

СИНТЕЗ И СВОЙСТВА  
НЕОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ

УДК 615.477+621.762

ВЛИЯНИЕ ШЕРОХОВАТОСТИ ПОВЕРХНОСТИ НА СВОЙСТВА  
ТИТАНОВЫХ МАТЕРИАЛОВ ДЛЯ КОСТНЫХ ИМПЛАНТАТОВ

© 2021 г. О. К. Камынина<sup>а</sup>, \* К. С. Кравчук<sup>б</sup>, М. А. Лазов<sup>с</sup>, С. М. Пестов<sup>с</sup>

<sup>а</sup>Институт структурной макрокинетики и проблем материаловедения им. А.Г. Мерджанова РАН,  
ул. Академика Осипьяна, Черноголовка, 142432 Россия

<sup>б</sup>Технологический институт сверхтвердых и новых углеродных материалов,  
ул. Центральная, 7а, Троицк, 108840 Россия

<sup>с</sup>МИРЭА – Российский технологический университет, пр-т Вернадского, 78, Москва, 119571 Россия

\*e-mail: sci-secretary@ism.ac.ru

Поступила в редакцию 05.02.2021 г.

После доработки 18.03.2021 г.

Принята к публикации 19.03.2021 г.

Недавние исследования показали, что использование наноструктурированных поверхностей металлов, особенно титана и титановых сплавов, способствует росту костной ткани. Учитывая эти результаты, в настоящей работе проведена оценка возможности создания заданной шероховатости поверхности образцов титановых материалов (титана Grade 4 и сплава титана Ti<sub>6</sub>Al<sub>7</sub>Nb) для костных имплантатов методами ионно-кластерной технологии (gas cluster ion beam (GCIB) treatment). Результаты воздействия различных режимов ионно-кластерной обработки (GCIB treatment) на модификацию поверхности оценивали методами атомно-силовой, сканирующей электронной и рентгеновской фотоэлектронной микроскопии. Определение токсичности образцов из титана и титанового сплава проводили на основании исследования жизнеспособности и роста субстратзависимых клеток-предшественников костной ткани на поверхности данных материалов. Показана перспективность использования методов ионно-кластерной технологии для получения заданной шероховатости материалов на основе титана Grade 4 и титанового сплава Ti<sub>6</sub>Al<sub>7</sub>Nb для костных имплантатов.

**Ключевые слова:** ионно-кластерная обработка, модификация поверхности, клеточная адгезия, имплантат

**DOI:** 10.31857/S0044457X21080109

ВВЕДЕНИЕ

На сегодняшний день в медицине используется широкий спектр материалов на основе титана и титановых сплавов: медицинские и хирургические инструменты, имплантаты для ортопедии и стоматологии, стенты и искусственные клапаны для кардиологии и т.д. [1–3]. В зависимости от назначения материалы на основе титана различаются по химическому составу, механическим и физическим параметрам [3]. Известно, что для повышения остеоинтеграции биоматериалов, улучшения соединения кость–имплантат существуют разнообразные подходы: анодная оксидация и механическая обработка, увеличивающие толщину природного слоя оксида, пескоструйная обработка или кислотное травление, создающие шероховатость поверхности и способствующие улучшению адгезии и выживанию клеток [4–6]. Альтернативным подходом является использование биохимических методик: покрытие поверхности коллагеном I типа [7], альгинатом гидроге-

лей [8], получение материалов с заданной пористой структурой [9] и т.п. В последнее время основополагающим подходом к повышению остеоинтегративных свойств имплантатов является активная модификация поверхности имплантата, создание микро- и наномасштабной шероховатости, которая обеспечивает максимальную площадь контакта с прилегающей костной тканью и одновременно обладает остеокондуктивным эффектом [10, 11]. За счет придания поверхности имплантата высокой степени шероховатости, определенной пористости, развитой морфологии и структурной гетерогенности достигаются условия высокой степени адгезии, скорости роста (пролиферации) клеток ткани и интеграции с костной тканью, создавая прочное закрепление имплантатов в организме и, следовательно, скорейшее возвращение пациента к активной жизни [11–13]. Недавние исследования показали, что использование наноструктурированных поверхностей металлов, особенно из титана и титановых сплавов, способствует росту

