно-, дво- і тривалентні аніони (SiO_4 , CO_3 , SO_4). У той же час OH групи гідроксиапатиту можуть заміщати одно- і двовалентні аніони (F, Cl, O, CO_3) [3, 14, 52].

Слід зазначити, що елементний склад і морфологія як біологічних, так і синтетичних гідроксиапатиту кальцію розрізняється залежно від формування та умов отримання для синтетичного ГАП, а для біогенного ГАП - від віку і ділянки кісткової тканини, дієти. Спостерігались дефекти у вигляді двовимірних і тривимірних утворень зі стержневидною, кулястою, фрактальною, пластинчастою структурою [58, 60, 61].

Кристалічна структура апатитів стабільна і досконала, а апатитоподібні фази часто розглядаються як найбільш ймовірний кінцевий продукт багатьох реакцій. Примітно, що в більшості випадків навіть незначна зміна концентрації допанта призводить до суттєвих змін фізико-хімічних властивостей речовини при збереженні загальної структурної приналежності [2-4, 12- 15, 52, 56]. Введення будь-якого іону передусім змінює розчинність кристалу, що й спричинює зміни у мінеральному обміні. Склад того чи іншого кристалу відображає склад оточуючих рідин [7, 55, 62,63].

Різноманітність і частка іонних заміщень в біологічному ГАП менше, ніж в геологічних апатитах і не тільки через обмеженість доступних елементів в живих організмах. Вони розрізняються умовами утворення заміщень, крім того, реальну структуру і склад біологічного ГАП складно ідентифікувати через труднощі прецизійного рентгенографічного аналізу. Значна ширина дифракційних ліній, обумовлена малими розмірами кристалів біологічного ГАП, знижує точність порівняльного аналізу дифрактограм. Ускладнює однозначну ідентифікацію той факт, що різні мінерали, відомі як «апатити», дають однакові дифрактограми (якщо не враховувати незначних варіацій) [14,

64]. Більш того, за даними електронного парамагнітного резонансу [55, основна частина мікроелементів кісток і зубів, локалізована на поверхнях кристалів в карбонатних домішкових фазах, а не в структурі ГАП.

Підсумовуючи вищесказане, можна виділити основні чинники, що впливають на ремоделювання кісткової тканини і які можна використати при розробці синтетичних фосфатів кальцію:

- мінералізація – заключний етап процесу кісткоутворення, що розпочинається з розвитку органічного матриксу кісткової тканини. Ріст кристалів біологічного ГАП відбувається шляхом епітаксії на колагенових волокнах. Підвищення концентрації іонів кальцію та фосфат іонів в інтерстиціальній рідині стимулює процес мінералізації кісткової тканини. Це означає, що КФК має містити фазу ГАП, аналогічну біогенному ГАП для підтримки процесу епітаксії і мати фазу фосфату кальцію підвищеної розчинності;

- мінеральний компонент кісткової тканини складається з кристалічної фази - ГАП та аморфного фосфату кальцію, який активно приймає участь в обмінних процесах. Обмінні реакції, що відбуваються у кристалічній складовій, в основному, проходять на поверхнях кристалів, всередині кристалів співвідношення Ca/P стехіометричне і становить 1,67. Це означає, що при імплантації КФК з фазами різної розчинності буде відбуватись зміна фазового складу, з розчиненням фаз, які відрізняються від стехіометрії, що вплине на подальші властивості матеріалу, що залишається;

- розчинення мінерального компоненту відбуваються при пониженні рН в зоні розчинення до 5,5-5 за допомогою лимонної кислоти, утворені в результаті цитрати регулюють чистоту, розмір та форму утворених кристалів апатиту. Це можна використати при синтезі матеріалів, наближених до біологічного ГАП, та при дослідженні матеріалів на розчинність;

- обмінні процеси в мінеральному компоненті відбуваються шляхом встановлення хімічної рівноваги між рівнями концентрації кальцію й фосфату в сироватці крові та кристалах біогенного апатиту через гідратний шар та

поверхнею кристалів ГАП. Це означає, що в КФК повинна бути певна кількість швидкорозчинної фази, яка після розчинення створює умови для пролонгованої мінералізації;

- іонні заміщення не руйнують структуру ГАП, але змінюють його біологічні властивості. Це треба враховувати при виборі елементів для заміщення, їх кількості і до яких змін в мінеральному обігу це може привести;

- важливою якістю кістки є наявність в ній системи взаємопов'язаних пор із розмірами 100–300 нм та 10–50 мкм у кортикальній кістковій тканині й 200–600 мкм – у трабекулярній (губчастій). Розміри й взаємозв'язок пор впливають на біологічні потоки, процеси неоваскуляризації та життєдіяльність (проліферацію) клітин. Це треба враховувати при одержанні матеріалів з метою їх повноцінного заміщення і активної клітинної взаємодії в процесі заміщення.

1.3 Синтетичні аналоги мінерального компоненту кісткової тканини

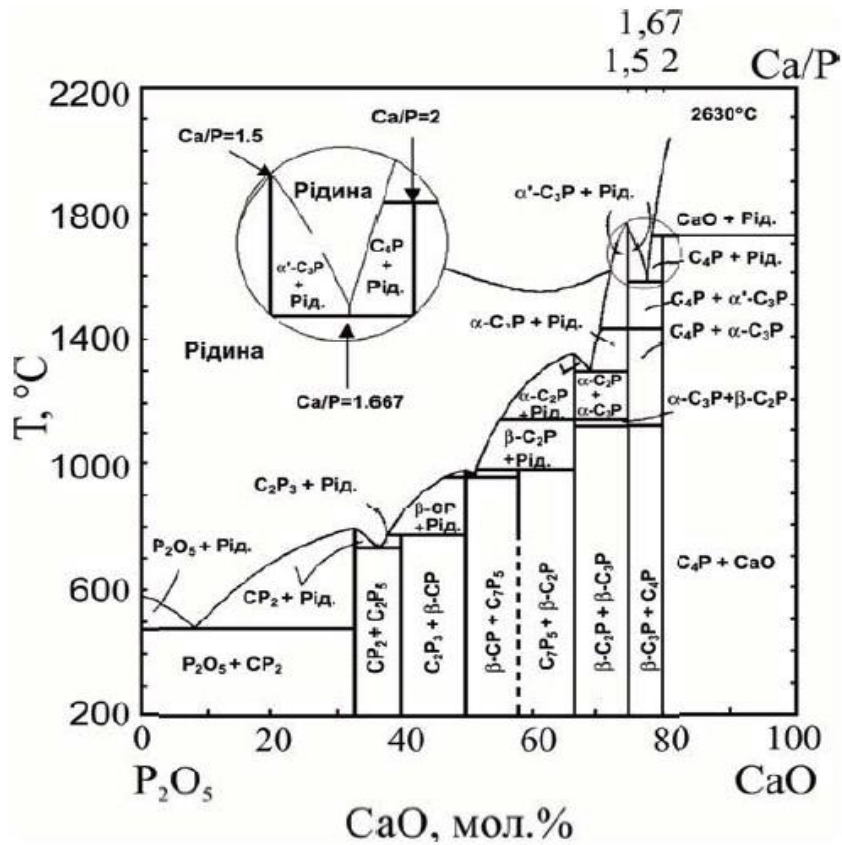
Завдяки аналогії з мінеральним компонентом кісткової тканини найбільш поширеними до використання в реконструктивно-відновлювальній хірургії кісткової тканини є кальцій фосфатні матеріали, що мають ідеальну біосумісність та спорідненість до кісткової тканини.

Дослідження по відновленню кісток синтетичним ГАП відомі принаймні з 1892 року, в той час як самі ранні, добре задокументовані систематичні дослідження ортофосфатів кальцію були виконані на початку 20 століття. Інформація про застосування матеріалів на основі фосфатів кальцію для репарації кісткової тканини з'явилася в 1920 році [69], але ще до 1975 р. ці матеріали були погано вивченими, що ускладнювало правильне оцінювання успіху чи невдачі при їх застосуванні. Річ у тім, що біологічні властивості КФК залежать від багатьох чинників, що у кінцевому підсумку впливає на її резорбцію в організмі й створення певних умов для роботи регенеративних механізмів організму. Тільки через приблизно 50 років вони стали об'єктом всебічного вивчення як біоактивні матеріали. Важливою перевагою КФК, що

відрізняє її від трансплантатів, крім відсутності імунної реакції, є можливість регулювання її властивостей у широких межах. Можна змінювати пористість, фазовий та хімічний склад, морфологію частинок, мікроструктуру стан поверхні та ін. і, таким чином, регулювати швидкість деградації в організмі. Можна виготовляти вироби різної форми, КФК легко стерилізується і зберігається. Дуже важливо підібрати до кожного клінічного випадку необхідний набір властивостей і відповідно скоригувати склад матеріалів та технології їх виготовлення. Неадекватне використання цих матеріалів може привести до неочікуваних результатів, замість повноцінного відновлення ураженого органу, адже у процесі виготовлення ГАП та β -ТКФ існує багато параметрів, що визначають зміну їхніх кінцевих властивостей і, як наслідок, якість біоматеріалу. В результаті при незмінному хімічному складі можна одержати матеріал, у якому будуть присутні, разом із біосумісними, і несумісні фази або ж матеріал із мінімальною здатністю до взаємодії з фізіологічним середовищем. [4, 12, 13, 15, 49, 64].

Відповідно до діаграми фазового стану у системі $\text{CaO-P}_2\text{O}_5$ існує 12 фосфатів кальцію (рис. 1.2), але широке використання в медицині знаходять лише два з них: ГАП, який є повним аналогом мінерального компоненту кісткової тканини за кристалічною структурою, та трикальцієвий фосфат β -модифікації (β -ТКФ) [4, 12, 13, 15, 49, 64]. Перелік, фосфатів кальцію, які поширені до дослідження та використання, їх фізико-хімічні властивості, кристалографічні дані, в таблицях 1.1 і 1.2.

До ортофосфатів кальцію відносять солі трьохосновної фосфорної кислоти H_3PO_4 , що містить іони H_2PO_4^- , HPO_4^{2-} или PO_4^{3-} [62, 64]. Відповідно до числа іонів кальцію і водню, приєднаних до фосфатного аніону PO_4^{3-} , ортофосфати кальцію підрозділяються на монофосфати $(\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4))_2$, діфосфати CaHPO_4 і трифосфати $(\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2)$ – одно-, дво- і тризаміщенні фосфати кальцію.



C=CaO, P- P₂O₅, C₇P₅=7CaO· P₂O₅, інші скорочення аналогічні.

Рисунок 1.2 – Фазова діаграма системи CaO-P₂O₅ [4, 13-15]

Не всі фосфати кальцію можна синтезувати у водному розчині, у зв'язку з цим їх поділяють на низькотемпературні та високотемпературні. Перші одержують унаслідок хімічних реакцій у розчині при температурах до 100 °С, другі - шляхом твердофазного синтезу при високих температурах, чи розкладанням нестехіометричного ГАП при температури вище 750 °С. Основним структурним елементом всіх апатитів кальцію є фосфатні тетраедри PO₄, що формують жорсткий тривимірний каркас з осьовими каналами вздовж кристалографічного напрямку [001] [4, 10, 13-15].

Молярне відношення Ca/P цих фосфатів кальцію знаходиться в межах $1.0 \leq \text{Ca/P} \leq 2.0$, вони є біоактивними та мають широкий спектр застосувань [4, 13, 15]. При характеристиці фосфатів кальцію важливе значення має співвідношення Ca/P, яке визначає швидкість розчинення і механічні

властивості матеріалу [51, 84, 85]. Чим нижче молярне співвідношення Ca/P, тим більш кислий і водорозчинний ортофосфат кальція [15, 64, 68].

Таблиця 1.1– Ортофосфати кальцію, їх розчинність, молярне відношення [4, 15]

Сполука	Формула	Молярне відношення Ca/P	Розчинність при 25 °С, г/літр
Дикальцієвий фосфат дигідрат ДКФД, DCPD ¹ ; брушит ²	$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	1,0	~0.088
Дикальцієвий фосфат ангідрат ДКФА, DCPA ¹ ; монетит ²	CaHPO_4	1,0	~0.048
Октакальційфосфат ОКФ, ОСР ¹	$\text{Ca}_8(\text{HPO}_4)_2(\text{PO}_4)_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	1,33	~0.0081
α -трикальційфосфат α -ТКФ, α -ТСР ¹	$\alpha\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1,5	~0.0025
β -трикальційфосфат β -ТКФ, β -ТСР ¹ ; вітлокит ²	$\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1,5	~0.0005
Аморфний фосфат кальцію АФК, АСР ¹	$\text{Ca}_x(\text{PO}_4)_y \cdot n\text{H}_2\text{O}^\Gamma$	1,0-2,2	–
Кальцій-дефіцитний Гідроксиапатит, КДГА, CDHA ¹	$\text{Ca}_{10-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{PO}_4)_{6-x} \cdot (\text{OH})_2$ $0 < x < 1$	1,5-1,67	~0.0094
Гідроксиапатит, ГАП, HA ¹	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	116,8	~0.0003
Оксиапатит ОГА, ОНА ¹	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6$	біля 69	~0.087

1 – англomовна абрeвіатуpа сполук; 2 – як мінерал. Розчинність зазначено як логарифм добутку концентрації іонів для даної формули над осадом (без гідратної води) $\log K_s$, моль·л⁻¹ за рН \approx 7. а – сполуки, які не одержують осадженням із водних розчинів; б – стабільний за температур понад 100 °С; в – метастабільна фаза; г–n = 3–4.5; 15–20 % H₂O

Таблиця 1.2– Кристалографічні дані фосфатів кальцію [4, 8, 14-15]

Сполука	Просторова група	Параметри елементарних клітин	Густина, г/см ³
МКФМ	триклинний $P\bar{1}$	$a=5.6261(5)\text{Å}$, $b=11.889(2)\text{Å}$, $c=6.4731(8)\text{Å}$, $\alpha=98.633(6)^\circ$, $\beta=118.262(6)^\circ$, $\gamma=83.344(6)^\circ$	2.23
МКФ	триклинний $P\bar{1}$	$a=7.5577(5)\text{Å}$, $b=8.2531(6)\text{Å}$, $c=5.5504(3)\text{Å}$, $\alpha=109.87(1)^\circ$, $\beta=93.68(1)^\circ$, $\gamma=109.15(1)^\circ$	2.58
ДКФД	моноклінний Ia	$a=5.812(2)\text{Å}$, $b=15.180(3)\text{Å}$, $c=6.239(2)\text{Å}$, $\beta=116.42(3)^\circ$	2.32
ДКФ	триклинний $P\bar{1}$	$a=6.910(1)\text{Å}$, $b=6.627(2)\text{Å}$, $c=6.998(2)\text{Å}$, $\alpha=96.34(2)^\circ$, $\beta=103.82(2)^\circ$, $\gamma=88.33(2)^\circ$	2.89
ОКФ	триклинний $P\bar{1}$	$a=19.692(4)\text{Å}$, $b=9.523(2)\text{Å}$, $c=6.835(2)\text{Å}$, $\alpha=90.15(2)^\circ$, $\beta=92.54(2)^\circ$, $\gamma=108.65(1)^\circ$	2.61
α -ТКФ	моноклінний $P2_1/a$	$a=12.887(2)\text{Å}$, $b=27.280(4)\text{Å}$, $c=15.219(2)\text{Å}$, $\beta=126.20(1)^\circ$	2.86
β -ТКФ	ромбодричний $R\bar{3}cH$	$a=b=10.439(1)\text{Å}$, $c=37.375(6)\text{Å}$, $\gamma=120^\circ$	3.07
ГА (або ГАП)	моноклінний $P2_1/b$ або гексагональний $P6_3/m$	$a=9.84214(8)\text{Å}$, $b=2a\text{Å}$, $c=6.8814(7)\text{Å}$, $\gamma=120^\circ$, моноклінний. $a=b=9.4302(2)\text{Å}$, $c=6.8911(2)\text{Å}$, $\gamma=120^\circ$, гексагональний	3.16

1.3.1 Біосумісні фази фосфатів кальцію

Серед різноманіття кальцій-фосфатних матеріалів, ГАП становить найбільший інтерес завдяки його структурній і хімічній схожості з кістковою тканиною. ГАП - $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, належить до групи апатитів заснованих на фосфатній групі PO_4^{3-} , яка складає «скелет» елементарної комірки. ГАП серед усіх фосфатів кальцію має найменшу розчинність (табл. 1.1), а, отже, і найменшу біорезорбіруемість. Вкрай мала швидкість розчинення (близько 15 мкм на рік) є одним з головних недоліків синтетичного ГАП, через що багато дослідників і його користувачів віднесли ГАП до біоінертних матеріалів [8, 9, 41, 45, 50]. На відміну від фторапатиту і хлорапатиту кальцію, кристалічна

структура ГАП може бути представлена у вигляді двох сингоній: моноклінної і гексагональної. Моноклінна сингонія ($P2_1/b$) може бути отримана в хімічно чистих умовах. Однак частіше через недосконалість структури, зумовленої наявністю вакансій, домішок впровадження та заміщення, і обумовлених ними спотворень в кристалічній решітці стає енергетично вигідним утворення ГАП в гексагональної сингонії $P6_3/m$ [3, 14, 56, 81]. Моноклінна форма НАР є найбільш упорядкованою і термодинамічно найбільш стабільною формою навіть при кімнатній температурі [80, 81]. Оскільки структурні відмінності між гексагональним та моноклінним ГАП дуже тонкі, ідентифікувати моноклінний ГАП можливо методами електронної мікроскопії та електронної дифракції. Відкриття моноклінної форми сталося набагато пізніше, ніж гексагональної форми. Основна відмінність між моноклінним ГАП і гексагональним ГАП полягає в орієнтації гідроксильних груп. У моноклінному НАР всі групи ОН в даній колонці спрямовані в одному напрямку, а в наступному стовпці напрямок змінюється на протилежне. В гексагональному НАР сусідні ОН вказують в протилежних напрямках. Хоча структурні відмінності між моноклінним і гексагональним ГАП дуже малі, їх достатньо, щоб зробити сильний вплив на деякі з його фізико-хімічних властивостей [81].

В елементарній комірці десять атомів кальцію займають кристалографічно дві нееквівалентні позиції: атоми Са (1) - 40% об'єднують PO_4 тетраедри, що формують осьовий канал уздовж кристалографічного напрямку (001), на площинах яких розташовуються іони кальцію Са (2) - 60% (рис.1.3).

Уздовж осі сформованого каналу іонами Са (2) розташовані ОН-групи на гвинтовій осі 6_3 . В результаті, кожен атом Са (1) утворює комплекс CaO_9 , а атоми Са (2) спільно з ОН групою формують комплекс CaO_6OH [86].

Для опису структури ГАП зручно ідеальну стехіометричну формулу $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ розписати, враховуючи різні позиції, що займають атоми кальцію в решітці ГАП, як $Ca_4Ca_6(PO_4)(OH)_2$. Дана особливість характерна для всього класу апатитів кальцію.

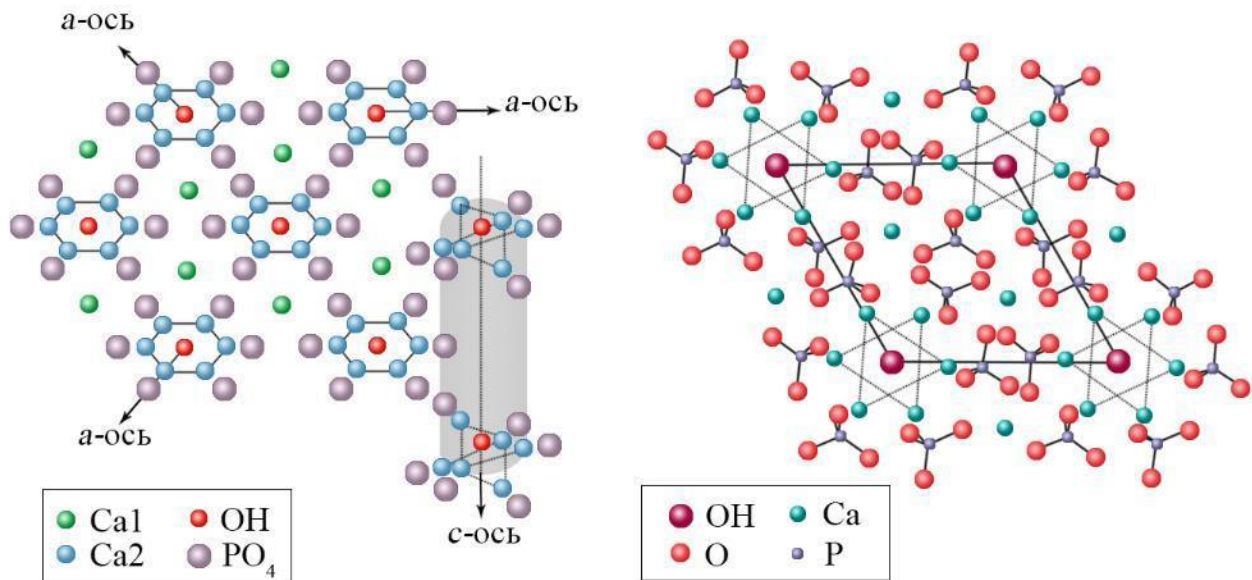
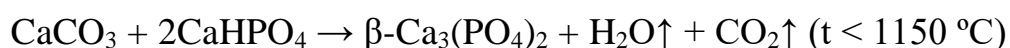


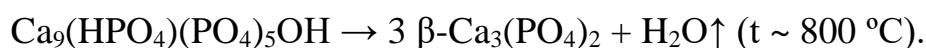
Рисунок 1.3 - Кристалічна структура ГАП: в напрямку c -осі, розташованої перпендикулярно a -осям (а); проекція структури ГАП на базисну площину (001) (б) [3, 14]. (б) [87]

Структура стехіометричного ГАП без домішок дуже стійка до розкладання і витримує досить високі температури ($> 1460\text{ }^{\circ}\text{C}$). Через низьку розчинність стехіометричний ГАП використовується в чистому вигляді досить обмежено, в основному для виготовлення щільної кераміки, виробів, які використовуються для імплантації в м'які тканини та для наплення на титанові імплантати [4,13, 26, 49].

Трикальційфосфат добре вивчений і є одним з найбільш часто використовуваних синтетичних біоматеріалів. У літературі описані чотири модифікації ТКФ: β -ТКФ, α -ТКФ, α' -ТКФ і фаза високого тиску γ -ТКФ [4, 13, 62, 88]. Трикальційфосфати, $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, є високотемпературними. Зазвичай їх одержують твердофазним синтезом за високих температур $1100\text{--}1400\text{ }^{\circ}\text{C}$. β -ТКФ стабільний до температур $1150\text{ }^{\circ}\text{C}$. Його синтезують, наприклад, нагріванням суміші солей відповідної стехіометрії ($\text{Ca}/\text{P} = 1.5$) за реакцією



або одержують внаслідок термічного розкладу кальцій-дефіцитного ГАП відповідного хімічного складу ($\text{Ca}/\text{P} = 1.5$)



β -ТКФ за температур понад 1150 °С перетворюється в α -ТКФ. Окрім цього, ТКФ можуть бути одержані нетрадиційними методами. Синтезують АФК із хімічним складом ТКФ. Нагрівання (відпал) такого АФК призводить до його кристалізації в метастабільний нанокристалічний α -ТКФ в інтервалі температур 630–850 °С, який переходить в β -ТКФ за вищих температур 850–1100 °С [89]. Будучи стабільною фазою при кімнатній температурі, β -ТСП менш розчинний у воді, ніж α -ТСП (табл. 1.1). Крім того, ідеальна структура β -ТСП містить вакансії для іонів кальцію, які занадто малі для розміщення іонів кальцію, але допускають включення іонів магнію, які, таким чином, стабілізують структури. Чистий β -ТСП ніколи не зустрічається в біологічних кальцифікаціях. Тільки Mg-заміщена форма, виявляється в зубних і сечових каменях, карієсі дентину [15]. При температурі вище 1430 °С відбувається перехід в α' -ТКФ, а фаза γ -ТКФ утворюється при високому тиску. Особливістю α -ТКФ є більш висока розчинність в порівнянні з β -ТКФ, що вкрай важливо при застосуванні його і матеріалів на його основі в тканинній інженерії [40,41]. Структура α -ТКФ є більш високоорганізованою і утворюється при більш високій температурі або більш жорстких гідротермальних умовах, але домішки можуть змінювати ці умови [15].

1.3.2 Особливості методів синтезу кальцій-фосфатної кераміки

Існує багато методів синтезу біосумісних фосфатів кальцію: осадження з водних розчинів солей, золь-гель метод, гетерофазний синтез, гідротермальний синтез, гідроліз ортофосфатів кальцію, твердофазний синтез та ін. Всі методи умовно розподіляють на три групи: твердофазні (сухі), хімічне осадження з розчинів солей кальцію й фосфатів (мокрі) і гідротермальні.

За сухими способами порошок КФК отримують внаслідок хімічних реакцій при високих температурах між компонентами, які дифундують один в одного. Як джерело іонів гідроксили застосовують пари води [4, 90].

Перевагою цього методу є одержання продуктів із прогнозованим відношенням Са/Р завдяки можливості точного управління чинниками процесу та їх висока чистота. Недоліком є крупнокристалічний продукт (рис. 1.4 б), який, в результаті, має слабку розчинність. Через значну тривалість процедури процес енергоємний, нерідко синтезовані порошки неоднорідні і спікаємість таких порошоків низька [4].

Гідротермальний спосіб отримання ГАП відбувається при підвищених температурах і тиску. Він вимагає високовартісної апаратури і вихід готового продукту досить обмежений. Основні переваги гідротермальних способів полягають у значному збільшенні розміру, ступеня досконалості та чистоти кристалів (рис. 1.4 в). Залежно від умов синтезують продукти з розміром кристалів від нанометрів до міліметрів, а також із різними значеннями Са/Р аж близьких до стехіометричного. Водночас гідротермальний метод має суттєві недоліки. Кристалізацію нерідко проводять у золотих капсулах, автоклав футерують платиною, процес є досить складним в управлінні, енергоємним (високотемпературним) і тривалим. Все це робить гідротермальні способи непростими та дорогими. Розроблено також інші методи та способи одержання порошоків ГА, як-от золь-гельний, флюсу, електрокристалізації, розпилювально-піролізний, із виморожувальною сушкою, мікрохвильового опромінювання, механіко-хімічний, емульсійний тощо [4, 15]. Однак вони широкого застосування не набули.

Найпоширенішим методом є метод хімічного осадження, тому що саме він дає можливість варіювати властивостями матеріалу за рахунок зміни таких параметрів синтезу, як швидкість кристалізації первинного осаду, концентрація розчину вихідних солей, порядок їх введення, швидкість перемішування, рН розчинів, температура, час та умови старіння осаду тощо [4, 8–10, 16, 20, 23, 64]. Вплив такої кількості параметрів на властивості кінцевого продукту є і перевагою і недоліком. Перевагою є те, що можна отримати матеріали з великим асортиментом властивостей, а недоліком є те, що важко відтворити матеріал з певними властивостями. Утворення осаду

відбувається в результаті змішання водних розчинів сполук, які вміщують іони Ca^{2+} та PO_4^{3-} , при збереженні $\text{pH} > 7$ і витримки осаду в належних умовах в результаті отримуються нанорозмірні порошки (рис.1.4 а).

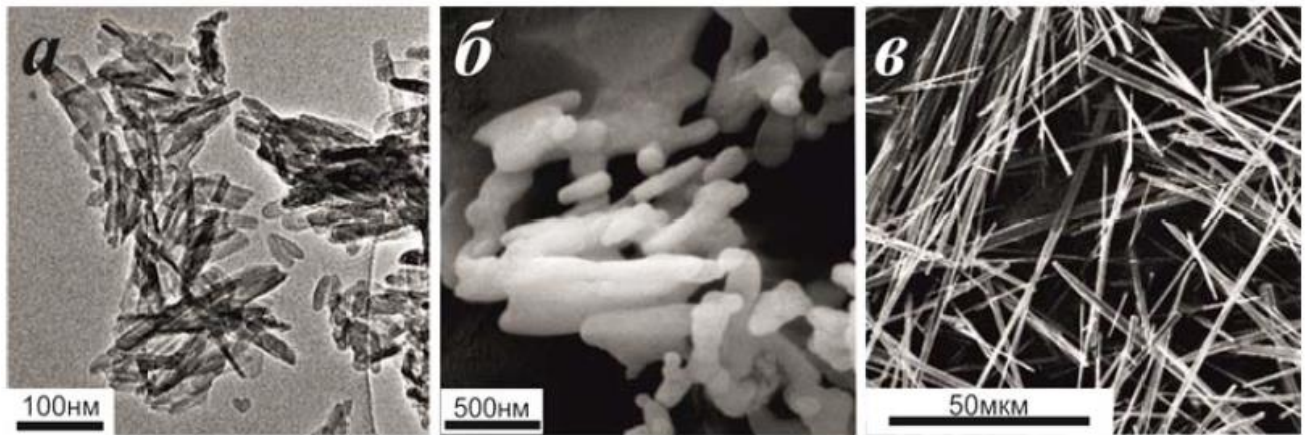


Рисунок 1.4 – Морфологія кристалів ГАП, одержаних а) мокрим способом, б) сухим способом, в)-гідротермальним [4].

Важливою характеристикою ГАП є стехіометрія його складу, яку прийнято виражати співвідношенням Ca/P . Для пояснення відхилень від ідеальної стехіометрії $\text{Ca/P} = 1,67$ склад ГАП записують формулою



Відхилення від стехіометрії змінюють властивості матеріалу у бік збільшення розчинності й, отже, резорбції [4, 10, 12-15, 26, 56]. Нестехіометрія отриманого при синтезі гідроксиапатиту впливає на температуру розкладання фази гідроксиапатиту з утворенням спочатку фази β -ТКФ (в залежності від умов синтезу та нестехіометрії синтезованого ГАП), який при подальшому підвищенні температури переходить в високотемпературну фазу α -ТКФ і потім, в залежності від кількості фази ГАП, а саме, чим більше стабільної фази ГАП, тим вище температура розкладання, приводить до розкладання нестехіометричного ГАП на фази, які є токсичними для організму – пірофосфати, тетракальційфосфат та ін. сполуки кальцію і фосфору. Визначивши технологічні параметри регулювання співвідношення фаз ГАП та β -ТКФ, можна отримувати двофазну біоактивну кераміку з досить високими остеокондуктивними властивостями.

Нері, Лінч і співавтори вперше використали термін двофазний фосфат кальцію в 1986 році для опису біокераміки, що складається з суміші ГАП і β -ТКФ [91]. На основі результатів рентгеноструктурного аналізу ці автори виявили що матеріал β -ТСП, використаний в їх ранній публікації [92], насправді був сумішшю $\sim 20\%$ НА і $\sim 80\%$ β -ТКФ.

У 1986 році LeGeros в США і Daculsi у Франції теж ініціювали фундаментальні дослідження з приготування цього типу двофазної кераміки і її властивості *in vitro*. [93,94]. Цей матеріал виявився більш розчинний ніж чистий ГАП та чистий β -ТКФ. Ідея двофазної кераміки полягала в тому, що більш розчинна фаза β -ТКФ, розчиняючись в фізіологічному середовищі, збільшує поверхню контакту і, таким чином, сприяє кращій біодеградації матеріалу. Отримували двофазну КФК навіть механічним змішенням фаз ГАП та β -ТКФ, але при такому способі спікання проводились при більш високих температурах і розчинність такої КФК не була очікуваною. Більше розповсюдження отримав метод температурного розкладання нестехіометричного ГАП, осадженого методом хімічного синтезу з водних розчинів солей. В результаті використання цього методу, фази такої композиції гомогенно «змішані» на рівні значно нижче субмикронного ($<0,1$ мкм) рівня і досить прості. В даний час комерційні продукти ВСП з різними або аналогічними співвідношеннями НА/ β -ТКФ виробляються в багатьох частинах світу в якості матеріалів для кісткових імплантатів для ортопедичних і стоматологічних застосувань під різними торговими марками. Розчинність цього матеріалу збільшується зі збільшенням кількості фази β -ТКФ, але така кераміка все ж не володіє остеоіндуктивними властивостями і не має перспектив в використанні в регенеративній медицині в випадках великих дефектів [26, 49]. З того часу проведено безліч досліджень з метою підвищення біоактивності двофазної кераміки за рахунок збільшення її розчинності, але підвищення розчинності приводило тільки до того, що матеріал розчинявся в дефекті раніше, ніж утворювалась повноцінна кісткова тканина.

1.3.3 Легування кальцій-фосфатної кераміки

Відомо, що гнучка кристалічна решітка ГА, що складається з 42 іонів, дозволяє здійснювати катіонні і аніонні заміщення з метою варіювання різних фізико-хімічних і біомеханічних властивостей матеріалу. Так, ГАП є іонно-заміщеною сполукою в апатиті загальної формули $M_{10}(XO_4)_6Y_2$,

де M – зазвичай двовалентний катіон: Ca^{2+} , Sr^{2+} , Ba^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+} або одновалентний чи тривалентний катіон – Na^+ , K^+ , Al^{3+} , Fe^{3+} ;

XO_4 – аніони PO_4^{3-} , VO_4^{3-} , AsO_4^{3-} або CO_3^{2-} , SiO_4^{4-} , SO_4^{2-} ;

Y – одновалентний аніон OH^- , F^- , Cl^- , Br^- .

Катіонні заміщення виявлено в усьому інтервалі складів (Sr^{2+} , Cd^{2+} чи Pb^{2+}) та в обмеженому інтервалі концентрацій для менших іонів (Zn^{2+} , Mg^{2+}).

Завдяки великій кількості ізоморфних заміщень, стає можливим спрямована зміна властивостей ГАП і отримання синтетичних матеріалів з елементним складом, близьким до природної кісткової тканини людини. Оскільки кістковий матрикс людини виконує роль буферної системи для атомів різних металів, то на думку дослідників, штучні біоматеріали на основі ГАП повинні мати різну концентрацію домішок для максимальної відповідності ділянці кісткової тканини, в яку вони імплантуються [95, 96].

Структура гідроксиapatиту в більшості випадків при невеликих змінах, що включають впровадження атомів домішок, наявності вакансій або заміщень залишається постійною [97-99]. При цьому всі допанти при встановленні в кристалічну решітку ГАП здатні змінювати його фізико-хімічні параметри та біологічні властивості [100]. Ряд дослідників припускає, що введення іонів металів в решітку синтетичних зразків гідроксиapatиту може призводити не тільки до поліпшення біосумісності, а й до зміни структурно обумовлених властивостей даних матеріалів [4, 13, 15, 56,100]. Введення іонів (крім хлору та фтору) в структуру ГАП завжди знижує стійкість структури через виникнення спотворень та мікронапружень решітки, тим самим підвищуючи розчинність ГАП [10,13, 44, 47, 49, 51, 52, 62, 70]. Дослідження в області

фосфатних біоматеріалів в останні роки показали, що існує можливість підвищення біоактивності гідроксиапатиту за допомогою заміщення іонів кальцію на катіони більшого радіусу і / або меншого заряду, а також при аніонних замещеннях (наприклад, фосфат-іона на силікат-іони) [101- 104].

Зважаючи на те, що іонні заміщення значно впливають на біологічні властивості сполук, при розробці легованого ГАП особливу увагу треба приділяти впливу не тільки певного елемента на фізико-хімічні властивості розробленого матеріалу, але й на можливість порушення обмінних процесів в мінеральному компоненті кісткової тканини, а також кількості матеріалу, що може виділитися в фізіологічне середовище при розчиненні легованого матеріалу [9, 26, 49].

Серед катіонних і аніонних замощень ГАП особливу увагу приділяють замощенням сріблом іонів кальцію і замощення PO_4 силікат іонами.

Неоціненна роль кремнію в організмі людини проявлялася протягом останніх 40-50 років [103, 104]. Кремній є важливим елементом сполучної і кісткової тканини. Від нього залежать еластичність і гнучкість сухожилів, суглобових хрящів і стінок судин. Згідно з літературними даними, кремній є стрижневим елементом у процесах біомінералізації, пов'язаних із диференціюванням та розмноженням остеобластів, синтезом ними колагену, реконструкцією, розвитком остеокластів і резорбції [105].

В даний час великий інтерес представляють керамічні матеріали на основі ГАП та кремнію. Встановлено, що наявність силікату в кристалічній решітці ГАП збільшує біоактивність матеріалу, стимулює клітинну активність і сприяє зрощенню імплантату з кісткою, що загалом пов'язують із активізацією остеобластів і остеокластів кремнієм, який виділяється під час розчинення матеріалу. Вважають також, що збільшення біоактивності може бути наслідком фізико-хімічної модифікації замощеного матеріалу, а саме: змінами в хімічному складі поверхневого шару, морфології та мікроструктурі [103, 106]. Високу активність Si-КФК пов'язують з утворенням на поверхні матеріалу силанольних $-\text{SiOH}$ -груп, які з іонами кальцію та фосфату створюють

синергетичний ефект по впливу на репаративні процеси в кістковій тканині [63,106,107]. Дослідження показали, що гідроксилапатит, модифікований силікат-іонами (Si-ГАП), має більш високу електронегативну поверхню, яка містить гідрофільні Si-OH угруповання, що легко вступають у взаємодію з полярними групами органічних сполук, полегшуючи прикріплення клітин і сприяючи формуванню більшої кількості зв'язків імплантат - кістка [108, 109, 110]. Si-ГАП був досліджений на розчинність як в умовах *in vitro*, так і *in vivo*, в порівнянні з чистим ГАП, де було показано, що незалежно від способу дослідження розчинності ГАП, кремній в структурі ГАП підвищує розчинність матеріалу [107]. Силікат заміщені апатити (Si-ГАП, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{-}_x\text{SiO}_x(\text{OH})_{2-x}$, $x \approx 0.05\text{--}1.38$) синтезовано низкою відомих методів: осадження з розчинів, золь-гель, гідротермальний і твердофазний синтези. Під час синтезів в якості джерела кремнію використано силікати CaSiO_3 , Ca_2SiO_4 , SiO_2 , $(\text{C}_2\text{H}_5\text{O})_4\text{Si}$ тощо [20,21]. Виявлено, що в ґратку ГАП можна впровадити щонайбільше 5 мас.% кремнію, що вважають достатнім для використання матеріалу, оскільки біологічний вплив кремнію починається з приблизно 1 мас.%. За попередніми структурними дослідженнями, іони SiO_4^{4-} частково заміщують іони PO_4^{3-} . В роботі [22,23] показано, що за хімічного вмісту 4.6 мас.% Si тільки частина іонів кремнію упроваджується в ґратку у формі SiO_4^{4-} , а решта знаходиться за її межами як кремнієвий гель. Зазвичай сталі ґратки *a* і *c* дещо збільшуються по заміщенні, оскільки іонний радіус Si^{4+} (0.042 нм) більший за іонний радіус P^{5+} (0.035 нм) [22], тому упровадження кремнію впливає на термічну стабільність апатиту та призводить до спотворення структури решітки. Чотирьох валентні силікатні аніони при заміщенні додають негативний заряд, що компенсується за допомогою участі OH^- груп, та визначає межу вакантних місць і обмежує кількість заміщуючого іона. За умови малих концентрацій кремнію $0 < x < 1$ після відпалу при 700 °C утворюється однофазний кремній-заміщений апатит; якщо ж $x > 1$ – після відпалу утворюється двофазний матеріал із ГАП та α -ТКФ [22]. Дуже багато робіт присвячено стабілізації фази α -ТКФ кремнієм [21, 106, 111-116]. Слід

відмітити, що при температурному розкладі Si-ГАП не завжди утворюється ГАП і α -ТКФ, так в роботі [106] показано, що в Si-ГАП, отриманому твердофазним синтезом з ГАП та аморфним SiO_2 після відпалу при $1100\text{ }^\circ\text{C}$ протягом 8 годин утворилось дві фази ГАП та β -ТКФ. В роботах [21, 106, 111-114] визначено, що 0,8 мас.% кремнію є оптимальним значенням, яке на початковому рівні сприяє швидшому вrostанню кісткової тканини. Крім того помічено, що впровадження SiO_4^{4-} у ґратку гальмує ріст зерен, тобто веде до утворення високодисперсних матеріалів, які мають підвищену розчинність. Кремній-заміщені матеріали мають гіршу спікаємість, в порівнянні ГАП, необхідні вищі температури спікання для одержання тієї ж щільності.

Незважаючи на високий рівень досліджень і значну кількість вивчених КФК, легованих кремнієм, до сих пір не достатньо досліджені закономірності впливу технологічних параметрів отримання легованих кремнієм матеріалів на фазові зміни, фізико-хімічні властивості та біологічні властивості і позитивний вплив легування Si в α -ТСП все ще погано досліджений і вимагає подальшого вивчення. Крім того, всі матеріали, леговані кремнієм отримують тривалим відпалом при температурі не нижче $1000\text{ }^\circ\text{C}$ [21, 106, 111-116], що значно знижує його біологічну активність.

Срібло досить давно і активно застосовується в хірургії як антимікробний препарат. Головне призначення срібла - запобігання інфекційного ураження операційних ран. [117-120]. Експериментальними дослідженнями встановлено, що срібло є сильний антибактеріальний агент для гетеротропних бактерій та вірусів [7,8]. Виявлено його бактерицидну дію на низку стафілококів, бактерій, вірусів і грибків. Серед усіх антибактеріальних металів срібло має найбільшу ефективність за наднизьких концентрацій, і мікроорганізми не можуть виробити імунітету проти нього. До того ж срібло досить толерантно переноситься організмом. Іони срібла (Ag^+), надають антибактеріальні властивості легованому сріблом ГАП і в невеликих концентраціях сприяють антисептичному впливу на уражену ділянку кісткової тканини [4]. Механізм дії срібла на одноклітинні (бактерії) і безклітинні (віруси) мікроорганізми полягає

в тому, що іони срібла пошкоджують цитоплазматичну мембрану мікроорганізмів і порушують процес клітинного дихання — блокують їх здатність передавати кисень всередину клітини бактерії, призводячи до “задухи” мікроорганізму і його загибелі [121-123]. Отже, концентрації сполук срібла летальні для мікроорганізмів, але практично не шкідливі для тварин і людини [121, 124]. Введення срібла у склад КФК надає їй асептичні властивості, що дуже актуально на сьогоднішній день, адже зараз багато бактерій стійких до антибіотиків, а, крім того, антибіотики пригнічують репаративні процеси. З огляду на асептичну дію срібла, а також відому поведінку в організмі ГАП як матеріалу, який включається в метаболічні процеси організму, поступово резорбує і використовується для відновлення кісткової тканини, присутність у складі ГАП срібла сприяє пригніченню стафілококів та інших хвороботворних бактерій і більш ефективному відновленню кісткової тканини при наявності інфекції, а, можливо, навіть і на деяких стадіях остеомієліту [125]. Виходячи з фазових діаграм $P_2O_5-Ag_2O-Ca$ - 4470 (1975 г.) ; $AgPO_3-Ca_3(PO_4)_2$ - 613 (1964 г.); P_2O_5-Ca - 5145 (1981 р) (Phase Diagrams for Ceramists, M.Levin) граничні концентрації твердих розчинів при температурах, які використовуються для термообробки ГАП (800 -1000 °С) складають близько 2%.

В роботі [4] ГАП, заміщений сріблом синтезовано в інтервалі концентрацій 0,1 – 10 мас.%. Матеріали одержано переважно методом осадження з розчинів, проте застосовано й інші способи та методи (золь-гель, твердофазний, мікрохвильовий, співрозпилення, тощо). Заміщення сріблом збільшувало розчинність апатиту та зменшувало його термічну стабільність. Так за концентрації срібла до 4 ат.% апатит був стабільним до 700 °С. Апатит із вмістом срібла 1,5 мас. % був стабільним до 650 °С.

Зважаючи на те, що при виготовленні, керамічних виробів та для створення покриттів з ГАП, легованого сріблом, використовуються високі температури необхідне вдосконалення або методів отримання ГАП, легованого сріблом, або способу введення срібла в виріб або покриття.

