

## ФОРМИРОВАНИЕ И ОЦЕНКА ОСНОВНЫХ СВОЙСТВ УГЛЕРОДНЫХ НАНОСТРУКТУР НА ТИТАНОВОЙ ПОВЕРХНОСТИ\*

Н.Б. Асташина, *Пермский государственный медицинский университет им. академика Е.А. Вагнера, Пермский национальный исследовательский политехнический университет*

А.А. Сметкин, *Пермский национальный исследовательский политехнический университет*

М.Н. Каченюк, *Пермский национальный исследовательский политехнический университет*

С.М. Никулин, *ОАО «Уральский научно-исследовательский институт композиционных материалов»*

Н.П. Логинова, *Пермский государственный медицинский университет им. академика Е.А. Вагнера*

Целью работы явилось формирование и изучение основных характеристик углеродных наноструктур на поверхности образцов из титанового сплава.

**Ключевые слова:** углеродные нанотрубки; скретч-тестирование; титановые имплантаты; медико-биологические испытания.

### Введение

Использование нанотехнологий в биологических системах вполне осуществимо, так как поведение биологических систем является управляемым на молекулярном уровне и, следовательно, имеется возможность регулировать свойства. На сегодняшний день исследователями показана возможность использования углеродных нанотрубок (УНТ) в медицинских целях с точки зрения стимуляции роста клеток [1].

Цель работы заключалась в получении на титановой поверхности углеродных наноструктур, оценке их свойств методом склерометрии/скретч-испытаний, а также изучение реакции биологических тканей на внутримышечную имплантацию полученных образцов.

### Методики эксперимента и исследований

В качестве исходной подложки для осаждения углеродных материалов ис-

пользовали титановый alpha-сплав ВТ1-0. Предварительно поверхность титановых образцов подвергали плазменно-электролитическому оксидированию.

На поверхность образцов наносился водный раствор предкатализатора в виде солей кобальта и никеля. Синтез углеродных нанотрубок проводили из природного газа в реакторе при температуре 800 °С в течение 12 часов. Для увеличения адгезии УНТ к поверхности имплантата и повышения инертности поверхности образцы были дополнительно насыщены пироуглеродом из природного газа при 950 °С в течение 5 часов. Необходимость в формировании пироуглерода в исследуемой композиции обусловлена высокими значениями его физико-механических показателей, стойкостью к эрозии и воздействию агрессивных сред, непроницаемостью для жидкостей и газов.

Исследование поверхности образцов выполнено с помощью сканирующего

\* Исследования проводятся при финансовой поддержке РФФИ (проект № 14-08-96016 «Разработка функциональных биосовместимых материалов на основе нанокластеров углерода для применения в медицинской практике»).

электронного микроскопа TescanVega 3 с рентгеноспектральной приставкой.

Анализ прочности сцепления и износостойкости углеродных наноструктур на подложках титановых образцов выполнен методом склерометрии с помощью скретч-тестера RevetestXpressPlus (CSMInstruments) при постоянных нагрузках 1, 5, 10 и 15 Н при царапании специально изготовленным индентором из углерод-углеродного композиционного материала (УУКМ) с диаметром закругления 200 мкм.

Оценку биологического действия медицинских изделий проводили в соответствии с «Европейской Конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях», с Национальным стандартом Российской Федерации, с ГОСТ Р ИСО 10993-1-2009 и решением этического комитета ГБОУ ВПО ПГМУ им. академика Е.А. Вагнера Минздрава России.

Для исследования были использованы специально выведенные животные – нелинейные белые крысы – самцы.

Экспериментальные исследования по определению биологического действия имплантируемых изделий включали в себя:

– оценку *общетоксического действия (острой токсичности)* для определения потенциального вредного эффекта на животные модели при имплантации образцов;

– оценку *подострой и субхронической токсичности*, определяющую эффект контакта с образцом в течение 10% жизненного цикла подопытного животного (для крыс до 90 суток);

– оценку *хронической токсичности*, позволяющую определить эффект многократного воздействия изделий, материалов в течение большей части продолжительности жизни животного.