костной ткани, поскольку такие поверхности лучше имитируют характерные размеры компонентов кости [14]. В результате имитации естественной наноструктуры кости уменьшается инфицирование, воспаление и увеличивается способность к остеоинтеграции [15], что улучшает долговечность ортопедических имплантатов. Технически шероховатость достигается созданием трехмерной пористой поверхности различными методами: пескоструйной обработкой, спеканием, осаждением, электродуговым или плазменным напылением, микровзрывной техникой, коррозированием и др., а также комбинацией этих методов [5, 16–20]. В качестве поверхностного слоя (покрытия) могут выступать оксиды титана, тантала, кальций-фосфатные или полимерные материалы, углерод [21, 22].

Целью данной работы является определение возможности получения заданной шероховатости поверхности титановых материалов (титана Grade 4 и сплава титана  $Ti_6Al_7Nb$ ) для костных имплантатов методом ионно-кластерной технологии.

К настоящему времени накоплен значительный массив экспериментальных данных, свидетельствующий о том, что на основе процессов взаимодействия ускоренных кластерных пучков с поверхностью разнообразных материалов могут быть созданы технологии для различного вида наноструктурирования этих поверхностей [23–26]. Особенностью данного метода обработки поверхности является минимальная глубина нарушенного поверхностного слоя по сравнению с другими методами модификации поверхности [24]. Однако подбор оптимальных режимов в случае любого нового материала требует проведения многочисленных экспериментов, что связано со значительными затратами времени и материальных ресурсов. Это обусловлено как новизной данных технологий (история ионно-кластерной технологии насчитывает всего тридцать лет) [23, 24], так и достаточно узкой направленностью посвященных им теоретических исследований (например, ионно-кластерная технология первоначально была ориентирована прежде всего на обработку материалов для микроэлектроники: кремния, меди и т.д.).

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Для исследований использовали образцы изделий, изготовленных из титана Grade 4 (стандарт ASTM F67) и титанового сплава  $Ti_6Al_7Nb$  (стандарт ASTM F1295) в виде дисков толщиной 2 мм и диаметром 8 мм. Обработку поверхности проводили ионно-кластерными пучками из аргона. Параметры обработки: ускоряющее напряжение 20 кВ, среднее число атомов аргона в кластере 2500, по-

ток аргона через сопло 200 мл/с, плотность тока пучка кластерных ионов 4 мкА/см<sup>2</sup>.

Исследование топологии образцов проводили в сканирующей зондовой лаборатории Интегра Прима (НТ-МДТ, Россия). Сканирование осуществляли в полуконтактной моде. Использовали кантилеверы HA\_NC (ScanSens, резонансная частота 235 кГц, радиус заострения острия не более 10 нм, скорость сканирования 0.5 Гц). Постобработка включала вычитание наклонной плоскости. Вычисление статистических параметров проводили с помощью программного обеспечения Gwyddon.

Рельеф поверхности образцов исследовали методом атомно-силовой микроскопии (АСМ), структуру образцов – сканирующей электронной микроскопии (СЭМ). СЭМ-изображения получены на сканирующем электронном микроскопе FEI Quanta 3D FEG с термополевым катодом.

Исследование электронной структуры и валентных состояний образцов проводили методом рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии (РФЭС) на электронном спектрометре Escalab MK2 (VG Scientific) с немонохроматизированным рентгеновским источником  $MgK_{\alpha}$  ( $E = 1253.6$  эВ).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Исследование топологии поверхности образцов выполнено методом атомно-силовой микроскопии. Классическими параметрами, используемыми для характеристики шероховатости поверхности, являются  $S_q$  (среднеквадратичная шероховатость),  $S_a$  (среднеарифметическая шероховатость) и  $S_z$  (максимальная высота рельефа поверхности, определяемая как разность высот между самой высокой и самой низкой точками поверхности на выборочной площади). Результаты изменения шероховатости поверхности образцов приведены на рис. 1.