1.4 Антибактеріальні покриття з біоактивної кераміки на титанових імплантатах

При усуненні великих дефектів кісткової тканини, які ще до того ускладнені переломами, неможливо обійтись без титанових імплантатів. Найбільш біоінертним з металів є титан, але для організму він все ж є інородним тілом і зв'язується з кістковою тканиною через утворення фіброзної капсули. З огляду на те, що матеріали на основі фосфатів кальцію за виняткової біосумісності не мають достатніх біомеханічних властивостей, а титанові сплави з гарними біомеханічними властивостями не володіють доброю біосумісністю, тож практично від моменту створення цих матеріалів і дотепер активно ведуться роботи по нанесенню покриттів із біоактивної кераміки на титанові імплантати. Для забезпечення міцної й довгострокової фіксації імплантату в кістці необхідно, щоб покриття відповідали певним вимогам за такими характеристиками: хімічний і фазовий склад; товщина покриття; структура й пористість; адгезія. Зважаючи на те, що матеріали покриттів при нанесенні на метал зазнають впливу високих температур, а КФК досить нестабільна за цих температур, успіх покриттів значною мірою залежить і від підготовки вихідних порошків ГАП. Хімічний і фазовий склад покриттів повинні забезпечувати біосумісність покриття й стійкість до резорбції. Аналіз літературних даних і наших власних досліджень свідчить, що в процесі одержання покриттів на основі КФК, крім основної фази ГАП, у покриттях можлива присутність α -ТКФ, аморфної фази фосфату кальцію, які мають високу розчинність, й СаО, який є самим небажаним в покритті через його токсичну дію на тканини. [49]. Кількість аморфної фази, що допускається в покритті, регламентується стандартом ISO 13779- 2:2000, а саме: кристалічність покриття не менше 45%, а наявність не біосумісних фаз не більше 5%. Всі автори вказують на підвищену розчинність цих фаз у порівнянні із кристалічним ГАП [70, 71]. Таким чином, для одержання стабільних слабозчинних покриттів необхідно ретельно контролювати

кількість ТКФ і аморфної фази. З отриманням численних результатів відторгнення титанових імплантатів після ендопротезування, лікарі прийшли до висновку, що дуже часто вони відбуваються через активацію бактерій, які вже знаходяться в організмі людини [24, 25] в зв'язку з чим виникла потреба в створенні біосумісних антибактеріальних покриттів. Створення антибактеріальних покриттів з використанням срібла проблематично через те, що ГАП, легований сріблом, не стійкий до розкладання і срібло при високих температурах, які використовуються при нанесенні покриттів, випаровується в зв'язку з чим, для вирішення цієї проблеми використовують для легування ГАП цинк, мідь, або наносять срібло вже на поверхню ГАП, що не вирішує остаточно проблему створення антибактеріального покриття [126-128].

1.5 Сучасний стан виготовлення біоматеріалів з остеоіндуктивними властивостями. Постановка завдань досліджень.

Загально відомо, що найбільш перспективна до використання для заміщення кісткових дефектів є двофазна КФК (ГАП+ β -ТКФ), яка має розчинність вищу, ніж розчинність чистих фаз, з яких вона складається [4, 11-15, 129-133]. Фази в такій кераміці гомогенно «змішані» на рівні значно нижче субмікронного ($<0,1$ мкм) і сильно інтегровані одна з одною [18]. Біоактивність КФК можна суттєво підвищити, збільшуючи її розчинність за рахунок збільшення вмісту більш розчинної фази фосфатів кальцію, а саме β -ТКФ, що реалізується зміною співвідношення реагентів, параметрів синтезу та подальшою термообробкою. Багато робіт присвячено систематичному дослідженню впливу параметрів синтезу ГАП методом осадження (рН розчинів, концентрації, температури, температури синтезу, умов старіння в маточному розчині синтезованого матеріалу та ін.) на кристалізацію ГАП з аморфного фосфату кальцію, мікроморфологію в залежності від нестехіометрії ГАП, складу одержуваного фосфату, ступінь кристалічності, подальші фазові переходи та ін. [4, 10-15, 129-133]. Результатом цих досліджень, є виявлена

основна закономірність: нестехіометрія отриманого при синтезі ГАП впливає на співвідношення фаз ГАП та β -ТКФ, які утворюються після відпалу нестехіометричного ГАП з утворенням спочатку фаз ГАП та β -ТКФ при температурах 800-1100 °С, а при подальшому підвищенні температури від 1125 °С β -ТКФ переходить в високотемпературну фазу α -ТКФ, яка не вважається біосумісною, хоча її розчинність значно вища, ніж розчинність ГАП та β -ТКФ, з виділенням тих же іонів кальцію та фосфату. Подальше підвищення температури КФК до температур вище за 1250-1300 °С, в залежності від кількості фази ГАП, а саме, чим більше стабільної фази ГАП, тим вище температура розкладання, приводить до розкладання нестехіометричного ГАП на фази, які є токсичними для організму – пірофосфати, тетракальційфосфат та ін. сполуки кальцію і фосфору. Визначивши технологічні параметри регулювання співвідношенням фаз ГАП та β -ТКФ, можна отримувати двофазну біоактивну кераміку з досить високими остеокондуктивними властивостями, але така кераміка не володіє остеоіндуктивними властивостями і не має перспектив в використанні в регенеративній медицині в випадках великих дефектів [4, 8, 10, 12, 15, 32, 134].

З літературних джерел відомо, що на остеоіндуктивні властивості КФК впливає поліфазність кераміки, легування остеотропними елементами, наноструктурування, геометрія мікроструктури поверхні, структура пор [12, 13, 15, 18, 105]. З поліфазної біосумісної КФК на сьогоднішній день відома тільки трифазна КФК (α -ТКФ, β -ТКФ і ГАП), яка володіє остеоіндуктивними властивостями за рахунок різної розчинності трьох фаз [4, 18]. Створення трифазної кераміки ускладнюється тим, що фаза з найбільшою розчинністю (α -ТКФ) утворюється при високих температурах внаслідок фазового переходу β -ТКФ \rightarrow α -ТКФ. При цих температурах відбувається спікання матеріалу і зниження його пористості, що ускладнює розчинність. Зараз ведеться пошук способів синтезу трифазної КФК, який би дозволив регулювати співвідношення цих фаз при різних температурах. За літературними даними є інформація про одержання трифазних КФК із ГА, α -ТКФ і β -ТКФ гідротермальним синтезом,

мікрохвильовим нагріванням, твердофазним синтезом також є повідомлення про отримання двофазних КФК з α -ТКФ і β -ТКФ, який є комбінацією водного синтезу та мікрохвильового нагрівання [4, 18, 94, 129 135-138]. Однак всі ці синтези дуже знижують активність отриманих порошків, вони є енергетично затратними і отримувати в великих кількостях такий матеріал неможливо і до того ж, за допомогою цих методів можна отримувати трифазну КФК при якійсь одній температурі в інтервалі 1000-1350 °С. До новітніх перспективних робіт відносять спосіб отримання метастабільної фази α -ТКФ з аморфного фосфату кальцію при температурі 800 °С з поліетиленгликолем при низьких температурах з послідуною сушкою виморожуванням і двостадійним обережним випалюванням, в результаті якого відбувається перехід від α -ТКФ до β -ТКФ при температурі в інтервалі 800 - 900 °С [18-20]. Дуже багато робіт є про стабілізацію α -ТКФ кремнієм при високих температурах [21, 73, 74, 114-116], але ціллю цих робіт є α -ТКФ, яку до того ж отримують тривалим випалюванням при високій температурі. Зважаючи на те, що іонні заміщення значно впливають на біологічні властивості сполук, при розробці легованого ГАП особливу увагу треба приділяти впливу не тільки певного елемента на фізико-хімічні властивості розробленого матеріалу, але й на можливість порушення обмінних процесів в мінеральному компоненті кісткової тканини, а також кількості матеріалу, що може виділитися в фізіологічне середовище при розчиненні легованого матеріалу [9, 26, 49].

Для отримання КФК з остеоіндуктивними властивостями необхідні більш прості не енергозатратні методи, які б дозволили отримувати трифазну біоактивну кераміку в інтервалі температур 800 – 1300 °С з визначеним їх співвідношенням для отримання більш активної до заміщення КФК. Основна біомедична ідея, що лежить в основі двофазних, трифазних і багатофазних складів ортофосфатів кальцію, полягає не в тому, щоб отримати більше самої розчинної фази, до чого і прагнуть багато дослідників, а в **правильному балансі** більш стабільних фаз ортофосфатів кальцію і більш розчинних [18, 139-141]. Фази повинні бути збалансовані таким чином, щоб після імплантації

невелика кількість самої розчинної фази виділила в фізіологічне середовище іони кальцію і фосфату, залишивши після себе нанопори, які б стимулювали клітинну діяльність, а подальше розчинення складових з різною швидкістю приводило б до утворення такої структури, яка б ініціювала подальше заміщення матеріалу кістковою тканиною. Таким чином, біорезорбцію та остеоіндуктивність матеріалів можна буде змінювати за допомогою фазового складу, вибір якого полягає в правильному балансі більш стабільних фаз ортофосфатів кальцію і більш розчинних.

Створення композитної біоактивної кераміки займає значну частину досліджень по фосфатам кальцію з метою підвищення її біоактивності і міцності. Можливість зміцнення введенням голкоподібних кристалів (вусів) в ГАП була показана в роботах [142-145], Вони переважно виготовлялися зі скла, вуглецю, SiC, Si₃N₄, Al₂O₃ та ZrO₂ [145]. Однак не враховувалось те, що при розчиненні КФК в організмі будуть виділятися і не дуже сумісні матеріали в оточуючі тканини. Це спричинило масив досліджень із апробації голкоподібних кристалів ГА як зміцнюючого агента, які в основному отримували високовартісним методом гідротермального синтезу [4]. Використання біосумісних голкоподібних кристалів для підвищення біосумісності і остеогенних властивостей в цих роботах не розглядалось.

Постановка завдань досліджень.

Аналіз літературних даних та власний досвід по створенню кальційфосфатних матеріалів для імплантації в кісткові дефекти і перорального призначення показують, що для виготовлення трифазної та композитної біоактивної кераміки, необхідно розширити фактори впливу на фазові зміни при термообробці нестехіометричного ГАП за рахунок технологічних можливостей додаткової обробки вже синтезованого осаду.

При розробці нами кальційфосфатних матеріалів перорального вживання для профілактики та лікування остеопенії і остеопорозу, а також для нормалізації мінерального обігу в організмі, використовувалась композиція нестехіометричного ГАП та аскорбінової кислоти 2 мас.% для підвищення

розчинності та засвоєння фосфату кальцію [26,146-149]. Матеріал був розроблений базуючись на аналізі літератури по мінеральному обігу в організмі та вивченні процесів мінералізації кісткової тканини. При дослідженні фізико-хімічних властивостей матеріалу після його термообробки спостерігалось утворення трифазної КФК після відпалу при 800 °С. Подальші дослідження фазових змін в інтервалі температур 800 -1300 °С, не проводилась і інформація по подібним дослідженням в літературі відсутня.

В розглянутих роботах по впливу ацетат іонів на ремоделювання кісткової тканини, визначено, що цитрати приймають активну участь не тільки в розчиненні мінерального компонента але й в формуванні кристалів біогенного апатиту. Є також роботи по визначенню механізму взаємодії цитрат іонів з іонами кальцію [78, 79, 150] з утворенням стабільної тримірно-упорядченої фази Са-цитрат-тетрагідрат, що регулює ріст кристалів ГАП з рідини, що імітує фізіологічну, але інформація по впливу обробки наночастинок осажденного нестехіометричного ГАП лимонною кислотою на фазові зміни після відпалу та фізико-хімічні і біологічні властивості КФК відсутня.

Згідно з літературними даними проведено безліч різнопланових робіт по легуванню ГАП кремнієм, зважаючи на його унікальні властивості впливати на клітинну активність та участь в процесах біомінералізації. Використані різні методи синтезу та реагенти з кремнієм. Роботи проводились в двох напрямках: придання матеріалу остеогенних властивостей і стабілізація α -ТКФ кремнієм. Визначена оптимальна кількість кремнію, що входить в решітку ГАП, помічено, що впровадження, кремнію SiO_4^{4-} у ґратку гальмує ріст зерен, підвищує розчинність легованого ГАП і зменшує спікаємість матеріалу. Отримують фазу α -ТСП, стабілізовану кремнієм, досить складними і енергозатратними методами (твердофазний синтез, гідротермальний) при температурі вище 1000 °С. Інформація про можливість отримання трифазної КФК, за допомогою легування ГАП кремнієм методом хімічного синтезу після відпалу в інтервалі температур 800 - 1000 °С відсутня. Відсутні і систематичні дослідження впливу легування кремнієм на

фазові зміни в матеріалі після відпалу і їх зв'язок з фізико-хімічними та біологічними властивостями.

Аналіз літературних даних щодо композитної кераміки для її використання в якості основи під культивування та диференціацію стовбурових клітин, дав дуже мало інформації. Знайдено інформацію по вимогам до мінералізації органічного матриксу до порової системи, якою повинна володіти і КФК: наявність взаємозв'язаної і розвиненої структури пор від нано- та мікророзміру до макророзміру (500-1000 мкм), що забезпечить можливість прикріплення клітин, їх проліферації та диференціювання, пророщення судин і регенерату [7] та інформація зі статті Дорожкіна С. В. [15] про те, що композитна КФК, крім компонентів різної розчинності (чим більше таких компонентів, тим краще) має складатись з матриці і армуючої складової. В монографії Зимана З.З. [4] дуже добре описано різні методи отримання ГАП голчатої форми для армування та зміцнення КФК, але інформація по створенню більш активної і розчинної КФК для використання в регенеративній медицині відсутня.

Також виходячи з нашого досвіду виготовлення порошків для плазмового напилення та проведення достатнього об'єму робіт по легуванню ГАП сріблом різними способами і дослідження структури та антибактеріальних властивостей ГАП, легованого сріблом [125, 151-154], був зроблений висновок, що є можливість створення антибактеріальних покриттів з ГАП, легованого сріблом.

На підставі викладеного, завданнями цієї роботи є:

1. Визначити вплив змін рН (від 7 до 4) осаду нестехіометричного гідроксиапатиту, під дією аскорбінової та лимонної кислот, на фазові, структурні та фізико-хімічні властивості після термообробки в температурному інтервалі 800-1300 °С.
2. Визначити вплив легування синтезованого нестехіометричного ГАП кремнієм на фазові, структурні зміни та фізико-хімічні властивості КФК після термообробки в інтервалі температур від 800 °С та 1300 °С, перевірка біологічних властивостей матеріалу визначеного за результатами досліджень.

3. Дослідити фізико-хімічні та біологічні властивості КФК з наноструктурованою композитною структурою.
4. Дослідити вплив структурного стану срібла та способу його введення на антибактеріальні властивості покриттів з ГАП.

Розроблені матеріали з успіхом можуть бути використані в регенеративній медицині для відновлення кісткової тканини в випадках великих дефектів та складних переломів.

РОЗДІЛ 2

ХАРАКТЕРИСТИКА ВИХІДНИХ МАТЕРІАЛІВ, ТЕХНОЛОГІЯ ОДЕРЖАННЯ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ СТРУКТУРИ І ВЛАСТИВОСТЕЙ КАЛЬЦІЙ-ФОСФАТНОЇ КЕРАМІКИ

2.1 Матеріали і реактиви

Дослідження впливу органічних кислот та введення кремнію і срібла розпочинались з обробок осаду нестехіометричного ГАП, $1,5 < \text{Ca/P} < 1,67$, який отримували методом хімічного осадження з водних розчинів солей кальцію і фосфату [153-162]. Для обробки органічними кислотами, легування кремнієм, сріблом та для приготування композитної КФК готувались розчини з різним відношенням Ca/P. Нестехіометрія ГАП змінювалась шляхом зменшення кількості солі кальцію від розрахованої для стехіометричного ГАП. Схема подальшої обробки осаду нестехіометричного ГАП для отримання модифікованої з отримання модифікованої КФК представлена на рис. 2.1.

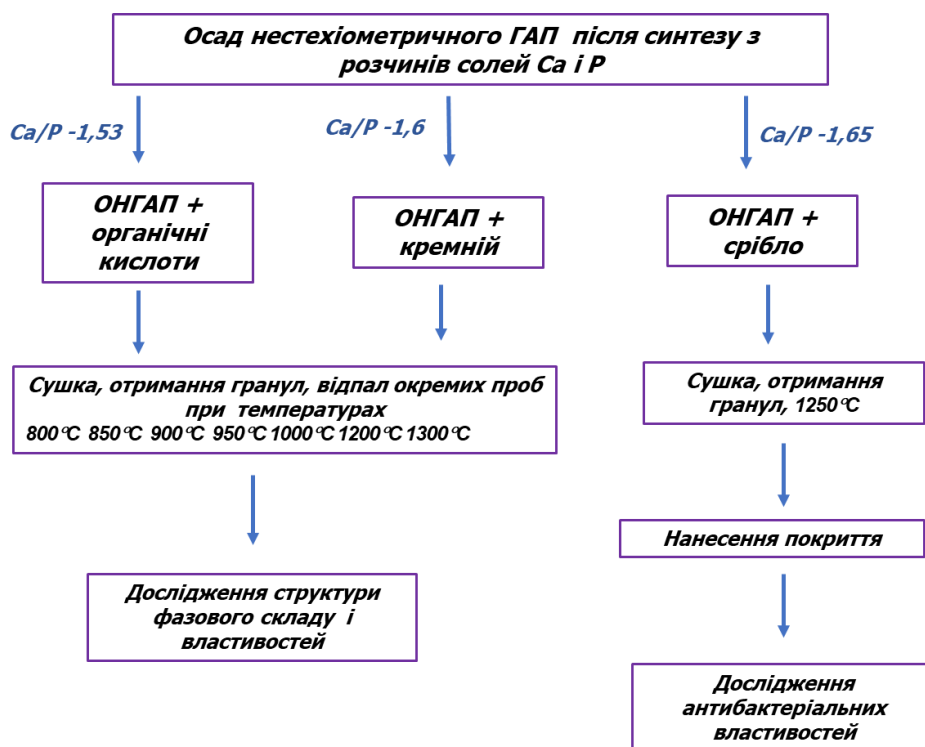
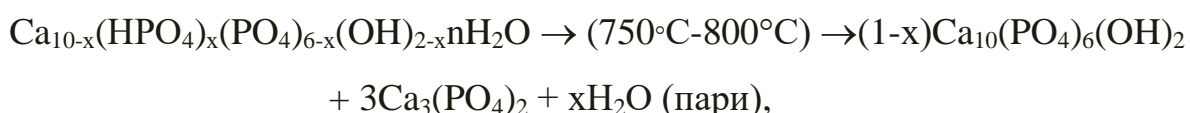


Рисунок 2.1– Схема отримання матеріалу для досліджень

Синтез нестехіометричного ГАП. Синтез проводився при кімнатній температурі, крапельним додаванням розчину $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ до $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ при постійному перемішуванні в лужному середовищі при рН 13,5, який регулювався розчином аміаку та контролювався універсальними індикаторними смужками рН 0-14 (Merck 109535) та рН-метром портативним, точність 0,01 t до 80 °С, Combo. В якості солі кальцію використовували кальцій азотнокислий 4-водний, $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, кваліфікація «чда», ГОСТ 4142-77, солі фосфору - амоній фосфорнокислий двозаміщений, $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, кваліфікація «чда», ГОСТ 3372-74. Лужне середовище підтримувалось 25% - ним водним розчином аміаку, NH_4OH , кваліфікація «чда», ГОСТ 3760-79. Після осадження реакційна суміш підігрівалась до 70 °С для прискорення процесу кристалізації ГАП і залишалась відстоюватись протягом доби. Далі осад промивався декантациєю дистильованою водою до рН 8,5 і відокремлювався від декантату шляхом фільтрації.

В результаті такого синтезу без обробок і модифікування отримували матеріал: $\text{Ca}_{(10-x)}(\text{HPO}_4)_x(\text{PO}_4)_{(6-x)}(\text{OH})_{(2-x)}$, ($0 < x < 1$).

Не оброблений нестехіометричний ГАП розкладається відповідно до реакції:



в результаті, після термічної обробки утворюється двофазна КФК - ГАП і β -ТКФ.

Отримання КФК, модифікованої органічними кислотами. Зважаючи на те, що згідно з літературними даними [4, 10, 14, 15] чим більша нестехіометрія ГАП, тим при більш низьких температурах відбуваються фазові зміни, співвідношення солей кальцію і фосфату при синтезі нестехіометричного ГАП було розраховано для отримання молярного відношення в ГАП Ca/P - 1,53. Синтез проводився з розрахунку отримання готового матеріалу в сухому вигляді 300 г для досліджень по впливу органічних кислот на властивості

отриманої КФК з однієї партії. Для обробки осаду використовувались розчини аскорбінової кислоти, $C_6H_8O_6$, стандарт якості BP2014/USP37/EP8/FCC8; лимонної кислоти $C_6H_8O_7$, кваліфікація фарм, стандарт якості BP98. Осад був розділений на чотири частини. Одна частина для контролю без обробки кислотою. Концентровані розчини кислот вводили в відфільтрований осад при перемішуванні в міксері до отримання рН суміші 7 та 6 при обробці аскорбіновою кислотою та 4 при обробці лимонною кислотою. Вибір рН базувався на власному досвіді роботи з аскорбіновою кислотою при розробці КФК для перорального використання [146, 147, 148, 149, 163, 164, 165], та користуючись літературними джерелами [74,75, 77, 78]. Отримані суміші та контрольний гель с рН 8,5 були висушені, гранульовані та розділені на порції та відпалені при температурах 800, 850, 900, 950, 1000, 1100, 1200 та 1300 °С. Витримка при кожній температурі 1 час.

Отримання КФК, легованої кремнієм. Для легування кремнієм використовували осаджений, промитий та відфільтрований нестехіометричний ГАП, з відношенням Са/Р - 1,6. Зважаючи на те, що легування ГАП кремнієм, згідно з літературними даними, підвищує розчинність і погіршує спікаємість матеріалу [4, 62, 107], відношення Са/Р було збільшене в сторону стехіометрії. Оптимальна кількість кремнію обґрунтована в багатьох роботах [107, 113, 115, 116], згідно з цими даними була вибрана концентрація 2 мас. %. Відповідно до літературних даних високу активність Si-КФК пов'язують з утворенням на поверхні матеріалу силанольних $-SiOH$ -груп, які з іонами кальцію та фосфату створюють синергетичний ефект по впливу на репаративні процеси в кістковій тканині [63, 107, 166]. Зважаючи на це, джерелом кремнію використано кремнезем Асил-300 (питома поверхня 300 m^2/g) виробництва Калуського дослідно-експериментального заводу ІХП ім. О.О. Чуйка НАН України (ГОСТ 14922-77). Асил-300 складається з непористих частинок сферичної форми діаметром ~ 8 нм на поверхні яких містяться ізольовані гідрофільні силанольні групи $\equiv Si-OH$. Вводився діоксид кремнію в вигляді тонкодисперсного колоїдного розчину при перемішуванні в міксері. Отримана суміш була

висушена, гранульована та розділена на порції, які були відпалені при температурах 800, 850, 900, 950, 1000, 1100, 1200 та 1300 °С. Витримка при кожній температурі 1 час.

Отримання КФК для антибактеріальних покриттів. Для створення антибактеріальних покриттів були проведені два синтези: стехіометричного ГАП, метод описаний в [152, 155] і нестехіометричного з Са/Р 1,65 з врахуванням заміщення кальцію на срібло, ґрунтуючись на проведених нами ранніх роботах [152 - 154]. Стехіометричний ГАП, був синтезований методом хімічного осадження з розрахованого співвідношення Са/Р – 1,67, аналогічно описаним вище. Після промивання осад був висушений, подрібнений в дисковому стирачі з корундовими дисками ЛДІ-65 і розсіяний на фракції, для напилення використовувалась фракція 40-63 мкм.

Для легування сріблом використано осаджений, відфільтрований та промитий нестехіометричний ГАП, з відношенням Са/Р - 1,65. Іони срібла додавались до осаду в вигляді водного розчину солі нітрату срібла при постійному перемішуванні в міксері в кількості 1 мас.%. Використовували срібло азотнокисле, AgNO_3 , ГОСТ 1277-75. Для напилення використовували висушений та відпалений при 1250 °С порошок з розміром частинок 40-63 мкм [167-168].

Отримання композитної КФК. Для отримання композитної КФК було проведено два синтези: β -ТКФ з голкоподібною формою частинок та осад нестехіометричного ГАП з Са/Р 1,55 [160].

Синтез β -ТКФ з голкоподібною формою частинок було проведено методом хімічного осадження з розчину тих же солей, з відношенням (Са / Р - 1,5), розчини подавалися в реакційну ємність з підігрітою дистильованою водою (50 °С) одночасно, в процесі синтезу рН 6,5. Після синтезу реакційна суміш підігрівалась до 100 °С і після охолодження до кімнатної температури осад промивався декантацією і відокремлювався від декантату. Відокремлений осад висушувався при 150 °С і обпалювався при 900 °С, після розмелювання порошок обпалювали при 1100 °С.

При виготовленні композитної КФК в якості «матриці» використано осад нестехіометричного ГАП, обробленого аскорбіною кислотою до рН -7,5 в який при перемішуванні добавлено 33 мас.% β -ТКФ, відпаленого при 1100⁰С, що складався з частинок голчатого типу.

Всі отримані матеріали після сушки гранулювались і для подальших досліджень використовувались в вигляді гранул 0,6 – 0,8 мм та 0,8-1,0 мм.

2.2 Методи одержання покриттів

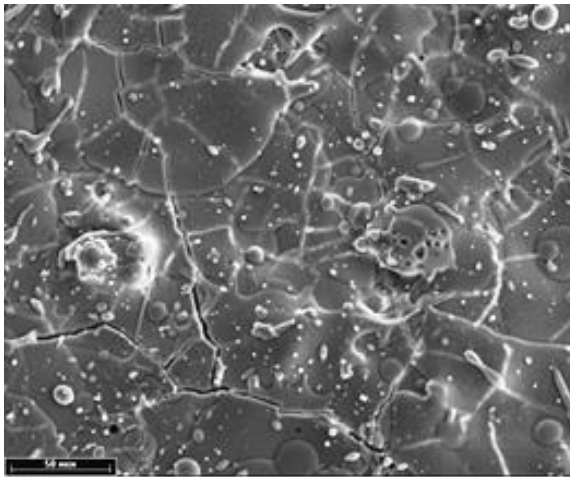
Для перевірки можливості отримання антибактеріального покриття, нанесеного методом мікроплазмового напилення ГАП, легованого сріблом, було використано два методи створення антибактеріальних покриттів:

1) нанесення методом мікроплазмового напилення порошку ГАП, легованого, сріблом, установкою, розробленою в ІЕЗ ім. Є.О.Патона НАН України [26, 49, 167, 169]. Метод мікроплазмового напилення покриттів відноситься до числа технологій газотермічного напилення. Для реалізації метода був розроблений мікроплазмотрон, який має ряд особливостей:

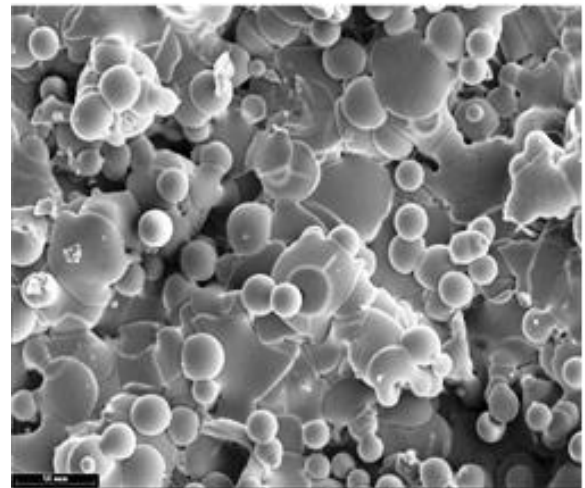
- діаметр сопла становить 1 мм і менше, що дозволяє скоротити втрати матеріалу при напиленні малорозмірних виробів;
- використання чистого Ar в якості плазмоутворюючого газу (без добавок H₂ або He) запобігає градієнту температури по перетину частинок, особливо в разі напилення матеріалів з невисокою теплопровідністю, до яких відноситься і ГАП. Це дозволяє зменшити перегрів верхнього шару частинок і знизити процес втрати OH⁻ і розкладання ГАП, та забезпечує отримання ГАП-покриттів з високим ступенем кристалічності;
- змінюючи параметри напилення можна отримати покриття з мінімальною кількістю аморфної фази -до 2%;
- можна отримувати текстуровані покриття за рахунок більш м'яких умов напилення (рис.2.2) [49];

- низька теплова потужність мікроплазмового струменя (до 2 кВт) дозволяє зменшити нагрів основи, на яку наноситься покриття.

В процесі мікроплазмового напилення покриття формуються з дискретних частинок в результаті їх деформації, розтікання і затвердіння при ударі об тверду поверхню. Можна отримати покриття, які складаються з практично повністю розплавлених і деформованих частинок, що утворюють щільні структури (рис.2(а)) та покриття, що складаються з конгломератів затверділих сферичних частинок, формуючих пористу структуру (рис 2(б)). Пориста структура покриття забезпечує надійну інтеграцію поверхні імплантату і кісткової тканини.



а)



б)

Рисунок 2.2 – Морфологія поверхні покриття нанесеного мікроплазмовим напиленням (а) покриття з повністю розплавлених частинок, (б) покриття з конгломератів затверділих сферичних частинок

2) нанесення мікроплазмовим напиленням стехіометричного ГАП без срібла, поверх якого у вакуумній камері методом локалізованого іонно-плазмового розпилення, наносились наночастинки срібла. Кількість нанесених частинок наносрібла розраховано з концентрацій сполук срібла летальних для мікроорганізмів [170,171]. В Інституті надтвердих матеріалів ім. В.М. Бакуля НАН України розроблено метод диспергування металевого катода

локалізованим тліючим розрядом у вакуумі, який дозволяє наносити наночастинки срібла на тверді поверхні різної фізико-хімічної природи. Унікальність наночастинок в тому, що вони надають наноматеріалам нових фізичних, хімічних та біологічних властивостей, які часто радикально відрізняються від властивостей цієї ж речовини у вигляді суцільної фази або макроскопічної дисперсії, саме тому кількість наночастинок може бути мінімальною для створення антибактеріального ефекту. Мінімальний розмір наночастинок срібла на поверхні покриття склав 20 нм, максимальний — 961 нм, середнє значення — 110 нм.

2.3 Методи досліджень

Для оцінки здатності отриманих модифікованих біоматеріалів до взаємодії з кістковою тканиною, яка розпочинається з контакту з фізіологічним середовищем і продовжується включенням в механізм кісткоутворення завдяки своїм структурним та фізико-хімічним властивостям, та для визначення комплексу властивостей, якими має володіти КФК для включення в репаративні процеси, була вибрана схема досліджень, що моделює поведінку матеріалу в кістковому дефекті.

1) Визначення фазового складу модифікованої КФК, відпаленої в інтервалі температур 800-1300 °С, співвідношення утворених фаз, зміни в параметрах решітки.

Рентгеноструктурні дослідження синтезованих порошків модифікованої КФК, гранул для наплення та покриттів виконані на рентгенівському дифрактометрі Ultima IV (Rigaku, Японія) при довжині хвилі $\lambda_{\text{CuK}\alpha} = 0,154187$ нм, за умовами фокусування по Бреґу-Брентано (ϑ - 2ϑ) (2ϑ - брегівський кут). Зразки знімали в пошаговому режимі (шаг – $0,01^\circ 2\vartheta$, експозиція – 1с) в діапазоні кутів 2ϑ от 10 до 60° . Струм і напруга на рентгенівській трубці мали значення 20 мА и 40 кВ відповідно. Дифрактограми реєструвалися і оброблялися персональним комп'ютером. Ідентифікація кристалічних фаз була

виконана з посиланням на стандартні JCPDS картки. Отримані дані оброблялись у програмі «PowderCell 2.4»

2) Визначення розчинення отриманих матеріалів. Дослідження хімічного розчинення КФК має важливе значення як для розуміння поведінки її в живому організмі, так і для удосконалення технології синтезу різних матеріалів з цієї речовини. Біологічні властивості кальційфосфатної кераміки визначаються спроможністю матеріалу повністю заміщуватися повноцінною кістковою тканиною і процес заміщення кераміки перш за все залежить від швидкості розчинення матеріалу. Враховуючи те, що метою роботи є отримання біоматеріалу з не максимальною розчинністю, а з остеоіндуктивними властивостями, тобто структура матеріалу повинна активізувати клітинну діяльність і стимулювати диференціювання стовбурових клітин, важливо визначити, як змінюється матеріал під впливом фізіологічного середовища. Звичайно, точно визначити ступінь резорбції матеріалу в експериментах *in vitro* неможливо тому, що дуже багато факторів в живому організмі впливає на імплантат, таких, наприклад, як локалізація дефекту, кровопостачання, вік пацієнта, дія ферментної системи, імунний стан хворого та ін., які неможливо відтворити, але використання певної схеми досліджень, допоможе виявити матеріал, що має більший потенціал до заміщення повноцінною кістковою тканиною. З літературних джерел відомо, що наноструктури сприяють взаємодії матеріалу з фізіологічним середовищем на клітинному рівні, це означає, що під впливом фізіологічної рідини повинна розчинитись найбільш активна фаза створивши нанодефекти, фази можуть так розподілитись в матеріалі, що більш розчинна фаза може закритись від контакту з рідиною, або розчинення різних фаз може так змінити порову систему, що контакт фізіологічної рідини по всьому об'єму не буде можливим. Для вирішення цієї задачі та визначення змін в матеріалі **проводилась їх обробка в оцтово-ацетатному буфері при рН 5,5**, аналогічному рН інтерстиціальної рідини, яка розчиняє кристали біологічного апатиту. Для посилення ефекту, обробка проводилась в ультразвуковій ванні протягом 30

хвилин. Після промивання дистильованою водою і просушування матеріалів знову визначався їх фазовий склад. Розчинення Са-Р матеріалів звичайно досліджується в буферних розчинах (ацетатний, цитратний, лактат, Tris-буфер, рН 3,6 - 7). Найбільш поширеним розчинником, який часто використовують для дослідження розчинності кальційфосфатної кераміки, є ацетатний буферний розчин, який легко готується, має мало побічного впливу на характер розчинення (утворення стійких до розчинення комплексів), обмежені вимоги до чистоти реактивів, як, наприклад, до цитратних буферних розчинів. Розчинність модифікованої КФК визначалась по кількості виділених іонів кальцію в оцтово-ацетатний буфер після витримки зразків КФК протягом доби при 37 °С при рН-5,5, близькому до рН фізіологічної рідини при розчиненні біологічного гідроксиapatиту. Термін витримки ґрунтувався на наших дослідженнях [157], де було визначено, що незважаючи на різну кінетику вивільнення іонів кальцію різних КФК, у всіх матеріалів максимум розчинності спостерігався через добу. Іони кальцію в розчині визначали методом прямої потенціометрії з використанням іонселективного електроду ЕЛІС-121 Са. Співвідношення тв.р/розчин 1/100.

3) Визначення адсорбційної активності матеріалів та її зміни до та після обробки в оцтово-ацетатному буфері визначає зміну активності біоматеріалів під впливом розчинника. Особливістю цього методу є те, що проникливість розчину метиленового синього аналогічна проникненню фізіологічної рідини в матеріал, а його сорбцію можна порівняти з сорбцією клітин. Дослідження в роботі [155] наглядно показали, що адсорбційна активність більш реально оцінює активність матеріалів в порівнянні з визначенням питомої поверхні визначеної за тепловою десорбцією азоту згідно з ГОСТ 23401-90. Визначення адсорбційної активності порошків гідроксиapatиту проводили згідно з ГОСТ 4453-74. Насичення порошків проводили водним розчином метиленового синього (Китай), структурна формула якого представлена на рис. 2.3, з концентрацією 1500 мг/л. Порошки поміщали в розчин метиленового синього з розрахунку 250 мл розчину на 1 г

порошку на 45 хв. Після збовтування проводили центрифугування (центрифуга ЦЛК-1, Росія) протягом 15 хв. та визначали оптичну густину розчину фотоколориметричним методом (ФЕК-56М, Росія).

На основі отриманих значень оптичної густини, використовуючи калібрувальний графік, визначали залишкову масову концентрацію метиленового синього в освітленому розчині.

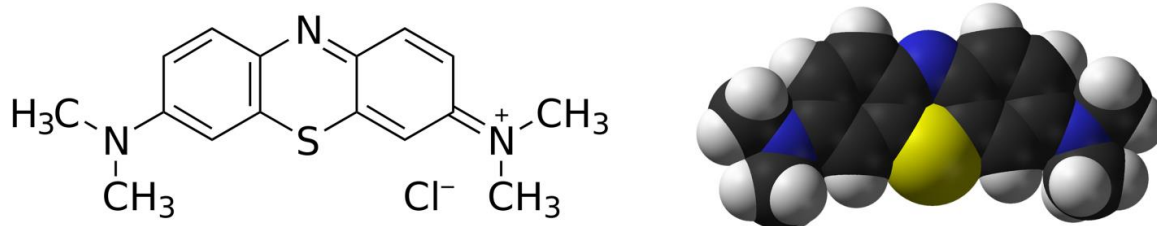


Рисунок 2.3 – Структурна формула метиленового синього

Адсорбційну активність визначали за формулою, мг/г:

$$X = \frac{(C_1 - C_2 \cdot K) \cdot 0.025}{m},$$

де C_1 – масова концентрація вихідного розчину метиленового синього, мг/л;

C_2 – масова концентрація розчину після контактування з порошком гідроксиapatиту, мг/л;

K – коефіцієнт розбавлення розчину, взятого для аналізу, після контактування з порошком гідроксиapatиту ($K= 5; 10$);

m – маса наважки гідроксиapatиту, г;

0.025 – об'єм розчину метиленового синього, взятого для освітлення, л.

4) Дослідження морфології КФК після відпалу та до і після обробки в розчині під дією ультразвуку свідчили про утворення наноструктури та її зміни під впливом розчинника. Растрова електронна мікроскопія з рентгенівським мікроаналізом була реалізована на приборі PEMMA102 (SELMІ, Україна). прибор дозволяє візуалізувати поверхню зразка в широкому діапазоні збільшень з розрешенням порядку 10 нм і одержувати данні про елементний

склад з аналізу характеристичних рентгенівських спектрів, збуджених електронним зондом. Прискорена напруга для електронного пучка -20 кВ. Для запобігання накоплення поверхневого заряду при електронно-зондовому експерименті, зразки покривали тонкою плівкою (30-50 нм) срібла в вакуумній установці ВУП-5М (SELMІ, Україна). Обробка спектрометричної інформації, виконання необхідних калібровочних вимірів, розшифровка характеристичних рентгенівських спектрів і кількісний аналіз проводились за допомогою програмного забезпечення системи мікроаналізу. Процедура розрахунку складу зразка заснована на класичній схемі ZAF-корекції матричних ефектів, методом зовнішнього еталона. Стан кремнію та НЧ срібла на поверхні покриття з ГАП вивчали методами електронної мікроскопії (СЕМ). Мікроскоп було укомплектовано системою HKL CHANNEL 5 фірми OXFORD — для дифракції електронів із локальної ділянки з розміром понад 10 нм. Для визначення кремнезему в структурі КФК користувались ІЧ-спектроскопією. Дослідження проводили на Фур'є-спектрометрі ФСМ-1202 в області довжин хвиль 4000-400 см⁻¹. Для вимірювань досліджувані зразки ретельно змішувалися з порошком КВr в співвідношенні (1: 300) мг і отриману суміш пресували в круглій прозорій таблетці діаметром 13 мм.

Хімічний склад дослідних зразків КФК визначали енергодисперсійним рентгенфлуоресцентним елементним аналізом з застосуванням експрес-аналізатору хімічного складу Expert 3L (ІНАМ, Україна).

Використані методики досліджень сприяли визначенню правильного балансу утворених фаз в отриманих біоматеріалах і, таким чином, визначенню технологічних параметрів, дотримання яких забезпечує остеоіндуктивні властивості біоматеріалів.

Для підтвердження біологічних властивостей отриманих матеріалів були проведені дослідження *in vitro* та *in vivo* в ДП «Інститут генетичної та регенеративної медицини НАМН України», в Білоцерківському національному аграрному університеті на кафедрі хірургії та хвороб дрібних домашніх тварин та ДП "Науковий центр превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки

імені академіка Л.І. Медведя МОЗ України" відповідно до стандартів ДСТУ ISO 10993.

Дослідження остеогенних властивостей *in vitro* проводились в ДП «Інститут генетичної та регенеративної медицини НАМН України» на культурах мультипотентних мезенхімальних стромальних клітинах кісткового мозку) та мультипотентних стовбурових / прогеніторних клітинах-похідних нервового гребня з твердого піднебіння на зразках однофазної, двофазної і трифазної КФК, легованої кремнієм з метою встановлення критеріїв якості та безпеки інноваційних біомедичних тканинно-інженерних продуктів для відновлення кісткових дефектів на основі клітин людини та синтетичних керамічних імплантатів з метою їх подальшого клінічного використання. Результати роботи оформлені у вигляді звіту.

КФК, модифікована кремнієм, та КФК, модифікована кремнієм в комбінації з плазмою крові збагаченою тромбоцитами досліджувалась *in vivo* відповідно до ДСТУ ISO 10993 в Білоцерківському національному аграрному університеті на кафедрі хірургії та хвороб дрібних домашніх тварин.

Мікробіологічні дослідження антибактеріальних властивостей покриттів проведені ДП "Науковий центр превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки імені академіка Л.І. Медведя МОЗ України" відповідно до стандартів ДСТУ ISO 10993 з використанням тест-штамів відомих збудників госпітальних гнійно-запальовальних захворювань - грамнегативних (*Escherichia coli* та *Pseudomonas aeruginosa*) та грампозитивних (*Staphylococcus aureus*) бактерій.

РОЗДІЛ 3

ВПЛИВ ОБРОБКИ ОСАДУ НЕСТЕХІОМЕТРИЧНОГО ГІДРОКСИПАТИТУ РОЗЧИНАМИ ОРГАНІЧНИХ КИСЛОТ ДО рН ВІД 7 ДО 4 ТА ЛЕГУВАННЯ КРЕМНІЄМ НА ФАЗОВІ, СТРУКТУРНІ ЗМІНИ ТА ФІЗИКО-ХІМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ПІСЛЯ ВІДПАЛУ В ТЕМПЕРАТУРНОМУ ІНТЕРВАЛІ 800 - 1300°C

Незважаючи на загальноприйняту думку, що біосумісними фазами є тільки дві фази фосфатів кальцію ГАП та β -ТКФ, в останній час з'явилося припущення, що сполучення в певному співвідношенні трьох фаз ГАП, β -ТКФ та α -ТКФ (яка не вважається біосумісною) може придати остеоіндуктивні властивості трифазній КФК. Перед початком роботи були проведені попередні дослідження біологічних властивостей двофазної КФК з ГАП та α -ТКФ [156], які показали, що вона володіє не тільки гарними остеоіндуктивними, але й остеоінтегративними властивостями.

Обробка осаду нестехіометричного ГАП органічними кислотами та легування кремнієм проводилась з метою розширення факторів впливу на фазові зміни при подальшій термообробці модифікованого осаду для отримання трифазної КФК з ГАП, β -ТКФ та α -ТКФ і придання отриманим матеріалам остеоіндуктивних властивостей.

Ідея обробки нестехіометричного осаду органічними кислотами полягала в тому, що поверхня частинок нестехіометричного ГАП в слабому розчині органічних кислот буде розчинена неконгруентно, що при подальшій термообробці спричинить появлення нових фаз фосфатів кальцію. Чим більш концентрований розчин, тим більше нестехіометричного ГАП буде розчинено, тим більші зміни відбудуться в фазовому складі. Таким чином була реалізована можливість розширити фактори впливу на фазові зміни при термообробці нестехіометричного ГАП за рахунок додаткової обробки вже синтезованого осаду. Дослідження впливу різними кислотами проводилось для визначення:

фазові зміни і фізико-хімічні властивості залежать від зміни рН осаду, чи вибір кислоти теж має вплив на властивості матеріалу. З літературних джерел відомо, що реакційна здатність трифазних складів ГАП збільшується зі збільшенням співвідношення ТКФ/ГАП, тому для досліджень був вибраний синтез нестехіометричного ГАП з розрахунку значення Са/Р - 1,53.

Для оцінки здатності біоматеріалу до заміщення була вибрана схема досліджень, яка дозволяє змодельовати його зміни під впливом фізіологічного середовища [162, 163]:

- 1) визначення фазового складу КФК, відпаленої при різних температурах;
- 2) визначення розчинності КФК в оцтово-ацетатному буфері при рН 5,5
- 3) витримка КФК в оцтово-ацетатному буфері при рН 5,5 в УЗ ванні 0,5 години, для визначення послідовності розчинення фаз в КФК;
- 4) визначення фазового складу КФК після обробки в умовах, що моделюють біологічні;
- 5) визначення адсорбційної активності КФК, до та після обробки в умовах, що моделюють біологічні.

Ця схема досліджень дозволяє визначити, при яких умовах обробки матеріалу (модифікація, температурний режим) утворюється структура пор, що забезпечує подальшу взаємодію матеріалу з фізіологічним середовищем.