При планировании исследования животные были разделены на две группы:

– основная группа включала в себя 25 животных, которым были имплантированы образцы типа А1, выполненные из титанового сплава, с модифицированной поверхностью, содержащей слой углеродных нанотрубок;

– группу сравнения составили 25 животных с имплантированным стерильным медицинским стеклом марки НС-3.

### Результаты и их обсуждение

Сканирующая электронная микроскопия позволила выявить на титановой подложке высокоразвитую поверхность с агломерированными углеродными компонентами (рис. 1) размером до 200 мкм.

Пироуглерод, осажденный на титановые образцы при температуре 950°C, следует отнести к низкотемпературной модификации, состоящей из поликристаллов с аморфными включениями и обладающей невысокой степенью упорядоченности структуры. Упорядоченные структуры в результате синтеза углерода из газовой фазы наблюдаются преимущественно в виде волокон (рис. 1, б). Из анализа электронно-микроскопических изображений следует, что формирование пироуглеродного покрытия на титане осуществляется по механизму так называемого конуса роста. Вершина конуса расположена на подложке, а ось направлена перпендикулярно ее поверхности. Расширяясь, основания конусов заполняют поверхность подложки.

На пироуглеродном слое зафиксированы углеродные нанотрубки различного типа (рис. 2). Наблюдаемые УНТ имеют хаотическое направление роста, множественные пересечения и касания друг с другом (рис. 2, а). Следует отметить наличие утолщенных за счет вторичного осаждения пироуглерода трубок (рис. 2, б). На этих трубках с наружным диаметром порядка 100 нм и длиной 3000 нм вторично осажденный пироуглерод обладает плотной, аморфной структурой и распределен достаточно равномерно по длине волокна.

Также в экспериментальных образцах получены трубки с наружным диаметром порядка 60–80 нм и длиной до 10 мкм с более гладкой поверхностью без вторично осажденного пироуглерода (рис. 3).

Карты распределения элементов, полученные с помощью энергодисперсионной рентгеновской спектроскопии