Один и тот же режим обработки поверхности, например режим 1 (табл. 1), приводит к увеличению шероховатости образцов из титана и уменьшает шероховатость поверхности титановых сплавов  $Ti_6Al_7Nb$ . Увеличение дозы кластернопучковой обработки приводит к снижению шероховатости образцов из титана и увеличению шероховатости поверхности образцов из титановых сплавов  $Ti_6Al_7Nb$  (табл. 2).

Несмотря на то, что средние значения шероховатости поверхности образцов титана и титанового сплава близки, исследование микроструктуры поверхности образцов показало различие в топологических характеристиках данных материалов (рис. 2, 3). Сравнение микроструктуры образцов из титана Grade 4 и титанового сплава  $Ti_6Al_7Nb$  до и после пучково-кластерной обработки показало,

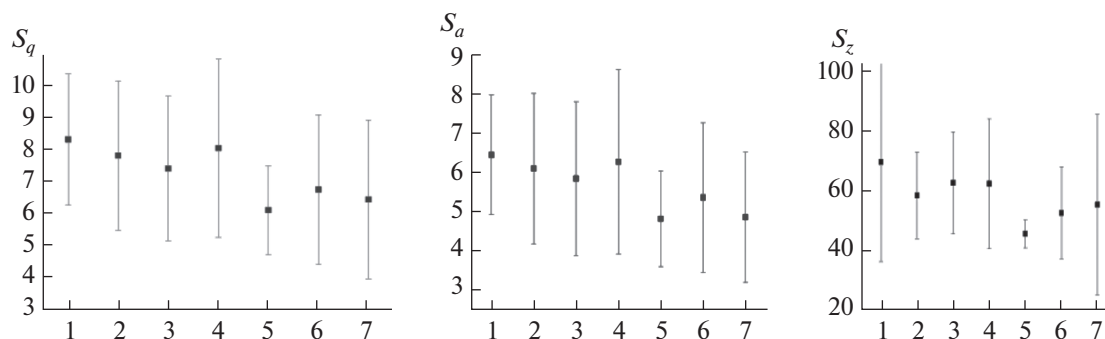


Рис. 1. Шероховатость образцов (нм), исследованная методом АСМ. 1 – Ti Grade 4 (режим 1); 2 – Ti Grade 4 (режим 2); 3 – Ti Grade 4 (режим 3); 4 – Ti Grade 4 (режим 4); 5 – Ti<sub>6</sub>Al<sub>7</sub>Nb (режим 1); 6 – Ti<sub>6</sub>Al<sub>7</sub>Nb (режим 2); 7 – Ti<sub>6</sub>Al<sub>7</sub>Nb (режим 3).