3.1 Фазові зміни та фізико-хімічні властивості кальцій-фосфатної кераміки, отриманої відпалом осаду нестехіометричного гідроксиапатиту в інтервалі температур 800-950 °С

Для зменшення впливу неконтрольованих факторів на одержаний результат, всі дослідження по впливу органічних кислот на властивості КФК проведено з нестехіометричним ГАП з одного синтезу і для порівняння результатів впливу кислот, спочатку було досліджено фазові зміни та фізико-хімічні властивості КФК, отриманої після відпалу осаду в температурному інтервалі 800-950 °С, не обробленого кислотами, рН якого 8,5.

Рентгенофазовий аналіз необробленого осаду, відпаленого в інтервалі температур 800 – 950 °С показав, що при всіх температурах утворилась двофазна КФК в якій фази β -ТКФ більше ніж фази ГАП (рис.3.1).

З цих даних можна зробити висновок, що без обробки осаду нестехіометричного ГАП органічними кислотами, при термічній обробці в інтервалі 800⁰С-950⁰С одержано двофазну біоактивну КФК, в якій вміст фази β -ТКФ перевищує вміст фази ГАП, а утворення фази α -ТКФ не спостерігається. Також видно, що фазові зміни відбуваються немонотонно, що може бути пов'язано зі змінами в параметрах решіток, які відбуваються при фазових змінах (рис.3.2) .

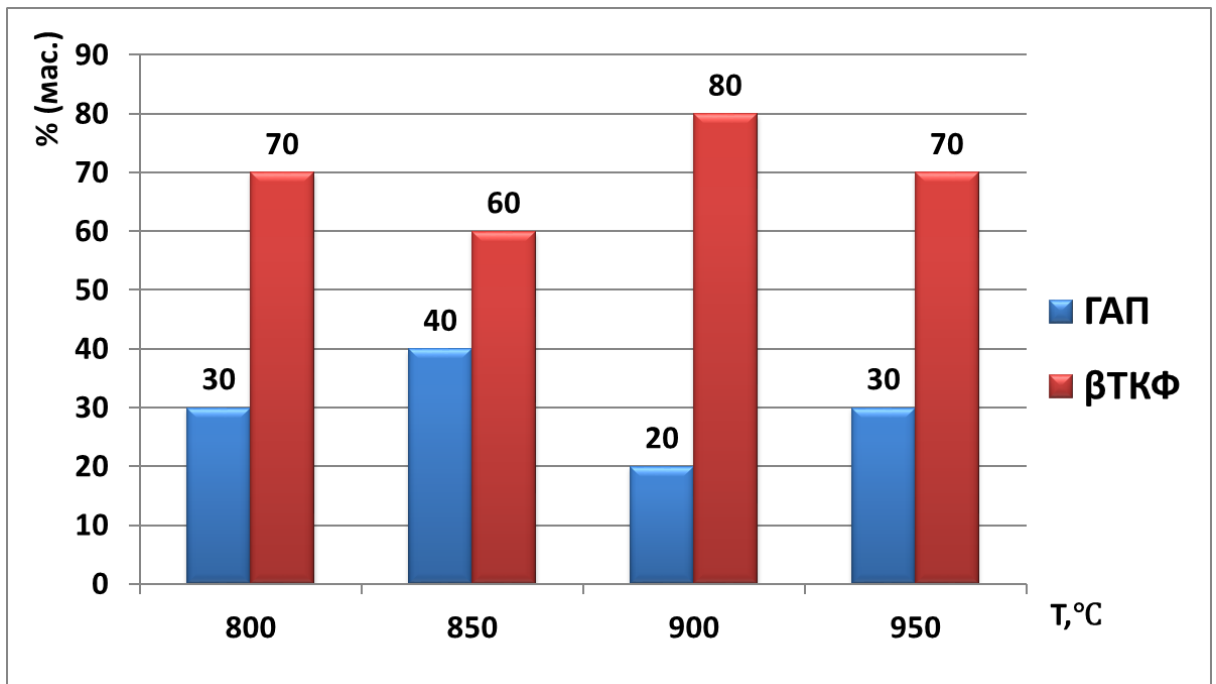


Рисунок 3.1 – Зміна фазового складу після термообробки нестехіометричного ГАП при температурах 800 – 950 °С

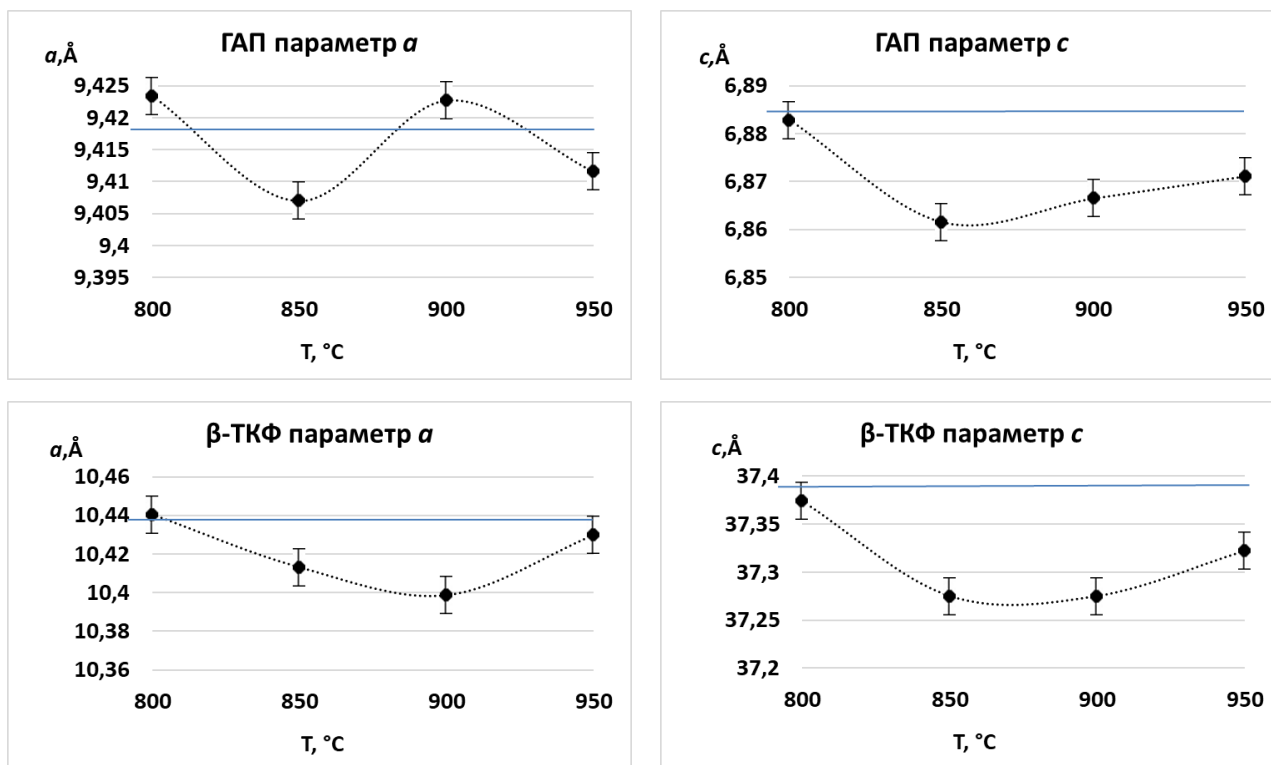


Рисунок 3.2 –Зміна параметрів решіток ГАП та β -ТКФ в результаті термічної обробки нестехіометричного ГАП в інтервалі температур 800 – 950 °C

З графіку фазових змін в КФК після розчинення в оцтово-ацетатному буфері (рис.3.3) видно, що в КФК, відпаленій при 800°C в основному розчиняється фаза β -ТКФ (більш розчинна), при підвищенні температури до 850 °C, обидві фази розчиняються однаково, при подальшому підвищенні температури знову більш активно розчиняється фаза β -ТКФ. Такий характер розчинності при 850 °C можна пояснити як зміною параметрів решіток ГАП і β -ТКФ, видно, що параметр a решітки ГАП різко змінився при 850 °C (рис. 3.2), так і тим, що в результаті фазових перетворень при температурі 850 °C фаза β -ТКФ мала менше контакту з розчинником.

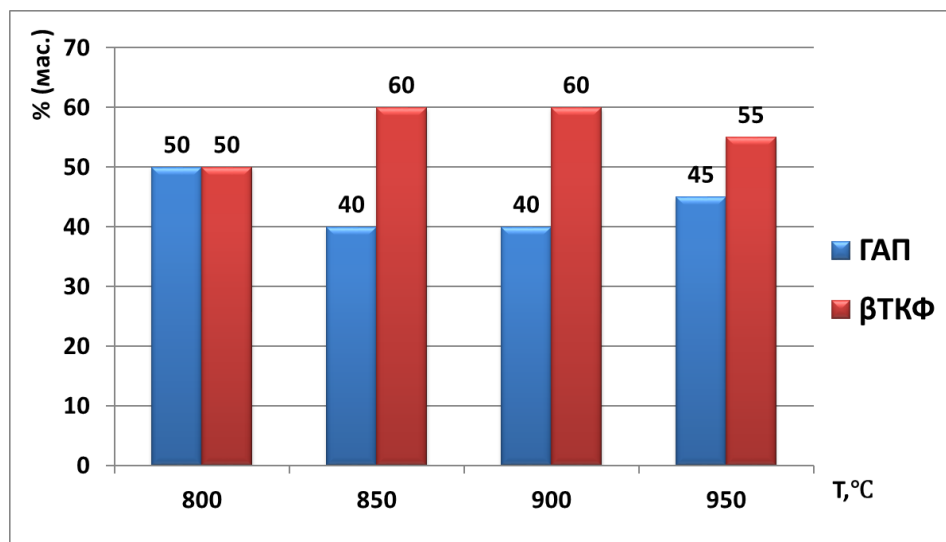


Рисунок 3.3 – Зміна фазового складу нестехіометричного ГАП після відпалу при температурах 800 – 950 °С та обробки в буферному розчині

Визначення розчинності двофазної КФК, утвореної в цьому інтервалі температур, показало (рис.3.4), що найвищу розчинність має КФК, відпалена при температурі 900 °С, що добре узгоджується з графіками фазових змін до розчинності в оцтово-ацетатному буфері та після.

На рис 3.1 видно, що найбільше розчинної фази β-ТКФ в КФК саме при 900 °С, а після розчинення в буферному розчині співвідношення фаз змінилось зі зменшенням фази β-ТКФ при 900 °С (рис.3.3).

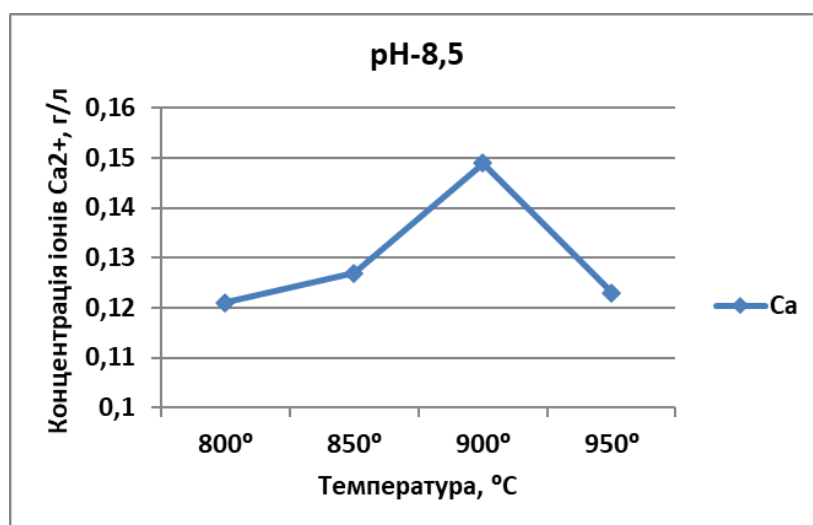


Рисунок 3.4 – Залежність концентрації іонів кальцію, після розчинення в оцтово-ацетатному буфері КФК, від температури її термообробки

Згідно зі змінами адсорбційної активності КФК (рис. 3.5), отриманої при температурах відпалу від 800 °С до 950°С, до дослідження на розчинність в оцтово-ацетатному буфері та після, кращими сорбційними властивостями володіє КФК, відпалений при 850 °С, завдяки створенню певної поруватості при розчинності фаз на цій температурі.

Слід відмітити, що адсорбційна активність найвища не у КФК, яка має найвищу розчинність.

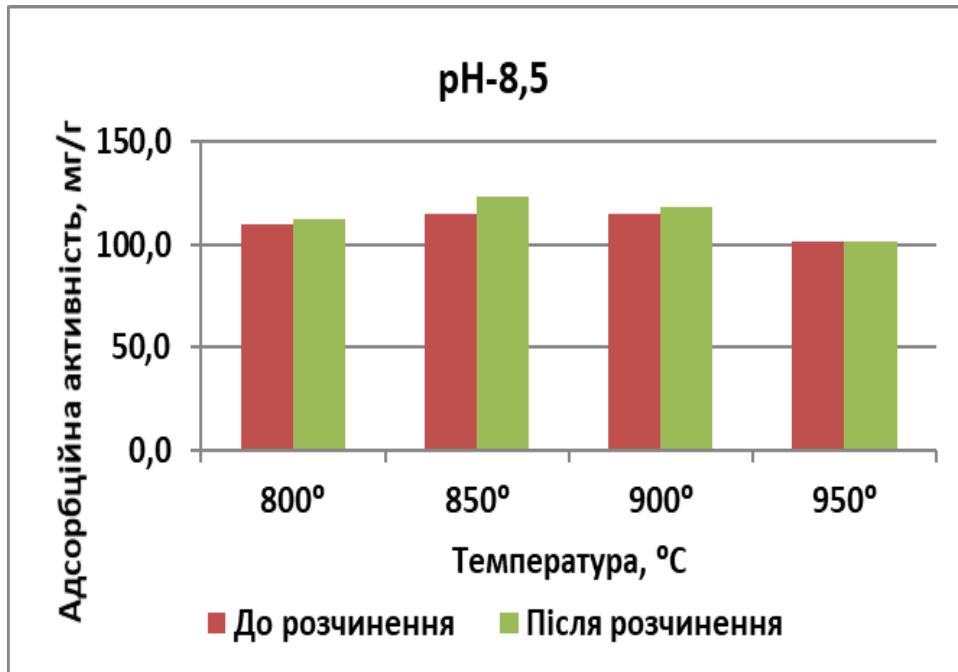
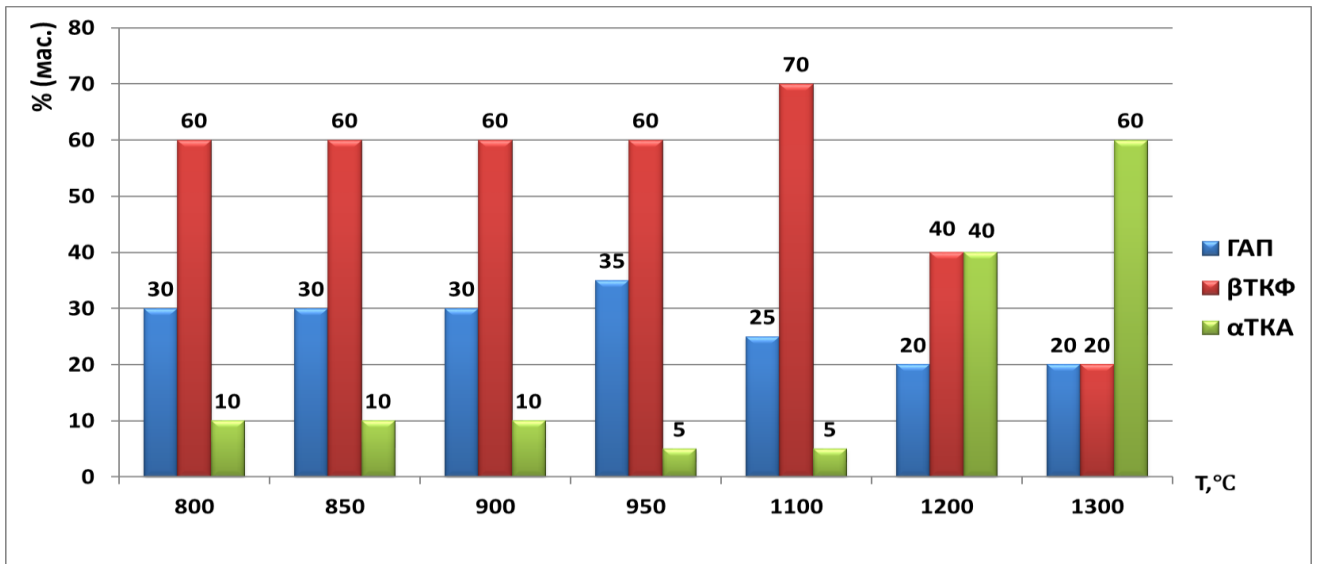


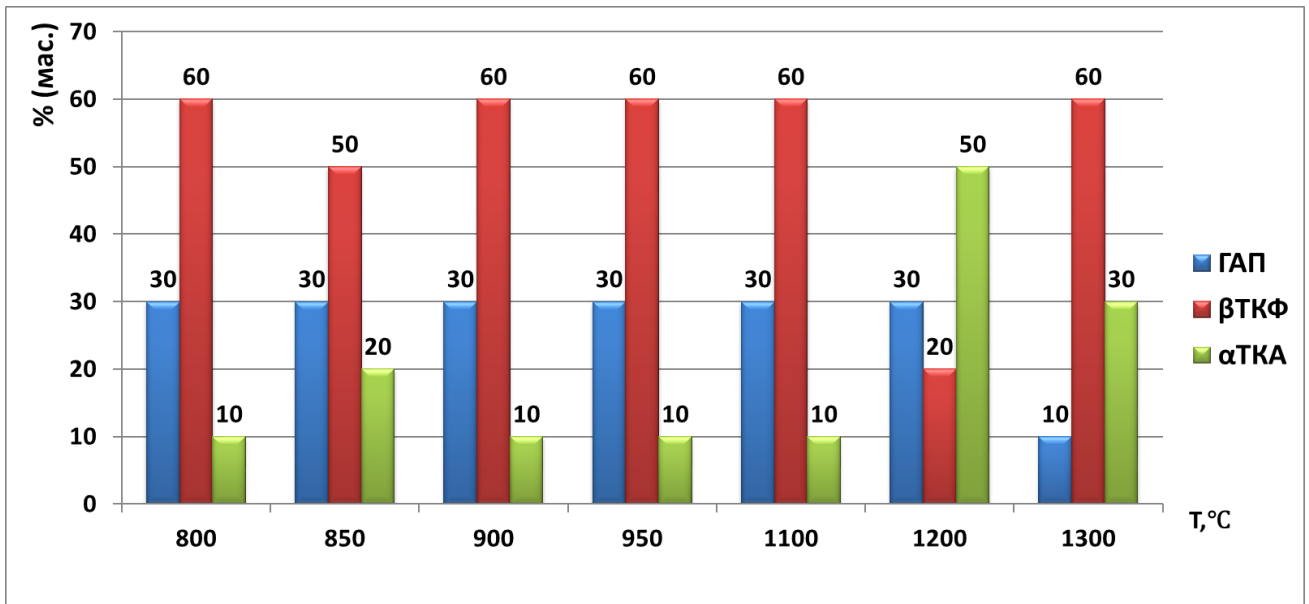
Рис. 3.5 – Зміна адсорбційної активності КФК, отриманої при температурах відпалу від 800 до 950 °С, до та після обробки в оцтово-ацетатному буфері

3.2 Модифікування кальційфосфатної кераміки аскорбіновою кислотою

Після обробки осаду ГАП аскорбіновою кислотою (доведення рН до 7 та 6) та термічної обробки в інтервалі 800 – 1300 °С фазовий склад порошків, одержаних з осадів при рН 7 та рН 6, подібний (рис.3.6).



а)



б)

Рис.3.6 – Зміна фазового складу після термообробки в інтервалі температур від 800 °C до 1300 °C нестехіометричного ГАП, модифікованого аскорбіновою кислотою до рН 7(а) та рН 6 (б)

При всіх температурах утворилась трифазна КФК, до складу якої входять фази β-ТКФ, ГАП та α-ТКФ. Слід відмітити, що при відпалі осаду нестехіометричного ГАП при 1300 °C, який оброблений аскорбіновою кислотою до рН 6, кількість високотемпературної фази α-ТКФ різко знизилась, а кількість низькотемпературної фази β-ТКФ зросла, що відрізняється від

літературних даних. Характер змін параметрів решіток ГАП в залежності від температур відпалу КФК модифікованої аскорбіновою кислотою до рН 7 та 6 схожі (рис.3.7), а характер змін параметрів решіток β -ТКФ різний саме при температурі 1300 °С і величині зміни на 1000 °С (рис. 3.8), що узгоджується і з графіками фазових змін рис.(3.6).

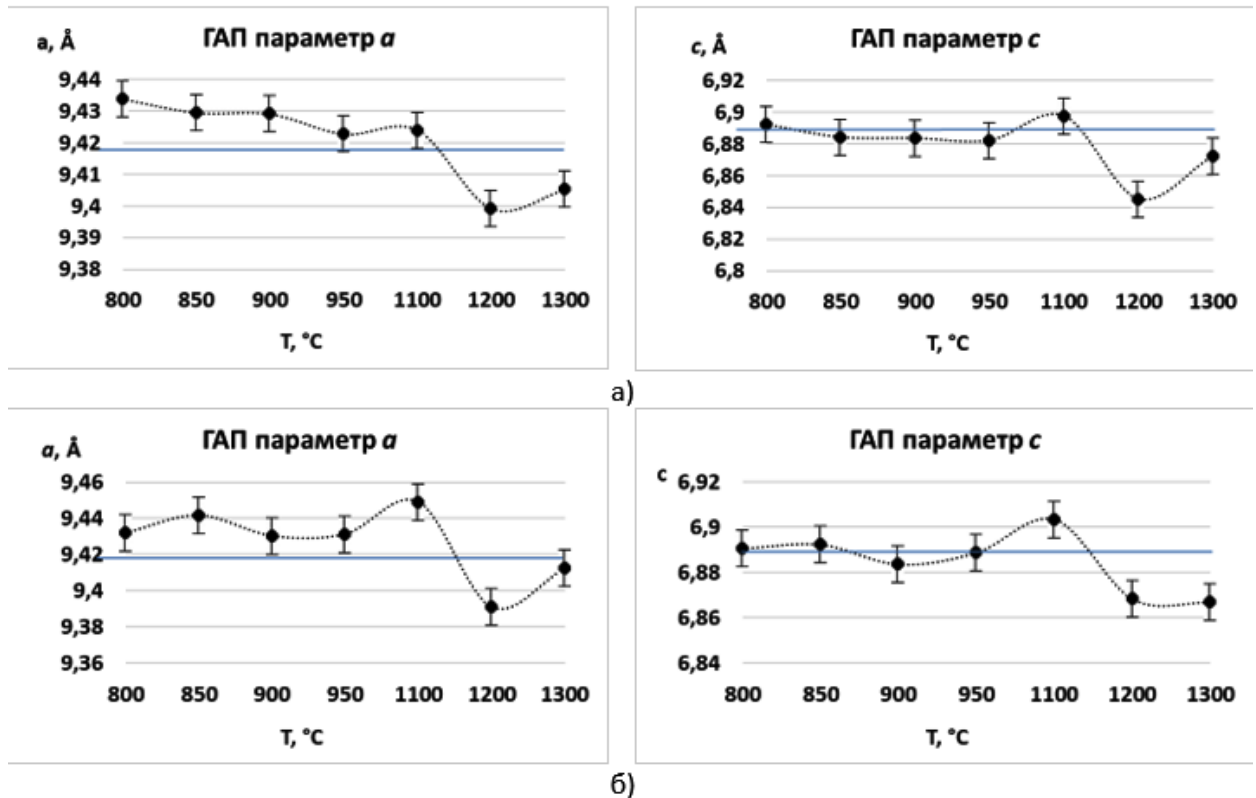


Рисунок 3.7 – Зміна параметрів решіток ГАП в КФК після відпалу в інтервалі температур 800 - 1300 °С осаду нестехіометричного ГАП, обробленого аскорбіновою кислотою до рН 7 (а) та до рН 6 (б)

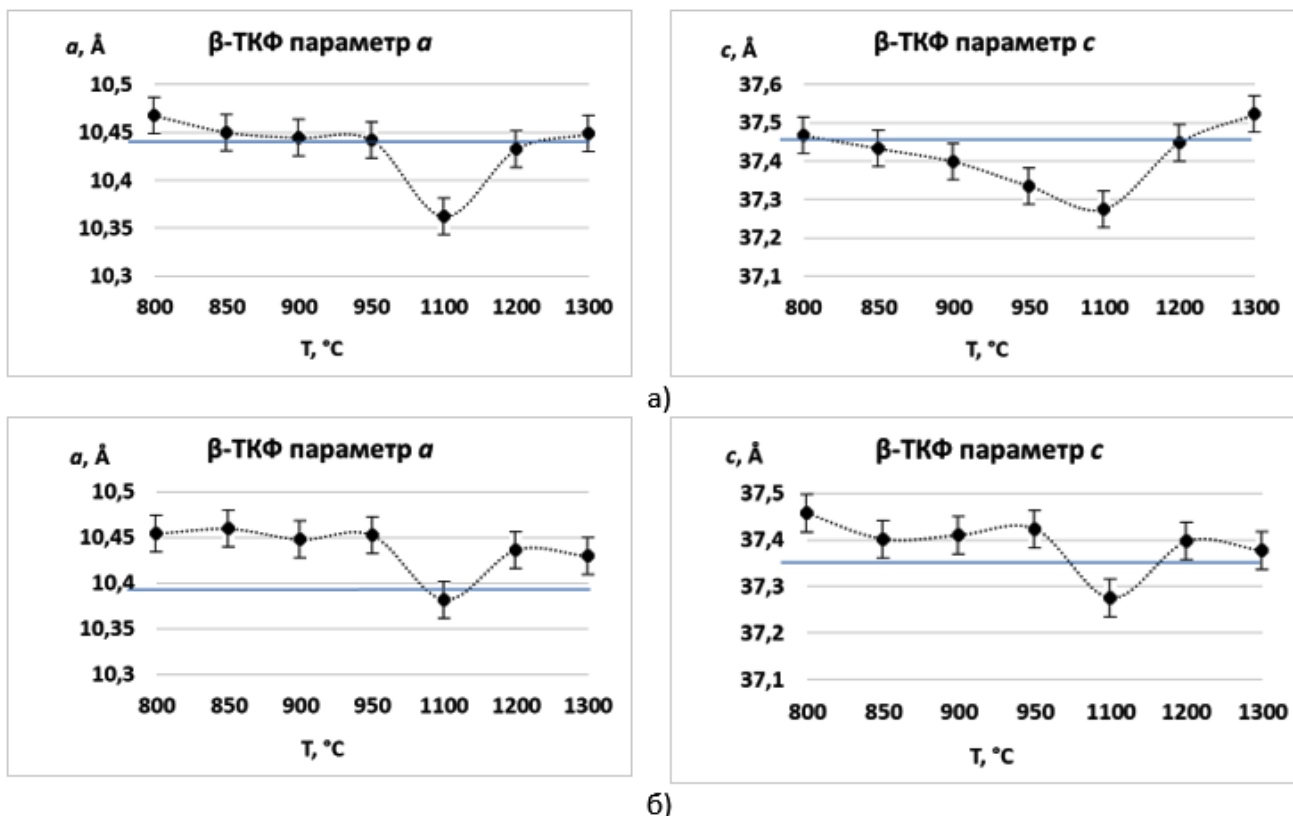


Рисунок 3.8 – Зміна параметрів a і c решітки β -ТКФ в КФК після відпалу в інтервалі температур 800 - 1300 °С осаду нестехіометричного ГАП, обробленого аскорбіною кислотою до рН 7 (а) та до рН 6 (б)

Характер змін параметрів решіток α -ТКФ КФК, модифікованої аскорбіною кислотою до рН 7 та 6 дуже відрізняються (рис. 3.9, 3.10), що разом зі змінами в параметрах решіток α -ТКФ і β -ТКФ при високих температурах дають такі зміни в фазових співвідношеннях та фізико-хімічних властивостях.

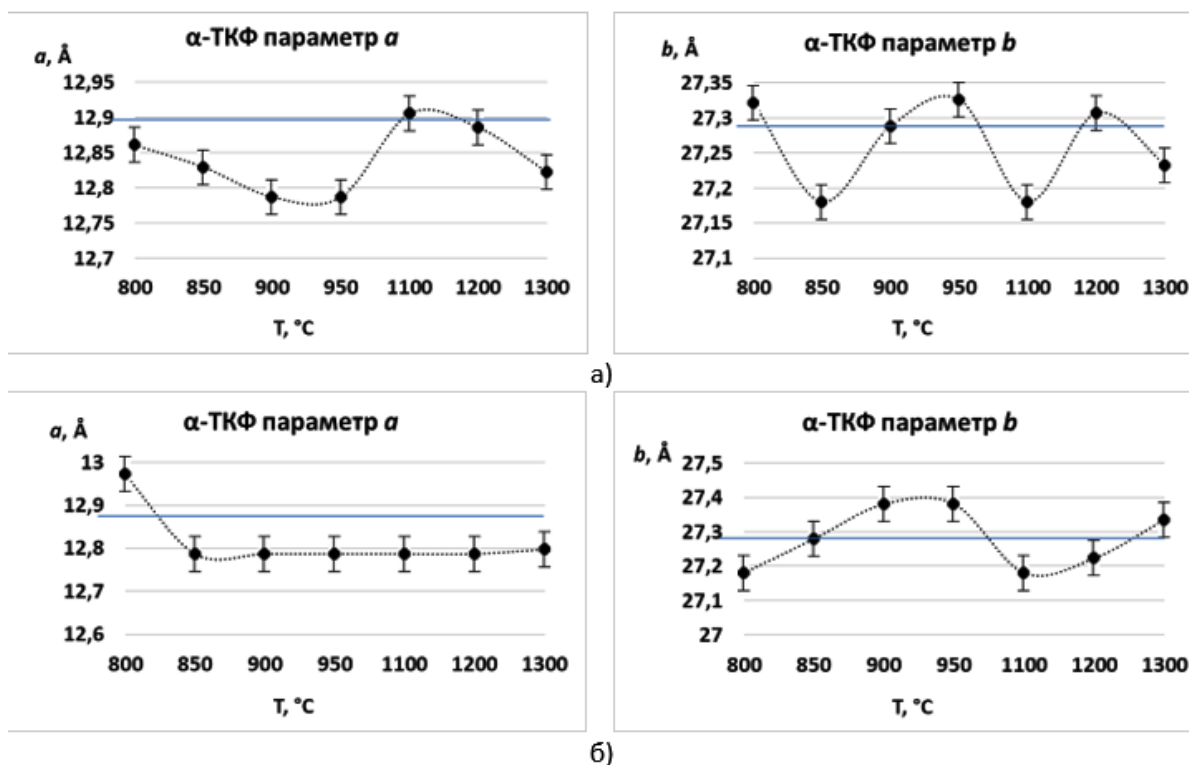


Рисунок 3.9 – Зміна параметрів решіток α -ТКФ в КФК після відпалу в інтервалі температур 800 - 1300 °С, осаду обробленого аскорбіновою кислотою до рН 7 (а) та до рН 6 (б)

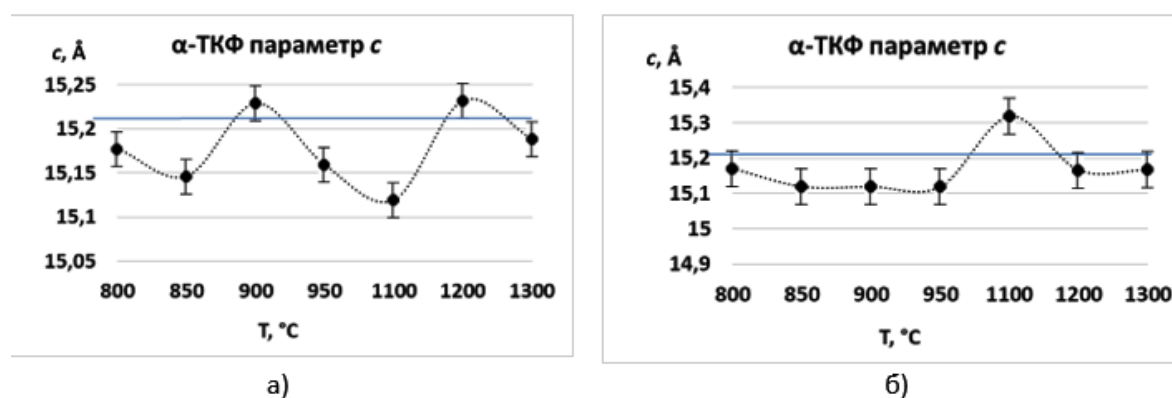
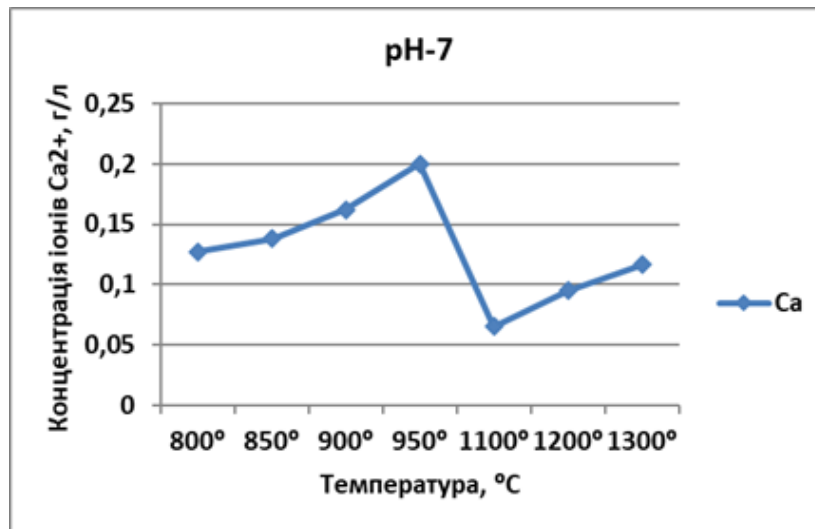


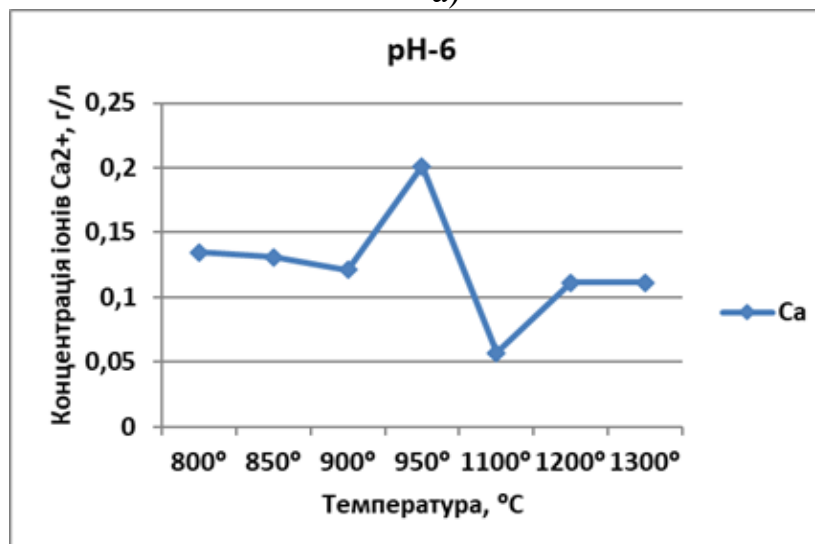
Рисунок 3.10 – Зміна параметрів решіток α -ТКФ в КФК після відпалу в інтервалі температур 800 - 1300 °С, осаду обробленого аскорбіновою кислотою до рН 7 (а) та до рН 6 (б)

Деяко схожі картини розчинності в обох випадках. Однаковий максимум розчинності на 950°С, але в першому випадку розчинність після 1200°С продовжувала підвищуватись, ймовірно за рахунок продовження збільшення

кількості фази α -ТКФ, в другому випадку завдяки зниженню кількості α -ТКФ, розчинність перестає рости (рис. 3.11 а, б).



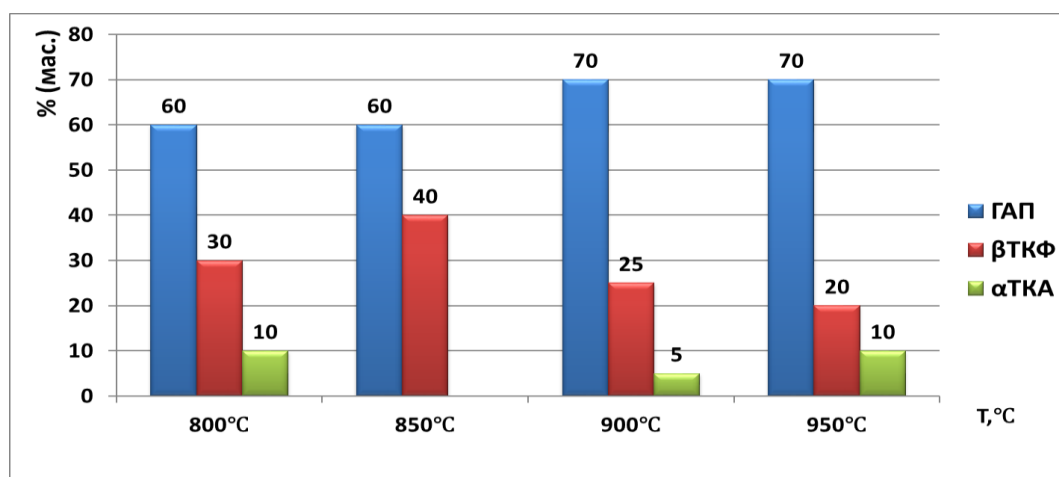
а)



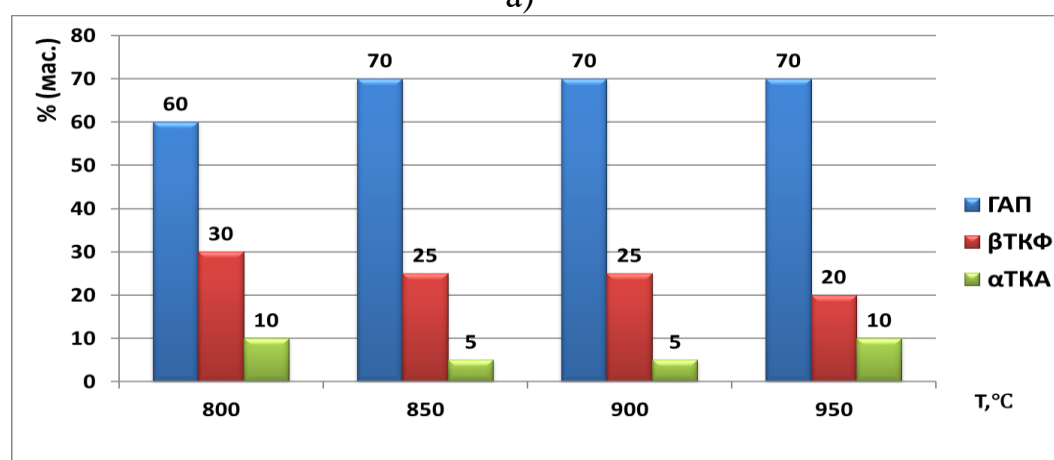
б)

Рис. 3.11 – Залежність концентрації іонів кальцію, що виділились в оцтово-ацетатний буфер з модифікованої аскорбіновою кислотою КФК (а-рН 7, б- рН 6), від температури її термообробки

Схожість поведінки цих КФК підтверджують і результати досліджень фазового складу зразків після визначення їх розчинності в оцтово-ацетатному буфері (рис. 3.12).



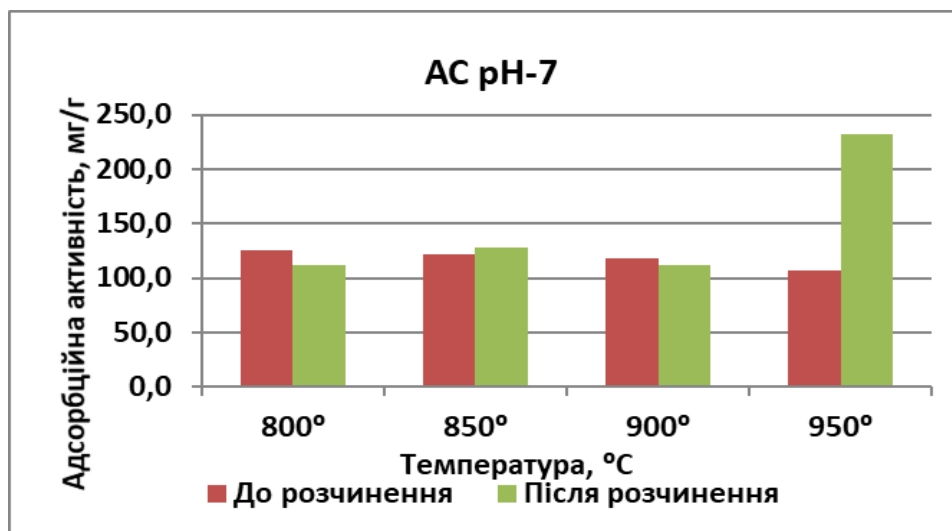
а)



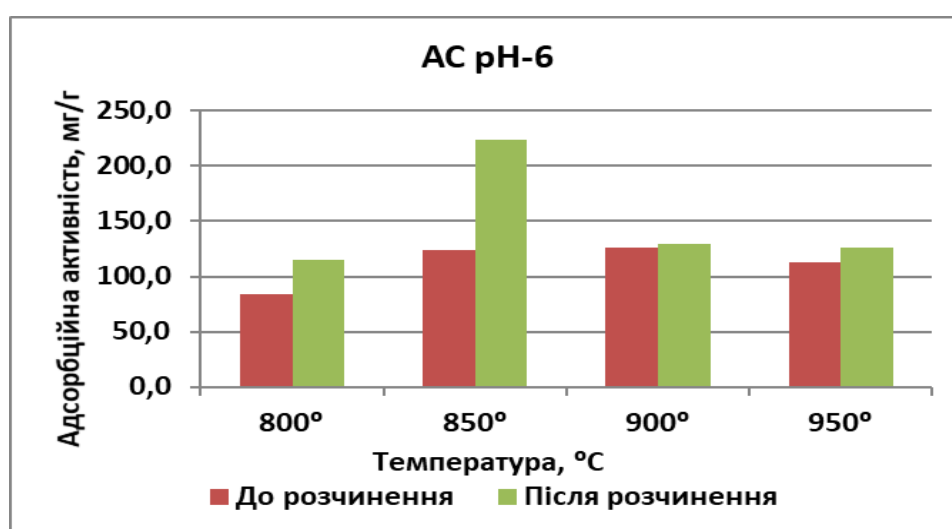
б)

Рис. 3.12 – Фазові зміни КФК, модифікованих аскорбіновою кислотою до рН 7(а) та рН 6 (б), відпалених в інтервалі температур від 800°C до 950°C, після визначення їх розчинності в оцтово-ацетатному буфері

Відмінністю після витримки в оцтово-ацетатному буфері КФК, модифікованого аскорбіновою кислотою до рН 6 є зникнення фази α-ТКФ на 850 °C (рис.3.12 а), але на (рис. 3.6 а) видно, що фази α-ТКФ, саме при цій температурі було вдвічі менше до витримки в буфері. Відбуваються зміни і в сорбційних властивостях після впливу буферу, що можна пояснити зміною порової структури після витримки КФК в рідині, що імітує фізіологічну (рис.3.13) через розчинення фази, яка спричиняє утворення нанопор.