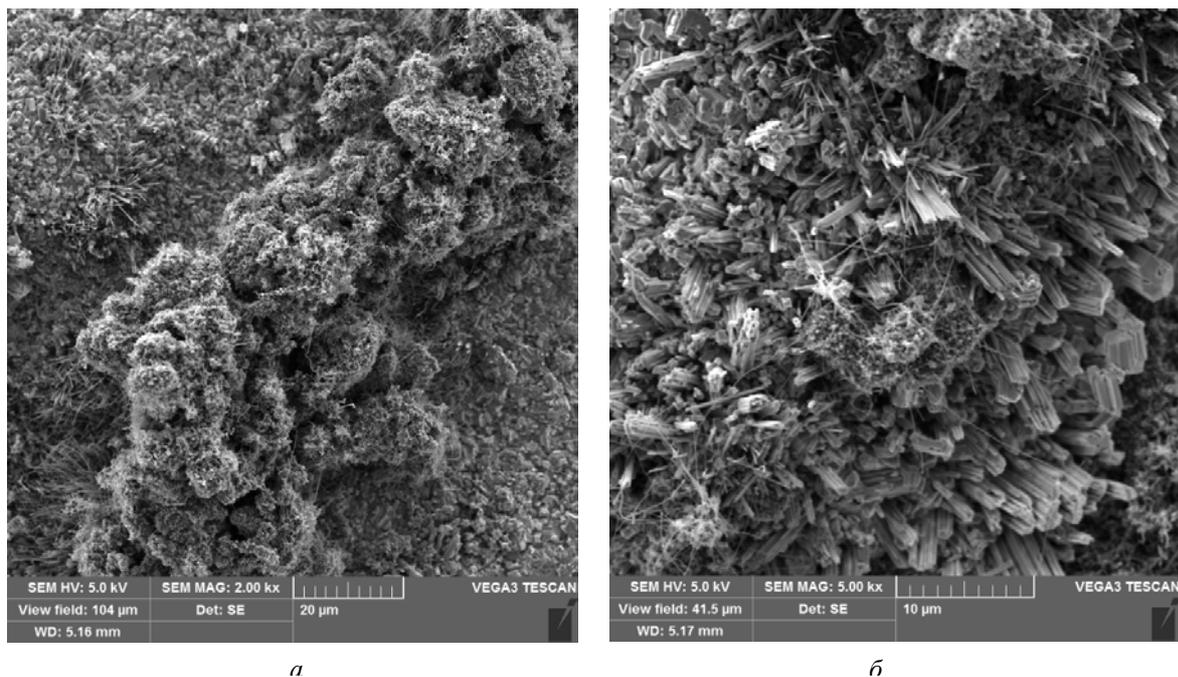


Рис. 1. Поверхность титанового образца с нанесенными углеродными компонентами при увеличениях: а – 2 000 ×, б – 5 000 ×

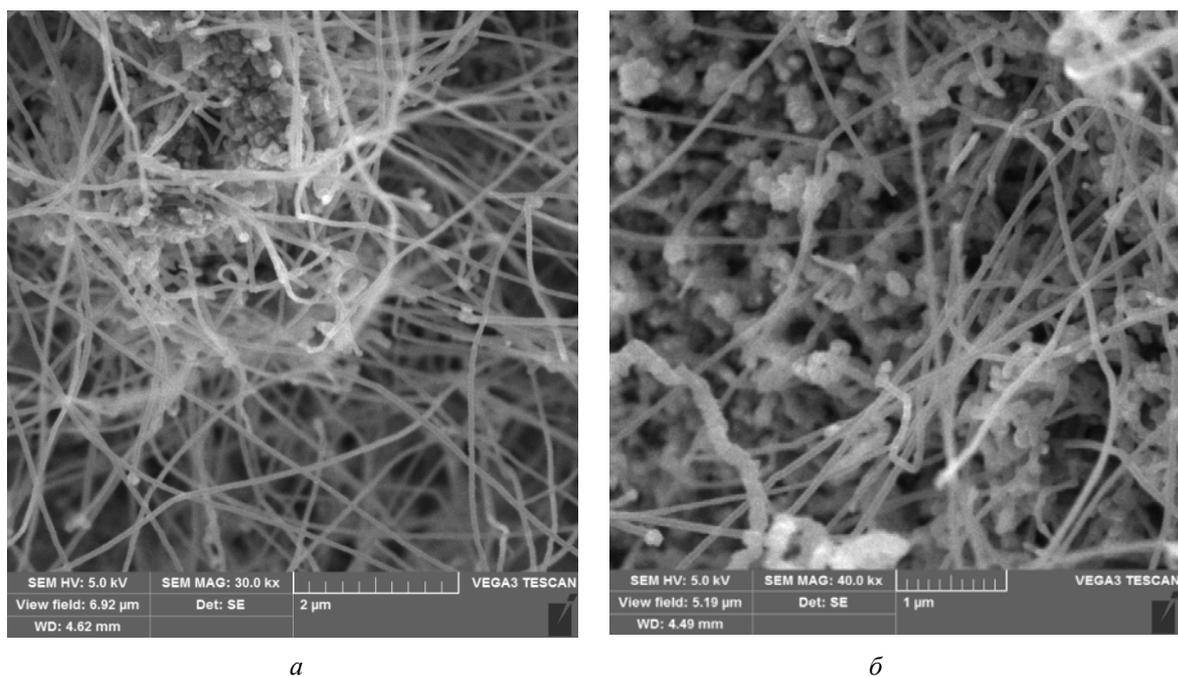


Рис. 2. Углеродные нанотрубки на пироуглеродном слое

(рис. 4), демонстрируют характер распределения элементов на поверхности образца. Выбранные условия анализа не позволяют точно определить концентрацию углерода, а по полученным спектрам можно говорить о наличии в углеродных структурах включений катализаторов никеля и кобальта (рис. 4, в). СЭМ-изображения разобранных углеродных нанотрубок,

полученные при увеличении 20 000 и 40 000 крат, также подтверждают металлические включения на их окончаниях.