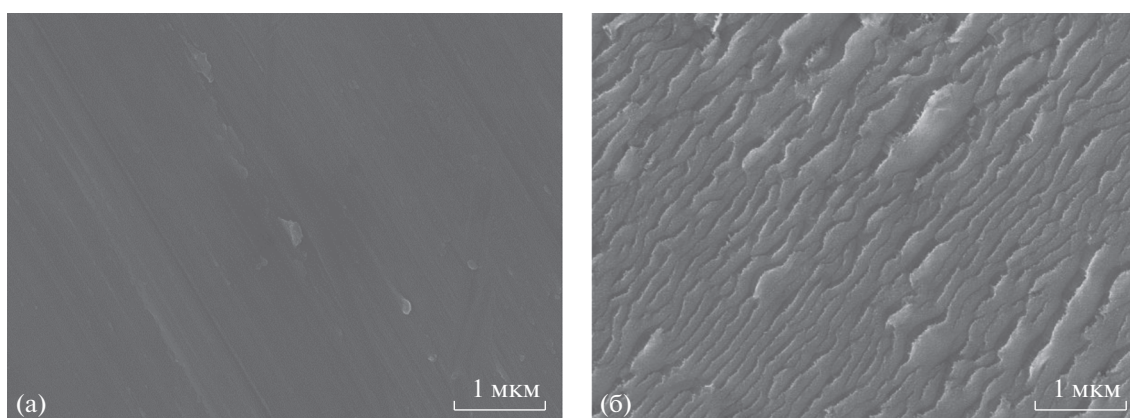


Рис. 2. Поверхность образца из титана Grade 4 до облучения (а) и после кластерной обработки в режиме 3 (б), увеличение  $\times 50000$ .

что в обоих случаях после обработки формируется волнообразный рельеф с характерными размерами 150–500 нм. Однако в случае образца из титана более четко выражен характер неоднородностей и расстояние между высотами больше, чем на поверхности образца из титанового сплава.

Для определения качественного состава поверхности измеряли обзорный спектр в диапазоне энергий связи 0–1200 эВ с шириной полосы пропускания анализатора 50 эВ и шагом измере-

ния 0.5 эВ. В обзорных спектрах образцов титана присутствуют пики, соответствующие углероду (линия C 1s, по которой происходила нормировка энергии связи, и оже-пики), кислороду (O 1s и оже-пики), титану (Ti 2p, Ti 2s, Ti 3p, Ti 3s). В некоторых случаях при измерении образцов без предварительной очистки обнаружены пики, соответствующие азоту (N 1s) и кремнию (Si 2p, Si 2s), что свидетельствует о загрязнении поверхности образца титана поверхностно-активными веще-

Таблица 1. Режимы пучково-кластерной обработки поверхности объектов исследования

Режим	Доза (атом/см <sup>2</sup> )	Вид пучка	Дополнительная обработка поверхности
1	$5 \times 10^{16}$	ИКП*	Ионная очистка
2	$1 \times 10^{17}$	ИКП	Создание микрошероховатости
3	$2 \times 10^{17}$	ИКП	
4	$1 \times 10^{17}$	АКП**	

\* ИКП – ионно-кластерный пучок. \*\* АКП – атомно-кластерный пучок.

**Таблица 2.** Средние значения шероховатости поверхности образцов при выбранных режимах кластерно-пучковой обработки

Образец	Режим обработки	$S_q$ , нм	$S_a$ , нм	$S_z$ , нм
Ti Grade 4	1	$8.33 \pm 2.03$	$6.45 \pm 1.51$	$69.52 \pm 33.29$
Ti Grade 4	3	$7.43 \pm 2.24$	$5.86 \pm 1.94$	$62.56 \pm 17.02$
Ti <sub>6</sub> Al <sub>7</sub> Nb	1	$6.15 \pm 1.37$	$4.84 \pm 1.21$	$45.55 \pm 14.66$
Ti <sub>6</sub> Al <sub>7</sub> Nb	3	$6.47 \pm 2.45$	$4.87 \pm 1.65$	$55.29 \pm 30.22$

ствами, используемыми при очистке поверхности (рис. 4).