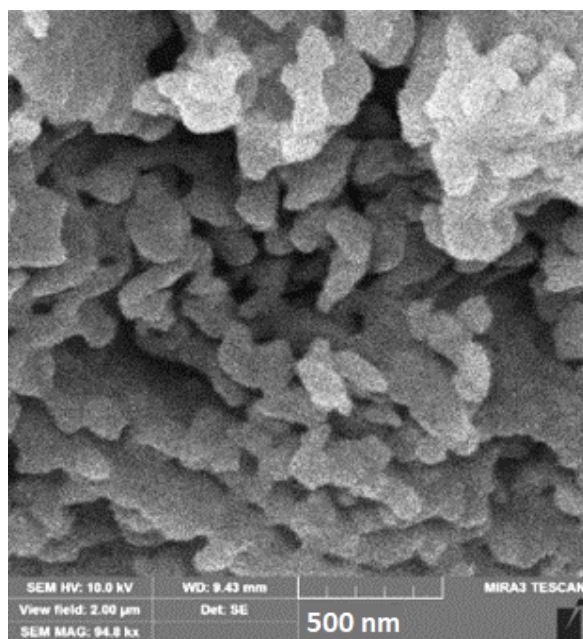
а)



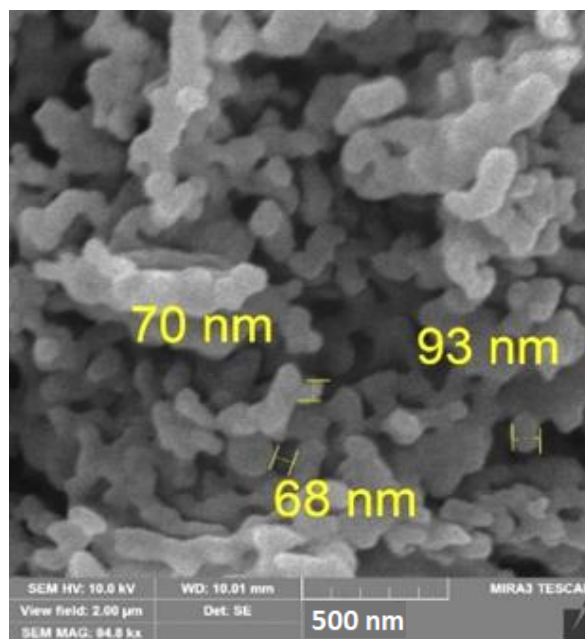
б)

Рис. 3.13 – Зміна адсорбційної активності КФК, модифікованої аскорбіновою кислотою до рН 7(а) та рН 6 (б), до дослідження на розчинність в оцтово-ацетатному буфері та після дослідження на розчинність

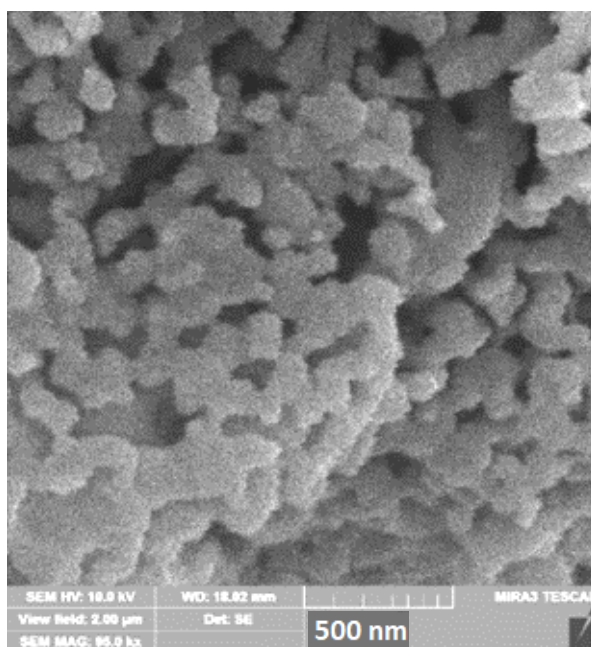
Обробка осаду нестехіометричного ГАП аскорбіновою кислотою приводить до гальмування росту зерен, тобто до утворення наноструктури, а витримка в оцтово-ацетатному розчині сприяє утворенню нанопористості (рис 3.14). З мікрофотографій видно збільшення нанопористої структури (рис 3.14 б, та утворення шорсткої поверхні на частинках, оброблених слабким розчином кислоти.



а)



б)



в)

Рисунок 3.14 – Мікроструктура трифазної КФК, модифікованої аскорбіною кислотою до рН 6 (а) після відпалу при 850 °С, (б) після витримки в оцтово-ацетатному розчині, (в) після обробки трифазної КФК слабким розчином аскорбінової кислоти

Таким чином, з отриманих даних можна зробити висновок, що вперше синтезовано трифазну біоактивну КФК (β -ТКФ, α -ТКФ та ГА) з різним співвідношенням фаз в інтервалі температур від 800°C до 1300°C; в тому числі і

на низьких температурах 800 - 950 °С, що не властиво для високотемпературної фази α -ТКФ; виявлено; що зниження рН осаду приводить до різких змін в параметрах решітки α -ТКФ; значно був розширений діапазон регулювання співвідношеннями трьох фаз в інтервалі температур від 800 °С до 1300 °С; визначено температури відпалу КФК для отримання структур більш схильних до резорбції, причому було виявлено, що більшою розчинністю може володіти матеріал, відпалений на більш високих температурах. Встановлено, що зниження рН осаду нестехіометричного ГАП під впливом аскорбінової кислоти від 7 до 6, приводить до збільшення фази α -ТКФ в модифікованій КФК в температурному інтервалі від 850 °С до 1200 °С майже вдвічі, але при цьому максимум розчинності в обох випадках на 950 °С.

Максимуми сорбційних властивостей після обробки оцтово-ацетатним буфером КФК (рН 7) – 231,6 мг/г при температурі відпалу 950 °С; КФК(рН 6) - 223,8 мг/г при температурі відпалу 850 °С, в той час, як максимум адсорбційної активності для немодифікованої КФК, 123,4 мг/г. Максимальна розчинність КФК, модифікованої аскорбіновою кислотою однакова в обох випадках – 0,2 г/л (0,127 для немодифікованої КФК).

Особливі властивості трифазної кераміки забезпечує різна розчинність фаз, найбільш розчинна фаза α -ТКФ у порівнянні з β -ТКФ та ГАП після розчинення формує нанопоруватість, що забезпечує підвищення клітинної активності, менш розчинна фаза β -ТКФ після розчинення сприяє утворенню структури пор різного розміру, найбільш стійка фаза ГАП, забезпечує стійкість каркасу.

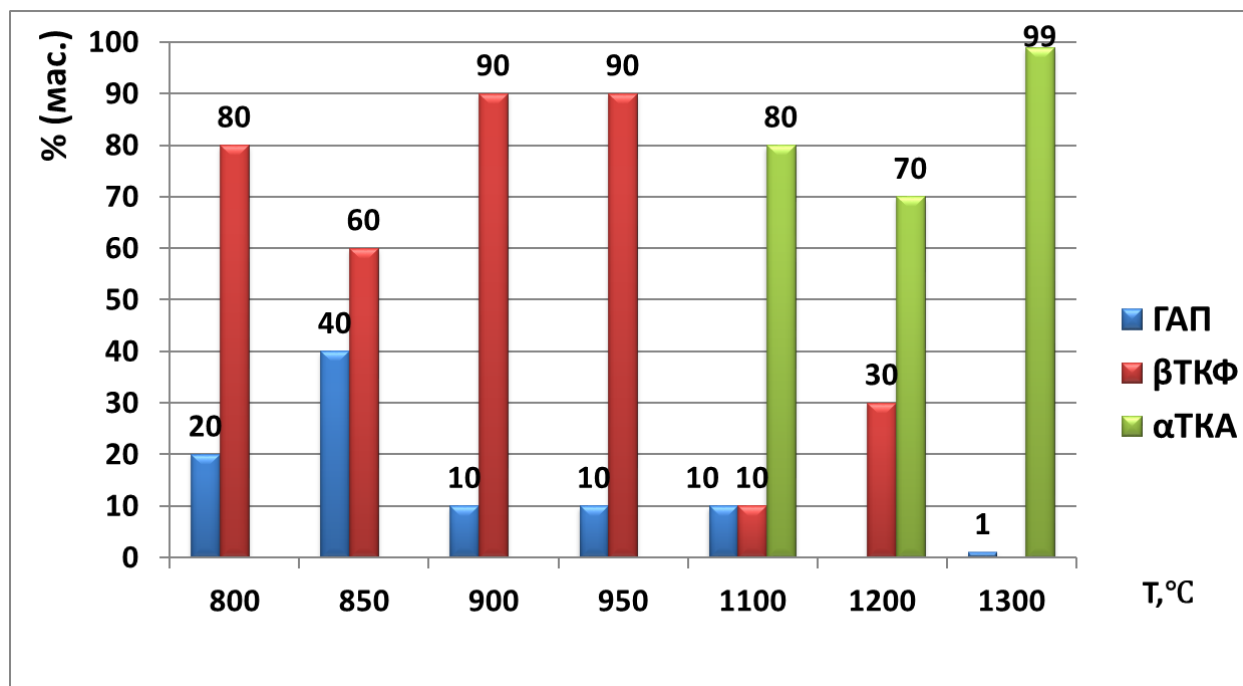
3.3 Модифікування кальційфосфатної кераміки лимонною кислотою

Вибір лимонної кислоти для модифікування осаду нестехіометричного ГАП базувався на інформації, що в процесах резорбції та утворення біогенного ГАП активну участь приймає саме цитрат іон який регулює утворення кристалів біологічного апатиту з його прекурсорів. В останній час дослідники звернули увагу на цей факт і почали використовувати цитрат іони для синтезів

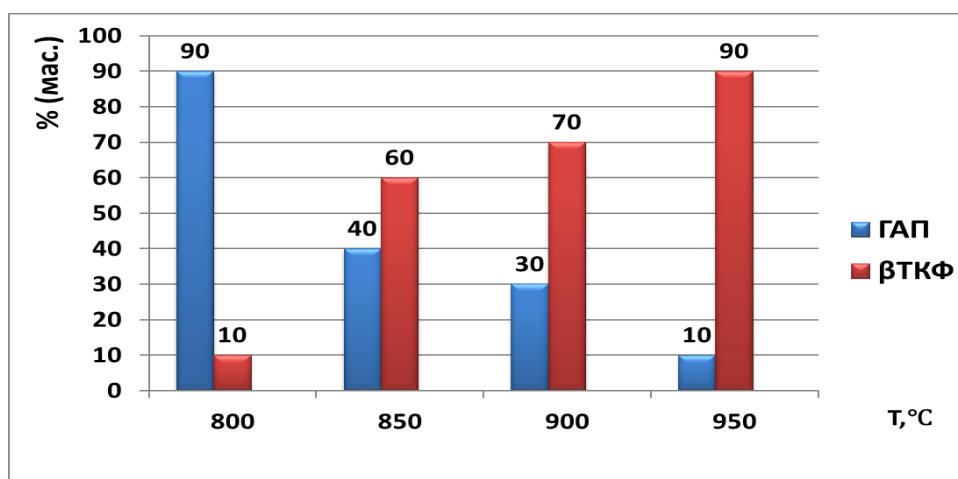
синтетичного ГАП, з метою отримання кристалів найбільш подібних до біологічних, є припущення, що особливий вплив цитрат іон має на морфологію кристалів завдяки відповідності відстані між кінцевими групами COO^- в цитраті і параметром решітки c в гексагональному апатиті. В 2018 році вийшла стаття італійських вчених, в якій описано гідротермальний синтез ГАП з суспензії його попередника монетита (CaHPO_4) в присутності лимонної кислоти при $\text{pH} \sim 3$. Цитрат зв'язуючись з кальцієм може утворювати стабільну тримерно-впорядковану фазу Са-цитрат-тетрагідрат (Са-Cit-ТН). Ця фаза сама по собі недавно була оголошена новим актуальним біоматеріалом для формування кістки.

Обробка осаду нестехіометричного ГАП лимонною кислотою була проведена до отримання $\text{pH} 4$. Фазові зміни в КФК, модифікованої лимонною кислотою та відпаленої в діапазоні від 800°C до 1300°C (рис. 9а) відрізняються від фазових змін КФК, модифікованої аскорбіновою кислотою.

В інтервалі температур від 800°C до 950°C повністю відсутня фаза α -ТКФ, що відрізняє модифіковану лимонною кислотою КФК, від КФК, модифікованої аскорбіновою кислотою. Скоріше за все, як в біологічному ГАП, так і синтетичному, лимонна кислота регулює склад на користь сумісних фаз, тому перетворення β -ТКФ при термічній обробці далі пішло по класичному варіанту. Через найбільшу кількість фази β -ТКФ від 900°C до 950°C , розчинність КФК в цьому інтервалі однакова і максимальна (рис.3.15), крім того, в цьому інтервалі температур параметри ґратки ГАП близькі до стехіометричних значень, на відміну від параметрів ґратки фази β -ТКФ (рис. 3.16), що ще раз підтверджує вплив лимонної кислоти на регулювання утворення стехіометричного ГАП. При 1100°C відбувається різка зміна фазового складу з утворенням великої кількості α -ТКФ, при цьому розчинність різко знижується, незважаючи на те, що утворилась більш розчинна фаза α -ТКФ, але це можна пояснити тим, що при відпалі на цій температурі значно змінилась і щільність матеріалу.



а)



б)

Рисунок 3.15 – Фазові зміни КФК, модифікованої лимонною кислотою, після термообробки від 800 °C до 1300 °C (а), витриманої в оцтово-ацетатному буфері (б)

Порівнюючи фазові зміни КФК, модифікованої лимонною кислотою після витримки в оцтово-ацетатному буфері (рис. 3.15 б) з графіком розчинності (рис.3.17) та сорбційними властивостями (рис. 3.18) слід відмітити, що незважаючи на однакове співвідношення фаз до розчинності на 900 °C і 950 °C,

та однакову розчинність на цих температурах, сорбційні властивості на цих температурах різні, як до витримки в оцтово-ацетатному буфері, так і після.

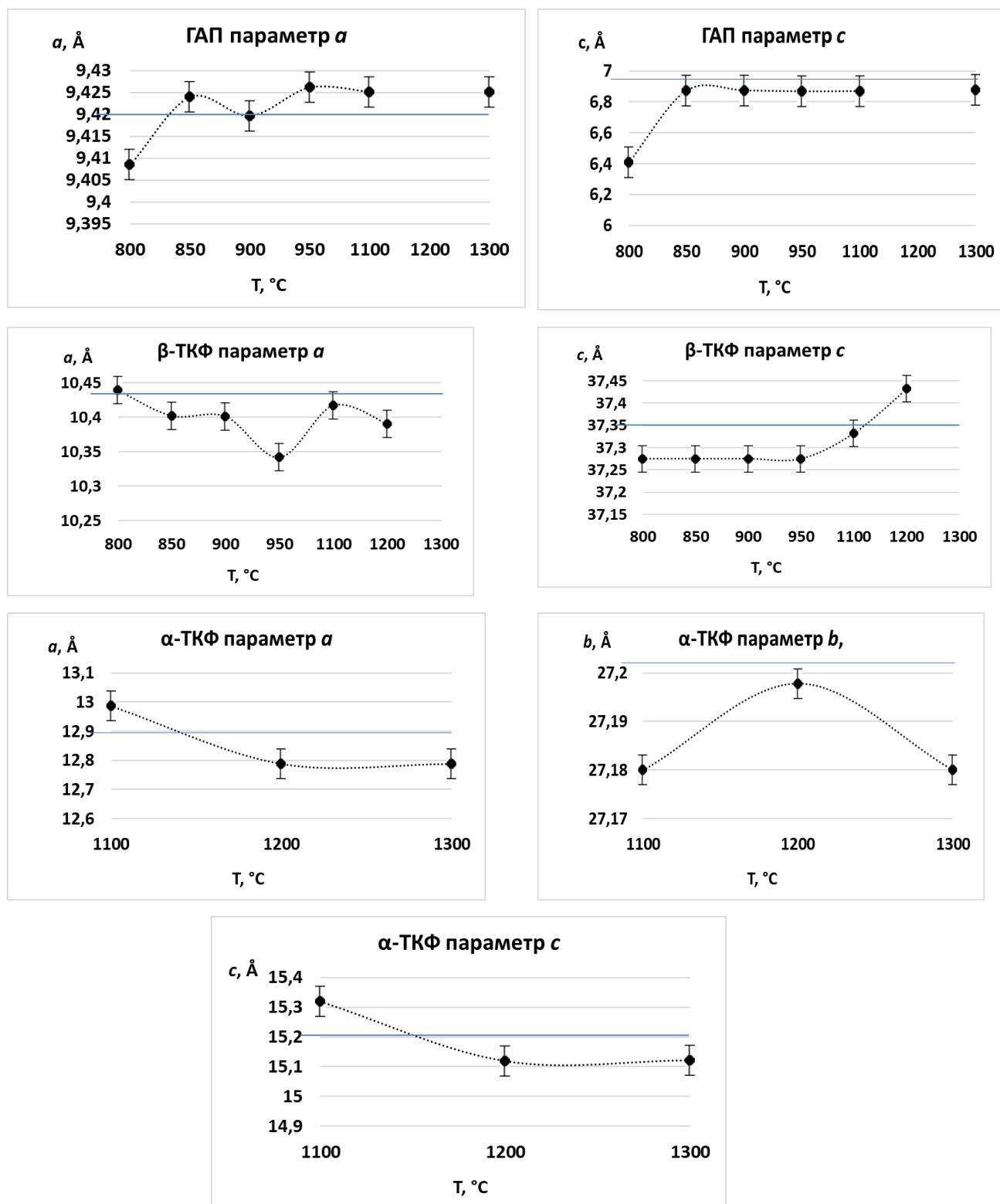


Рисунок 3.16 – Зміна параметрів решіток α -ТКФ в КФК, відпаленій в інтервалі температур 800 - 1300 °C осаду нестехіометричного ГАП, обробленого лимонною кислотою до рН 4

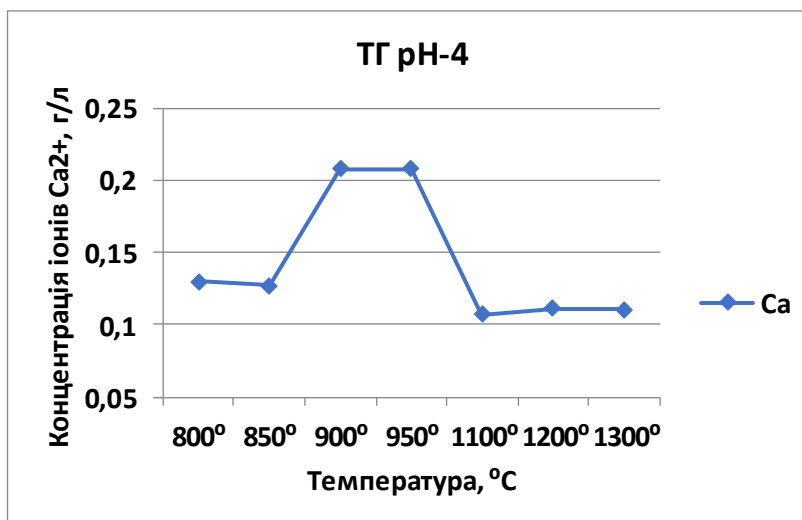


Рисунок 3.17 – Залежність концентрації іонів кальцію, що виділились в оцтово-ацетатний буфер з модифікованої лимонною кислотою КФК до рН 4, від температури її термообробки

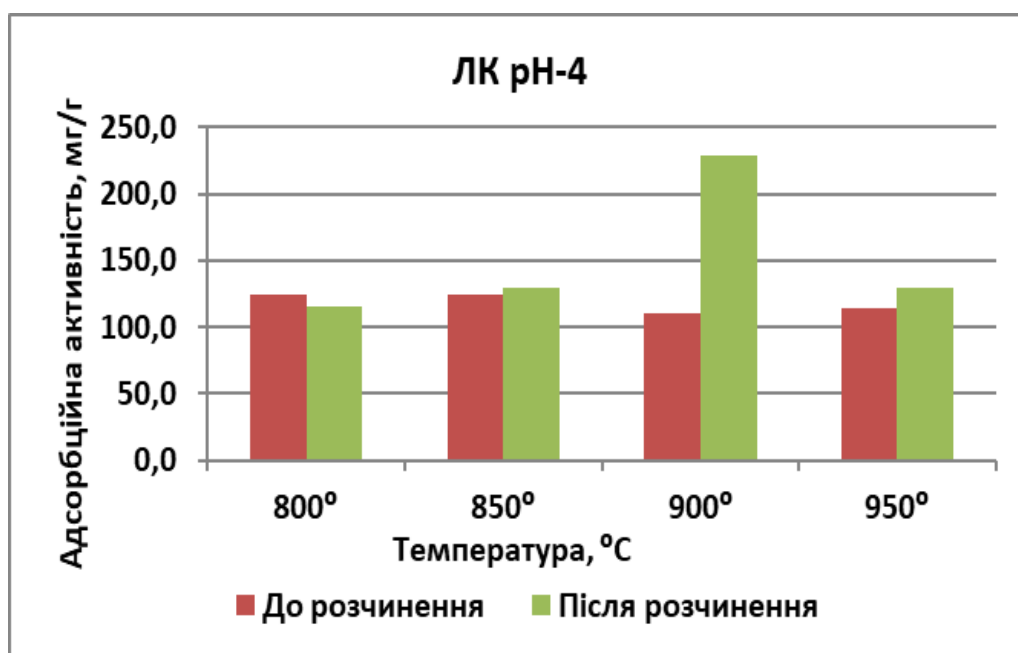


Рисунок 3.18 – Зміна адсорбційної активності КФК, модифікованої лимонною кислотою, до та після витримки в буфері

Крім того, порівнюючи, графіки фазових змін КФК до витримки в оцтово-ацетатному буфері та після (рис. 3.15), видно, що в КФК, відпаленій на при 950 °C фази β -ТКФ розчиняється менше, ніж у КФК, відпаленій при 850 °C, що можна пояснити збільшенням параметру a решітки ГАП, та різким зменшенням

параметру α β -ТКФ. Збільшення адсорбційної активності після розчинності при 900 °С можна пояснити тим, що при розчиненні фази β -ТКФ при цій температурі, збільшилась пористість і, таким чином збільшився доступ фізіологічних рідин до відкритої поверхні КФК. Зниження розчинності на 1100 °С можна пояснити тим же, що фаза β -ТКФ, скоріш за все була недоступна для буфера, але розчинність при 1200 °С трохи збільшилась, завдяки утворенню КФК з двох фаз ТКФ, α і β , а при подальшому підйомі температури, коли відбувся перехід до фази α -ТКФ, розчинність знову зменшилась, це можна пояснити кращим спіканням матеріалу через зменшення параметрів решітки α -ТКФ при цій температурі. Слід також відмітити, що розчинність цієї КФК, відпаленої в інтервалі температур від 1100 °С до 1200 °С має більшу розчинність з усіх, модифікованих в роботі КФК (рис 3.19) відпалених при цій температурі.

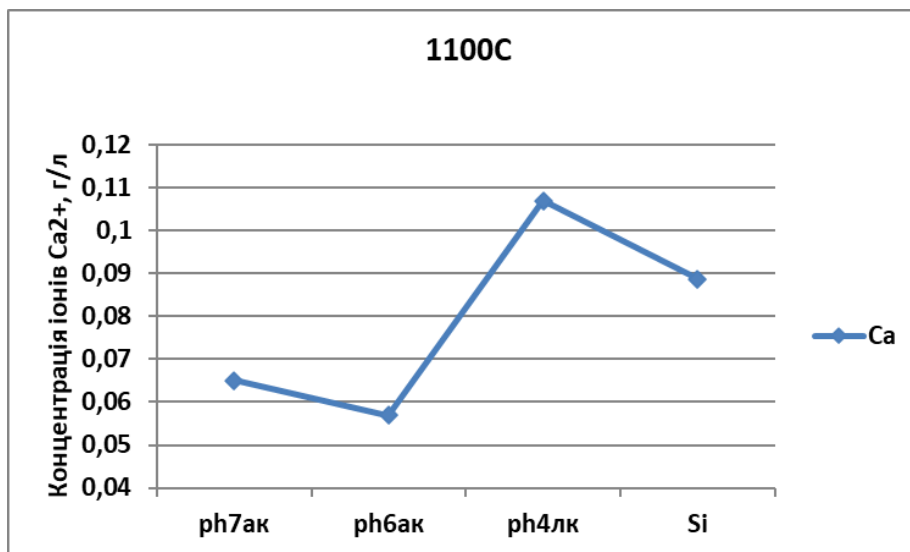


Рисунок 3.19 – Концентрації іонів кальцію, що виділились в оцтово-ацетатний буфер з модифікованих КФК (рН осаду 7, рН осаду 6, рН осаду 4, легованого кремнієм), обпалених при 1100 °С

Таким чином, з характеру фазових змін видно, що модифікація лимонною кислотою КФК в інтервалі температур 800-1000 °С не сприяє утворенню фази α -ТКФ, що перекликається з дослідженнями по впливу цитрат іонів на

утворення біологічного ГАП. Трифазна КФК (α -ТКФ, β -ТКФ і ГАП) утворюється після відпалу осаду при 1100 °С, і розчинність цієї КФК вище розчинності всіх модифікованих КФК, отриманих після відпалу при 1100 °С. Ці дані, дуже важливі для отримання керамічних виробів для заміщення великих дефектів, адже спікання кераміки проводиться при високих температурах і для КФК 1100 °С, це оптимальна температура як для спікання, так і для розчинності, а за рахунок трьох фаз і для остеоіндуктивних властивостей. Найбільшу розчинність має КФК, що відпалена на 900°С і 950°С - 0,208 г/л (0,127 г/л найвища розчинність у немодифікованій КФК), при цьому максимум адсорбційної активності 228,4 мг/г спостерігається на 900°С після розчинення в оцтово-ацетатному буфері. Встановлено, що після відпалу при 1200°С утворюється двофазна КФК з α -ТКФ та β -ТКФ. Слід наголосити, що розроблена технологія отримання двофазної та трифазної КФК при цих температурах відрізняється суттєвою простотою і зручністю отримання у порівнянні із відомими технологіями як гідротермальний синтез, мікрохвильовий в поєднанні з водним синтезом та твердофазний, при якому α -ТКФ отримують після 1300°С.

Різний характер впливу аскорбінової та лимонної кислоти на фазоутворення, можливо пов'язаний із тим, що на поверхні оброблених кислотами часток нестехіометричного ГАП, кислотні залишки взаємодіють із іонами кальцію утворюючи зародки кальцієвих аскорбатів та цитратів, які по різному впливають на фазоутворення при відпалі, сприяючи у випадку аскорбатів утворенню низькотемпературної фази α -ТКФ, а у випадку цитратів утворення гексагонального ГАП.

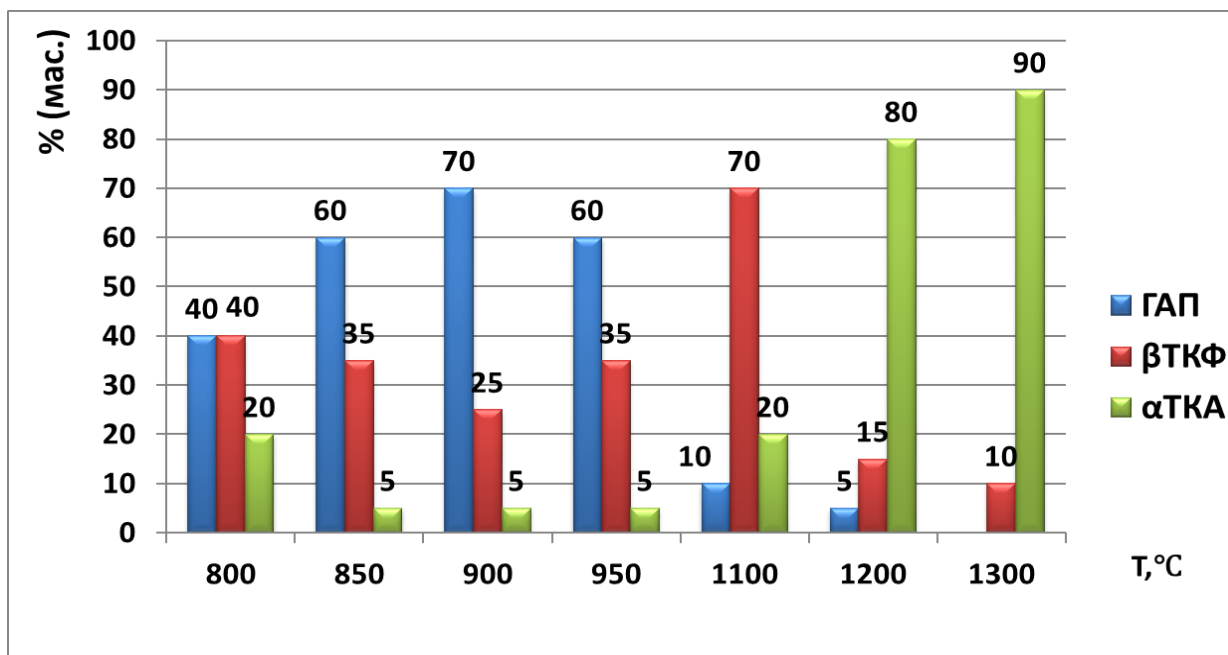
3.4 Легування кальційфосфатної кераміки кремнієм

Ще з фазових діаграм системи дікальційсілікат-трикальційфосфат 1959 року відомо, що присутність сілікатів стабілізує α -ТКФ. З літературних даних

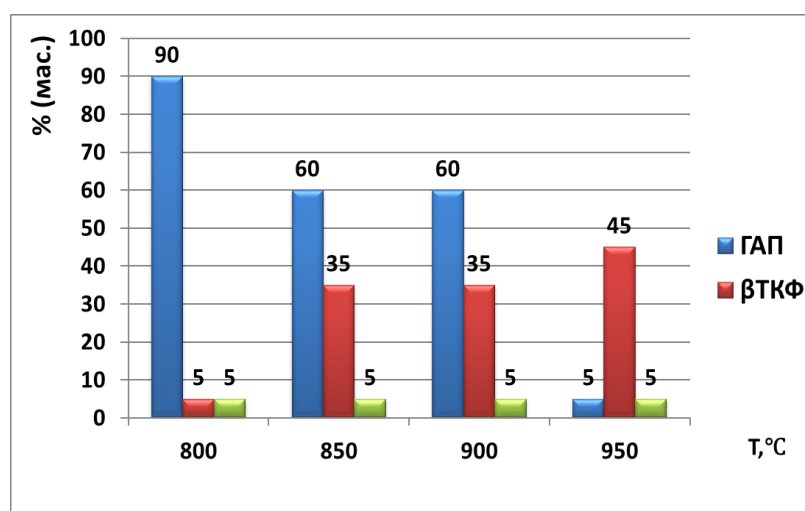
також відомо, що кремній є стрижневим елементом у процесах біомінералізації, пов'язаних із диференціюванням та розмноженням остеобластів, синтезом ними колагену, реконструкцією, розвитком остеокластів і резорбції. Відомо також, що нанорозмірний оксид кремнію знижує зростання зерен, що може приводити до утворення наноструктур в КФК, легованій кремнієм. Інформація про можливість отримання трифазної КФК, за допомогою легування ГАП кремнієм методом хімічного синтезу після відпалу в інтервалі температур 800-1000 °С відсутня. Відсутні і систематичні дослідження впливу легування кремнієм на фазові зміни в матеріалі після відпалу і їх зв'язок з фізико-хімічними та біологічними властивостями. З огляду на цю інформацію, для продовження пошуку методів отримання трифазної біосумісної кераміки, що індукує остеогенез було проведено легування нестехіометричного ГАП наночастинками кремнезему в кількості 1,5 ваг.%, яка згідно з літературними даними є найбільш фізіологічною, з послідовним відпалом в інтервалі температур 800-1300 °С для визначення оптимальних режимів отримання найбільш активної кераміки.

Для підвищення активності КФК, легованої кремнієм, яку пов'язують з утворенням на поверхні матеріалу силанольних $-\text{SiOH}$ -груп, легування нестехіометричного ГАП проводилось колоїдним водним розчином тонкодисперсного нанорозмірного діоксиду кремнію в кількості 1,5 мас.%. Проведено відпал одержаної суміші в інтервалі температур 800 - 1300 °С для визначення оптимальних режимів отримання найбільш активної кераміки [163].

Згідно з даними рентгенофазового аналізу, КФК, легованої кремнієм, відпаленої в інтервалі температур від 800 до 1300 °С (рис.3.20), до 1200 °С в матеріалі присутні всі три фази а при 1300 °С матеріал складається з двох фаз ТКФ. Всі ці матеріали, завдяки наявності трьох фаз, які розчиняються з різною швидкістю, можуть утворювати систему сполучених пор, в тому числі і нанорозмірних, але при різній температурі вони відрізняються за розчинністю (рис. 3.21).



а)



б)

Рисунок 3.20 – Фазові зміни КФК, легованої кремнієм, після термообробки від 800 °C до 1300 °C (а), витриманої в оцтово-ацетатному буфері (б)

Судячи з графіку розчинності, найбільшу розчинність має КФК в області температур, від 850 °C до 950 °C, максимум розчинності на 900 °C, причому на 800 °C розчиняються саме фази ТКФ, на 850 °C скоріше за все рівномірно розчиняються всі три фази, а на 900 °C фаза α-ТКФ не змінюється, а розчиняється переважно фаза ГАП. Це може свідчити про те, що при температурі 800 °C заміщення силікат іоном в структурі ГАП ще не відбулось,

при підйомі температури до 850 °С відбулось часткове заміщення, що привело до розчинності всіх трьох фаз і на 900 °С силікат іон увійшов в структуру ГАП та привів до підвищення його розчинності оскільки іонний радіус Si (0,042нм) більший за іонний радіус P^{+5} (0,035нм) (рис 3.22), а збільшення параметрів решітки ГАП є свідомством впровадження кремнію в структуру ГАП та подальшого його розкладання з утворенням більшої кількості β -ТКФ при 950°С.

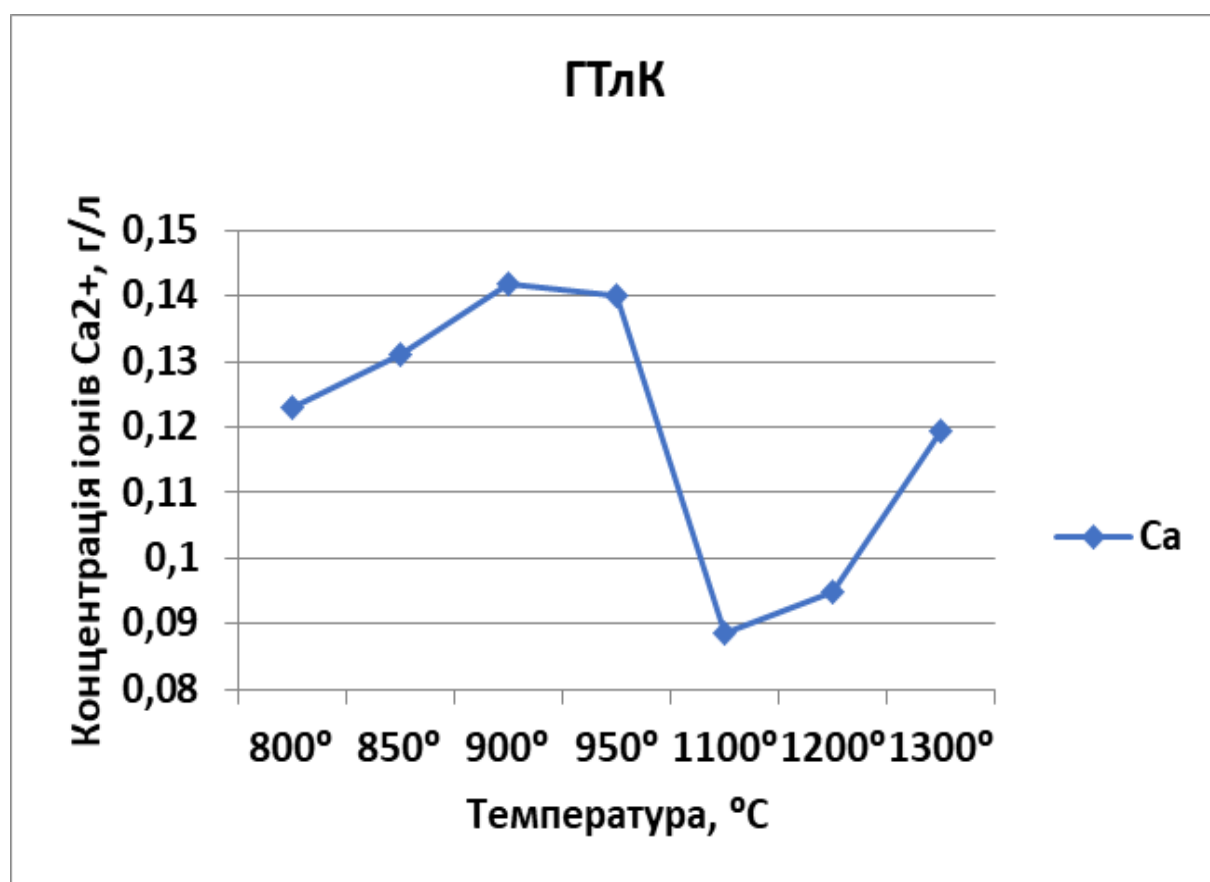


Рисунок 3.21 – Концентрації іонів кальцію, що виділились в оцтово-ацетатний буфер з легованої кремнієм КФК

Згідно з літературними даними, заміщення кремнієм фосфатних груп відбувається в структурі ГАП, зі зміною параметрів решітки, але з підвищенням температури до 900 °С видно, як зменшуються параметри решітки ГАП і збільшуються параметри решітки β -ТКФ (рис.3.22). Можливо при підвищенні

температури при змінах співвідношення фаз відбувається зміна положення кремнію в матеріалі в інтервалі температур 800-900 °С.

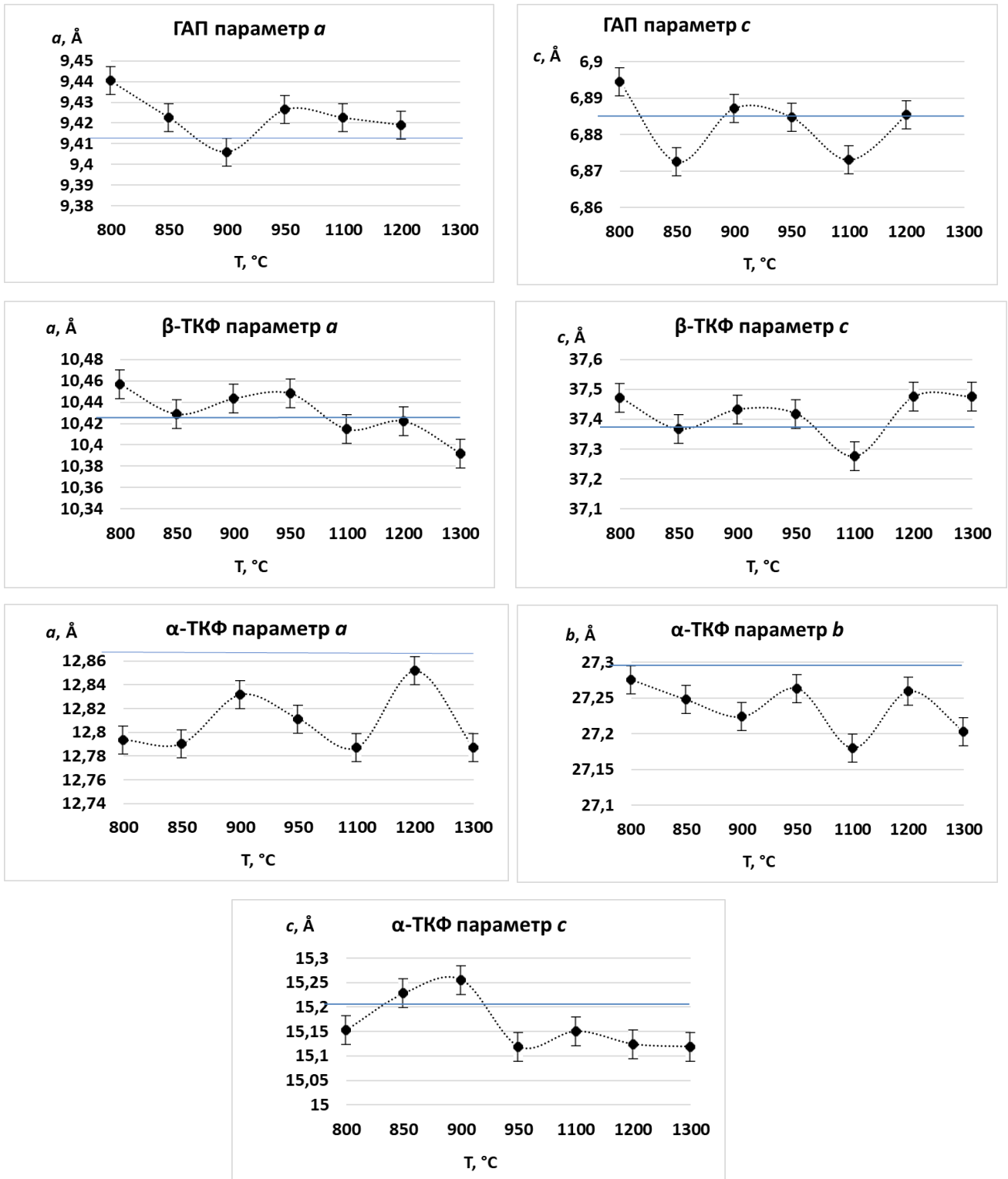


Рисунок 3.22 – Зміна параметрів решіток α -ТКФ в КФК, легованій кремнієм, відпаленій в інтервалі температур 800 - 1300 °С,

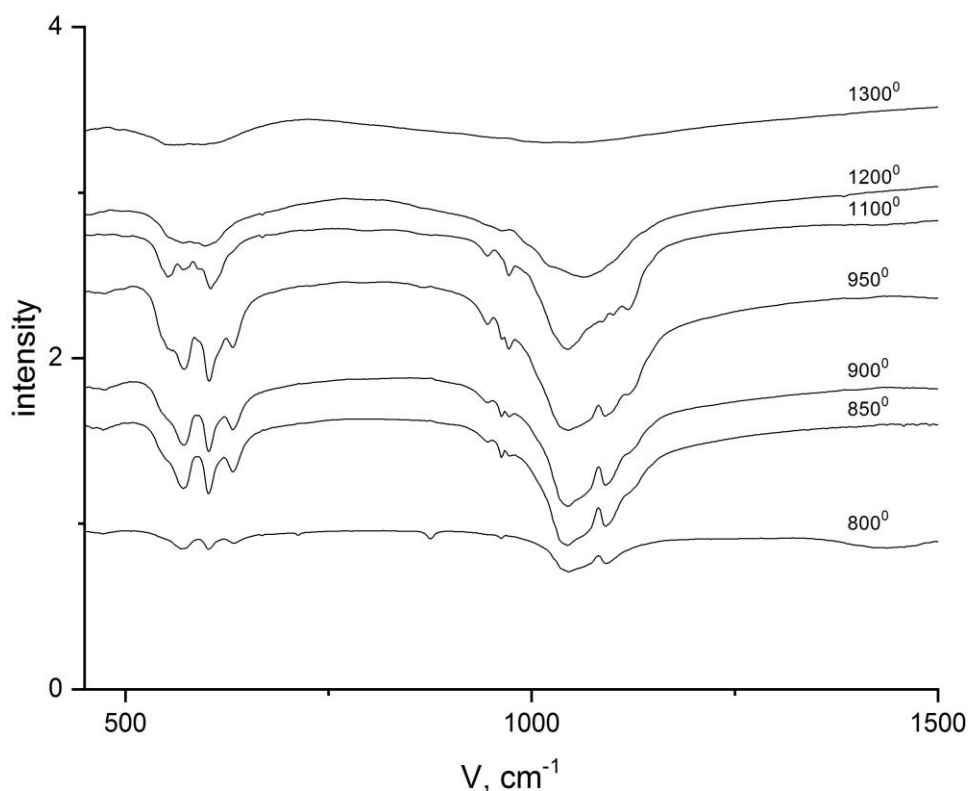


Рисунок 3.23 – ІЧ спектри КФК, легованої кремнієм, відпаленої в інтервалі температур 800 - 1300 °С

Аналіз форми смуг ІЧ-спектрів в залежності від температурної обробки КФК, легованої кремнієм (рис.3.23), показав, що при 950 °С є прояв слабких смуг поглинання з частотами $\nu \sim 792 \text{ cm}^{-1}$ і $\nu \sim 1120 \text{ cm}^{-1}$, які можна віднести до Si–O коливань. Також треба відмітити, що після 1100°C розчинність, з ростом фази α -ТКФ, почала різко рости і на 1300 °С мала найвищу розчинність серед всіх отриманих в роботі матеріалів при цій температурі (рис. 3.24) що є ще одним гарним технологічним фактором для отримання міцної кераміки на 1300 °С з хорошою розчинністю. Зважаючи на підвищення сорбційних властивостей матеріалу на 850 °С (рис. 3.25) після розчинення фаз при цій температурі утворюються кращі умови для проникнення фізіологічної рідини в порову структуру. Зважаючи на це для досліджень біологічних властивостей була

вибрана КФК, легована кремнієм, відпалена на 850 °С, як краща по прогнозу, згідно з вибраною методикою досліджень.