При скретч-испытаниях экспериментальных образцов с углеродными структурными элементами в первую очередь следует отметить, что в процессе испытаний происходит износ индентора. На рис. 5 представлены результаты скретч-ис-

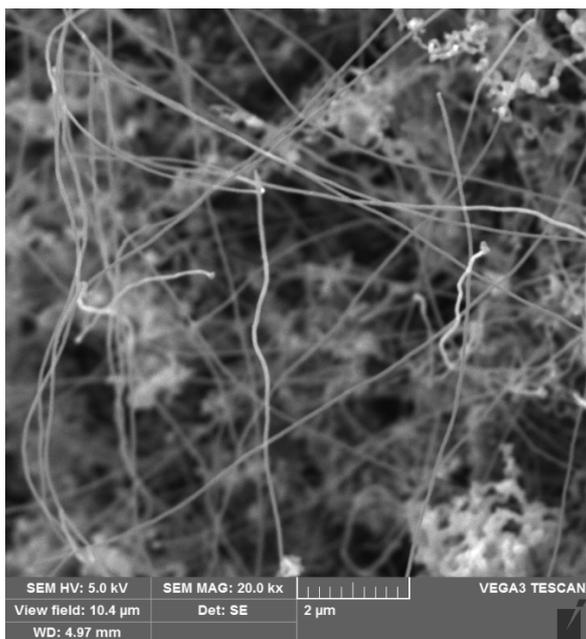


Рис. 3. Углеродные нанотрубки с наружным диаметром менее 100 нм

пытаний при нагрузке 1 Н. Из графических данных следует, что глубина проникновения индентора, так же как и остаточная глубина, остаются постоянными. При этом кривые коэффициента трения, значения глубины проникновения и остаточной глубины имеют осциллирующий характер, обусловленный поверхностными углеродными элементами – пироуглеродом и нанотрубками. Наблюдаемые осцилляции соответствуют изменению профиля в диапазоне порядка 22 мкм. Оптическое изображение фрагмента царапины (рис. 6) после испытаний при нагрузке 1 Н демонстрирует равномерный износ углеродных элементов без значительного удаления нанотрубок, зафиксированных преимущественно во впадинах поверхности.

При испытаниях с увеличенными нагрузками 5, 10 и 15 Н наблюдается износ индентора и частичное удаление углеродных элементов с поверхности титанового образца. Из полученных результатов следует, что по мере увеличения нагрузки происходит проникновение индентора до подложки, а далее – износ в первую очередь индентора.

Анализируя оптические изображения царапин, можно заключить, что их морфология незначительно меняется с увели-

чением нагрузки. Так называемый «навал» углеродных элементов перед движущимся индентором практически отсутствует, что обусловлено износом углеродного индентора.

Исследование острой токсичности при введении образцов проводили в период от 1 до 28 суток после имплантации у всех животных.

При клинических наблюдениях не выявлено отклонений по респираторным показателям, глазным признакам, в состоянии сердечно-сосудистой и пищеварительной системы, в характере слюноотделения, в мышечном тоне, в рефлексах, состоянии шерсти и кожи. Все животные имели нормальный тип дыхания, сохраненные рефлексy на всем протяжении исследования. Нарушений со стороны сердечно-сосудистой и пищеварительной систем не выявлено. Мышечный тонус у всех животных был в норме. Глазные признаки токсической реакции отсутствовали. Пиолейомиом, эдем и эритем не выявлено. Мышечный тонус у всех животных соответствовал норме. Наблюдения за состоянием животных не выявили изменений их внешнего вида, поведения, поедания корма и прироста массы тела. При ежедневной оценке массы тела (в период от 1 до 28 суток после имплантации) выявлено, что у животных основной группы средняя масса тела составила  $256,60 \pm 11,47$  г; у животных группы сравнения масса тела составила  $251,90 \pm 11,98$  г. Таким образом, достоверных отличий по данному показателю в разных группах наблюдений не выявлено.