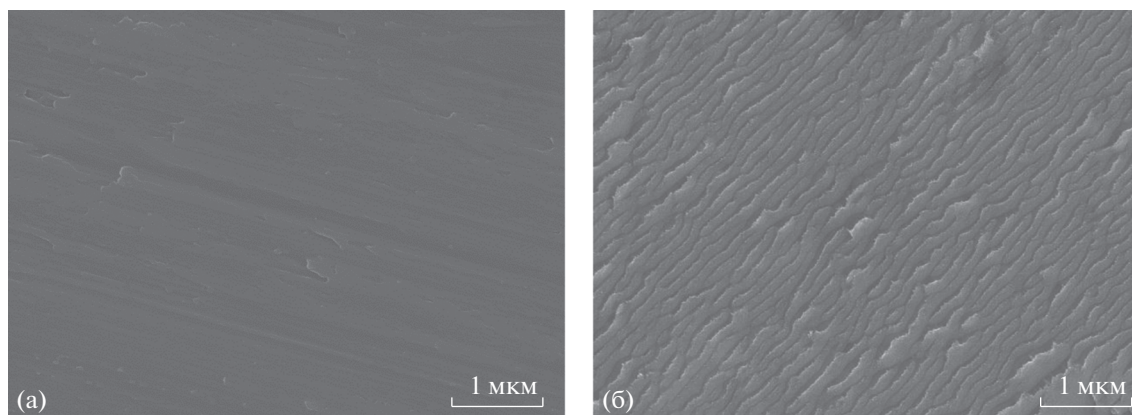
Результаты измерений показали, что образец почти не заряжается, изменение энергии может соответствовать недостаточной калибровке спектрометра. Почти полное отсутствие зарядки можно объяснить малой толщиной оксидной пленки TiO<sub>2</sub>, которая превышает аналитическую глубину (~3 СДСП), но не препятствует стеканию заряда с поверхности. Таким образом, толщина слоя TiO<sub>2</sub> на поверхности превышает 5.3 нм. При рассмотрении тонкой структуры линии Ti2*p* определено содержание оксидных форм титана. Тонкая пленка поверхности у всех образцов содержала 95–100% диоксида титана и 0–5% металлического титана, это подтверждено значениями энергии связи главного пика (458.59 и 459.1 эВ, что значительно больше энергии связи металла и низших оксидов), а также спин-орбитальным расщеплением пиков в дублете (5.84 и 5.62 эВ при 5.7 эВ для высшего оксида и 6.15 для металлического титана). Показано, что ионно-кластерная обработка снижает содержание углерода, азота и кремния в поверхностном слое титановых образцов по сравнению с необработанными.

Оценку токсичности образцов из титана и титанового сплава проводили на основе исследования жизнеспособности и роста субстратзависимых

клеток-предшественников костной ткани на поверхности данных материалов.

Экспериментальное исследование остеодифференцировки проводили на клетках линии Th27, культивированных на образцах из титана Grade4 и сплава Ti<sub>6</sub>Al<sub>7</sub>Nb с разными режимами кластерно-пучковой обработки. Экспериментальные клетки культивировали в индукционной среде в течение 7 и 21 сут и исследовали на каждом сроке; контролем для опыта служили клетки, культивированные в неиндукционной среде. Согласно отработанной методике, окрашивание клеток проводили антителами против остеокальцина и Runx2 по стандартному протоколу двойного окрашивания и при разведении антител.

При длительном культивировании на экспериментальных образцах наблюдали активную пролиферацию клеток и образование плотного монослоя. Значительных различий в количестве клеток при культивировании на экспериментальных образцах из титана Grade 4 и сплава Ti<sub>6</sub>Al<sub>7</sub>Nb выявлено не было (рис. 5). Численность клеток заметно варьировали между отдельными образцами в группах образцов из титана и титанового сплава, и выделить тенденцию по стабильному увеличению количества клеток на каком-либо образце было трудно. На 7 сутки культивирования в остеогенной среде выявлено больше клеток

**Рис. 3.** Поверхность образца из титанового сплава Ti<sub>6</sub>Al<sub>7</sub>Nb до облучения (а) и после кластерной обработки в режиме 3 (б), увеличение ×50000.