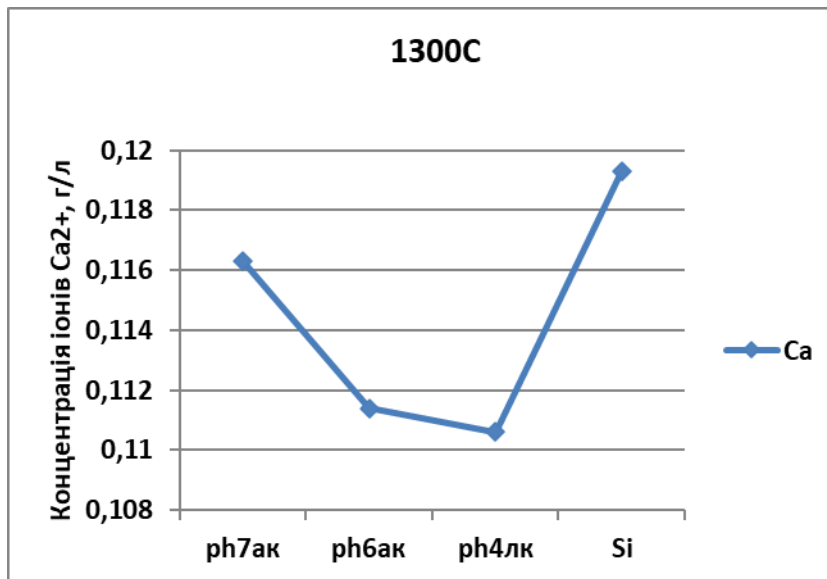


Рисунок 3.24 – Концентрації іонів кальцію, що виділились в оцтово-ацетатний буфер з модифікованих КФК (рН осаду 7, рН осаду 6, рН осаду 4, легованого кремнієм), обпалених при 1300 °С

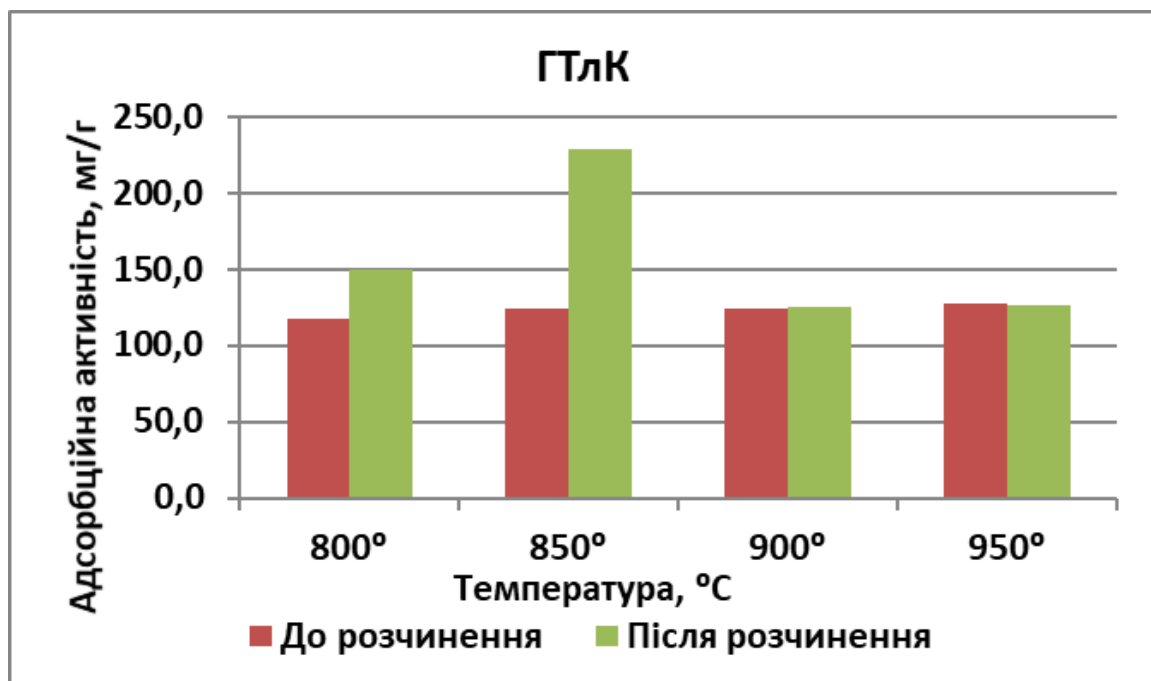
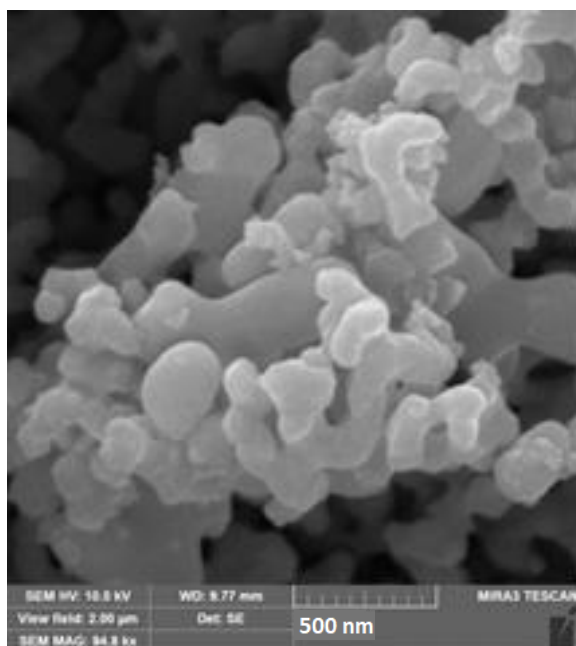
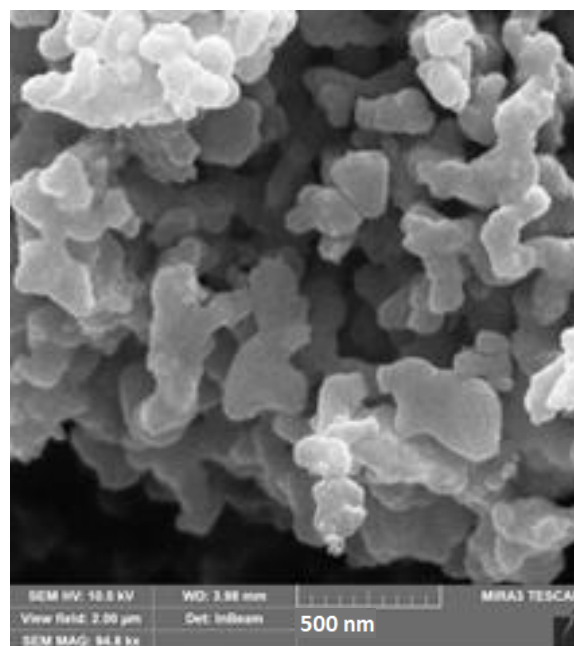


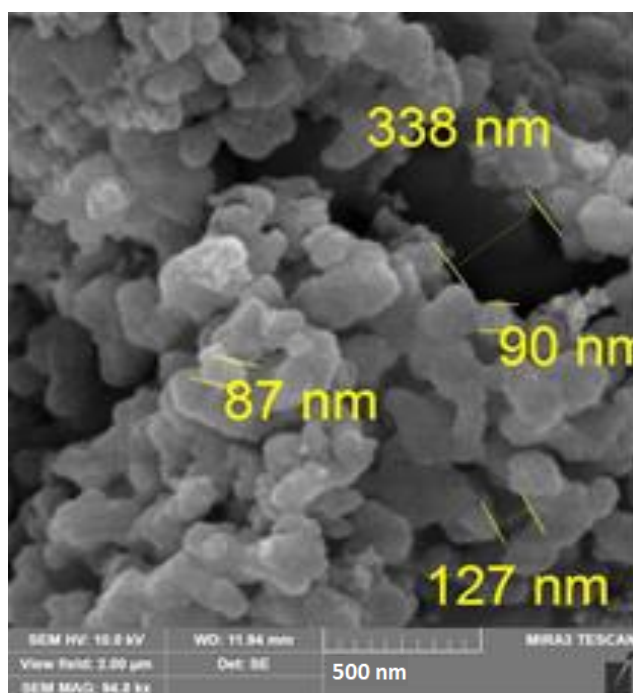
Рисунок 3.25 – Зміна адсорбційної активності КФК, модифікованої кремнієм до та після витримки в буфері



а)



б)



в)

Рисунок 3.26 – Мікроструктура трифазної КФК, легованої кремнієм після відпалу при 850 °С, (б) після витримки в оцтово-ацетатному розчині, (в) після обробки трифазної КФК слабким розчином аскорбінової кислоти

На мікрофотографіях гранули КФК, легованої кремнієм до розчинення (а) видно структуру пор і частинки - від нано- до мікророзміру. Судячи з того, що всі 3 фази КФК інтегровані між собою, виділити якусь фазу неможливо, але

після обробки буферним розчином КФК, відпаленої на 850 °С та розчином аскорбінової кислоти, видно нерівності контурів частинок, що утворились, також можна відмітити зменшення кількості маленьких частинок і збільшення пористості, після обробки КФК, легованої кремнієм буферним розчином та слабким розчином аскорбінової кислоти (рис. 3.26 б,в).

За результатами мікроаналізу з допомогою енергодисперсійного спектрометру кількість кремнію на поверхні злому в різних точках від 0,42 до 0,57% (рис. 3.27). За результатами рентенофлуоресцентного аналізу КФК, легованої кремнієм, кількість кремнію на різних зразках вища та складає 1,2 - 1,3%, що скоріше за все свідчить про часткове заміщення силікат іонів.

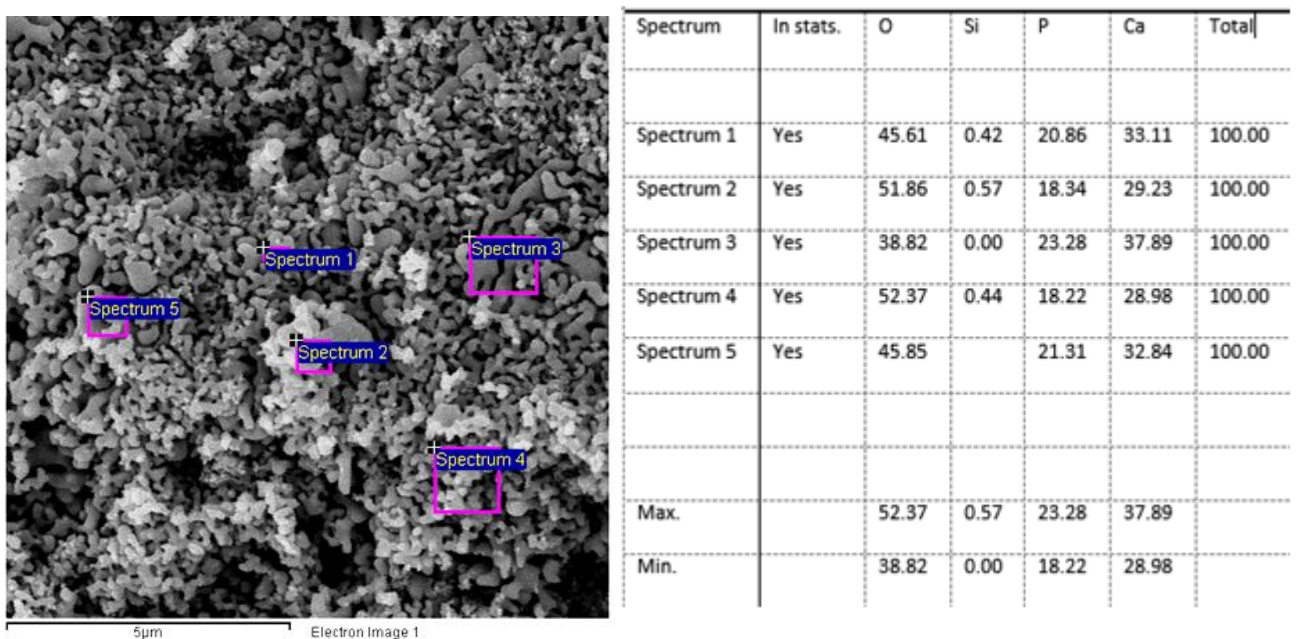


Рисунок 3.27 – Результати мікроаналізу кількості кремнію в зразках, відпалених при 850 °С, мас.%

Для визначення біологічних властивостей отриманого матеріалу були проведені дослідження *in vitro* та *in vivo*.

Дослідження *in vitro* були проведені в ДУ «Інститут генетичної та регенеративної медицини НАМН України» на чистому ГАП (Г), ГАП з β -ТКФ у співвідношенні 60%ГАП і 40% β -ТКФ (ГТ) ГАП з β -ТКФ у співвідношенні 40%ГАП і 60% β -ТКФ (ТГ) та модифіковану кремнієм КФК (МГТ). На цих

матеріалах були висаджені культури стовбурових клітин кісткового мозку. За результатами оцінки життєздатності стовбурових клітин, метаболічної активності та впливу на остеогенну диференціацію в порівнянні з традиційними методами направленої остеогенної диференціації в стандартних умовах з використанням біохімічних та гормональних індукторів визначено, що за ефективністю впливу на остеогенну диференціацію матеріали розподілилися наступним чином (табл.3.1): найбільша ефективність – МГТ; середня –ТГ та ГТ; нижча – Г.

Таблиця 3.1 – Оцінка трансформації стовбурових клітин в повноцінні кісткові клітини по маркеру OPN при направленій диференціації в стандартних умовах з використанням біохімічних та гормональних індукторів на різних синтетичних матеріалах.

Основа під стовбурові клітини	OPN –маркер повноцінних кісткових клітин, % позитивних клітин у загальній популяції		
	7 доба	14 доба	21 доба
Культуральний пластик	0,9	1,3	3,6
Г	1,0	5,8	14,0
ГТ (60-40)	2,1	8,3	18,6
ТГ (40-60)	2,0	9,0	18,0
МГТ	2,3	11,2	23,0

При порівнянні з традиційними умовами, остеогенна диференціація стовбурових клітин при культивуванні на гранулах досліджених синтетичних остеопластичних матеріалів є більш фізіологічною у порівнянні зі стандартним протоколом направленої диференціації *in vitro* та призводить до формування більш збалансованих остеогенних клітин, що краще відповідає організації кісткової тканини *in vivo*. Додаткове легування кремнієм КФК підвищує остеоіндуктивні властивості матеріалу без негативного впливу на адгезивні властивості та здатність підтримувати проліферацію та остеогенну диференціацію стовбурових клітин. Цей матеріал може бути використаний у

якості носіїв (скефолдів) при створенні інноваційних біомедичних тканинно-інженерних продуктів для відновлення дефектів кісток.

Зважаючи на те, що ні один експеримент *in vitro* не може гарантувати результати *in vivo* були проведені експерименти з КФК, легованого кремнієм на кістковій тканині кролів в Білоцерківському національному аграрному університеті.

В першій серії експериментів порівняли остеогенні властивості КФК, легової кремнієм, відпаленої на найнижчу температуру 800 °С, яка мала меншу міцність і відповідно була більш пориста. Якщо слідувати логіці, то цей матеріал повинен був скоріше заміщуватись кістковою тканиною. Другий матеріал був вибраний з кращими сорбційними властивостями після розчинення (рис. 3.25), гранули КФК, легової кремнієм, відпаленої при 850 °С були значно міцніші і в яких, згідно з нашими дослідженнями, по розчинності і фазовим змінам відбулося часткове заміщення фосфат іону силікат іоном.

Гістоморфологічні дослідження показали (рис. 3.28), що при використанні КФК, легової кремнієм і відпаленої при 800 °С, під впливом біологічних рідин гранули (*) інтегрувались між собою і щільно заповнили дефект, після чого репаративний остеогенез відбувся по периферії матеріалу, в центрі дефекту залишився матеріал з низькою міцністю. Через малий контакт з матеріалом репаративні процеси відбувались повільно. Тобто гранули повинні бути міцні і пористі.

При використанні КФК, легової кремнієм і відпаленої при 850 °С спостерігався щільний контакт гранул (*) із кістковим регенератом, (▼): кісткові трабекули губчастого типу спостерігались між гранулами кераміки, компактна кісткова тканина на завершальній стадії мінералізації та замурування остеоцитів у кістковий матрикс. Видно, як гранули заміщаються повноцінною кістковою тканиною. Це дослідження підтвердило, що КФК,

легована кремнієм і відпалена на 850 °С володіє остеоіндуктивними і остеointegraційними властивостями.

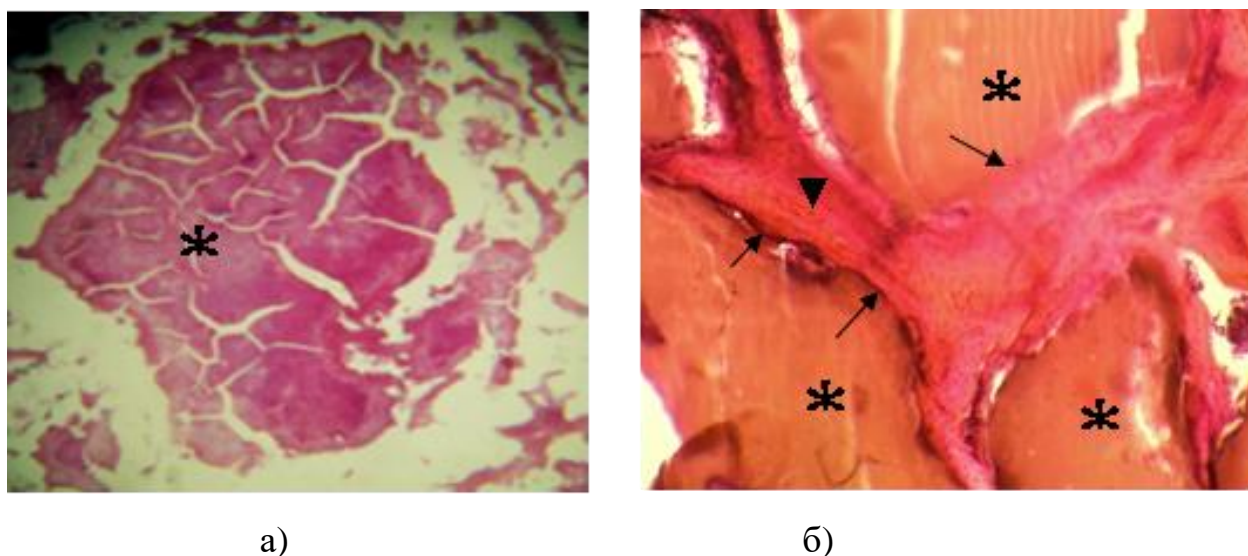


Рисунок 3.28 – Гістологічний аналіз кісткового регенерату на 42 добу після імплантації КФК, легованої кремнієм відпаленої на 800 °С (а) і КФК, легованої кремнієм і відпаленої на 850 °С (б). * - відмічено гранули, ▼ - кістковий регенерат, стрілками показано утворення регенерату по поверхні гранул

Також, для підтвердження остеоіндуктивних властивостей, була виконана серія клініко-експериментальних досліджень розробленого біоматеріалу в комбінації з багатим тромбоцитами фібрином (PRF), а також його порівняння з відомим імпортом аналогом — ВІО, так само у комбінації з PRF (рис.3.29 а, б). Імпортований аналог ВІО активно використовується нашими ортопедами травматологами, через швидку його резорбцію, що на їх думку прискорює регенерацію кісткової тканини.

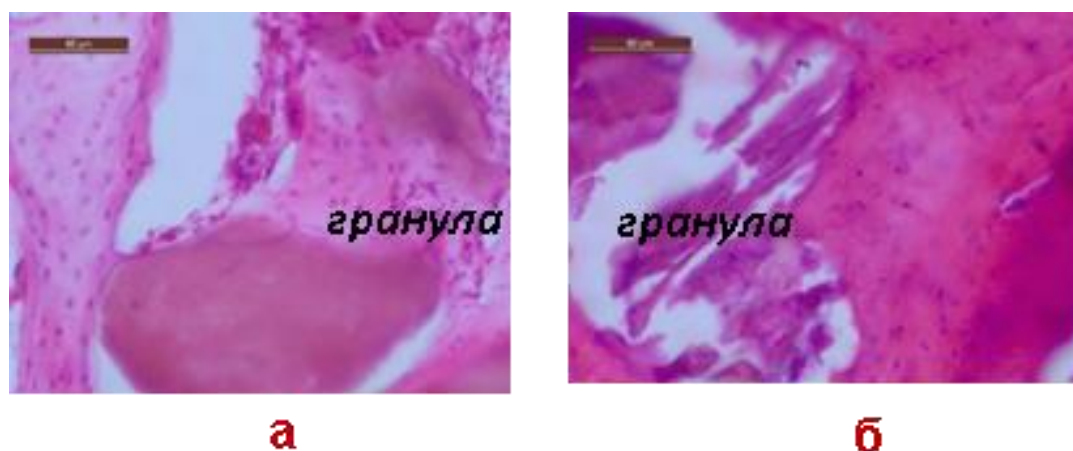
Плазма, збагачена тромбоцитами готується з крові пацієнта, якою просочують гранули, і через 5-7 хв утворюється первинна матриця з тромбоцитарними факторами зростання на основі якої починається регенерація кісткової тканини (рис. 3.29). Композит стає пластичним і добре тримає форму.

Підготовлені композиції з PRF з КФК, легованої кремнієм та ВІО були підсажені в кістку кроля. За результатами гістологічних досліджень (рис. 3.30 а) гранула КФК, легованої кремнієм, посередині повністю замістилась кістковою

тканиною, яка вже не відокремлюється від гранули при виконанні зрізу для досліджень.



Рисунок 3.29 – Процес приготування композиції КФК, легованої кремнієм і PRF



а

б

Рисунок 3.30 – Композит з модифікованої біоактивної кераміки та аутоплазми (а) заміщується повноцінною кістковою тканиною. На місці імпортованої біоактивної кераміки ВІО (б) з'являються острівці незрілої кісткової тканини (3 міс. після імплантації)

Гранула ВІО (рис. 3.30 б) майже розчинилась і її залишки загубились при виконанні зрізу матеріалу, а на її місці видно острівці незрілої кісткової тканини. За

результатами звітів виконавців досліджень, заповнення дефектів гранулами КФК, легованої кремнієм у комбінації з PRF, показали, що регенерація кісткової тканини за їх участю починається на більш ранніх етапах та перебігає швидше, порівняно з відомим (контрольним зразком у даному випадку) зразком ВІО. Це зумовлено властивостями, які надав кремній у структурі кераміки та нижчими показниками біорезорбції. Саме біорезорбція викликає деяке гальмування процесів регенерації у зв'язку з навантаженням клітин остеоцитів, які забезпечують резорбцію імплантату як стороннього об'єкта. В той же час, КФК, легована кремнієм, не викликає надмірної реакції остеоцитів та остеоцитів і на ранніх етапах включається в процеси регенерації, що й прискорило загоєння дефектів. При використанні розробленого матеріалу з PRF також спостерігалась поява гіалінового хряща на новосформованій періостальній кістці зони дефекту.

Проведені біологічні дослідження підтвердили перевагу вибраних модифікованих біоматеріалів, обґрунтованих дослідженнях поведінки матеріалів в рідинах, що імітують біологічні, були визначені оптимальні температури відпалу, базуючись на фазових змінах, змінах розчинності матеріалу та сорбційних властивостях. На прикладі КФК, легованої кремнієм, підтверджена правильність методики визначення оптимальних за біологічними властивостями матеріалів і були підтверджені остеогенні властивості розробленого матеріалу, показані перспективи його використання в регенеративній медицині.

Також були проведені дослідження щодо імплантації КФК, леговою кремнієм, за осколкових переломів у собак, які підтвердили остеоіндуктивні властивості матеріалу. Апробований керамічний матеріал не зумовлює реактивних змін в організмі, про що свідчать результати гематологічних досліджень, а наявні зміни картини крові є типовими для травм кісток і процесу їх консолідації, репаративний остеогенез прискорюється в 1,5 рази. [123, 159]. Дослідження проведені на кістковій тканині кролів, при використанні КФК, легованої кремнієм, при лікуванні переломів показали, що новоутворена кісткова тканина формується шляхом остеоіндукції, оскільки кістковий регенерат виявляється між гранулами КФК та не залежить від контакту з кісткою, це підтверджує і рання судинна і остеобластична реакції. Осередки

регенерату з'являються в різних місцях дефекту на відміну від контролю (не заповненого дефекту остеотропним матеріалом), де нарощування кісткової тканини відбувається від краю дефекту [160]. На 42 добу у тварин контрольної групи кістковий дефект заповнений не повністю і на деякій відстані від місця перелому відмічаються досить великі осередки резорбції кісткової тканини, у випадку ж заповнення дефекту КФК, легованого кремнієм утворюється кістково-керамічний регенерат, де проміжки між гранулами заповнені повноцінною кістковою тканиною (рис. 3.31).

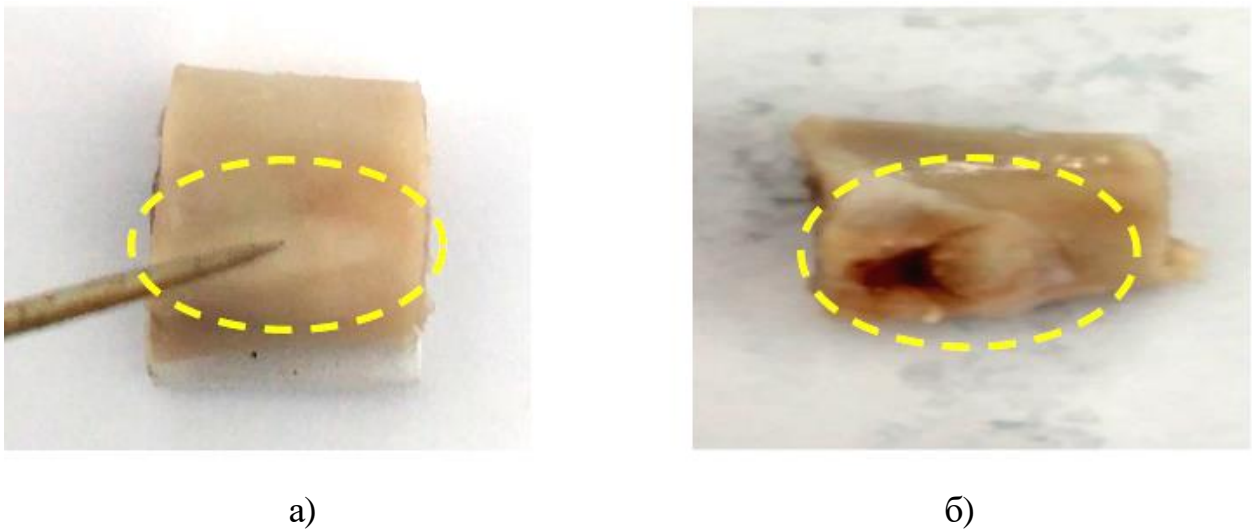


Рисунок 3.31 – Макроморфологічні знімки фрагментів стегнових кісток кролів на 42-у добу репаративного остеогенезу а) дефект заповнений КФК, легованою кремнієм, б) дефект без заповнення [160].

Таким чином, встановлено, що легування КФК кремнієм дало змогу отримати трифазну кераміку після відпалу в інтервалі температур 800 -1300 °С. Визначені оптимальні температури відпалу КФК, яка має кращі показники до заміщення кістковою тканиною та розчинності. Підтверджені остеоіндуктивні властивості модифікованої кремнієм КФК, вибраної за результатами визначення адсорбційної активності після витримки в розчині, що імітує фізіологічну, в дослідженнях *in vitro* та *in vivo*.

Розчинність КФК, легованої кремнієм, відпаленої при 900 °С, 950 °С, та 1300 °С найвища з усіх модифікованих КФК, відпалених при цих температурах.

3.5 Висновки до розділу

1. На основі проведеного дослідження по впливу обробки осаду синтезованого нестехіометричного ГАП (Са/Р – 1,55) аскорбіновою та лимонною кислотами на фазові зміни та фізико-хімічні властивості модифікованої КФК в інтервалі температур 800 -1300 °С встановлено суттєві відмінності їх впливу:

- вперше визначено, що аскорбінова кислота сприяє утворенню трифазної КФК, (α -ТКФ - β -ТКФ – ГАП) на всьому інтервалі температур 800 -1300 °С. Особливі властивості трифазної кераміки забезпечує різна розчинність фаз, найбільш розчинна фаза α -ТКФ у порівнянні з β -ТКФ та ГАП після розчинення формує нанопоруватість, що забезпечує підвищення клітинної активності, менш розчинна фаза β -ТКФ після розчинення сприяє утворенню структури пор різного розміру, найбільш стійка фаза ГАП, забезпечує стійкість каркасу;

- вперше знайдено, що фаза α -ТКФ, яка утворюється в модифікованій аскорбіновою кислотою КФК, існує у діапазоні температур 800 -950 °С, у той час, як для необробленого осаду, ця фаза формується лише при 1200 °С та вище. Визначено розчинність КФК, в буферному розчині, та фазові зміни і сорбційні властивості до та після розчинення модифікованої КФК в інтервалі температур 800 -950 °С, вибрано температури відпалу, при яких формуються найкращі комбінації розчинності та адсорбційної активності;

- встановлено, що зниження рН осаду нестехіометричного ГАП під впливом аскорбінової кислоти від 7 до 6, приводить до збільшення фази α -ТКФ в модифікованій КФК в температурному інтервалі від 850 до 1200 °С майже вдвічі, але при цьому максимум розчинності в обох випадках на 950 °С. Максимуми сорбційних властивостей після обробки оцтово-ацетатним буфером КФК (рН 7) – 231,6 мг/г при температурі відпалу 9500С; КФК(рН 6) -223,8 мг/г при температурі відпалу 850 °С;

- спостерігається, що лимонна кислота сприяє стабілізації фази ГАП при 800 °С, що узгоджується з результатами останніх наукових досліджень по впливу цитратів на стабілізацію біологічного гідроксиапатиту за рахунок відповідності між відстанню кінцевих груп COO- в цитраті і параметром решітки с в гексагональному апатиті;

- встановлено, що обробка осаду лимонною кислотою на відміну від аскорбінової кислоти не сприяє утворенню α -ТКФ в модифікованій КФК в інтервалі температур 800 – 950 °С. Найбільшу розчинність має КФК, що відпалена на 900 °С і 950 °С, при цьому максимум адсорбційної розчинності 228,4 мг/г спостерігається на 900 °С після розчинення в оцтово-ацетатному буфері;

- встановлено, що відпал осадів, оброблених лимонною кислотою, при температурі 1100 °С приводить до утворення трифазної КФК, а після відпалу при 1200 °С утворюється двофазна КФК з α -ТКФ та β -ТКФ. Слід наголосити, що розроблена технологія отримання двофазної та трифазної КФК при цих температурах відрізняється суттєвою простотою і зручністю отримання у порівнянні із відомими технологіями як гідротермальний синтез, мікрохвильовий в поєднанні з водним синтезом та твердофазний, при якому α -ТКФ отримують після 1300 °С;

- встановлено, що незважаючи на те, що розчинність КФК, модифікованої лимонною кислотою, та відпаленої в інтервалі температур 11000С - 12000С, знижується в порівнянні з розчинністю КФК після обробки при 9000С та 9500С, вона є найвищою в порівнянні з іншими різновидами КФК, відпаленими при 11000С. Це важливо для виготовлення керамічних виробів, які треба спікати при цій температурі, що є оптимальною для отримання виробу з достатньою міцністю, поруватістю і розчинністю;

- різний характер впливу аскорбінової та лимонної кислоти на фазоутворення, можливо пов'язаний із тим, що на поверхні оброблених кислотами часток нестехіометричного ГАП, кислотні залишки взаємодіють із іонами кальцію утворюючи зародки кальцієвих аскорбатів та цитратів, які по

різному впливають на фазоутворення при відпалі, сприяючи у випадку аскорбатів утворенню низькотемпературної фази α -ТКФ, а у випадку цитратів утворення гексагонального ГАП.

2. На основі проведеного дослідження по впливу обробки осаду синтезованого нестехіометричного ГАП (Са/Р – 1,6) кремнієм на фазові зміни та фізико-хімічні властивості модифікованої КФК в інтервалі температур 800 - 1300 °С встановлено:

- що легування осаду кремнієм сприяє утворенню трифазної КФК (ГАП, β -ТКФ, α -ТКФ) в температурному інтервалі від 800 °С до 1200 °С, на 1300 °С утворюються 2 фази ТКФ α і β , які отримані легким і економним способом. Максимальна розчинність КФК, легованого кремнієм, після відпалу при 900 °С 0,142 г/л, а максимальна адсорбційна активність після обробки оцтово-ацетатним буфером після відпалу КФК при 850 °С 229,1 мг/г;

- за результатами досліджень *in vitro*, легованої кремнієм КФК (60% ГАП, 35% β -ТКФ і 5% α -ТКФ), відпаленої при температурі 850 °С, з найвищою адсорбційною активністю після розчинення в буферному розчині, встановлено, що остеогенні властивості, які визначались по здатності КФК перетворювати стовбурові клітини в повноцінні кісткові клітини, виявились в 6,4 рази кращі, ніж при направленій диференціації стовбурових клітин в повноцінні кісткові клітини по стандартним методикам;

- за результатами гістологічних досліджень *in vivo*, КФК, легованої кремнієм, відпаленої на 800 °С і 850 °С, оптимізованої за результатами досліджень, визначено, що остеоіндуктивними властивостями володіє саме КФК, відпалена на 850 °С;

- за результатами гістологічних досліджень *in vivo*, КФК, легованої кремнієм, відпаленої на 850 °С в комбінації з плазмою крові, збагаченої тромбоцитами (PRF), показано, що регенерація кісткової тканини відбувається в більш ранні терміни, і з прямим заміщенням гранул кістковою тканиною по всьому її об'єму, також спостерігалось утворення хряща на поверхні дефекту.

РОЗДІЛ 4

КОМПОЗИТНА НАНОСТРУКТУРОВАНА КАЛЬЦІЙ-ФОСФАТНА КЕРАМІКА

Однією з вимог до каркасу для інженерії кісткової тканини є здатність імітувати нативний тривимірний каркас кістки, а саме наявність взаємозв'язаної і розвиненої структури пор від нано- та мікророзміру до макророзміру (500-1000 мкм), що забезпечать можливість прикріплення клітин, їх проліферації та диференціювання, пророщення судин і регенерату. З огляду на це трифазна КФК повинна мати певну структуру пор від нано до макророзмірів, яка б під впливом фізіологічного середовища не тільки збільшувала свою порову систему, але й тримала певний каркас для збереження матеріалу в великому об'ємі дефекту. Для цих цілей необхідна композитна КФК, яка на відміну від поліфазного матеріалу має складатись з матриці і армуючої складової. В процесі заміщення імплантату повноцінною кістковою тканиною, важливо щоб порова структура в імплантаті збільшувалась за рахунок більш розчинних компонентів, а менш розчинні компоненти зберігали загальний об'єм. В монографії Зимана З.З. [4] детально описано варіанти створення композитної біокераміки за рахунок її зміцнення голчатими кристалами ГАП, які отримують переважно гідротермальним високовартісним методом, але при створенні цих композитів стояла інша задача – зміцнення матеріалу. Використовуючи цю ідею була створена композиція з голчатих частинок β -ТКФ з трифазною КФК.

При розробці композитної КФК було враховано такі вимоги:

- наявність остеоіндуктивних властивості, і тобто вона має бути поліфазною і наноструктурованою;
- наявність взаємозв'язаної і розвиненої структури пор від нано- та мікророзміру до макророзміру (500-1000 мкм), що забезпечить можливість прикріплення клітин, їх проліферації та диференціювання, пророщення судин і регенерату;
- зберігати свій об'єм до завершення процесу заміщення кістковою тканиною;

- складатись з розчинної матриці і менш розчинної армуючої складової.

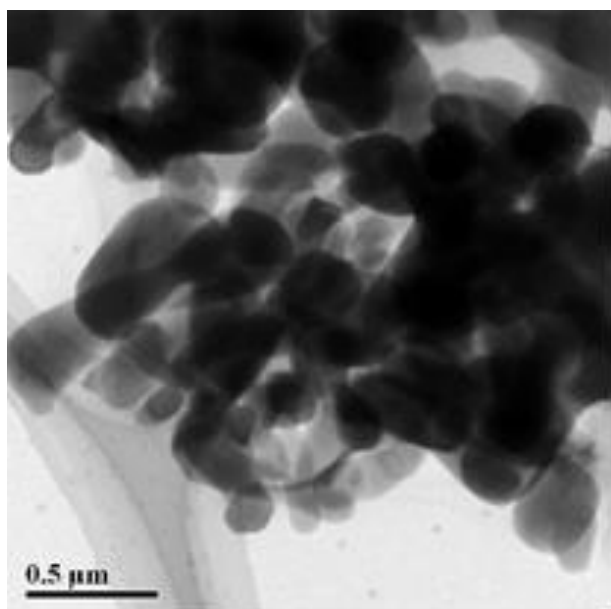
4.1 Вплив комбінації компонентів композитної кераміки з різною морфологією на фазові зміни та фізико-хімічні властивості

Для створення такого композиту був використаний осад нестехіометричного ГАП, що складався з наночастинок нестехіометричного ГАП (рис.4.1 а), та частинок голчатого типу з β -ТКФ (рис.4.1.б) [161].

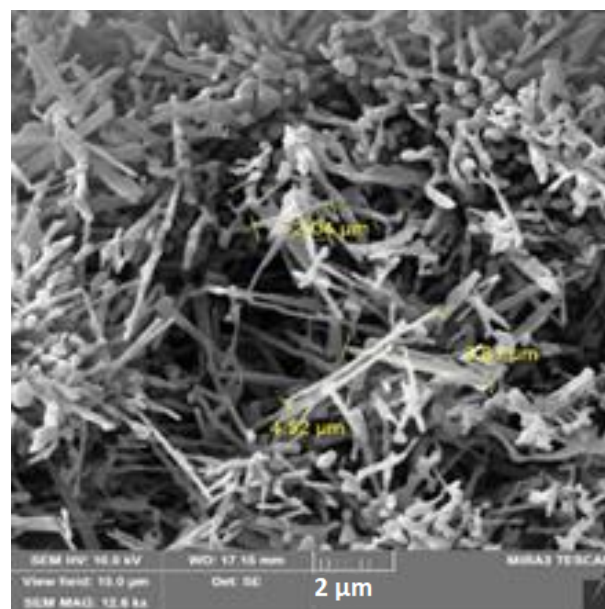
В процесі спікання компонентів, зміцнення композиту відбувалось за рахунок активних до спікання наночастинок нестехіометричного ГАП, а після відпалу отримано фазу β -ТКФ, невелику кількість фази α -ТКФ (за рахунок обробки осаду аскорбіновою кислотою), та фазу ГАП, що утворились після розкладання нестехіометричного ГАП та були інтегровані між собою, і β -ТКФ голчатої форми (рис.4.1 г)

На мікрофотографіях, отриманих методом просвічуючої та растрової електронної мікроскопії, видно різну за морфологією структуру складових композиту (рис. 4.1 а, б). Порівнюючи мікрофотографії обпаленого осаду нестехіометричного ГАП при температурі відпалу композиту 850 °С (рис. 4.1 в, без добавляння голчатого β -ТКФ та композитної КФК після відпалу при 850 °С (рис. 4.1г) добре видно зміни в структурі після введення в осад нестехіометричного ГАП голчатого β -ТКФ, який створив певну наноструктурованість і порову структуру.

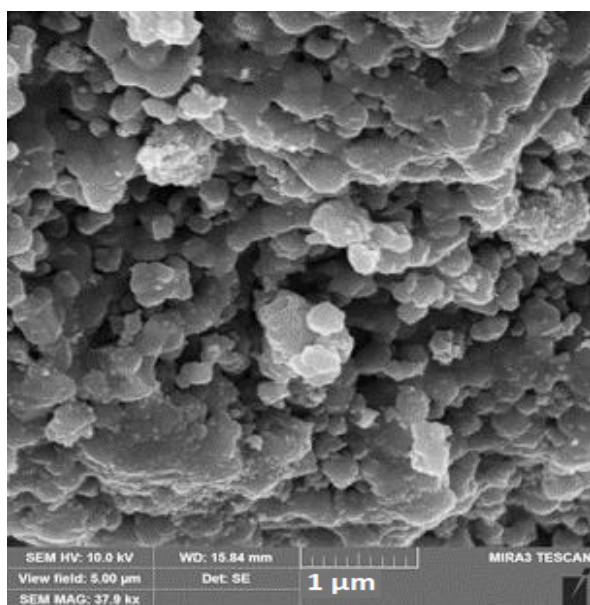
Рентгенофазовий аналіз композиту був проведений після відпалу при температурі 850 °С та після ультразвукової обробки в рідині, що імітує фізіологічну, визначена розчинність і адсорбційна активність композиту до розчинення і після розчинення в оцтово-ацетатному буфері. Також визначався фазовий склад компонентів композиту: нестехіометричного осаду, який використовувався в композиті, після відпалу на цій же температурі 850 °С і розчинність вихідних компонентів (таблиця 4.1).



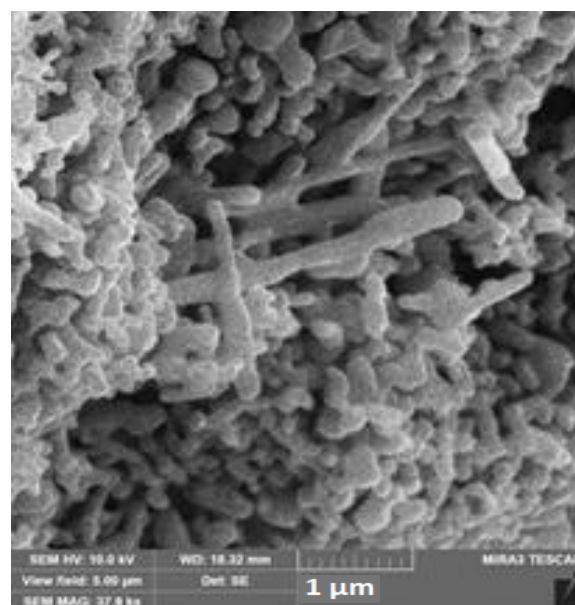
a)



б)



в)



г)

Рисунок 4.1 –Мікрофотографії вихідних компонентів композитної КФК: а) частинки нестехіометричного ГАП, б) частинки голчатої форми β -ТКФ, в) нестехіометричний ГАП, що використовувався для композиції, після відпалу на 850°C без змішування з β -ТКФ, г) композитна КФК після відпалу при 850°C

З приведених даних видно, що до використання в композиції після відпалу осаду нестехіометричного ГАП при температурі відпалу композиції 850°C утворилась двофазна КФК в якій фази ГАП більше ніж фази β -ТКФ.

Таблиця 4.1 – Фізико-хімічні властивості компонентів композиту та самого композиту до та після обробки буферним розчином

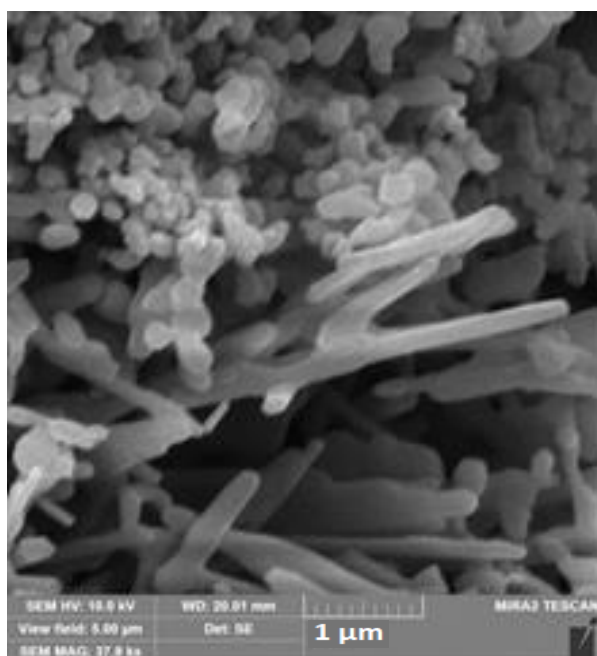
Найменування	Фазовий склад, %		Розчинність, мг/л	Адсорбція, мг/г	
	ГАП	ТКФ		До обробки буфером	Після обробки буфером
Нестех. ГАП 850 ⁰ С	69	31	1,8 -2,4	–	–
ТКФ голчатий 1100 ⁰ С		100	0,8-1,2	–	–
Композит 850 ⁰ С	40	5- α -ТКФ 55- β -ТКФ	3,6-3,8	118	160
Композит 850 ⁰ С після розчинності	60	40			

Після змішування наночастинок нестехіометричного ГАП та голчатих наночастинок β -ТКФ з додаванням аскорбінової кислоти до рН7,5, після відпалу утворилось три фази ГАП, β -ТКФ та α -ТКФ, причому фаза β -ТКФ була розподілена в двох місцях, інтегрована з фазою ГАП та α -ТКФ в частинках сфероїдної форми та окремо в частинках голчатого типу β -ТКФ, який був використаний як армуючий компонент. Розчинність і адсорбційна активність композитної КФК була збільшена в порівнянні з розчинністю нестехіометричного ГАП, відпаленого при 850 °С, скоріше за все за рахунок створення порової структури.