Для оценки подострой и субхронической токсичности при имплантации образцов типа А1, через 90 суток после оперативного вмешательства, проведены гистологические исследования органов-мишеней животных основной группы и группы сравнения. Незначительная воспалительная реакция у животных основной группы наблюдалась только в печени и почках и проявлялась замедлением капиллярного и венозного кровообращения, что сопровождалось умеренным отеком тканей изучае-

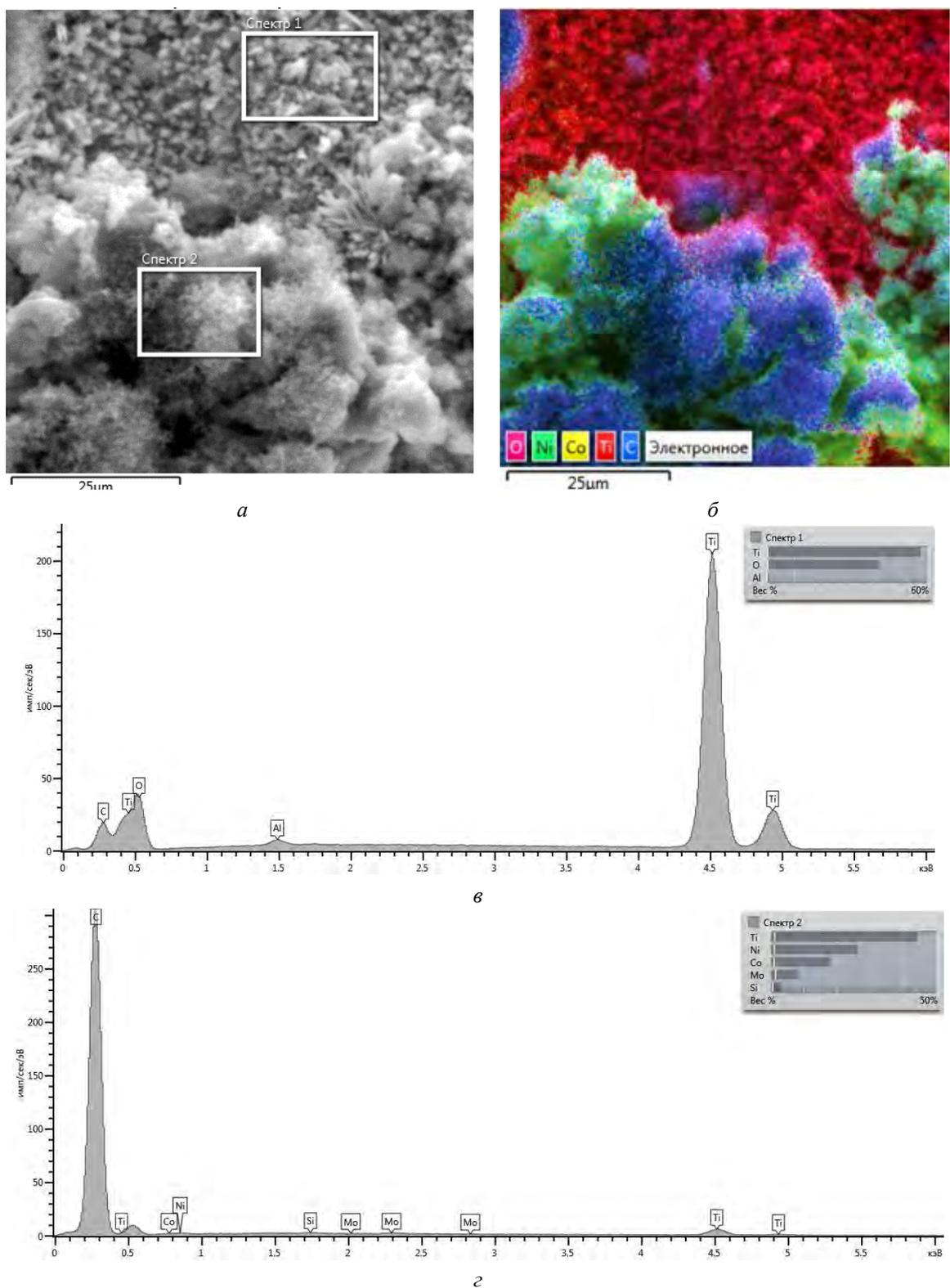


Рис. 4. Энергодисперсионный рентгеноспектральный анализ поверхности титанового образца с осажденными углеродными структурами: а) СЭМ-изображение поверхности; б – карта распределения элементов; в, г – спектры в выделенных областях