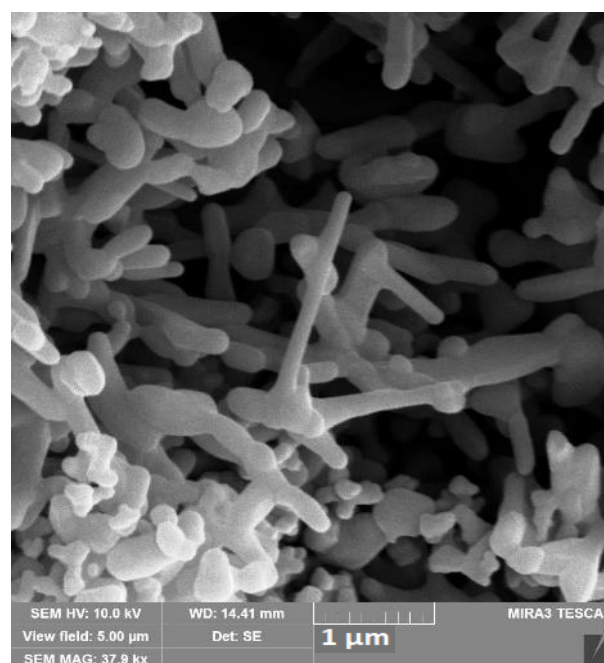
4.2 Дослідження еволюції порової структури композитної біокераміки під впливом рідин, що імітують фізіологічне середовище

Для визначення еволюції порової структури в композитній КФК, відпаленій при 850 °С під впливом фізіологічного середовища, гранули КФК були оброблені в оцтово-ацетатному буфері в ультразвуковій ванні 0,5 час та 1%-ним розчином аскорбінової кислоти, яка має більший вплив на розчинність композиту, зважаючи на зменшення рН [147]. Це було зроблено, для

моделювання процесу подальшої деградації матеріалу. Після обробки композиту буфером (рис. 4.2 а) і після обробки кислотою (рис. 4.2 б), видно, що мікроструктура а саме, зменшення кількості часток округлої форми і утворення каркасу з голчатих кристалів збільшують порову структуру і нанорозмірність.



а)



б)

Рисунок 4.2 – Композитна КФК після витримки в буферному розчині а) композитна КФК (в) промита кислотою 1%-ним розчином аскорбінової кислоти

4.3 Дослідження біологічних властивостей композитної КФК

В сумісних роботах з Ужгородським медичним університетом були проведені гістологічні дослідження кісткового дефекту в кістці кролів, заповненого композитними гранулами [161]. Дослідження були проведені в операційній експериментально-біологічній клініці ДУ «Інститут патології хребта та суглобів ім. проф. М.І. Ситенка Національної академії медичних наук України». За результатами дослідження відбувалось поступове зменшення об'єму матеріалу з утворенням зрілої кісткової тканини на поверхнях гранул

по всьому об'єму дефекту, це означає що відновлення кісткової тканини йшло не тільки зі сторони кістки, але й зі сторони матеріалу за рахунок утворення кісткових клітин і їх еволюції в зрілу кістку, що підтверджує остеоіндуктивні властивості матеріалу (рис.4.3).

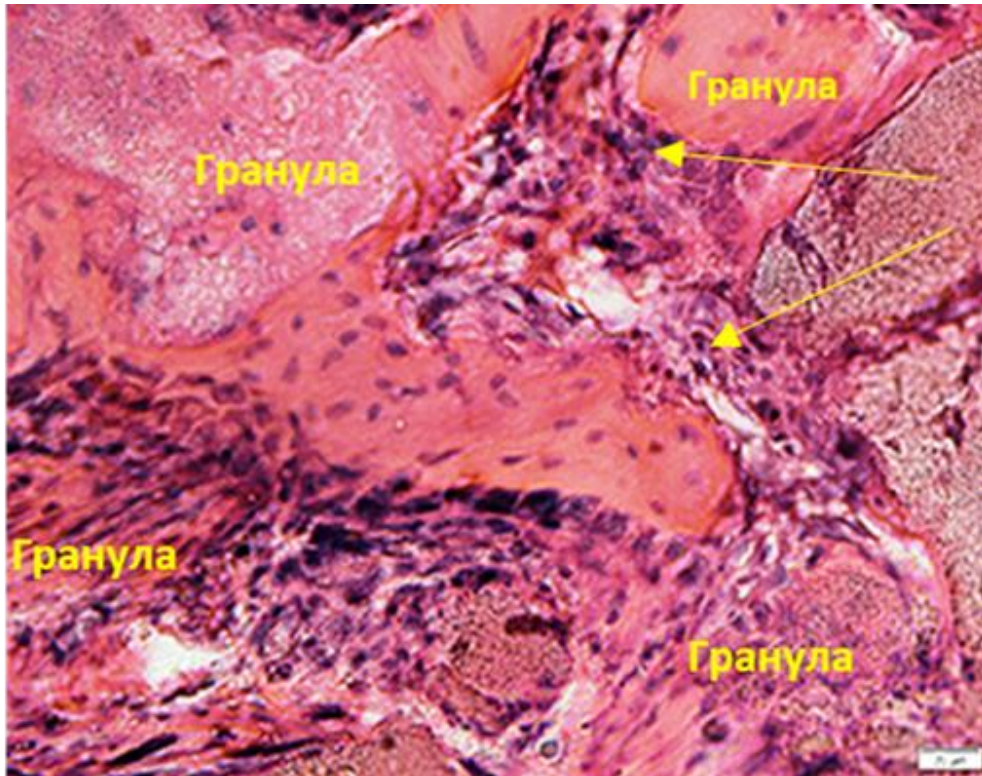


Рисунок 4.3 – гістологічний зріз дефекту кістки кроля, заповненого гранулами. 28 доба, фарбування гематоксилином і еозином. А. х200; Б. Х400

Спостерігаються гранули КФК, оточені вузькими кістковими трабекулами, фіброретикулярною тканиною, висока щільність остеобластів по крайовій поверхні кісткових трабекул. Спостерігається процес прямого заміщення гранул кістковою тканиною.

Дослідження процесу заміщення гранул кістковою тканиною показали, що значну частину дефекту на початковий і кінцевий терміни дослідження займали гранули керамічного біоматеріалу.

Площа гранул на 56 добу дослідження зменшилася в 1,3 рази (табл. 4.2), площа фіброретикулярної тканини (проміжний стан до утворення зрілої

кісткової тканини) - в 1,6 рази. Сумарно площа кісткової і фіброретикулярної тканин на 56 добу становила 38,2%. Площа кісткової тканини в порівнянні з фіброретикулярної тканиною була збільшена в 2,4 рази.

Таблиця 4.2 – Морфометрична оцінка площі (%) кісткової і фіброретикулярної тканин, гранул керамічного біоматеріалу в метадіафізарних дефектах щурів

Досліджені показники	Площа тканин і гранул кераміки в області дефекту, (%)	
	7 доба (n=18)	56 доба (n=18)
Гранули КФК	81,61±2,34	63,8±2,31
Кісткова тканина	Відсутня	26,8±2,73
Фіброретикулярна тканина	18,4±1,5	11,4±1,17
Достовірність		p<0,001, P1<0,01, P2<0,01

примітка: P - порівняння проведено між площами кісткової і фіброретикулярної тканинами на 56 добу, P1 - між площами фіброретикулярної тканини на 7 і 56 добу, P2 - між площею керамічного біоматеріалу на 7 і 56 добу

За результатами дослідження відмічено, що площа кісткової тканини, що оточувала гранули КФК, переважала над фіброретикулярною, що є хорошим прогностичним показником зміцнення області дефекту. Регенерація кістки в навколо гранул протікала відповідно до характерної спрямованості репаративного остеогенезу, тобто зазначалося послідовне формування тканин з підвищенням зрілості кісткової тканини. Відомо, що «критичні» дефекти у щурів (3 мм і більше) заповнюються в основному фіброзної тканиною з одиничними кістковими трабекулами в крайових відділах дефекту, що призводить до низької міцності кістки. У проведеному дослідженні кісткова тканина формувалася безпосередньо на поверхні гранул і по всій області дефекту і на кінцевому терміні (56 доба) в 2,2 рази перевищувала площу фіброретикулярної тканини. Також відмічалось, що по мірі заміщення

матеріалу кістковою тканиною, гранули фрагментувались в оточені кісткової тканини. Таким чином підтвердились всі заплановані біологічні властивості розробленого композиту.

4.4. Висновки до розділу

Таким чином розроблено та досліджено новий композиційний наноструктурований матеріал на базі кальційфосфатної кераміки, який може індукувати розвиток кісткових клітин за рахунок поєднання більш розчинних наночасток сфероїдної форми і менш розчинних часток голчатої структури, та завдяки створеній системи пор від нано- до макророзміру, що сполучаються між собою. Композитна КФК складається з 40% ГАП, 55% β -ТКФ і 5% α -ТКФ,

Особливостями цієї кераміки є те, що

- наночастинки сфероїдної форми, розчиняючись в фізіологічному середовищі, значно підвищують концентрацію іонів кальцію і фосфату, при цьому збільшуються пори в композиті для подальшого вrostання регенерату в кераміку;

- нанопори стимулюють утворення кісткових клітин;

- частинки голкуватої форми зберігають об'єм імплантаційного матеріалу, що забезпечує його надійне заміщення повноцінною кісткою і механічну міцність дефекту;

- сполучені мезо- та макропори забезпечують поступове заміщення матеріалу регенератом

Властивості композитної КФК підтверджені за допомогою досліджень зміни мікроструктури (SEM) під впливом рідин, що розчиняли структури композитної кераміки, а також дослідженням поведінки матеріалу *in vivo*.

РОЗДІЛ 5

МЕТОДИ СТВОРЕННЯ БІОАКТИВНИХ ПОКРИТТІВ З АНТИБАКТЕРІАЛЬНИМИ ВЛАСТИВОСТЯМИ

Створення антибактеріальних покриттів з використанням срібла проблематично через те, що ГАП, легований сріблом, не стійкий до розкладання і срібло при високих температурах, які використовуються при нанесенні покриттів, випаровується в зв'язку з чим, для вирішення цієї проблеми використовують для легування ГАП цинк, мідь, або наносять срібло вже на поверхню ГАП, що не вирішує остаточно проблему створення антибактеріального покриття [121, 122, 124-128].

5.1 Дослідження порошків на основі гідроксиапатиту для нанесення на титанові імплантати методом мікроплазмового напилення

Зважаючи на актуальність створення імплантатів з антибактеріальним ефектом, легуванню ГАП сріблом присвячено багато робіт і розроблено різні способи його введення. Переважно ці матеріали отримували методом осадження з розчинів, застосовано і інші способи – золь-гель, твердофазний, мікрохвильовий, спів-розпилення та ін. Оскільки іонний радіус срібла (0,128 нм) більший за такий у кальцію (0,099 нм), спостерігали збільшення ґратки a у заміщеному апатиті. Як відомо з літературних джерел, ГАП, заміщений сріблом, синтезовано в інтервалі концентрацій 0,1-10 мас.%, заміщення сріблом кальцію в ГАП, приводить до зниження його термічної стабільності, тому була проблема в розложенні ГАП, легованого сріблом при високих температурах його напилення. За результатами наших робіт [125, 153, 154] було визначено, що введення срібла в структуру ГАП більше 2 мас.% приводить до його виділення в окрему фазу, але при цьому структура ГАП зберігається, і для КФК, яка використовується для імплантації це не є негативним фактом, а її використання в умовах інфікування навіть дає кращий результат, але при високих

температурах при напиленні таке срібло, може випаруватися. Тому при виготовленні порошків ми вибрали кількість срібла 1 мас.%, до того ж, щоб попередити розкладання самого ГАП при надмірній кількості срібла.

Легування сріблом проводили по тій же методиці, що описана і в попередніх розділах. Для легування використовували вже осаджений і промитий осад, який обробляли водним розчином азотнокислого срібла. При порівнянні цього способу з методом осадження з розчинів, ми виявили, що він зручніший, втрат срібла в процесі отримання матеріалу немає і антибактеріальний ефект краще, ніж при введенні срібла при синтезі [125]. Крім того, ми мали отримати стехіометричний ГАП після відпалу при 1250 °С, для попередження його розкладання при відпалі. З висушеного осаду готували порошок з розмірами частинок 40-63 мкм, який відпалювали при 1250 °С для стабілізації фази перед нанесенням на титанові зразки методом мікроплазмового напилення (рис. 5.1). Частинки порошку отримали вузького діапазону розміру, що необхідно для створення плинності по вимогам процесу напилення.

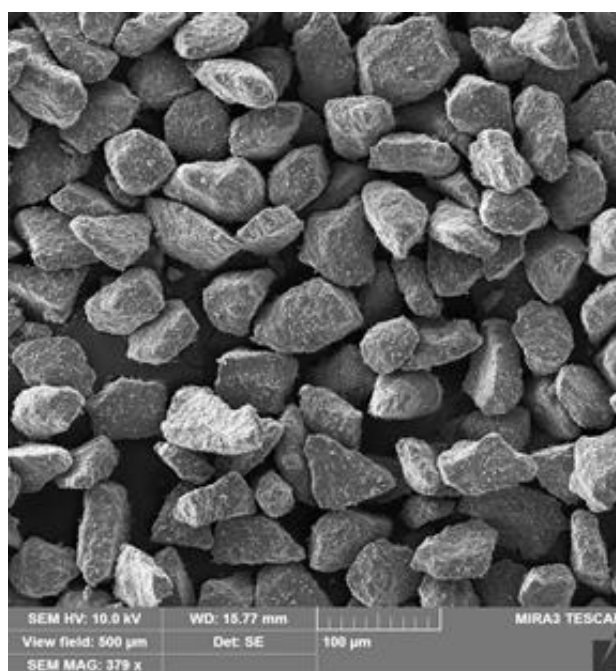


Рисунок 5.1 – Порошок ГАП, легований сріблом, відпалений при 1200 °С
для плазмового напилення

Завдяки високій температурі відпалу частинки порошку щільні (рис. 5.2), за результатами рентгенофазового аналізу отримано структуру ГАП (рис. 5.3).

Зважаючи на те, що при високій температурі не відбулось розкладання ГАП, структура ГАП досить стійка зі збереженням стехіометрії, але на 2θ 38 град. з'явився пік срібла. Зважаючи на зміни в параметрах решітки, часткове заміщення срібла все ж відбулось (табл.5.1)

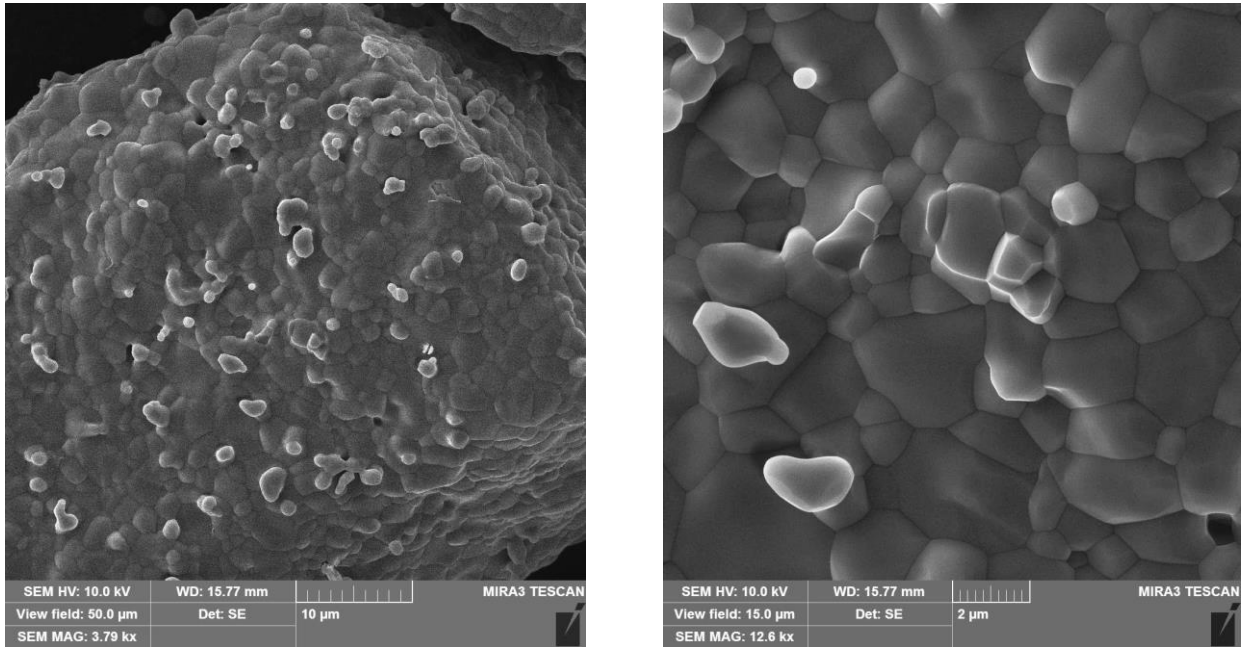


Рисунок 5.2 – Мікрофотографії поверхні гранул ГАП, легованого сріблом, для плазмового наплення, відпалених при 1200 °С

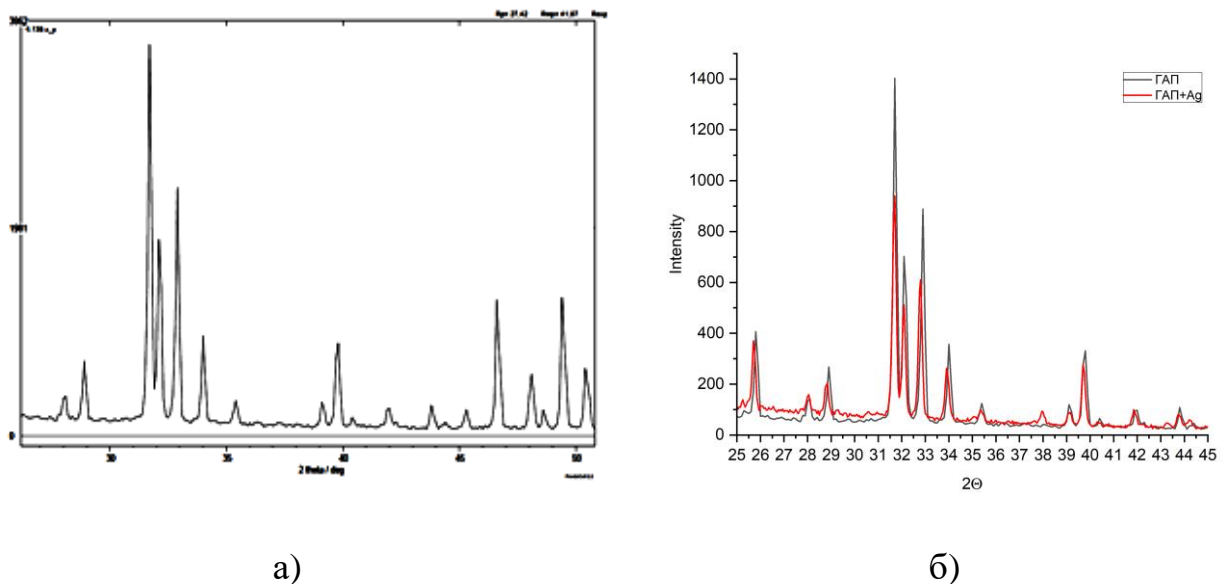


Рисунок 5.3 – Дифрактограми порошків ГАП після відпалу при 1200 °С а) чистого ГАП; б) чистого ГАП-чорна лінія та ГАП, легованого сріблом, червона лінія

Таблиця 5.1 – Параметри решітки ГАП, відпалених при 1250 °С порошоків ГАП та ГАП, легованого сріблом

Матеріал	Параметри решітки, Å	
	<i>a</i>	<i>c</i>
ГАП	9.4020	6.8941
ГАП+Ag	9.4035	6.9037

Для створення покриття зі стехіометричного ГАП з нанесеними на них наночастинками срібла був виготовлений порошок стехіометричного ГАП, який теж був відпалений при 1250 °С (рис.5.3) [151, 158м , 167-169]. Розмір частинок складав 40-63 мкм. З наведених зображень видно, що частинки порошку мають форму, характерну для подрібненого матеріалу, складаються з агрегатів, які щільно спечені між собою (рис.5.4).

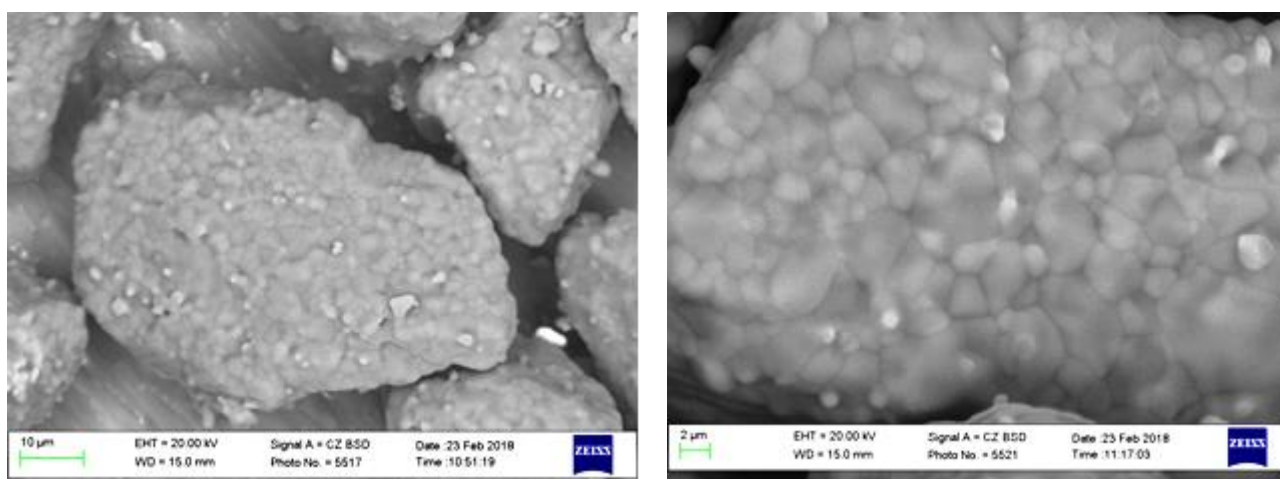


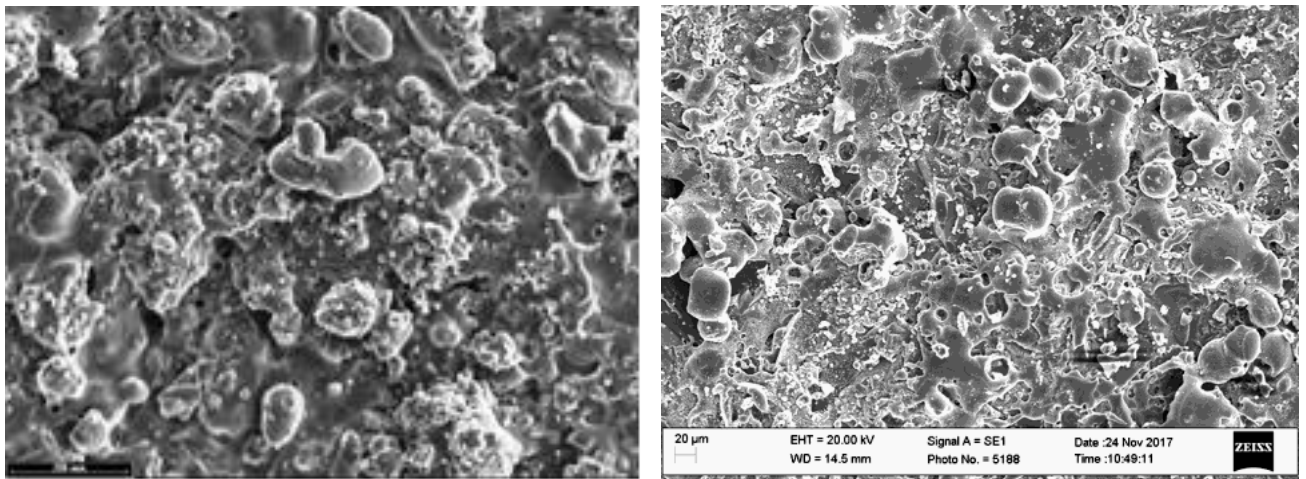
Рисунок 5.4 – Порошок ГАП, відпалений при 1200 °С для плазмового напилення

За результатами рентгенофазового аналізу порошки ГАП без срібла та ГАП, легованого сріблом, відпалені при 1200 °С мають структуру стехіометричного ГАП (рис.5.3) з відмінністю на 2θ 38 °, що відповідає піку срібла.

5.2 Дослідження покриттів з антибактеріальними властивостями на титанових імплантатах

Порошки чистого ГАП та ГАП, легованого сріблом, наносили методом мікроплазмового напилення на титанові пластини в Інституті електрозварювання ім. Є.О.Патона НАН України [49, 167].

На покриття з чистого ГАП в Інституті надтвердих матеріалів ім. В. М. Бакуля НАН України методом диспергування металевого катода локалізованим тліючим розрядом у вакуумі були нанесені наночастинки срібла для придання антибактеріальних властивостей покриттю з ГАП [170, 171]. Мікроструктура покриттів, нанесених мікроплазмовим напиленням, з чистого ГАП та ГАП, легованого сріблом була практично однакова (рис.5.5).



а)

б)

Рисунок 5.5 – Мікроструктура покриттів, нанесених мікроплазмовим напиленням (а) ГАП, легованого сріблом (б) ГАП без срібла

На мікрофотографіях видно, що нанесення покриття з ГАП супроводжується оплавленням вихідного порошку, про яке свідчить зміна форми окремих зерен покриття — вони значною мірою овалізовані, багато частинок зберігають форму і не розтікаються по поверхні за рахунок не повного оплавлення, що створює певну шорсткість поверхні, сприяючої інтеграції з кістковою тканиною. Рентгеноструктурні дослідження показали певні відмінності в покриттях (рис.5.6).

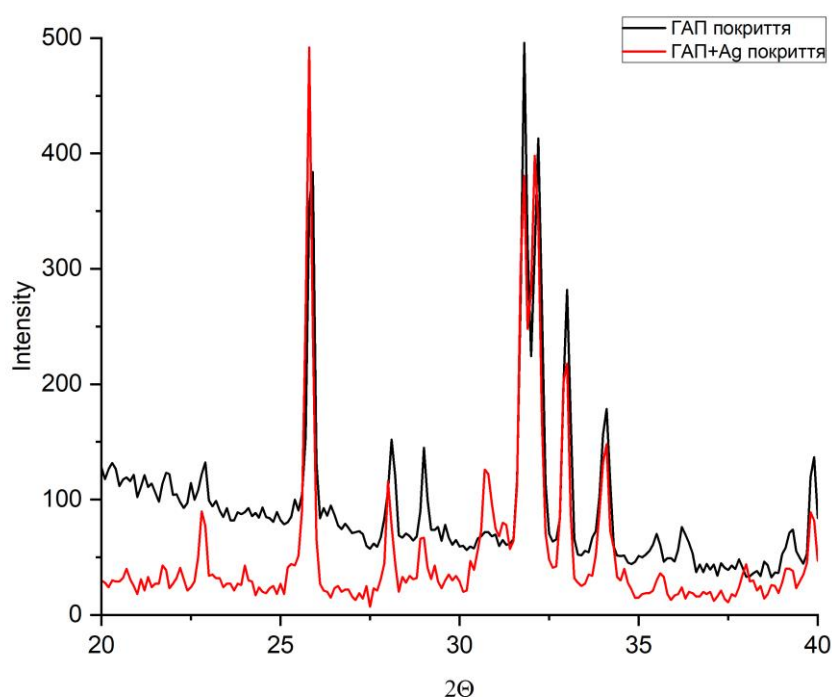


Рисунок 5.6 – Дифрактограми покриттів з чистого ГАП, чорна лінія; ГАП, легованого сріблом, червона лінія

Відповідно до дифрактограм, в покритті з чистого ГАП присутня тільки фаза ГАП, в покритті з ГАП, легованого сріблом присутні одночасно три фази: ГАП, α -ТКФ близько 5 мас.% і фаза β -ТКФ біля 10 мас.%. Слід відзначити, що фаза β -ТКФ в покриттях з ГАП, нанесених плазмовим напиленням завжди переходить в високотемпературну фазу α -ТКФ, яка має більшу розчинність, тож присутність фази фаза β -ТКФ в покритті має позитивний ефект, вона є більш біосумісною і менш розчинна ніж α -ТКФ. До того ж невелика кількість α -

ТКФ сприятиме створенню нанопористості і взаємодії покриттів з кістковою тканиною на клітинному рівні. Отже отриманий результат є позитивним, тому, що такий фазовий склад сприятиме гарній адгезії поверхні імплантату з кістковою тканиною. З вигляду дифрактограм можна говорити про майже повну відсутність аморфної фази в покриттях, якість покриттів повністю відповідають вимогам до покриттів з ГАП згідно з ISO 13779-2:2000 та ASTM F1185 де регламентується кристалічність не менше 45% і присутність не біосумісних фаз не більше 5%. Згідно з дифрактограмою покриття з ГАП, легованого сріблом, фаза срібла на ньому вже відсутня, що може свідчити про те, що частково срібло випарувалось, а частково ввійшло в структуру ГАП під впливом високої температури при напиленні, про що свідчать і зміни в параметрах решітки (табл. 5.2.).

Таблиця 5.2 – Параметри решітки ГАП покриттів з ГАП та ГАП, легованого сріблом

Покриття	Параметри решітки, Å	
	a	c
ГАП	9.4025	6.8670
ГАП+Ag	9.4078	6.8902

За результатами визначення хімічного складу: в порошок ГАП, легованого сріблом, після відпалу на 1250 °C - 0,8-0,9 мас.% Ag, а в покриттях - 0,4-0,5 мас.%, тобто половина срібла випаровується під впливом високих температур при нанесенні покриття.

Був досліджений стан наночастинок срібла на поверхні покриття (рис. 5.7)

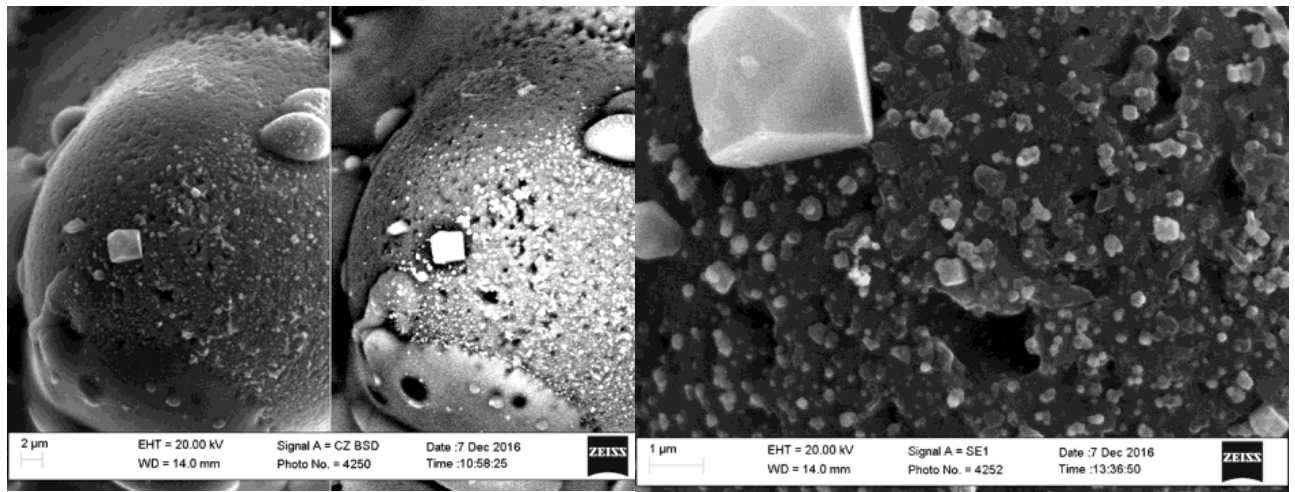


Рисунок 5.7 – СЕМ-зображення НЧ срібла на поверхні покриття з ГАП при різних збільшеннях

В позначених місцях на мікрофото поверхонь (рис. 5.8) був проведений поелементний аналіз методом рентгеноспектрального аналізу та визначена кількість срібла в різних точках (табл. 5.3)

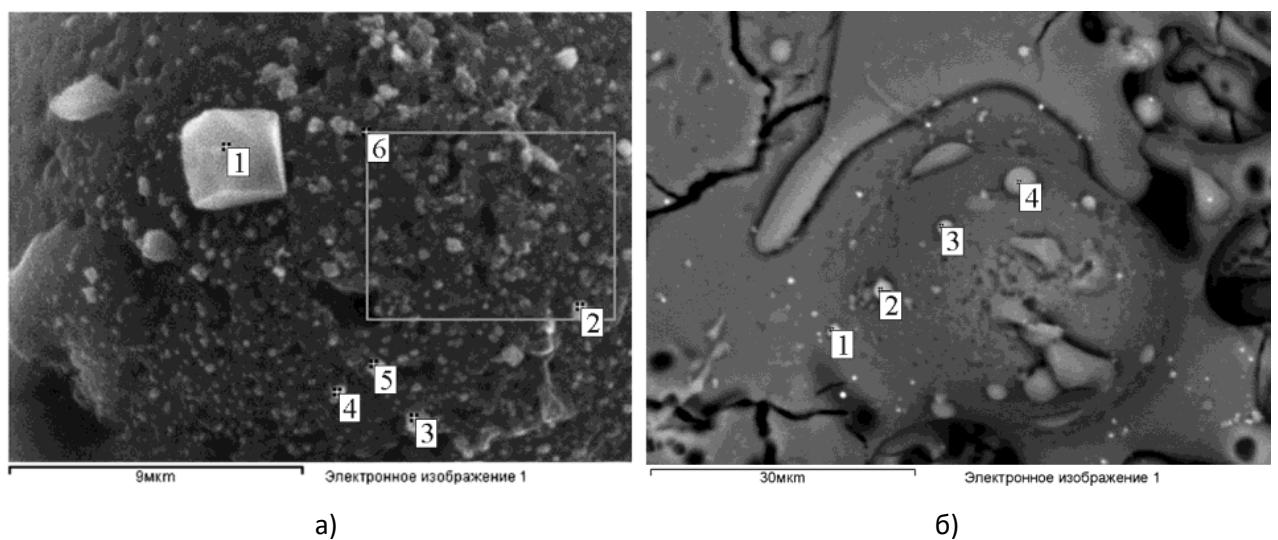


Рисунок 5.8 – СЕМ-зображення НЧ срібла на поверхні покриття з ГАП із позначенням та місць проведення рентгеноспектрального аналізу

Таблиця 5.3 – Елементний склад у точках проведення рентгеноспектрального аналізу (рис.5.8)

Спектр	Елемент, % (мас.)*							
	С	О	P	Na	Ca	S	Cl	Ag
	Рисунок 5.8, а							
1	10,65	12,03	5,16	23,02	9,61	0,09	32,50	6,94
2	11,31	34,89	11,81	1,28	21,65	0,41	2,57	16,07
3	10,02	38,88	15,53	2,88	29,77	1,38	0,09	1,45
4	12,69	31,42	16,11	1,51	33,45	1,37	0,26	3,19
5	11,72	26,80	12,89	0,89	25,63	0,28	3,08	18,72
6	8,30	33,75	18,49	0,49	35,71	0,35	0,22	2,69
	Рисунок 5.8, б							
1	4,30	39,40	11,56		36,27			8,47
2	8,22	44,06	11,97		32,16			3,59
3	8,76	42,36	13,02		31,69			4,17
4	12,41	41,20	14,89		28,30			3,20

* Похибка 0,17% (мас.).

Дані елементного аналізу свідчать про збереження в покритті співвідношення Ca/P та нерівномірний розподіл срібла і кисню на його поверхні. За даними рентгеноспектрального аналізу, при похибці 0,17% (ваг.) у місцях, де спостерігається наявність срібла на поверхні покриття, його налічується від 1 до 18% (мас.) (табл.5.3). Висока кількість вуглецю на поверхні пояснюється умовами пробопідготовки.

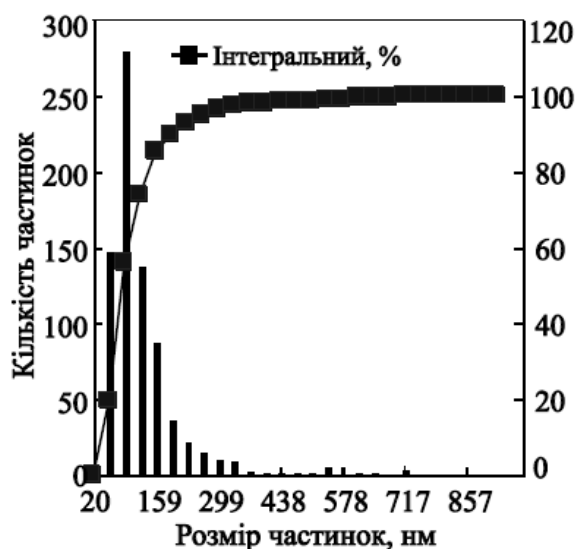


Рисунок 5.9 – Розподіл НЧ срібла за розмірами

Було опрацьовано 800 частинок срібла і з імовірністю 95% мінімальний розмір НЧ срібла на поверхні покриття склав 20 нм, максимальний — 961 нм, середнє значення — 110 нм.

5.3 Порівняння антибактеріальних властивостей отриманих покриттів

Антибактеріальну активність наночастинок срібла, нанесених на поверхню покриття з ГАП, та покриттях з ГАП, легованої сріблом, щодо патогенів *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* та *Escherichia coli* визначали відповідно до ДСТУ ISO 18593-2006 у ДП “Науковий центр превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки імені академіка Л.І. Медведя” МОЗ України. Виконані мікробіологічні дослідження з використанням тест-штамів відомих збудників госпітальних гнійно-запальювальних захворювань: грамнегативних (*Escherichia coli* та *Pseudomonas aeruginosa*) та грампозитивних (*Staphylococcus aureus*) бактерій. Застосовували метод відбитків згідно ДСТУ ISO18593-2006. Суспензії тест-культур бактерій наносили на досліджувану поверхню та, після 45 хвилинної експозиції за кімнатної температури в умовах вологої камери, робили відбитки на поверхню густих поживних середовищ (агар Ендо та поживний агар). Підраховували

кількість колонієуворюючих одиниць (КУО) на відбитках з контрольної та дослідних поверхонь (табл. 5.3).

Таблиця 5.4 – Результати мікробіологічних досліджень покриттів з ГАП, легованого сріблом та з ГАП з наночастинками срібла на поверхні

Досліджувані зразки та тест-мікроорганізми	Кількість життєздатних клітин тест-мікроорганізмів на досліджуваній поверхні (експозиція 45 хв.)
	Дослід в % від числа контролю
Напилення ГАП, легованого сріблом	
E. coli кишкова паличка	0
S. aureus золотистий стафілокок	46,6
P. aeruginosa синьогнійна паличка	39,5
Напилення наночастинками срібла (дослідження проводилось на трьох пластинах)	
E. coli кишкова паличка	4,3 – 31,7
S. aureus золотистий стафілокок	12,0 – 29,9
P. aeruginosa синьогнійна паличка	14,7 – 63,3

Зважаючи на нерівномірність розподілу срібла по поверхні покриття, дослідження антибактеріальних властивостей покриття з наночастинками срібла проводилось на трьох пластинах). Згідно з тестами (табл. 5.4), через 45 хвилин на покриттях з легової сріблом КФК патогени кишкової палички не виявлялися, вплив на синьогнійну паличку був трохи кращим в порівнянні з покриттям з частинками наносрібла, а зменшення кількості золотистого стафілокока ефективніше було у покриття з наночастинками срібла. В обох випадках покриття мали виражені антибактеріальні властивості. Нерівномірність розподілу наночастинок срібла відзначилось на нерівномірності антибактеріальних властивостей, але ці технічні недоліки

можуть бути усунені. Незважаючи на значно меншу кількість срібла в покритті з ГАП, легованого сріблом, антибактеріальний ефект такого покриття не поступається антибактеріальним властивостям покриттю з наночастинками срібла, що можна пояснити тим, що з ГАП, легованого сріблом виділяються іони срібла, активність яких вища ніж у наночастинок срібла.

5.4 Висновки до розділу

Таким чином визначено, що отримана КФК, легована сріблом, після плазмового напилення, незважаючи на високі температури, зберігає антибактеріальні властивості, і може використовуватись для нанесення покриттів на титанові імпланти. Вперше отримано та досліджено антибактеріальне покриття з гідроксиапатиту методом мікроплазмового напилення стехіометричного ГАП, на яке нанесені наночастинки срібла плазмовим диспергуванням у вакуумі. Встановлено, що обидва типи покриттів чинять антибактеріальний вплив на всі досліджені патогенні тест-культури мікроорганізмів. Вибрані способи легування економічні і прості, дозволять отримувати антибактеріальні покриття на титанових імплантах з різною біоактивністю, що може бути використано в різних клінічних випадках.

В ДП “Науковий центр превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки ім. Л.І. Медведя МОЗ України проведена токсиколого-гігієнічна оцінка зразків зі сплаву титану з покриттями зі сріблом та кремнієм та визначені їх біосумісність і підтверджені антибактеріальні властивості покриттів зі сріблом.

За результатами досліджень зроблена спеціалізована оцінка клінічних даних Клінічною лікарнею «Феофанія» Державного управління справами, яка підтвердила можливість використання розроблених матеріалів в клінічній медицині та отримано Сертифікат відповідності технічному регламенту №753 щодо медичних виробів, який дозволяє використання антибактеріального покриття, нанесеного з ГАП, легованого сріблом на титанові імпланти.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі вирішена актуальна науково-технічна задача розробки принципово нової наноструктурованої композиційної кальцій-фосфатної кераміки за результатами дослідження закономірностей впливу технологічних параметрів обробки синтезованого нестехіометричного гідроксиапатиту органічними кислотами, добавок кремнію і срібла на фізико-хімічні та функціональні властивості розроблених матеріалів та оптимізації технологічних параметрів їх отримання.

1. Встановлені закономірності впливу обробки осаду нестехіометричного ГАП аскорбіновою і лимонною кислотою, та легування кремнієм на фізико-хімічні властивості та фазові зміни КФК після термообробки в інтервалі температур 800-1300 °С, які є важливими, як для функціональних властивостей порошків і гранул з КФК, відпалених в інтервалі температур 800 - 900 °С так і для виготовлення з них об'ємних керамічних виробів, що спікаються в інтервалі температур 1100-1300 °С.

2. Показано, що обробка нестехіометричного осаду аскорбіновою кислотою, незалежно від рН обробленого осаду, сприяє утворенню фази α -ТКФ в температурному інтервалі 800 -1100 °С, а β -ТКФ, в інтервалі 1100 -1300 °С, що забезпечило можливість вперше отримати трифазну КФК (α -ТКФ, β -ТКФ, ГАП) в температурному інтервалі 800 - 1300 °С.

3. Показано, що модифікування КФК органічними кислотами та кремнієм сприяє утворенню наноструктури. Оптимальне співвідношення фаз та температура обробки КФК для модифікованих фаз з утвореною наноструктурою визначалась за результатами досліджень адсорбційних властивостей КФК після її обробки в рідині, що імітує фізіологічну, яка змінюється від 123 мг/л в немодифікованій КФК до 231 мг/л модифікованій аскорбіновою кислотою, 228,4 мг/л, модифікованій лимонною кислотою, 229,1 мг/л, легованій кремнієм.

4. Встановлено, що обробка осаду лимонною кислотою, на відміну від аскорбінової кислоти, не сприяє утворенню α -ТКФ в модифікованій КФК в інтервалі температур 800 - 950 °С, але при температурі 1100 °С утворюється трифазна КФК, а після відпалу при 1200 °С утворюється двофазна КФК (α -ТКФ, β -ТКФ).

5. Встановлено, що легування нестехіометричного ГАП колоїдним водним розчином тонкодисперсного діоксиду кремнію в кількості 1,5 мас.%. сприяє утворенню трифазної КФК (ГАП, β -ТКФ, α -ТКФ) в температурному інтервалі від 800 °С до 1200 °С, а при 1300 °С матеріал складається з двох фаз ТКФ α - і β -ТКФ. Визначений оптимальний матеріал для продовження дослідження його біологічних властивостей. Дослідження *in vitro* та *in vivo* підтвердили правильність вибору.
6. В результаті комплексу проведених досліджень створено наноструктуровану композитну КФК, що складається з наночастинок сфероїдної форми з трифазної КФК (ГАП, β -ТКФ, α -ТКФ) та голчатого типу β -ТКФ. Від інших композитних КФК цей композит відрізняється тим, що складається не з голчатих кристалів ГАП, які отримують високовартісним методом, а голчатих кристалів β -ТКФ, отриманих методом хімічного осадження. Остеогенні властивості композиту підтверджено доклінічними дослідженнями.
7. Отримано антибактеріальні покриття з гідроксиапатиту методом мікроплазмового напилення ГАП, легованого сріблом, та покриття з ГАП, на яке нанесені наночастинки срібла плазмовим диспергуванням у вакуумі. Встановлено, що обидва типи покриттів чинять антибактеріальний вплив на всі досліджені патогенні тест-культури мікроорганізмів.
8. Дослідження КФК, легованої кремнієм, в комбінації зі стовбуровими клітинами та клітинами крові (PRF) показали значно кращі результати в порівнянні з традиційними методами отримання кісткових клітин зі стовбурових та з закордонними КФК високої активності в поєднанні з PRF.
9. За результатами доклінічних досліджень КФК та покриттів на титанових імплантатах Клінічною лікарнею «Феофанія» Державного управління справами зроблена спеціалізована оцінка клінічних даних, яка була використана для отримання Сертифікату відповідності технічному регламенту №753 щодо медичних виробів згідно з вимогами ISO 13485, №UA.TR.039.1204, №217 та №UA.TR.039.1380, №229. від 15.09.2020 року, це дає дозвіл на використання розроблених матеріалів в клініках України.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

- 1 Підрушняк Є. П., Жураківський Є. О. До питань про біоенергетику мінералу кістки. *Доповіді АН Української РСР*. 1991. № 1. С. 143-148
- 2 Іванченко Л.А. Остеоапатит керамічний: монографія. Київ, 2014. 131 с.
- 3 Карбовский В.Л., Шпак А.П. Апатиты и апатитоподобные соединения. Электронная структура и свойства : монография. Київ, 2010. 382 с.
- 4 Зиман З. З. Кальцій-фосфатні біоматеріали: навч. посіб. Харків, 2018. 287с.
- 5 Dubok V.A. Bioceramics—Yesterday, Today, Tomorrow. *Powder Metallurgy and Metal Ceramics*. 2000. V. 39 №7 P. 381- 394.
- 6 Баринов С. М., Шевченко В. Я. Прочность технической керамики: М.: Наука, 1997. 159 с.
- 7 Ньюман У. и Ньюман М. Минеральный обмен кости. М.: Изд-во иностранной литературы, 1961. 270 с.
- 8 Маттиас Эппле. Биоматериалы и биоминерализацияб: монография. Томск: Изд-во «Ветер», 2007. 157 с.
- 9 Вильямс Д. Ф., Р. Роуф. Имплантаты в хирургии: монография. М.: Медицина, 1978. 560 с.
- 10 LeGeros R. Z., LeGeros J. P. Calcium Phosphate Biomaterials: preparation, properties and biodegradation: *Encyclopedic Handbook of Biomaterials and Bioengineering*. 1995. Part A. Vol. 2. P.1429–1463.
- 11 LeGeros R.Z. Calcium Phosphates in Oral Biology and Medicine: monographs in Oral Science. New York, NY, 1991. Vol. 15. 200 p.
- 12 Слуцкий Л., Ветра Я. Биологические вопросы биоматериаловедения: монография. Рига: Латвийская медицинская академия, 2001. 140 с.
- 13 Баринов С. М., Комлев В. С. Биокерамика на основе фосфатов кальция: научное издание. Москва, Наука, 2005. 205 с.
- 14 Takafumi Kanazawa. Inorganic Phosphate Materials: monographs. Oxford, United Kingdom, ELSEVIER, 1989. 288 p.

- 15 Dorozhkin S.V., Calcium orthophosphate-based bioceramics. *Materials* 2013. 6:3840–942.
- 16 Лекишвили М.В., Склянчук Е.Д., Акатов В.С., Очкуренко А.А., Гурьев В.В., Рагинов И.С., Бугров С.Н., Рябов А.Ю., Фадеева И.С., Юрасова Ю.Б., Чеканов А.С. Костнопластические остеоиндуктивные материалы в травматологии и ортопедии. *Гений ортопедии*. 2015;(4) с. 61-67
- 17 Henkel J., Woodruff M.A., Epari D.R., Steck R., Glatt V., Dickinson I.C., Choong P.F., Schuetz M.A., Hutmacher D.W. Bone Regeneration Based on Tissue Engineering conceptions — A 21st Century Perspective. *Bone Res.* 2013. №1(3). P. 216-248. DOI: 10.4248/BR201303002.
- 18 Dorozhkin S.V. Biphasic, triphasic and multiphasic calcium orthophosphates. *Acta Biomaterialia*. 2012. Vol. 8. P. 963–977.
- 19 Li Y., Weng W., Tan K.C. Novel highly biodegradable biphasic tricalcium phosphates composed of α -tricalcium phosphate and β -tricalcium phosphate. *Acta Biomater.* 2007. №3. P. 251–254.
- 20 Li Y., Weng W. In vitro dissolution behavior of biphasic tricalcium phosphate composite powders composed of α -tricalcium phosphate and β -tricalcium phosphate. *Key Eng. Mater.* 2008. 368–372. P. 1206–1208.
- 21 Reid J. W., Tuckb L., Sayerb M., Fargoa K., Hendrya J. A. Synthesis and characterization of single-phase silicon-substituted α -tricalcium phosphate. *Biomaterials*. 2006. №27 P. 2916–2925.
- 22 N. Jinlong, Z. Zhenxi, J. Dazong. Investigation of Phase Evolution During the hermochemical Synthesis of Tricalcium Phosphate. *Journal of Materials Synthesis and Processing*, 2001. Vol. 9. 235-240.
- 23 Nurse R.W, Welch J.B, Gun W. High-temperature phase equilibria in the system dicalcium silicate-tricalcium phosphate. *J Chem Soc.* 1959. 1077-1083.
- 24 Гусейнова М.А., Саломатина Е. В., Смирнова Л. А., Смирнова О. Н. Бактерицидные свойства производных хитозана для защиты имплантатов. *Известия уфимского научного центра РАН*. 2019. С. 21-25 doi: 10.31040/2222-8349-2019-0-2-21-25

- 25 Шамсутдинов И. И., Баязитова Л. Т., Гребенщикова М. М., Миронов М. М. Антимикробные свойства наноструктурированных плазменных конденсатов для медицинских имплантатов. *Вестник технологического университета*. 2017. Т.20, №16. С.149-151.
- 26 Наноматеріали медичного призначення: монографія / І.В. Уварова, П.П. Горбик, С.В. Горобец, О.А. Иващенко, **Н.В. Ульянович**. Київ, 2014. 415с.
- 27 Крутяков Ю.А., Кудринский А.А., Оленин А. Ю., Лисичкин Г.В. Синтез и свойства наночастиц серебра: достижения и перспективы. *Усп. химии*. 2008. Т. 77. № 3. С. 242–269.
- 28 9. Chwalibog A., Sawosz E., Hotowy A., Szeliga J., Mitura S., Mitura K., Grodzik M., Orlovski P., Sokolowska A. Visualization of interaction between inorganic nanoparticles and bacteria or fungi. *Int. J. Nanomedicine*. 2010. No. 5. P. 1085–1094.
- 29 Андрусишина И.Н. Наночастицы металлов: способы получения, физико-химические свойства, методы исследования и оценка токсичности. *Сучасні проблеми токсикології*. 2011. № 3. С. 5–14.
- 30 Кістерська Л.Д., Логінова О.Б., Садохін В.В., Садохін В.П. Інноваційна технологія виробництва біосумісних нанодезінфектантів нового покоління. *Вісник НАН України*. 2015. № 1. С. 39–48.
- 31 Новіков М.В., Кістерська Л.Д., Садохін В.В., Садохін В.П., Перевертайло В.М. Екологічно чиста технологія плазмового диспергування електропровідних матеріалів з одностадійним циклом виготовлення суспензій наночасток у широкому спектрі рідких основ. *Порошковая металлургия*. 2012. № 1/2. С. 34–45.
- 32 Баринов С. М. Комлев В. С. Костные ткани «ремонтирует» керамика. *Наука в России*. 2005. №1. С.27-30.
- 33 Hench, L. L. Polak J. M. Third-generation biomedical, materials. *Science*. 2002. Vol. 295. P.1014-1017.

- 34 Bell E. Living tissue formed in vitro and accepted as skin-equivalent tissue of full thickness. *Science*. 1981. Vol. 211. pp. 1052-1054.
- 35 Hench L. L., Thompson I. Twenty-first century challenges for biomaterials. *J R Soc Interface*. 2010. August 6; 7(Suppl 4): P.379–391
- 36 Jingwei Zhang, Davide Barbieri, Hetty ten Hoopen. Microporous calcium phosphate ceramics driving osteogenesis through surface architecture. *Journal of biomedical materials research*. | 2015. Vol. 103A. P. 1188-1199.
- 37 Chan B.P., Leong K.W. Scaffolding in tissue engineering: General approaches and tissue-specific considerations. *European Spine Journal*. 2008. Vol. 17, № 4. p. 467-479.
- 38 M.C. Kruyt, J.D. de Bruijn, C.E. Wilson. Viable osteogenic cells are obligatory for tissue-engineered ectopic bone formation in goats. *Tissue Eng*. 2003. Vol. 9, № 2. P. 327-336.
- 39 Rui-Xin Wu, Xin-Yue Xu, Jia Wang, Xiao-Tao He, Hai-Hua Sun, Fa-Ming hen. Biomaterials for endogenous regenerative medicine: Coaxing stem cell homing and beyond. *Applied Materials Today*. 2018. №11. P.144–165.
- 40 D. Logeart-Avramoglou, F. Anagnostou, R. Bizios, H. Petite. Engineering bone: challenges and obstacles. *J. Cell. Mol. Med*. 2005. Vol. 9, No 1. P.72-84.
- 41 Дуда К. М., Кліщ І. М. Остеоіндуктивні препарати для заміщення кісткових дефектів у стоматології. *Здобутки клінічної і експериментальної медицини*. 2019. № 2. С. 7-11.
- 42 Ahmad Oryan, Soodeh Alidadi. Bone Regeneration. Chapter 1 *Application of Bioceramics in Orthopedics and Bone Tissue Engineering*. 2017. P. 51.
- 43 Costain D.J., Crawford R.W. Fresh-frozen vs. irradiated allograft bone in orthopaedic reconstructive surgery. *Injury*. 2009. 40 (12). P. 1260-1264. DOI: 10.1016/j.injury.2009.01.116.
- 44 Кирилова И. А., Садовой М.А., Подорожная В.Т. Сравнительная характеристика материалов для костной пластики: состав и свойства. *Хирургия позвоночника*. 2012. №3. С. 72–83.

- 45 Воробьев К. А., Божкова С.А., Тихилов Р.М., Черный А.Ж. Современные способы обработки и стерилизации аллогенных костных тканей (обзор литературы). *Травматология и ортопедия России* Том 23, № 3, 2017 С. 134–147.
- 46 Frame J.W. Porous calcium sulfate dihydrate as a biodegradable implant in bone. *J.Dent.* 1975. Vol. 3. P. 177-187.
- 47 Hench L.L. Bioceramics. *J. Am. Ceram. Soc.* 1998. Т.81. №7. P. 705–1710.
- 48 Дорожкин С.В., Агатопоулус С. Биоматериалы: обзор рынка. *Химия и жизнь*. 2001.Т.7. С. 8–10.
- 49 Эндопротезы суставов человека: материалы и технологии: монография/ Киев. ИСМ им. В.Н. Бакуля НАН Украины. 2012, 528 с.
- 50 Григорьян А. С., Топоркова А. К. Проблемы интеграции имплантатов в костную ткань: теоретические аспекты. М.: Техносфера, 2007. 127 с.
- 51 Suchanek M.Y. Processing and properties of hydroxyapatite-based biomaterials for use as hard tissue replacement implants. *Mater. Res.* 1998. Vol.1, No 13. 94–117 С.
- 52 Elliot, J. C. Kohn M. J., Rakovan J. J., Hughes L.M. Calcium phosphate biominerals. Phosphates: geochemical, geobiological and materials importance. *Reviews in mineralogy and geochemistry*. 2002 Vol. 48, P. 427-455.
- 53 White T. J., Li Z. D. Structural derivation and crystal chemistry of apatites. *Acta Cryst.* 2003. В. No 59, P. 1-16.
- 54 Аврунин А.С., Тихилов Р.М., Аболин А.Б., Щербак И.Г. Лекция по остеологии. Многоуровневый характер структуры минерального матрикса и механизмы его формирования. *Гений ортопедии*. 2005; (2):89-94.
- 55 Брик А. Б., **Ульянчик Н. В.**, Кеннер Ж. Х. ЭПР-примеси кристаллических фаз в биоминералах и их синтетических аналогах. *Минералогический журнал*. 2001. Т. 23. С. 23–37.

- 56 Данильченко С.Н. Структура и свойства апатитов кальция с точки зрения биоминералогии и биоматериаловедения (Обзор). «Вісник СумДУ. Серія Фізика, математика, механіка». №2. 2007. С. 33-59.
- 57 Nutmacher D.W. Scaffold design and fabrication technologies for engineering tissues - State of the art and future perspectives *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* 2001. Vol. 12, No 1. 107-124 P.
- 58 Kim H.M., Rey C., Glimcher M.G. Isolation of calcium-phosphate crystals of bone by non-aqueous methods at low temperature. *J. bone Miner. Res.* 1995. V.10, №10. P.1589-1601.
- 59 Франке Ю., Рунге Г. Остеопороз: Пер. с нем. – М.: Медицина, 1995. 304 с.
- 60 Kohn M.J., Rakovan J., Hughes J.M. (eds) Phosphates: geochemical, geobiological and materials importance. Series: Reviews in mineralogy and geochemistry. *Mineralogical Society of America.* 2002. Washington, DC. Vol.48, P. 1–12.
- 61 White T.J. Zhi Li D. Structural derivation and crystal chemistry of apatites. *Acta Crystallographica.* 2003. B.59. P. 1–16.
- 62 Dorozhkin S.V. Calcium orthophosphates. *J. Mater. Sci.* 2007. Vol. 42. P. 1061–1095.
- 63 Баринов. С. М. Керамические и композиционные материалы на основе фосфатов кальция для медицины. *Успехи химии.* 2010. 79 (1) С.15-32.
- 64 Elliott J.C. Structure and Chemistry of the Apatites and Other Calcium Orthophosphates: Studies in Inorganic Chemistry 1994. Amsterdam. Elsevier. 389 p.
- 65 Rey C. Calcium phosphate biomaterials and bone mineral. Differences in composition, structures and properties. *Biomaterials.* 1990. V. 11. P. 13-15.
- 66 Корнилов Н.В. Аврунин А.С. Адаптационные процессы в органах скелета: СПб.:МОРСАР АВ. 2001. 269 С.

- 67 Gross K.A., Berndt C.C. Biomedical Application of Apatites/ Kohn M.J., Rakovan J., Hughes J.M. (eds) Phosphates: geochemical, geobiological and materials importance. Series: Reviews in mineralogy and geochemistry/ *Mineralogical Society of America, Washington*. Vol. 48. - 2002. DC. P. 631–672.
- 68 LeGeros R. Z. Properties of Osteoconductive Biomaterials: Calcium Phosphates. *Clinical Orthopaedics and Related Research*. 2002. Vol. 395. P.81-98.
- 69 Albee F., Morrison H. Studies in bone growth. *Annals of Surg.* 1920; 71:32–38.
- 70 Groot K. Degradable ceramics/ In:Williams E.D. ed. Biocompatibility of clinical implant materials/ Boca Raton, Florida, USA: CRC Press. 1981.Vol. 1. P.199–222.
- 71 Tao J, Jiang W, Zhai H, Pan H, Xu X, Tang R. Structural components and anisotropic dissolution behaviors in one hexagonal single crystal of β -tricalcium phosphate. *Cryst Growth. Des* 2008; 8:2227-34.
- 72 Dickens, F. The citric acid content of animal tissues, with reference to its occurrence in bone and tumour. *Biochem. J.* 1941. 35. P. 1011–1023.
- 73 Misra D.N. Interaction of citric acid with hydroxyapatite: surface exchange of ions and precipitation of calcium citrate. *J Dent Res.* 1996. 75:1418–1425.
- 74 Rhee S. H., Tanaka J. Effect of citric acid on the nucleation of hydroxyapatite in a simulated body fluid. *Biomaterials* 1999. 20. P. 2155–2160.
- 75 de Leeuw N.H., Rabone JAL. Molecular dynamics simulations of the interaction of citric acid with the hydroxyapatite (0001) and (01 $\bar{1}$ 0) surfaces in an aqueous environment. *CrystEngComm.* 2007. 9:1178–1186.
- 76 Jiang, W.G.; Chu, X.; Wang, B.; Pan, H.; Xu, X.; Tang, R. Biomimetically triggered inorganic crystal transformation by biomolecules: A new understanding of biomineralization. *J. Phys. Chem.* 2009. Vol. 113. P. 10838–10844.

- 77 Costello L.C., Chellaiah, M., Zou, J., Franklin, R.B., Reynolds M.A. The status of citrate in the hydroxyapatite/collagen complex of bone and its role in bone formation. *J. Regener. Med. Tissue Eng.* 2014. P.3, 4.
- 78 Linda Pastero, Marco Bruno, Dino Aquilano. Habit Change of Monoclinic Hydroxyapatite Crystals Growing from Aqueous Solution in the Presence of Citrate Ions: The Role of 2D Epitaxy. *Crystals*. 2018. Vol. 308. 8,P.2-12. doi:10.3390/cryst8080308.
- 79 Filgueiras M.R.T., Mkhonto D., de Leeuw N.H. Computer simulations of the adsorption of citric acid at hydroxyapatite surfaces. *J. Cryst. Growth* 2006. Vol. 294. P. 60–68.
- 80 Elliott, J. C., Mackie P. E., Young R. A. *Science* 1973. 180. P.1055–1057.
- 81 Guobin M., Xiang Yang Liu. Hydroxyapatite: Hexagonal or Monoclinic? *Crystal growth & design*, 2009, Vol. 9, NO. 7. P. 2991–2994.
- 82 Young, R. A., Brown W. E. /Biological Mineralization and Demineralization; Nancollas G. H., Ed.; Dahlem Konferenzen / Berlin, 1982. P. 101-141.
- 83 Haverty D, Syed A. M., Tofail, Kenneth T., Stanton, James B. McMonagle. Structure and stability of hydroxyapatite: Density functional calculation and Rietveld analysis. *Phys. Rev.* 2005. B 71. 094103-9.
- 84 Ramesh S., Tan C. Y., Hamdi M., Sopyan I., Teng W. D. The influence of Ca/P ratio on the properties of hydroxyapatite bioceramics. *International Conference on Smart Materials and Nanotechnology in Engineering*. 2007. Vol. P. 6423 64233A1-6. doi: [10.1117/12.779890](https://doi.org/10.1117/12.779890)
- 85 Wang H., Lee J.K., Moursi A., Lannutti J.J. Ca/P ratio effects on the degradation of hydroxyapatite in vitro. *J. Biomed. Mater. Res. A*. 2003. Vol. 67, No 2. P. 599-608.
- 86 Posner, A.S., Perloff A., Diorio A.F. Refinement of the hydroxyapatite structure. *Acta Crystallogr. International Union of Crystallography*. 1958. Vol. 11, № 4. P. 308-309.

- 87 Uskoković V., Uskoković D.P. Nanosized hydroxyapatite and other calcium phosphates: Chemistry of formation and application as drug and gene delivery agents. *J. Biomed. Mater. Res. Part B Appl. Biomater. Wiley Subscription Services, Inc., A Wiley Company*. 2011. Vol. 96B, No 1. P. 152-191.
- 88 Tao J, Pan H, Zhai H, Wang J, Li L, Wu J, et al. Controls of tricalcium phosphate single-crystal formation from its amorphous precursor by interfacial energy. *Cryst Growth*. 2009; 9:3 p.154-60.
- 89 Li Y., Weng W. In vitro synthesis and characterization of amorphous calcium phosphates with various Ca/P atomic ratios. *J Mater Sci: Mater Med*. 2007. 18:2303–2308. DOI 10.1007/s10856-007-3132-4
- 90 Rodriquez-Lorenzo L.M., Vallet-Regi M. Controlled crystallization of calcium phosphate apatites. *Chem. Mater*. 2000. 12 P. 2460–2465.
- 91 Ellinger R.F., Nery E.B., Lynch K.L. Histological assessment of periodontal osseous defects following implantation of hydroxyapatite and biphasic calcium phosphate ceramics: a case report. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1986. Vol. 3. P. 22-33
- 92 Nery E.B., Lynch K.L., Hirthe W. M., Mueller K.H. Bioceramic implants in surgically produced infrabony defects. *J Periodontol*. 1975. Vol. 46. P.328-347.
- 93 LeGeros R.Z. Variability of HAP/b-TCP ratios in sintered apatites. *J Dent Res*. 1986. Vol. 65. P. 292-311.
- 94 Daculsi G., LeGeros R.Z., Nery E., Lynch K., Kerebel B. Transformation of biphasic calcium phosphate ceramics in vivo: ultrastructural and physicochemical characterization. *J Biomed Mater Res*. 1989. Vol.23. P. 883–94.
- 95 Puleo D. A., Nanci A. Understanding and controlling the bone-implant interface. *Biomaterial*. 1999. V.20. p. 2311–2321.
- 96 Williams D.F. On the nature of biomaterials. *Biomaterials*. 2009. Vol. 30, №30. P. 5897-5909
- 97 Kamachimudali U., Sridhar T.M., Raj B. Corrosion of bio implants. *Sadhana. Springer India*. 2003. Vol. 28, No 3-4. – P. 601-637.

- 98 Wutticharoenmongkol P., Pavasant P., Supaphol. P. Osteoblastic phenotype expression of MC3T3-E1 cultured on electrospun polycaprolactone fiber mats filled with hydroxyapatite nanoparticles. *Biomacromolecules*. 2007. Vol. 8, No 8. P. 2602-2610.
- 99 Takahashi Y., Tabata Y. Effect of the fiber diameter and porosity of non-woven PET fabrics on the osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells. *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* 2004. Vol. 15, No 1. P. 41-57.
- 100 Navarro M., Michiardi A., Castano O., Planell J.A. Biomaterials in orthopaedics. *J.R. Soc. Interface. The Royal Society*. 2008. Vol. 5, No 27. P. 1137-1158.
- 101 Astala R., Calderin I., Yin X., Stott M.J. Ab initio simulation of Si-doped hydroxyapatite. *Chem mater*. 2006. Vol. 27. P. 2916-25.
- 102 Rau J.V., Cacciotti I., Laureti S. et al. Bioactive, nanostructured Si-substituted hydroxyapatite coatings on titanium prepared by pulsed laser deposition. *J. Biomed. Mater. Res. Part B Appl. Biomater.* 2015. Vol. 103, No 8. P. 1621-1631.
- 103 Carlisle E.M. Silicon: a possible factor in bone calcification. *Science*. 1970. Vol. 167, No 3916. P. 279-280.
- 104 Schwarz K., Milne D.B. Growth-promoting effects of silicon in rats. *Nature. Nature Publishing Group*. 1972. Vol. 239, No 5371. P. 333-334.
- 105 Hing K.A., Revell P.A., Smith N., Buckland T. Effect of silicon level on rate, quality and progression of bone healing within silicatesubstituted porous hydroxyapatite scaffolds. *Biomaterials*. 2006. Vol. 27, No 29. P. 5014-5026.
- 106 Tavafoghi M., Kinsella J. M., Gamys C. G., Gosselin M., Zhao Y. F. Silicon-doped hydroxyapatite prepared by a thermal technique for hard tissue engineering applications/ *Ceramics International*. 2018. Vol. 44, No 15. P. 17612-17622.
- 107 Porter A.E., Botelho C.M., Lopes M.A., Santos J.D., Best S.M., Bonfield W. Ultrastructural comparison of dissolution and apatite precipitation on hydroxyapatite and silicon-substituted hydroxyapatite *in vitro* and *in vivo*. *J. Biomed. Mater. Res.* 2004. Vol. 69A, № 4. P. 670-679.

- 108 Yin X, Stott M.J. Theoretical insights into bone grafting Si-stabilized α -tricalcium phosphate. *J Chem Phys*. 2005. No 122. P. 24709-24718.
- 109 Tang, Q., Brooks R., Rushton N., Best S. Production and characterization of HA and SiHA coatings. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 2010. Vol. 21, No 1. P. 173-181.
- 110 Сафронова Т. В., Путляев В.И., Сергеева А. И., Куненков Э.В., Третьяков Ю. Д. Синтез нанокристаллического гидроксилapatита кальция из сахаратов кальция и гидрофосфата аммония. *Доклады академии наук*. 2009. Т. 426, №4. С. 491–496.
- 111 Patel N., Brooks R.A., Clarke M.T. et al. In vivo assessment of hydroxyapatite and silicate-substituted hydroxyapatite granules using an ovine defect model. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 2005. Т. 16. № 5. С. 429–440.
- 112 Best S.M., Bonfield W., Gibson I.R. et al. Silicon-substituted apatites and process for the preparation thereof: пат. 6312468 США. 2001.
- 113 Gillespie P., Wu G., Sayer M., Stott M. J. Si complexes in calcium phosphate biomaterials. *J Mater Sci: Mater Med.* 2010. No 21. P. 99 -108.
- 114 Reid J.W., Pietak A., Sayer M., Dunfield D., Smith T.J. Phase formation and evolution in the silicon substituted tricalcium phosphate/apatite system. *Biomaterials*. 2005. No 26. P.2887–2897.
- 115 Massie I., Skakle J.M., Gibson I.R. Synthesis and phase stability of silicate-substituted α -tricalcium phosphate. *Key Eng. Mater.* 2007. Vol. 361–363. P. 67–70.
- 116 Szurkowska K., Szeleszczuk Ł., Kolmas J. Effects of Synthesis Conditions on the Formation of Si-Substituted Alpha Tricalcium Phosphates. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020. Vol.2, No 23. P.9164 1-12.
- 117 Кульский Л. А. Серебряная вода: монография. Киев, 1977. 163 с.
- 118 Patel P.N. *J.Inorg. Nucl. Chem.* 1980. Vol. 42, No 8. P. 1129-1132.
- 119 Chiranjeevijrao S.V., Hemmerle J., Voegel J.C. Frank R.M. *Inorg. Chem. Acta*. 1982. Vol. 19, No 1. P. 183-198.
- 120 Рипан Р., Четяну И. Неорганическая химия. Том 2. Химия металлов. Издательство “Мир”, М, 1972. с.399 - 401.

- 121 Chwalibog A., Sawosz E., Hotowy A., Szeliga J., Mitura S., Mitura K., Grodzik M., Orlovski P., Sokolowska A. Visualization of interaction between inorganic nanoparticles and bacteria or fungi. *Int. J. of Nanomedicine*. 2010. No. 5. P. 1085–1094.
- 122 Андрусина И.Н. Наночастицы металлов: способы получения, физико-химические свойства, методы исследования и оценка токсичности. *Сучасні проблеми токсикології*. 2011. № 3. С. 5–14.
- 123 Патент № 95634 МПК А61L 27/46 Спосіб прискорення репаративного остеогенезу в собак/ Рубленко М. В., Семеняк С. А., **Ульянчик Н.В.** Заявл. 30.07.2014; Опубл. 25.12.2014 р.- Бюл. № 24
- 124 Новіков М.В., Кістерська Л.Д., Садохін В.В., Садохін В.П., Перевертайло В.М. Екологічно чиста технологія плазмового диспергування електропровідних матеріалів з одностадійним циклом виготовлення суспензій наночасток у широкому спектрі рідких основ. *Порошкова металургія*. 2012. № 1/2. С. 34–45.
- 125 Филипенко В.А., Малышкина С.В., Махмуд Ф., Шевцов Б.Н., **Ульянчик Н.В.** Лихнякевич Т.Г. Структурные характеристики и бактерицидные свойства гидроксилатапата, обогащенного ионами серебра. *Ортопедия, травматология и протезирование*. 2000. №4. С.50-54.
- 126 Lu X., Zhang B., Wang Y., Zhou X., Weng J., Qu S., Feng B., Watari F., Ding Y. and Leng Y. Nano-Ag-loaded hydroxyapatite coatings on titanium surfaces by electrochemical deposition. *J. R. Soc. Interface*. 2011. No 8. P. 529-539.
- 127 Aranya A. K., Pushalkar S., Zhao M., Racquel, LeGeros R. Z., Zhang Y., Saxena D. Antibacterial and Bioactive Coatings on Titanium Implant Surfaces. *J Biomed Mater Res*. 2017. A. Vol. 105, No. 8. P. 2218–2227.
- 128 И. И.Шамсутдинов, Л. Т. Баязитова, М. М. Гребенщикова, М. М. Миронов. Антимикробные свойства наноструктурированных плазменных конденсатов для медицинских имплантатов. *Вестник технологического университета*. 2017. Т.20, №16. С.149-15.

- 129 Huang Y, Huang W, Sun L, Wang Q, He A, Han CC. Phase transition from a-TCP into b-TCP in TCP/HA composites. *Int J Appl Ceram Technol*. 2010. No 7. C. 184–188.
- 130 Ellinger RF, Nery EB, Lynch KL. Histological assessment of periodontal osseous defects following implantation of hydroxyapatite and biphasic calcium phosphate ceramics: a case report. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 1986. No 3. P. 22–33.
- 131 Slosarczyk A., Stobierska E. et. al. Calcium phosphate materials prepared from precipitates with various calcium: phosphorus molar ratios. *J. Am. Ceram. Soc.* 1996. No 10. P. 2539-2544.
- 132 Mortier A., Lemaitre J., Rondrique L., et. al. Synthesis and thermal behavior of well crystallized calcium-deficient phosphate apatite. *J. Solid State Chem.* 1989. No 2. P. 215-219.
- 133 Processing of synthetic hydroxyapatite: abstr. Fourth World Biomaterials Congress. Ger.: FRG, 1992. P.538.
- 134 Oryan A., Alidadi S. Application of Bioceramics in Orthopedics and Bone Tissue Engineering. Bone Regeneration. Chapter 1, 2017. 72 p.
- 135 Albuquerque J.S.V., Nogueira R.E.F.Q., Silva P. T.D., Lima D.O., Silva P.M.H. Porous triphasic calcium phosphate bioceramics. *Key Eng Mater calcium phosphate bioceramics*. 2004. Vol. 254–256, P. 1021–1024.
- 136 Reid J.W, Hendry J.A. Rapid, accurate phase quantification of multiphase calcium phosphate materials using Rietveld refinement. *J Appl Crystallogr.* 2006. No 39. P. 536–543.
- 137 Mendonça F, Louro L.H.L., Campos J.B., Silva M.H.P. Porous biphasic and triphasic bioceramics scaffolds produced by gelcasting. *Key Eng Mater*. 2008. Vol. 361–363. P. 27–30.
- 138 Vani R, Giriya E.K., Elayaraja K., Prakash P.S., Kesavamoorthy R., Narayana K.S. Hydrothermal synthesis of porous triphasic hydroxyapatite/(a and b) tricalcium phosphate. *J Mater Sci Mater Med* 2009. Vol.20. P. 43–8.

- 139 Daculsi G. Biphasic calcium phosphate concept applied to artificial bone, implant coating and injectable bone substitute. *Biomaterials*. 1998. No 19. P. 1473–1478.
- 140 Lobo S.E., Arinzech L.T. Biphasic calcium phosphate ceramics for bone regeneration and tissue engineering applications. *Materials*. 2010. No 3. P. 815–826.
- 141 Brydone A.S., Meek D., Maclaine S. Bone grafting, orthopaedic biomaterials, and the clinical need for bone engineering. *Proc Inst Mech Eng H*. 2010. Vol. 224, No 12. P. 1329–1343.
- 142 Suchanek W., Yashima M., Kakihana M., Yoshimura M. Processing and mechanical properties of hydroxyapatite reinforced with hydroxyapatite whiskers. *Biomaterials*. 1996. No 17. P. 1715–1723.
- 143 Suchanek W., Yashima M., Kakihana M., Yoshimura M. Hydroxyapatite/hydroxyapatite-whisker composites without sintering additives: Mechanical properties and microstructural evolution. *J.Am.Ceram. Soc.* 1997. No 80. P. 2805–2813.
- 144 Suchanek W.L., Yoshimura M. Preparation of fibrous, porous hydroxyapatite ceramics from hydroxyapatite whiskers. *J.Am.Ceram. Soc.* 1998.No 81.P.765-7.
- 145 Cooke T.F. Inorganic Fibers – A Literature Review. *J. Am. Ceram. Soc.* 1991. No 74. P. 2959–2978.
- 146 Поворознюк В. В., Лузін В. І., Григор'єва Н. В, **Ульянчич Н. В.**, Дмитренко О. П., Фортунський Г. І. Доклінічне дослідження ефективності біологічно активної добавки „Остеїн” в корекції порушень структурно-функціонального стану кісткової тканини: міжвідомчий збірник. Гастроентерологія. Київ. 2002. № 33. С. 239-242.
- 147 **Ульянчич Н.В.** Дослідження впливу ультразвуку на питому поверхню та розподіл пор по розмірах у гранулах композитів з кальцій фосфатної кераміки/ Ульянчич Н.В., Фірстов С.О., Логінова О.Б., Коломієць В.В., Коряк О.С. Тез. 20 Міжнар. конф. «Якість, стандартизація, контроль: теорія та практика», 07-11 вересня 2020 р., м. Одеса, с. 140-142.

- 148 Патент № 47362 Україна А61Р19/10 Спосіб одержання порошку гідроксилапатиту/ **Ульянчич Н.В.**, Поворознюк В.В., Аввакумов А.Б., Григорьева Н.В. Заявл. 01.03.2002; Опубл. 17.06.2002 р. -Бюл. № 6.
- 149 **Ульянчич Н.В.**, Поворознюк В.В., Євтушенко О.О., Шеремет О.Б. Гідроксилапатит та його використання в медицині. *Проблеми остеології*. 1999. т.2, №4, с.71-75.
- 150 Iafisco M, Ramí' rez-Rodrí' guez G.B., Sakhno Y., Tampieri A., Martra G., Go' mez-Morales J., Delgado-Lo' pez J.M. The growth mechanism of apatite nanocrystals assisted by citrate: relevance to bone biomineralization. *CrystEngComm*. 2015. No 17. P. 507–511.
- 151 Патент №45292 Україна А61В17/00 Металокерамічний імплантат для міжтілового спондилодезу/ Брехов О.М., Єлісеєв С.Л., **Ульянчич Н.В.**, Борисов Ю.С., Войнарович С.Г., Авакумов О.Б. Заявл. 03.12.2001; Опубл. 15.03.2002 р. -Бюл. № 3.
- 152 Патент №48695 Україна А61F2/28, А61К6/033, А61L27/00 Керамічний матеріал для пластики кісткових дефектів/ Ашукіна Н. О., Дедух Н.В., Корж М.О., Філіпенко, **Ульянчич Н.В.**, Ліхнякевич Т. Г., В.А.,Авакумов А.Б., Малишкіна С. В., Авакумов О.Б. Заявл. 12.11.2001; Опубл. 15.08.2002 р. -Бюл. № 8.
- 153 Ivashchenko O. A, Perekos A. O., **Ulianchych N.V.**, Uvarova I.V., Protsenko L. S., Budylyna O.M., Holovkova M.Y., Yarmola T.M. Interaction of Ag-free and Ag-Doped hydroxyapatite with Ciprofloxacin solutions. *Materialwissenschaft und Werkstofftechnik. Special Issue: Nanoscience and Nanotechnology: Biotechnologies*. 2011. Vol. 42, Issue 2. p. 98-108. (Wiley-VCH GmbH, Weinheim, indexed in SCOPUS, (режим доступу: <https://doi.org/10.1002/mawe.201100739>).
- 154 Ivashchenko O. A., Protsenko, L.S., Budylyna, O.M., **Ulianchich, N.V.**, Uvarova I.V., Yarmola T.M. Influence of Silver Doping on Hydroxyapatite Properties. *Advanced Science, Engineering and Medicine*. 2013, Vol. 5, P. 266-274. (режим доступу: <https://doi.org/10.1166/asem.2013.1248> .

- 155 O. Sych, O. Otychenko, **N. Ulianchych**, T. Tomila, A. Bykov, L. Protsenko, O. Budylyna, I. Uvarova, V. Kolomiets, Mariia Demyda. Structure and adsorption activity of hydroxyapatite of different origin Advanced. *Nano-Bio-Materials and Devices*. 2018. Vol. 2(3). P. 287-293; (режим доступу: https://sciedtech.eu/AdvNanoBioMD/ANBMD_2018_2_3_Sych.pdf)
- 156 В.А.Чемеровський. Гистоморфологічна оцінка репаративного остеогенеза при використанні кераміки, що містить α -трикальційфосфат/ В.А. Чемеровський, Н.В. Ульянич Н.В. Рубленко/ матеріали Міжнародної науково-практичної конференції, присвяченої 80-літтю со дня народження професора Э. И. Веремея. Актуальні питання і шляхи їх вирішення в ветеринарній хірургії 30 жовтня — 2 листопада 2019 р. ВГАВМ. 2019. с. 116–118.
- 157 **Ульянич Н.В.**, Иващенко Е. А., Уварова И.В., Ксензова О.В., Свирид Е.С., Проценко Л.С., Будилина О.Н., Дацкевич О.В. Можливість використання кальційфосфатної кераміки як носія лікарських засобів. Український морфологічний альманах, 2010, Том 8, № 2, с. 44-46
- 158 Борисов Ю. С., Войнарович С.Г., **Ульянич Н.В.**, Дж Йенсен, Г Вольке. Дослідження біокерамічних покриттів, отриманих методом мікроплазменного напылення. *Автоматична зварка*, 2002, С. 6–8.
- 159 M. V. Rublenko, V. A. Chemerovskiy, V. G. Andriets, **N. V. Ulyanchich**, V. V. Kolomiets, A. S. Koryak. Evaluation of usage of silicon-doped hydroxyapatite ceramics for treatment of fragmented bone fractures in dogs. *Науковий вісник ЛНУВМБ імені С.З. Гжицького. Серія: Ветеринарні науки*, 2020, т. 22, № 99. С. 29-37, (режим доступу: doi: 10.32718/nvlvet9905).
- 160 М.В. Рубленко, В.О. Чемеровський, В. М. Власенко, **Н.В. Ульянич**. Оцінка остеointegraційних і остеoіндуктивних властивостей кераміки, легованої кремнієм, за модельних переломів стегнової кістки кролів. *Науковий вісник ветеринарної медицини*. 2018. №2. С. 44-53.

- 161 ШИМОН В.М., Дедух Н.В., Меклеш Ю.Ю., ШИМОН М.В., **Ульянчич Н.В.**
Регенерация кости после заполнения дефекта гранулами керамического биоматериала биомин ТГГ-2. *Georgian Medical News*. 2020. Vol.301, No 4. P.170-177 (indexed in Scopus).
- 162 **Ulianchych N.V.** Firstov S.O., Kolomiets' V.V., Bykov O.I., Tamila T.V. Phase transformations of non-stoichiometric hydroxyapatite upon thermal treatment and their effects on its solubility in a biological solution imitation: book of Abstracts of the 6th International conference High Math Tech (Kyiv, 28 - 30 October 2019). Kyiv, 2019. p.138.
- 163 **Ulianchych N. V.**, Firstov S. O., Rublenko M. V., Andriiets V. G., Kolomiets' V. V., Bykov O. I., Tamila T. V. Composite osteoinductive material based on bioactive ceramics and blood plasma enriched with platelets: book of Abstracts of the 6th International conference High Math Tech (Kyiv, 28 - 30 October 2019). Kyiv, 2019. P.139.
- 164 Патент України № 70469 А61К35/78, А61К38/56. Лікарський засіб для профілактики та лікування системного остеопорозу в постменопаузальному періоді/ Поворознюк В. В., Григор'єва Н. В., Карпенко П. О., Вареник М. П., **Ульянчич Н. В.**, Аввакумов А. Б. Заявл. 09.10.2003.; Опубл. 15.10.2004.; Бюл. №10. 2 с.
- 165 Поворознюк В. В., Лузін В. І., Григор'єва Н. В. Вивчення ефективності БАД „Остеїн” в корекції порушень стану кісткової тканини в шурів різного віку після двобічної овариоектомії. *Український медичний альманах*. 2004. №3. С. 107-109.
- 166 Вересов А. Г., Путляев В.И., Третьяков Ю. Д. Достижения в области кальций-фосфатных биоматериалов. *Российский Химический Журнал*. 2000. т. XLIV, №6, ч.11. С. 32–46.
- 167 **Ульянчич Н. В.**, Кулак Л. Д., Борисов Ю. С., Войнарович С. Г., Алексеева Т. А., Свирид Е. С., Ксензова О. В., Семенцов Ю. И. Особенности биоактивных покрытий на титановых имплантатах. *Літопис травматології та ортопедії*. 2014, № 1-2. С.76-79.

- 168 **Ульянчич Н.В.**, Кулак Л.Д., Фірстов С.О. Вітчизняні біоматеріали в реконструктивній хірургії. Впровадження сучасних досягнень медичної науки в практику охорони здоров'я України: матеріали II міжнародного медичного конгресу (м. Київ, 16-19 квітня 2013 р.). Київ, 2013. С.19.
- 169 **Ульянчич Н.В.**, Кулак Л.Д., Фірстов С.О., Кузьменко М.М. Нові біоматеріали для відновлення кісткової тканини та функції пошкодженого органу при обширних травмах опорно-рухового апарату. *Перспективи науково-технологічного забезпечення оборонно-промислового комплексу України: матеріали інформаційно-комунікативного заходу* (м. Київ, 22-23 вересня 2015 р.). Київ, 2015. С. 129-130.
- 170 L.D. Kisterskaya, O.B. Loginova, **N.V. Ulyanchich**, V.V. Kolomiets, V.N. Tkach, A.M. Panova, I.V. Uvarova . Antibacterial surfaces formed by silver nanoparticles on bone implants with bioactive coatings. *Powder Metallurgy and Metal Ceramics*. 2019. Vol. 58, issue 3-4, pp.189-196.
- 171 **Ульянчич Н.В.**, Логінова О.Б., Кістерська Л.Д., Коломієць В.В. Створення антибактеріальної поверхні на імплантатах із біоактивним покриттям з кальційфосфатної кераміки. *Інженерія поверхні та реновація виробів: матеріали 19 міжнар. науково-техн. конф.* (м. Свалява 20-24 травня 2019 р.). Свалява, 2019. С. 174-176.

ДОДАТОК А

ПРАКТИЧНЕ ЗАСТОСУВАННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ

Відгук

на використання остеотропного матеріалу «Біомін» виробництва ЦНТП «Рapid» для нанесення біоактивного покриття на металеві імплантати методом мікроплазмового напилення.

В рамках співробітництва між Інститутом електрозварювання ім. Є.О. Патона, Інститутом проблем матеріалознавства ім. І.М. Францевича та ЦНТП «Рapid» були розроблені покриття на металеві імплантати для покращення біосумісності поверхні кісткових імплантатів, що наносяться розробленим в ІЕЗ методом мікроплазмового напилення. Порошки гідроксилапатиту «Біомін», розроблені н.с. Ульянович Н.В., задовольняють вимогам, що висуваються до порошоків для газотермічного напилення, по властивостям та технічним параметрам не поступаються кращим закордонним аналогам (Tomita, Японія; Teknimed, Франція; SAM, Нідерланди). Додержання стехіометричного складу та висока ступінь кристалічності порошоків гідроксилапатиту сприяли збереженню структури апатиту та кристалічності в умовах напилення покриттів методом мікроплазмового напилення.