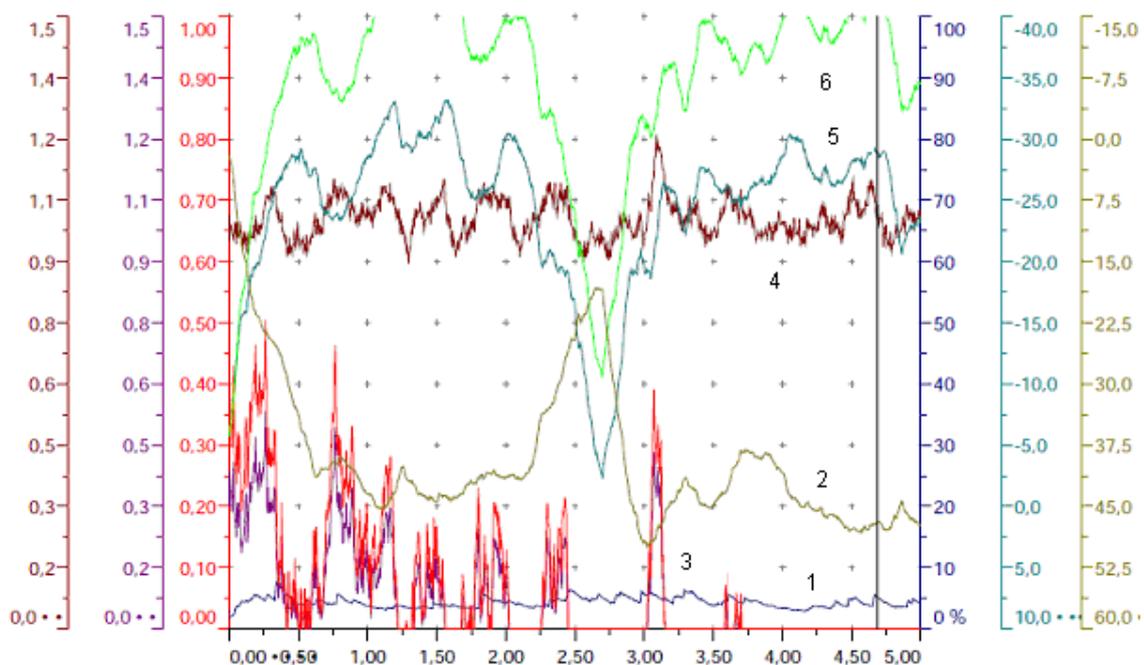


Рис. 5. Результаты скретч-испытаний титанового образца с углеродными элементами на поверхности при нагрузке 1 Н: 1 – значения акустической эмиссии, 2 – профиль, 3 – коэффициент трения, 4 – величина нормальной нагрузки, 5 – глубина проникновения индентора, 6 – остаточная глубина

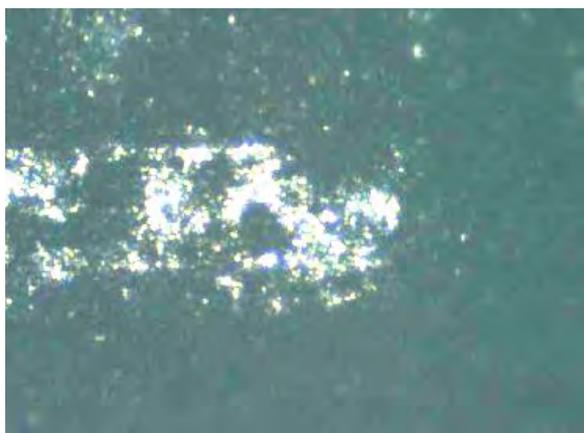


Рис. 6. Оптическое изображение фрагмента циркония на образце при склерометрии при нагрузке 1 Н

мых органов, без серьезных структурных перестроек. Также отмечалась некоторая сосудистая реакция со стороны тканей сердца, реакция была однотипной, в виде сосудистого полнокровия.