В ІЕЗ ім. Є.О. Патона покриття з «Біоміну» наносили на кульшові суглоби, міжхребцеві та кореневі стоматологічні імплантати. Доклінічні дослідження та клініко-рентгенологічне спостереження показали добру остеointegraцію імплантатів з кістковою тканиною. Ускладнень, пов'язаних з покриттями, не спостерігалось.

Матеріали по створенню покриттів, при нанесенні яких використовувався порошок гідроксилапатиту «Біомін», та результати їх використання публікувалися в статтях та монографіях і неодноразово доповідалися на міжнародних конференціях.

Зав. відділом № 73 ІЕЗ ім. Є.О.Патона НАН України
д.т.н., проф.


Ю.С. Борисов

Вчений секретар
Інституту електрозварювання
ім. Є.О.Патона НАН України, к.т.н.




І.М.Клочков



ПАТ ХОЛДІНГОВА КОМПАНІЯ «КИЇВМІСЬКБУД»
 ПУБЛІЧНЕ АКЦІОНЕРНЕ ТОВАРИСТВО
 «ТРЕСТ «КИЇВЕЛЕКТРОМОНТАЖ»
 Медичний центр «КЕМ стоматологія»
 Ліцензія МОЗ України № 603935 з 31.10.2011 р.

01033, м. Київ, Саксаганського, 67

тел. 287-12-44

25 травня 2015 р

№ б/н

Відгук
на використання імплантаційного матеріалу «Біомін»
в нашій клінічній практиці.

За період з 2011 по 2015 рр. в МЦ «КЕМ стоматологія» використовувалися кісткові імпланти на основі керамічного гідроксилапатиту та трикальційфосфату «Біомін» виробництва ЦНТП Рапід ТУ У 33.1-00235016-001:2010 для проведення регенераційних втручань на кістковій тканині в зонах дефектів щелепно-лищевої ділянки (верхня та нижня щелепи).

В залежності від локалізації та клінічних умов, використовувалися різноманітні гранули Біоміну (гранули з гідроксилапатиту (ГАП), з трикальційфосфату, двофазні гранули з різним співвідношенням ГАП та трикальційфосфату, гранули, що були леговані сріблом та кремнієм).

Загальна кількість спостережень понад 200 різних клінічних випадків.

В результаті використання відмічався позитивний вплив матеріалу на регенеративні процеси, що відбувалися в кістковій тканині. Утворення повноцінного регенерату перебігало швидше, що дозволяло реабілітувати пацієнтів шляхом подальшого використання відповідних протезних конструкцій. Протягом періоду спостереження негативних реакцій та ознак рецидивів виявлено не було. По своїй дії дані препарати (кісткові імпланти) не поступаються закордонним аналогам.

Використання запропонованого матеріалу забезпечує повноцінне відновлення кісткової тканин в ділянках дефектів щелепно-лищевої ділянки.

Зауважень до використання немає. Клініка зацікавлена в подальшому використанні остеотропного матеріалу «Біомін».

Головний лікар

Барановська Г.К.

Лікар хірург-стоматолог

Камінський В.В.

Клініка « Кабінет сучасної стоматології»
 м. Кременчук , вул. Жовтнева ,39/41,
 тел.(05366) 2-60-84
 Зав. клініки Василенко І.К.
 Лікар-стоматолог-хірург-імплантолог
 Кіндратець І.В.(стаж роботи 27 років)

Відгук

на використання остеотропного імплантаційного матеріалу «Біомін»
 виробництва ТОВ ЦНТП «Рапід»

За період з 1997 р. по 2015 р. в клініці « Кабінет сучасної стоматології» використовувався імплантаційний матеріал на основі керамічного гідроксилапатиту та трикальційфосфату «Біомін» для регенерації кісткової тканини в зонах дефектів щелепно-лицьової системи.

Матеріал використовувався для відновлення кісткової тканини при лікуванні хворих на хронічні гранулематозні та гранулюючі періодонтити; для заповнення кісткових дефектів після резекцій верхівок коренів; для усунення дефектів щелеп, утворених радикарними та фолекулярними кістами; для відновлення кісткової тканини в посттравматичних дефектах кісткової тканини щелеп; для заповнення лунок після видалення зубів з метою подальшої імплантації кореневих імплантатів; при аугментації альвеолярного відростку та синус-ліфтингу з метою подальшої імплантації кореневих імплантатів.

В залежності від клінічних випадків використовувалися гранули Біоміну з гідроксилапатиту, трикальційфосфату, двофазні гранули з різним співвідношенням гідроксилапатиту та трикальційфосфату, Біомін легований сріблом та кремнієм.

Загальна кількість спостережень з 1997 р. по 2015р понад 5000 .

В результаті використання відмічався позитивний вплив матеріалу на регенеративні процеси. Утворення повноцінного регенерату відбувалося достовірно протягом пів року. Відновлення кісткової тканини в дефектах кістки більших ніж 5-7 мм без заповнення «Біоміном» не відбувається в повному обсязі. Без використання даного матеріалу, я як хірург, не уявляю своєї роботи. Слід зазначити, що я мав можливість спостерігати результати використання зарубіжних остеотропних матеріалів, як на своїх пацієнтах, так і на пацієнтах інших лікарів. На моє переконання результати з « Біоміном» значно кращі. За період спостереження 18 років негативних реакцій не було. Я задоволений співпрацею з розробником «Біоміну» Ульянович Н.В., оскільки вона виконала всі побажання по вдосконаленню якості матеріалу.

Використання запропонованого матеріалу забезпечує повноцінне відновлення кісткової тканин.

Клініка зацікавлена в подальшому використанні остеотропного матеріалу Біомін.

Дата 3 квітня 2015 р

Зав.клініки

Лікар



Сирого

Кіндратець

Василенко І.К.

Кіндратець І.В.

ТОВАРИСТВО З ОБМЕЖЕНОЮ ВІДПОВІДАЛЬНІСТЮ «ВітаЦентр»


ЛІКУВАЛЬНО-ПРОФІЛАКТИЧНА УСТАНОВА
БАГАТОПРОФІЛЬНА ЛІКАРНЯТел. (061) 289-07-07
факс (061) 289-07-06Місцезнаходження: Україна, 69035, м. Запоріжжя, вул. Сєдова, б.3
Код ЄДРПОУ 35183119 e-mail: office@vitacenter.com.ua www.vitacenter.com.ua№ 01-288

Відгук

на використання імплантаційного матеріалу «Біомін»
виробництва ЦНТП Рарід ТУ У 33.1-00235016-001:2010

За період з 2010 по 2015 р. в клініці м. Запоріжжя, багатопрофільної лікарні ТОВ «Вітацентр» в відділенні травматології використовувалися імплантати кісткові на основі керамічного гідроксиапатиту та трикальційфосфату «Біомін».

Матеріал використовувався для відновлення кісткової тканини при хірургічному лікуванні хворих на різноманітні пухлинні процеси, а також при переломі проксимального відділу великогомілкової кістки.

В залежності від клінічних випадків використовувалися гранули та блоки «Біоміну» з гідроксиапатиту, трикальційфосфату, двофазні гранули з різним співвідношенням гідроксиапатиту та трикальційфосфату, «Біомін» легований сріблом та кремнієм.

Загальна кількість спостережень 5 чоловік.

В результаті використання відмічався позитивний вплив матеріалу на регенеративні процеси. Утворення повноцінного регенерату відбувалося в термін від 6 до 12 місяців. В період спостереження негативних реакцій та ознак рецидивів не було. Особливо хочеться відмітити випадок заміщення дефекту кісткової тканини у хворого Д. в 2010 році при ураженні проксимального відділу великогомілкової кістки хондроміксної фібромою дуже великого об'єму (приблизно до 100 – 150 см³).

Зауважень немає, пропозицій: необхідно продовжити роботу по виробництву та застосуванню матеріалу «Біомін».

Наша клініка зацікавлена в подальшому використанні остеотропного матеріалу «Біомін».

З повагою,

В.о.директора ТОВ



Завідуючий травматологічним відділенням



А.С.Маляренко

С.В.Галушка

Відгук
на використання остеотропного імплантаційного матеріалу «Біомін»
виробництва ТОВ ЦНТП «Рapid»

В клініці онкоортопедії Національного інституту раку остеотропний матеріал «Біомін» використовувався для відновлення кісткової тканини при хірургічному лікуванні хворих на енхондроми, кісти, гігантоклітинні пухлини кісток.

В залежності від клінічних випадків використовувалися гранули та блоки біоміну згідно розміру дефекту з гідроксилапатиту, трикальційфосфату, двофазні матеріали з різним співвідношенням гідроксилапатиту та трикальційфосфату.

Загальна кількість спостережень 40 чоловік.

В результаті використання відмічався позитивний вплив матеріалу на регенеративні процеси. Утворення повноцінного регенерату відбувалося в термін від 6 до 12 місяців. В період спостереження негативних реакцій та ознак рецидивів не було. По своїй дії остеотропний матеріал «Біомін» не поступається закордонним аналогам.

Використання запропонованого матеріалу забезпечує повноцінне відновлення кісткової тканин.

Зауваження, пропозиції: немає.

Клініка зацікавлена в подальшому використанні остеотропного матеріалу «Біомін».

Зав. клінікою

д.мед.н Дедков А.Г.

Лікар

Бойчук С.І.



УКРАЇНСЬКА АСОЦІАЦІЯ ОСТЕОПОРОЗУ

254114 Київ
вул. Вишгородська, 67
тел. (044) 430-41-74

Розрахунковий рахунок № 2600 9 00 0149801
в АКБ "Київ" МФО 322498
Ідентифікаційний код № 14371869

№ 14

" 09 " 07 2007 р.

Головному дієтологу МЗ України
професору П.А. Карпенко

У відділі клінічної фізіології та патології опорно-рухового апарату Інституту геронтології АМН України вивчалась ефективність нової вітчизняної біологічно активної добавки "Остеїн" щодо профілактики та лікування остеопорозу та його ускладнень. За період з 5.07.01 р. до 31.03.02 р. обстежено 20 жінок віком 50 - 74 роки в постменопаузальному періоді з діагностованим остеопорозом та системною остеопенією. На даний момент дослідження 8 пацієнток приймали БАД 6 місяців, 20 - 4 місяці. Не виявлено побічних ефектів від прийому Остеїну протягом спостереження. За результатами проведеного дослідження відмічено вірогідне зниження вираженості вертебрального болювого синдрому (за шкалою ВАШ та Мак-Гілловським опитувальником), вірогідне підвищення мінеральної щільності кісткової тканини через 6 місяців (збільшення показника індексу міцності кісткової тканини за даними ультразвукової денситометрії) в порівнянні з пацієнтками контрольної групи, стандартизованої за віком, антропометричними характеристиками.

Біологічно активна добавка "Остеїн" може бути рекомендованим для профілактики та комплексного лікування (як базисний кальцієвий засіб) хворих зі структурно-функціональними порушеннями кісткової тканини.

Президент Української асоціації
остеопорозу, директор Українського
науково-медичного центра проблем
остеопорозу, керівник відділу клінічної
фізіології Інституту геронтології АМН України
доктор мед.наук, професор



В.В.Поворознюк



УКРАЇНА

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
імені О.О. БОГОМОЛЬЦЯ

01601 м. Київ, бульвар Т. Шевченка, 13
тел.: (044) 234-40-62, факс : (044) 234-92-76

д.р. 05.15 № 128/6

На № _____

Відгук

на використання імплантаційного матеріалу «Біомін», кісткового імплантату на основі керамічного гідроксилапатиту та трикальційфосфату виробництва ЦНТП Рапід ТУ У 33.1-00235016-001:2010.

Імплантаційний матеріал використовувався при пластиці кісткової тканини для нормалізації регенеративних процесів та відновлення механічної цілісності враженої ділянки кістки при оперативних втручаннях у пацієнтів, що були прооперовані в клініці травматології кафедри травматології-ортопедії НМУ ім. О.О.Богомольця.

В результаті використання відмічався позитивний вплив матеріалу на регенеративні процеси. Утворення повноцінного регенерату відбувалося достовірно швидше. В період спостереження негативних реакцій та ознак рецидивів не було.

Клініка зацікавлена в подальшому використанні остеотропного матеріалу Біомін.

Директор центру трансферу технологій
НМУ ім. О.О.Богомольця, доктор медичних
наук, Заслужений раціоналізатор України





ВИКОНАВЧИЙ ОРГАН КИЇВСЬКОЇ МІСЬКОЇ РАДИ
(КИЇВСЬКА МІСЬКА ДЕРЖАВНА АДМІНІСТРАЦІЯ)
ДЕПАРТАМЕНТ ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я

КИЇВСЬКА МІСЬКА КЛІНІЧНА ЛІКАРНЯ ШВИДКОЇ МЕДИЧНОЇ ДОПОМОГИ

02660, м. Київ-660, вул. Братиславська, 3, Код за ЄДРПОУ 00184945,
тел. (044) 527-69-99, факс (044) 518-04-44, e-mail: bsmp@health.kiev.ua

_____ від _____
на № _____ від _____

Відгук на використання імплантаційного матеріалу Біомін.

За період з 2010 по - 2015 р. в відділеннях травматології №1 та №2 використовувалися кісткові імпланти на основі керамічного гідроксилапатиту та трикальційфосфату «Біомін» виробництва ЦНТП Рапід ТУ У 33.1-00235016-001:2010.

В залежності від клінічних випадків використовувалися гранули та блоки Біоміну з гідроксилапатитом, трикальційфосфатом, двофазні матеріали з різним співвідношенням гідроксилапатиту та трикальційфосфату згідно розміру дефекту.

Загальна кількість спостережень приблизно 200 випадків, матеріал використовували переважно при пошкодженнях проксимального відділу великої гомілкової кістки та п'яткової кістки.

В результаті використання відмічався позитивний вплив матеріалу на регенеративні процеси. Термін регенеративного перетворення залежав від об'єму кісткового дефекту, та індивідуальних властивостей організму. Утворення повноцінного регенерату відбувалося у термін від 6 до 12 місяців. В період спостереження негативних реакцій та ознак рецидивів не було. По своїй дії імплантаційний матеріал Біомін відповідає закордонним аналогам.

Використання запропонованого матеріалу забезпечує повноцінне відновлення кісткової тканини.

Зауважень щодо використання імплантаційного матеріалу Біомін немає.

Пропозиції: розробка та впровадження пастовидної форми матеріалу з прискореним часом затвердіння.

В відділеннях травматології зацікавлені в подальшому використанні остеотропного матеріалу Біомін.

В.о зав. травматологічного відділення №1

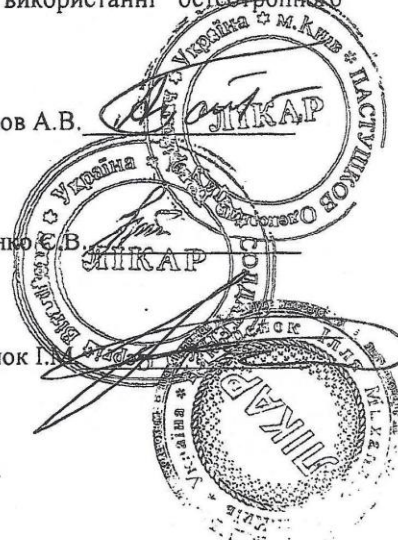
Пастушков А.В.

В.о зав. травматологічного відділення №2

Солдатенко Є.В.

Лікар 1 травматологічного відділення

Накоренко І.





УКРАЇНА
Виконавчий орган
Київської міської ради
(Київська міська державна адміністрація)
ДЕПАРТАМЕНТ ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я

UKRAINE
KIEV
DEPARTMENT OF HEALTH
Of Kyiv municipal council

Київська міська клінічна офтальмологічна
лікарня
«Центр мікрохірургії ока»
пр. Комарова, 3, м. Київ, Україна, 03680
Тел. (044) 408-28-33, факс 404-08-51

Ophthalmology Clinic
Eye Microsurgery Center
3 Komarova ave., Kyiv, Ukraine, 03680
Tel. (044) 408-28-33, fax 404-08-51

15.06.2015 № 459

На № _____

ВІДГУК

на використання

остеотропного імплантаційного матеріалу Біомін ГТлСБ та Біомін ГТБ,
виробництва ТОВ ЦНТП «Рapid» в Київській міській клінічній
офтальмологічній лікарні «Центр мікрохірургії ока»

Орбітальні імпланти на основі гідроксилапатиту Біомін ГТлСБ і Біомін ГТБ, розроблені Ульянович Н.В. на виробництві ТОВ ЦНТП «Рapid», використовувалися в Київській міській клінічній офтальмологічній лікарні «Центр мікрохірургії ока» при проведенні операцій енуклеації (евісперації) очного яблука та вторинної імплантації орбітального імпланту для формування адекватної об'ємної опірно-рухливої культі хворим зі значними вадами органу зору та орбіти.

В КМКОЛ «ЦМХО» проведено 43 відповідних операцій з послідовним активним піврічним післяопераційним реабілітаційним спостереженням прооперованих хворих.

В результаті використання орбітальних імплантів на основі гідроксилапатиту Біомін ГТлСБ і Біомін ГТБ з метою досягнення оптимального косметичного ефекту при видаленні очного яблука відмічався в післяопераційному періоді позитивний вплив імплантаційного матеріалу на оточуючі тканини анофтальмічної орбіти. За термін спостереження негативних реакцій, ознак рецидивів та резорбції остеотропного матеріалу не було. По своїй медико-біологічній дії остеотропний імплантаційний матеріал Біомін ГТлСБ та Біомін ГТБ виробництва ТОВ ЦНТП «Рapid» ТУ У 33.1-00235016-001:2010 відповідає сучасним світовим аналогам.

Використання запропонованого матеріалу забезпечує проведення соціально-медичної реабілітації хворим з анофтальмічним орбітальним синдромом. Зауважень з цього приводу немає. Актуальною пропозицією в теперішній час є збільшення вітчизняного виробництва орбітальних імплантів в зв'язку з проведенням хірургічної реабілітації пораненим воїнам АТО.

КМКОЛ «ЦМХО» зацікавлена в подальшому використанні остеотропного матеріалу Біомін.

Головний лікар
КМКОЛ «ЦМХО»

Лікар-офтальмолог
КМКОЛ «ЦМХО»



Денисюк Л.І.


Даниленко О.С.

Відгук

За період з 3 лютого по 24 жовтня 2014 р. в хірургічній клініці Білоцерківського національного аграрного університету використовувалися імплантати кісткові на основі керамічного гідроксилапатиту та трикальційфосфату «Біомін» виробництва ЦНТП Рапід ТУ У 33.1-00235016-001:2010 для заміщення кісткових дефектів трубчастих кісток у тварин. Досліджувався вплив гранул «Біоміну» на репаративний остеогенез у кролів та собак. Була проведена патогенетична, гістологічна, біохімічна та клініко-рентгенологічна оцінка репаративного остеогенезу осколкових переломів стегнової кістки і кісток передпліччя за використання Біоміну. Результати досліджень свідчать, що використання «Біоміну» забезпечує швидший перебіг стадій репаративного остеогенезу та завершеність процесів ремоделювання кісткової тканини, які за результатами рентгенологічних досліджень більш якісний і динамічний в порівнянні із зарубіжними аналогами. Були розроблені науково-методичні рекомендації по використанню остеотропних матеріалів для лікування осколкових переломів, затверджені науково-методичною радою Державної ветеринарної та фітосанітарної служби України (протокол №1 від 25.12.2014 р.). У рекомендаціях висвітлені ключові патогенетичні аспекти репаративного остеогенезу та обґрунтована ефективність застосування нових остеотропних матеріалів на основі їх клініко-рентгенологічних, гістологічних та біохімічних досліджень. Проведені дослідження показали, що застосування «Біоміну» для заміщення дефектів кісткової тканини оптимізує перебіг репаративного остеогенезу, а самі матеріали виконуючи функцію направляючого каркасу для кісткової регенерації сприяють прискоренню загоєння переломів. Рентгенологічно повна консолідація перелому у тварин дослідних груп відбувалась на 11–14 діб швидше, ніж у собак контрольної групи, а пористість гранул сприяє просторовій орієнтації синтезованого остеобластами колагену, що прискорює консолідацію переломів.

Зауважень до матеріалу не має. Вважаю перспективним використання матеріалу «Біомін» для пластики кісткової тканини за інших нозологічних форм кісткової патології у тварин різних видів.

Завідувач кафедри хірургії
та хвороб дрібних домашніх тварин
Білоцерківського НАУ, д-р вет. наук,
професор, академік НААН


М.В. Рубленко

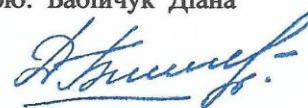




Назва клініки: « АПОЛЛОНІЯ»

м.Херсон

Зав. Клінікою: Бабійчук Діана
Дмитрівна



Відгук

на використання остеотропного імплантаційного матеріалу «Біомін»
виробництва ТОВ ЦНТП «Рapid».

В клініці «Аполлонія» Біомін використовувався при лікуванні хворих з одонтогенними кістами, відновлення втраченого об'єму кісткової тканини при імплантації та введення в лунку видалених зубів для запобігання втрати кісткової тканини .

В залежності від клінічних випадків використовувалися гранули Біоміну з гідроксилапатиту, трикальційфосфату, двофазні гранули з різним співвідношенням гідроксилапатиту та трикальційфосфату, Біомін легований сріблом та кремнієм.

Загальна кількість спостережень приблизно 23.

В результаті використання відмічався позитивний вплив матеріалу на регенеративні процеси. Утворення повноцінного регенерату відбувалося достовірно швидше 4-5 місяців. В період спостереження негативних реакцій та ознак рецидивів не було. По своїй дії не поступається закордонним аналогам.

Використання запропонованого матеріалу забезпечує повноцінне відновлення кісткової тканин.

Зауваження, пропозиції: відсутні.

Клініка зацікавлена в подальшому використанні остеотропного матеріалу Біомін.

Лікар стоматолог-хірург: Мазуряк Євген Павлович





ПП «МЕДПРОМГРУП»
Вул. Жиланська, 30-А
м. Київ, Україна, 01033
т. +38 044 569 59 09
ф. +38 044 569 55 96
e-mail: info@qclinic.com.ua
код ЄДРПОУ 38602906

Відгук на використання імплантаційного матеріалу Біомін.

За період з червня 2012 по квітень 2015 р. в клініці Q:clinic використовувалися імпланти кісткові на основі керамічного гідроксилапатиту та трикальційфосфату «Біомін» виробництва ЦНТП Рапід ТУ У 33.1-00235016-001:2010 для регенераційних міроприємств, пов'язаних із відновленням кісткової тканини в зонах дефектів щелепно-лицевої системи.

В залежності від класифікації клінічних випадків, використовувалися гранули Біоміну з гідроксилапатиту, трикальційфосфату, двофазні гранули з різним співвідношенням гідроксилапатиту та трикальційфосфату, леговані сріблом та кремнієм.

Загальна кількість спостережень склала, приблизно, 180 випадків протягом вищевказаного періоду.

В результаті використання відмічався позитивний вплив матеріалу на регенеративні процеси. Утворення кісткового регенерату відбувалося швидше, ніж без використання «Біоміну», що підтверджено клінічно та рентгенологічно. В період спостереження негативних реакцій та ознак рецидивів не було. По своїй дії не поступається закордонним аналогам.

Використання запропонованого матеріалу забезпечує повноцінне відновлення кісткової тканини. Зауважень немає.

Клініка зацікавлена в подальшому використанні остеотропного матеріалу «Біомін».

Головний лікар





м. Київ 04210, пр-т Героїв Сталінграда 8, корпус 7
 тел.: (044) 53 777 53 факс: (044) 53 777 35
 e-mail: info@smile.in.ua

Відгук на використання
остеотропного імплантаційного матеріалу «Біомін»
 виробництва ТОВ ЦНТП «Рapid»

Матеріал використовувався нами для відновлення кісткової тканини при лікуванні хворих з пародонтальними кістковими дефектами, після цистектомій та для кістково-реконструктивних аугментацій альвеолярного відростка з 2012 року.

В залежності від клінічно діагностованих випадків, використовувалися двофазні гранули Біоміну з різним співвідношенням гідроксилапатиту та трикальційфосфату, гранули з гідроксилапатиту, трикальційфосфату, гранули, леговані сріблом та кремнієм.

Загальна кількість спостережень склала понад 130 клінічних випадків.

В результаті використання відмічався позитивний вплив матеріалу на регенеративні процеси: більш швидке відновлення кісткового регенерату, зменшення рухомості уражених зубів, відсутність естетичних та функційних дефектів. Під час спостереження негативних реакцій та ознак рецидивів не зустрічалось. По своїй дії остеотропний імплантаційний матеріал «Біомін» не поступається закордонним аналогам.

Використання запропонованого матеріалу забезпечує повноцінне відновлення кісткової тканин. Зауваження відсутні, пропозиції: створити форму у шприці для більш зручного введення в обмежені дефекти.

Клініка зацікавлена в подальшому використанні остеотропного матеріалу Біомін.

Директор ТОВ «Смайл плюс»

Головний лікар



Борисюк С.І.

Пальчиков А.В.

ДКПП 33.10.17

УКНД 11.040.40



ПОГОДЖЕНО

Заяв. Голови Державної інспекції з контролю якості лікарських засобів МОЗ України



О.О. Кропивний

" 28 " 04 2010 р.

ЗАТВЕРДЖУЮ

Директор Центру науково-технічних послуг «Рapid»



Л.Д. Кулак

" 25 " 06 2010 р.

Імпланти кісткові на основі керамічного гідроксилапатиту та трикальційфосфату «Біомін»

ТЕХНІЧНІ УМОВИ

ТУ У 33.1-00235016-001:2010



(Вперше)

Дата надання чинності 08.04.2011Чинні до 25.06.2015 р.

ПОГОДЖЕНО

Генеральний директор ДУО «Політехмед»



В.Ф. Девко

" 31 " 06 2010 р.

РОЗРОБЛЕНО

Провідний спеціаліст Центру науково-технічних послуг «Рapid»

Н.В. Ульянич

" 14 " 05 2009 р.

Державна санітарно - епідеміологічна служба МОЗ України схвалила
Висновок № 05.03.02-07/6173 від 10.02.2009 р.
Акт № 4/2555-2008 від 16/06.2009 р.

ДКПП 33.10.17

УКНД 11.040.40

**ПОГОДЖЕНО**Перший заступник голови Державної
служби України з лікарських засобів


О.А. Алексєєва
«30» 06 2015 р.

**ЗАТВЕРДЖУЮ**Директор Центру науково-технічних
послуг ТОВ «РАПІД»


Л.Д. Кулак
«30» 06 2015 р.



Зміна № 1
ТУ У 33.1-00235016-001:2010


**Імпланти кісткові на основі керамічного гідроксилапатиту
та трикальційфосфату «Біомін»**

Сторінка 1
Сторінок 3

**ПОГОДЖЕНО**Генеральний директор
ДУО «Політехмед»


Р.Л. Картавцев
«24» 06 2015 р.

**РОЗРОБЛЕНО**Провідний фахівець
Центру науково-технічних послуг
ТОВ «РАПІД»


Н.В. Ульянич
«10» 06 2015 р.



UMCC

Орган з оцінки відповідності
Державне підприємство "Український медичний центр сертифікації"
Міністерства охорони здоров'я України

СЕРТИФІКАТ ВІДПОВІДНОСТІ

Забезпечення функціонування комплексної системи
управління якістю

(Технічний регламент щодо медичних виробів,
Додаток 3, виключаючи пункти 8-11)

№ UA.TR.039.1204

Виробник: Інститут проблем матеріалознавства
ім. І. М. Францевича НАН України
Україна, 03142, м. Київ, вул. Академіка Кржижановського, 3

Продукція: Імпланти кісткові зі сплавів системи Ti-Nb-Si
(згідно додатку)
клас ІІБ, згідно Додатку 2 Технічного регламенту щодо
медичних виробів

Орган з оцінки відповідності ДП "УМЦС" заявляє, що зазначений виробник впровадив систему управління якістю на етапах розробки, виробництва і остаточної перевірки виробів відповідно до Додатку 3, виключаючи пункти 8-11, Технічного регламенту щодо медичних виробів, який затверджено постановою Кабінету Міністрів України від 02.10.2013 р. № 753. Система управління якістю виробника повністю відповідає відповідним положенням цього Технічного регламенту та підлягає періодичному нагляду.

Для розповсюдження на ринку виробів класу ризику ІІІ додатково обов'язковим є Сертифікат перевірки проекту.

Звіт: № 1204/217/0 від 28.08.2020 р.

Дата видачі: 15.09.2020 р.

Дійсний до: 14.09.2025 р.

В.о. керівника органу з оцінки відповідності



Мартиненко Г.А.

Чесність сертифіката можна перевірити в базі даних органу з оцінки відповідності (umcc.org.ua)
Орган з оцінки відповідності Державне підприємство "Український медичний центр сертифікації" (ДП "УМЦС")
кр. адреса: 02160, Україна, м. Київ, просп. Возз'єднання, 7-а; Факт. адреса: 41047, м. Київ, вул. "Метрине", 18
тел. (044) 256 83 83

Призначений на проведення робіт з оцінки відповідності ввозом технічних регламентів
(зказ від 28.08.2014 № 1044 Міністерства економіки України, номер призначеного органу UA.TR.039)





МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
Державне підприємство
"УКРАЇНСЬКИЙ МЕДИЧНИЙ ЦЕНТР СЕРТИФІКАЦІЇ"

02160, Україна, м.Київ, просп.Возз'єднання, 7-а, тел. 490-27-41, 285-83-83

E-mail: info@umes.org.ua, <http://www.umes.org.ua>

р/р № UA34305299000026006046208830 в АТ КБ "ПриватБанк",
 СДРПОУ 31450352, ІПН 314503526027, свідоцтво № 35476999

Від 26.02.2021 № 204

**Директору Інституту проблем
 матеріалознавства
 ім.І.М.Францевіча НАН України,
 академіку НАН України
 п.Солоніну Ю.М.**

вул. Крижановського, 3, м. Київ, 03142,
 Україна

На ваш № 01-11-25-81 від 15.02.2021 р.

Шановний Юрію Михайловичу!

Відповідно до вашого запиту № 01-11-25-81 від 15.02.2021 р., повідомляємо наступне.

ДП "Український медичний центр сертифікації" МОЗ України видав сертифікат № UA.TR.039.1204 від 15.09.2020 р. з терміном дії до 14.09.2025 р. на виробу медичні "Імпланти кісткові зі сплавів системи Ti-Nb-Si", які розроблено та випускаються вашим Інститутом. Згідно додатку сертифікат розповсюджується на виробу:

1.	Пластини прями
2.	Гвинти кортикальні
3.	Спиці Богданова

Вказані виробу можуть мати різні покриття та відрізнятись конструкцією. Повна номенклатура виробів наведена у висновку № 1204 щодо аналізу технічної документації, якій оформлено нами при проведенні оцінки відповідності. Технічна документація на виробу містить всі документи, які необхідні згідно Технічного регламенту щодо медичних виробів (Постанова КМУ № 753 від 02.10.2013 р.), зокрема результати технічних та доклінічних випробувань, спеціалізовану оцінку клінічних даних, тощо.

Зокрема, допустимі покриття:

- гідроксиапатиту;
- гідроксиапатиту, легованого кремнеземом;



Орган з оцінки відповідності
 Державне підприємство "Український медичний центр сертифікації"
 Міністерства охорони здоров'я України

СЕРТИФІКАТ ВІДПОВІДНОСТІ
Забезпечення функціонування комплексної системи
управління якістю
 (Технічний регламент щодо медичних виробів,
 Додаток 3, виключаючи пункти 8-11)

№ UA.TR.039.1380

Виробник: ТОВ "Центр науково-технічних послуг "РАПІД"
 Україна, 03142, м. Київ, вул. Академіка Кржижановського, 3

Продукція: Імпланти кісткові на основі керамічного гідроксилапатиту та трикальційфосфату "Біомін"
 (згідно додатку)
 клас ІІб, згідно Додатку 2 Технічного регламенту щодо медичних виробів

Орган з оцінки відповідності ДП "УМЦС" заявляє, що зазначений виробник впровадив систему управління якістю на етапах розробки, виробництва і остаточної перевірки виробів відповідно до Додатку 3, виключаючи пункти 8-11, Технічного регламенту щодо медичних виробів, який затверджено постановою Кабінету Міністрів України від 02.10.2013 р. № 753. Система управління якістю виробника повністю відповідає відповідним положенням цього Технічного регламенту та підлягає періодичному нагляду.

Для розповсюдження на ринку виробів класу ризику ІІІ додатково обов'язковим є Сертифікат перевірки проекту.

Звіт: № 1380/229/0 від 28.08.2020 р.

Дата видачі: 15.09.2020 р.

Дійсний до: 14.09.2025 р.

В.о. керівника органу з оцінки відповідності



Мартиненко Г.А.

Чинність сертифіката можна перевірити в базі даних органу з оцінки відповідності (www.umcs.org.ua)
 Орган з оцінки відповідності Державне підприємство "Український медичний центр сертифікації" (ДП "УМЦС")
 юр. адреса: 02150, Україна, м. Київ, просп. Возз'єднання, 7-а; факт. адреса: 01042, м. Київ, вул. Чигоріна, 18
 тел. (044) 285 83 83

Призначений на проведення робіт з оцінки відповідності вимогам технічних регламентів
 (вказів від 29.08.2014 № 1044 Міністерства економічного розвитку України, номер призначеного органу UA.TR.039)



ДОДАТОК Б

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Монографії:

1. Наноматеріали медичного призначення: монографія / І.В. Уварова, П.П. Горбик, С.В. Горобец, О.А. Иващенко, **Н.В. Ульянович**. Київ, 2014. 415с. (*Особистий внесок здобувача: написання розділу 2*).

2. Эндопротезы суставов человека: материалы и технологии: монография/ Киев. ИСМ им. В.Н. Бакуля НАН Украины. 2012, 528 с. (*Особистий внесок здобувача, приймала участь в написанні семи розділів*):

Статті:

3. Ivashchenko O. A., Perekos A. O., **Ulianchych N.V.**, Uvarova I.V., Protsenko L. S., Budylyna O.M., Holovkova M.Y., Yarmola T.M. Interaction of Ag-free and Ag-Doped hydroxyapatite with Ciprofloxacin solutions. *Materialwissenschaft und Werkstofftechnik. Special Issue: Nanoscience and Nanotechnology: Biotechnologies*. 2011. Vol. 42, Issue 2. p. 98-108. (Wiley-VCH GmbH, Weinheim, indexed in SCOPUS, (режим доступу: <https://doi.org/10.1002/mawe.201100739>) (*Особистий внесок здобувача: синтез легованого сріблом ГАП, проведення досліджень, участь у написанні статті*))

4. Ivashchenko O. A., Protsenko, L.S., Budylyna, O.M., **Ulianchich, N.V.**, Uvarova I.V., Yarmola T.M. Influence of Silver Doping on Hydroxyapatite Properties. *Advanced Science, Engineering and Medicine*. 2013, Vol. 5, pp. 266-274. (режим доступу: <https://doi.org/10.1166/asem.2013.1248> (*Особистий внесок здобувача: проведення досліджень, обговорення отриманих результатів, участь у написанні статті*)).

5. O. Sych, O. Otychenko, **N. Ulianchych**, T. Tomila, A. Bykov, L. Protsenko, O.Budylyna, I. Uvarova, V. Kolomiiets, Mariia Demyda. Structure and adsorption activity of hydroxyapatite of different origin Advanced. *Nano-Bio-Materials and Devices*. 2018. Vol. 2(3). pp. 287-293; (режим доступу:

https://sciedtech.eu/AdvNanoBioMD/ANBMD_2018_2_3_Sych.pdf (*Особистий внесок здобувача: синтез синтетичного ГАП, обговорення отриманих результатів, участь у написанні статті*).

6. L.D. Kisterskaya, O.B. Loginova, **N.V. Ulyanchich**, V.V. Kolomiets, V.N. Tkach, A.M. Panova, I.V. Uvarova. Antibacterial surfaces formed by silver nanoparticles on bone implants with bioactive coatings. *Powder Metallurgy and Metal Ceramics*. 2019. Vol. 58, issue 3-4, pp.189-196. (Springer, indexed in Scopus режим доступу: <http://www.materials.kiev.ua/article/2817> DOI 10.1007/s11106-019-00063-2 (*Особистий внесок здобувача: синтез синтетичного ГАП, участь у проведенні досліджень, обговорення отриманих результатів, участь у написанні статті*).

7. M. V. Rublenko, V. A. Chemerovskiy, V. G. Andriiets, **N. V. Ulyanchich**, V. V. Kolomiets, A. S. Koryak. Evaluation of usage of silicon-doped hydroxyapatite ceramics for treatment of fragmented bone fractures in dogs. *Науковий вісник ЛНУВМБ імені С.З. Гжицького. Серія: Ветеринарні науки*, 2020, т 22, № 99. р.29-37, (режим доступу: [doi:10.32718/nvlvet9905](https://doi.org/10.32718/nvlvet9905). (*Особистий внесок здобувача: підготовка та дослідження матеріалів, обговорення результатів, участь у написанні статті*))

8. **Ульянчич Н. В.**, Кулак Л. Д., Борисов Ю. С., Войнарович С. Г., Алексеева Т. А., Свирид Е. С., Ксензова О. В., Семенцов Ю. И. Особенности биоактивных покрытий на титановых имплантатах. *Літопис травматології та ортопедії*. 2014, № 1-2. С.76-79. (*Особистий внесок здобувача: підготовка матеріалів, участь у проведенні досліджень, написання статті*).

9. **Ульянчич Н.В.**, Иващенко Е.А., Уварова И.В., Ксензова О.В., Свирид Е.С., Проценко Л.С., Будилина О.Н., Дацкевич О.В. Возможность использования кальцийфосфатной керамики в качестве носителя лекарственных средств. *Український морфологічний альманах*. 2010, Том 8, № 2, с. 44-46. (*Особистий внесок здобувача: підготовка матеріалів, участь у проведенні досліджень, участь у обговоренні результатів, написання статті*).

10. М.В. Рубленко, В.О. Чемеровський, В. М. Власенко, **Н.В. Ульянчич**. Оцінка osteointegraційних і osteoіндуктивних властивостей кераміки, легованої кремнієм, за модельних переломів стегнової кістки кролів. *Науковий вісник ветеринарної медицини*. 2018. №2. С.44-53. (Особистий внесок здобувача: підготовка матеріалів, участь у проведенні досліджень, обговорення результатів, участь написанні статті).

11. Шимон В.М., Дедух Н.В., Меклеш Ю.Ю., Шимон М.В., **Ульянчич Н.В.** Регенерація кости после заполнения дефекта гранулами керамического биоматериала биомин ТГГ-2. *Georgian Medical News*. No 4 (301) 2020, p.170-177 (indexed in Scopus). (Особистий внесок здобувача: планування методу отримання композиту, дослідження його фізико-хімічних властивостей та фазового складу, участь у написанні статті).

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації

Матеріали наукових конференцій:

12. **Ульянчич Н.В.**, Кулак Л.Д., Фірстов С.О., Кузьменко М.М. Нові біоматеріали для відновлення кісткової тканини та функції пошкодженого органу при обширних травмах опорно-рухового апарату. *Перспективи науково-технологічного забезпечення оборонно-промислового комплексу України: матеріали інформаційно-комунікативного заходу* (м. Київ, 22-23 вересня 2015 р.). Київ, 2015. С. 129-130. (Особистий внесок здобувача: участь у підготовці та дослідженні матеріалів, обговорення результатів, написання роботи, доповідь, очна участь)

13. **Ulianchych N.V.**, Firstov S.O., Kolomiets' V.V., Bykov O.I., Tamila T.V. Phase transformations of non-stoichiometric hydroxyapatite upon thermal treatment and their effects on its solubility in a biological solutionimitation: book of Abstracts of the 6th International conference High Math Tech (Kyiv, 28 - 30 October 2019). Kyiv, 2019. p.138. (Особистий внесок здобувача: участь у підготовці та дослідженні матеріалів, обговорення результатів, написання роботи, доповідь, очна участь)

14. **Ulianchych N. V.**, Firstov S. O., Rublenko M. V., Andriiets V. G., Kolomiets' V. V., Bykov O. I., Tamila T. V. Composite osteoinductive material based on bioactive ceramics and blood plasma enriched with platelets: book of Abstracts of the 6th International conference High Math Tech (Kyiv, 28 - 30 October 2019). Kyiv, 2019. P.139. (Особистий внесок здобувача: участь у підготовці та дослідженні матеріалів, обговорення результатів, написання роботи, доповідь, очна участь)

15. **Ульянчич Н.В.**, Фірстов С.О., Логінова О.Б., Коломієць В.В., Коряк О.С. Дослідження впливу ультразвуку на питому поверхню та розподіл пор по розмірах у гранулах композитів з кальцій фосфатної кераміки. *Якість, стандартизація, контроль: теорія та практика: тези 20 міжнар. конф.* (м. Одеса, 07-11 вересня 2020 р.). Київ, 2020. С. 140-142. (Особистий внесок здобувача: участь у підготовці та дослідженні матеріалів, обговорення результатів, участь у написанні роботи, заочна участь)

16. **Ульянчич Н.В.**, Логінова О.Б., Кістерська Л.Д., Коломієць В.В. Створення антибактеріальної поверхні на імплантатах із біоактивним покриттям з кальційфосфатної кераміки. *Інженерія поверхні та реновація виробів: матеріали 19 міжнар. науково-техн. конф.* (м. Свалява 20-24 травня 2019 р.). Свалява, 2019. С. 174-176. (Особистий внесок здобувача: участь у підготовці та дослідженні матеріалів, обговорення результатів, участь у написанні роботи, заочна участь)

17. **Ульянчич Н.В.**, Кулак Л.Д., Фірстов С.О. Вітчизняні біоматеріали в реконструктивній хірургії. Впровадження сучасних досягнень медичної науки в практику охорони здоров'я України: матеріали II міжнародного медичного конгресу (м. Київ, 16-19 квітня 2013 р.). Київ, 2013. С.19. (Особистий внесок здобувача: участь у підготовці та дослідженні матеріалів, обговорення результатів, написання роботи, доповідь, очна участь)

18. Чемеровський В.А., **Ульянчич Н.В.**, Рубленко М.В. Гистоморфологическая оценка репаративного остеогенеза при использовании керамики, содержащей α -трикальцийфосфат. *Актуальные вопросы и пути их*

решения в ветеринарной хирургии: материалы международной научно-практической конференции, посвященной 80-летию со дня рождения профессора Э. И. Веремея. (30 октября - ноября 2019 г. ВГАВМ 2019 р.). 2019. С. 116-118. (Особистий внесок здобувача: участь у підготовці та дослідженні матеріалів, обговорення результатів, участь у написанні роботи, заочна участь).

Наукові праці, які додатково відображають наукові результати дисертації

Патенти на винаходи та корисні моделі:

19. Патент №48695 Україна А61F2/28, А61К6/033, А61L27/00 Керамічний матеріал для пластики кісткових дефектів/ Ашукіна Н. О., Дедух Н.В., Корж М.О., Філіпенко, **Ульянчич Н.В.**, Ліхнякевич Т. Г., В.А.,Авакумов А.Б., Малишкіна С. В., Авакумов О.Б. Заявл. 12.11.2001; Опубл. 15.08.2002 р. -Бюл. № 8.

20. Патент №45292 Україна А61В17/00 Металокерамічний імплантат для міжтілового спондилодезу/ Брехов О.М., Єлісеєв С.Л., **Ульянчич Н.В.**, Борисов Ю.С., Войнарович С.Г., Авакумов О.Б. Заявл. 03.12.2001; Опубл. 15.03.2002 р. - Бюл. № 3.

21. Патент № 47362 Україна А61Р19/10 Спосіб одержання порошку гідроксилапатиту/ **Ульянчич Н.В.**, Поворознюк В.В., Аввакумов А.Б., Григор'єва Н.В. Заявл. 01.03.2002; Опубл. 17.06.2002 р. -Бюл. № 6.

22. Патент № 95634 МПК А61L 27/46 Спосіб прискорення репаративного остеогенезу в собак/ Рубленко М. В., Семеняк С. А., **Ульянчич Н.В.** Заявл. 30.07.2014; Опубл. 25.12.2014 р.- Бюл. № 24

23. Патент України № 70469 А61К35/78, А61К38/56. Лікарський засіб для профілактики та лікування системного остеопорозу в постменопаузальному періоді/ Поворознюк В. В., Григор'єва Н. В., Карпенко П. О., Вареник М. П., **Ульянчич Н. В.**, Аввакумов А. Б. Заявл. 09.10.2003.; Опубл. 15.10.2004.; Бюл. №10.