Однако все морфологические реакции в этот срок не носили деструктивного характера. Гистологический анализ остальных органов-мишеней при имплантации медицинского стекла показал отсутствие

воспалительных и дистрофических изменений. Таким образом, субхронической и подострой токсичности у животных группы сравнения через 3 месяца после имплантации не выявлено.

Для оценки показателей, характеризующих биологическое действие исследуемых образцов, считали необходимым оценить возможную хроническую токсичность как в основной группе животных, так и в группе сравнения. Выявлено, что, через 6 месяцев после оперативного вмешательства в исследуемых органах животных при введении образцов титановых имплантатов с поверхностью, модифицированной углеродными нанотрубками, состояние клеток, тканевых структур и сосудистой системы свидетельствует о нормально протекающих гистофизиологических процессах. Таким образом, при внутримышечной имплантации образцов, выполненных на основе разработанных нанодисперсных материалов острой, подострой, субхронической и хронической токсичности не выявлено.

**Библиографический список**

1. *Бобринетский И.И., Селезнёв А.С., Гайдученко И.А.* [и др.] Исследование взаимодействия нервных клеток с сетками углеродных нанотрубок, полученными при химическом осаждении из газовой фазы // *Биофизика*. – 2013. – Т. 58. – № 3. – С. 524–530.
2. *Щурик А.Г.* Искусственные углеродные материалы. – Пермь, 2009. – 342 с.
3. *Liu Z., Tabakman S., Dai H., Sherlock S., Li X.* [et al.] Multiplexed five-color molecular imaging of cancer cells and tumor tissues with carbon nanotube Raman tags in the near-infrared // *Nano Research*. – 2010. – Vol. 3. – Is. 3. – P. 222–233.
4. *Dunne N., Ormsby R.W.* MWCNT Used in Orthopaedic Bone Cements // *Carbon Nanotubes – Growth and Applications*. – Rijeka: InTech, 2011. – С. 337–392.

**FORMATION AND EVALUATION OF THE MAIN PROPERTIES  
OF CARBON NANOSTRUCTURES ON A TITANIUM SURFACE**

N.B. Astashina<sup>1,2</sup>, A.A. Smetkin<sup>2</sup>, M.N. Kachenjuk<sup>2</sup>, S.M. Nikulin<sup>3</sup>, N.P. Loginova<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Perm State Medical University named after E.A. Wagner

<sup>2</sup> Perm National Research Polytechnic University

<sup>3</sup> JSC Ural Scientific Research Institute of Composite Materials

The aim of the work was the formation and study of the main characteristics of carbon nanostructures on the surface of samples from a titanium alloy.

*Keywords:* carbon nanotubes, scratch tests, titanium implants, biomedical tests.

**Сведения об авторах**

*Асташина Наталья Борисовна*, доктор медицинских наук, заведующая кафедрой ортопедической стоматологии, Пермский государственный медицинский университет им. академика Е.А. Вагнера (ПГМУ), 614000, г. Пермь, ул. Петропавловская, 26; ведущий научный сотрудник научного центра порошкового материаловедения, Пермский национальный исследовательский политехнический университет (ПНИПУ), 614990, г. Пермь, Комсомольский пр., 29; e-mail: caddis@mail.ru

*Сметкин Андрей Алексеевич*, кандидат технических наук, старший научный сотрудник научного центра порошкового материаловедения, ПНИПУ; e-mail: solid@pm.pstu.ac.ru

*Каченюк Максим Николаевич*, кандидат технических наук, старший научный сотрудник научного центра порошкового материаловедения, ПНИПУ; e-mail: maxx@pm.pstu.ac.ru

*Никولين Сергей Михайлович*, начальник лаборатории, ОАО «Уральский научно-исследовательский институт композиционных материалов», 614014, г. Пермь, ул. Новозыганская, 57; e-mail: uniikm@yandex.ru

*Логинова Наталья Павловна*, доктор медицинских наук, профессор кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии, ПГМУ; e-mail: natalitsa@yandex.ru

*Материал поступил в редакцию 21.10.2016 г.*