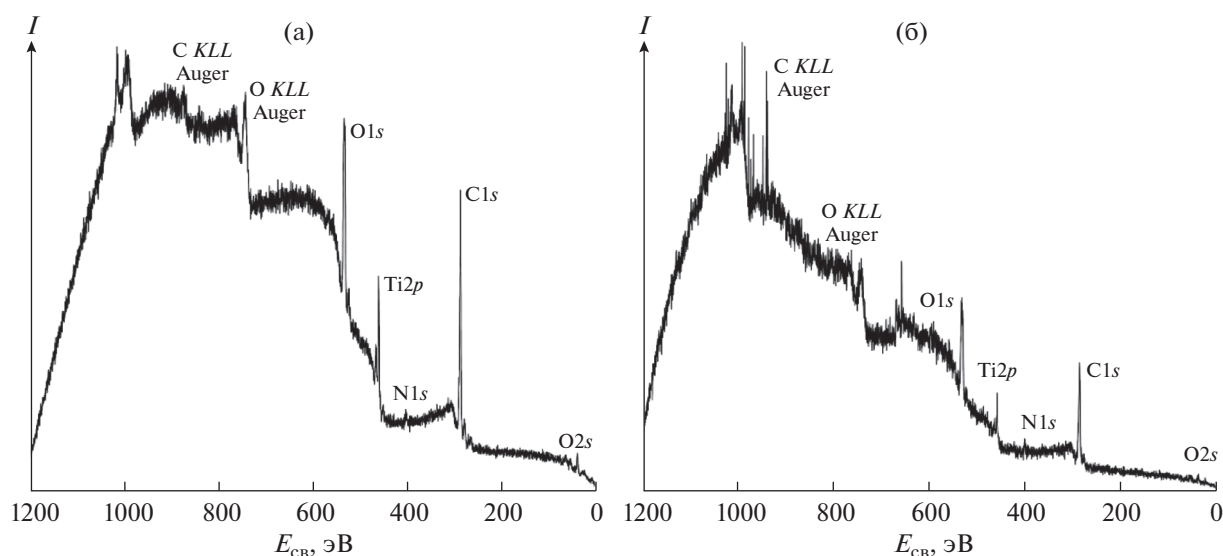


Рис. 4. РФЭС-спектры образца из титана Grade 4 до обработки (а) и после кластерной обработки в режиме 3 (б).

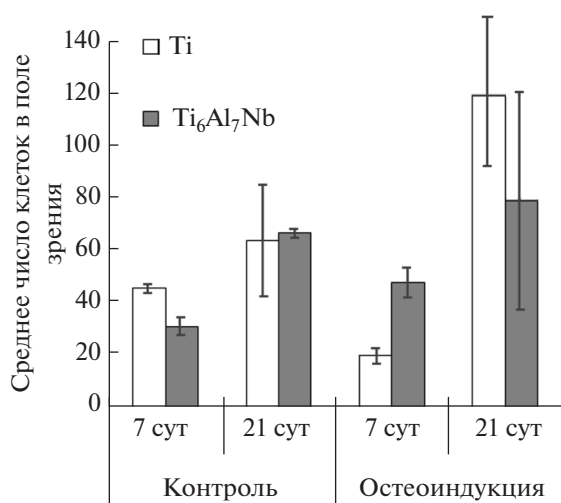


Рис. 5. Адгезия клеток на поверхности образцов до пучково-кластерной обработки (контроль) и после (остеоиндукция).

на сплаве, чем на титане, но на 21 сутки наблюдалась противоположная картина.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Данные экспериментального исследования показали перспективность использования методов ионно-кластерной технологии для получения заданной шероховатости материалов на основе титана Grade 4 и титанового сплава Ti<sub>6</sub>Al<sub>7</sub>Nb. Показано, что ионно-кластерная обработка приводит к снижению содержания углерода, азота и кремния на поверхности титановых образцов по сравнению с необработанными материалами.

Учитывая общие механизмы адгезии субстратзависимых клеток, можно утверждать, что выбор эффективных режимов кластерно-пучковой обработки поверхности имплантатов обеспечивает увеличение остеointegrативных свойств поверхности материалов для костных имплантатов.

### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

### ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования России. Соглашение № 14.579.21.0157. Уникальный идентификатор ПНИЭР RFMEFI57918X0157.

### ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Статья публикуется по итогам Шестого Междисциплинарного научного форума с международным участием “Новые материалы и перспективные технологии”, Москва, 23–26 ноября 2020 г., <https://n-materials.ru>.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Titanium alloys – Towards achieving enhanced properties for diversified applications / Ed. Nurul Amin A.K.M. Rijeka: InTech, 2012. 238 p. ISBN: 978-953-51-0354-7
2. Chen Q., Thouas G.A. // Mater. Sci. Eng., R. 2015. V. 87. P. 1. <https://doi.org/10.1016/j.mser.2014.10.001>
3. Balazic M., Kopac J., Jackson M.J., Ahmed W. // Int. J. Nano and Biomater. 2007. V. 1. № 1. P. 3. <https://doi.org/10.1504/IJNBVM.2007.016517>

4. *Liua X., Chub P.K., Ding Ch.* // Mater. Sci. Eng., R. 2004. V. 47. P. 49.  
<https://doi.org/10.1016/j.mser.2004.11.001>
5. *Yang H., Yu M., Wang R. et al.* // Acta Biomater. 2020. V. 116. P. 400.  
<https://doi.org/10.1016/j.actbio.2020.09.005>
6. *Gittens R.A., Scheideler L., Rupp F. et al.* // Acta Biomater. 2014. V. 10. P. 2907.  
<https://doi.org/10.1016/j.actbio.2014.03.032>
7. *Morra M., Cassinelli C., Cascardo G. et al.* // J. Biomed. Mater. Res. A. 2011. V. 96. P. 449.  
<https://doi.org/10.1002/jbm.a.32948>
8. *Pullisaar H., Tiainen H., Landin M.A. et al.* // J. Tissue Eng. 2013.  
<https://doi.org/10.1177/2041731413515670>
9. *Papynov E.K., Shichalin O.O., Buravlev I.Yu. et al.* // Russ. J. Inorg. Chem. 2020. V. 65. № 2. P. 263.  
<https://doi.org/10.1134/S0036023620020138>
10. *Zhao G., Schwartz Z., Wieland M. et al.* // J. Biomed. Mater. Res. A. 2005. V. 74. P. 49.  
<https://doi.org/10.1002/jbm.a.30320>
11. *Karazis D., Petronis S., Agheli H. et al.* // Acta Biomater. 2017. V. 53. P. 559.  
<https://doi.org/10.1016/j.actbio.2017.02.026>
12. *Herrero-Climent M., Lázaro P., Vicente Rios J. et al.* // J. Mater. Sci. Mater. Med. 2013. V. 24. P. 2047.  
<https://doi.org/10.1007/s10856-013-4935-0>
13. *Souza J.C.M., Sordi M.B., Kanazawa M. et al.* // Acta Biomater. 2019. V. 94. P. 112.  
<https://doi.org/10.1016/j.actbio.2019.05.045>
14. *Webster T.J., Ejiogor J.U.* // Biomaterials. 2004. V. 25. P. 4731.  
<https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2003.12.002>
15. *Liu H., Webster T.J.* // Biomaterials. 2007. V. 28. P. 354.  
<https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2006.08.049>
16. *Tang D., Yang L.Y., Ou K.L. et al.* // Front. Bioeng. Biotechnol. 2017. V. 5. P. 77.  
<https://doi.org/10.3389/fbioe.2017.00077>
17. *Chrcanovic B.R., Martins M.D.* // Materials Res. 2014. V. 17. № 2. P. 373.  
<https://doi.org/10.1590/S1516-14392014005000042>
18. *Lan G., Li M., Tan Y. et al.* // J. Mater. Sci. Technol. 2015. V. 31. P. 182.  
<https://doi.org/10.1016/j.jmst.2014.08.007>
19. *Huang Y., Zha G., Luo Q. et al.* // Sci. Rep. 2014. № 4. P. 6172.  
<https://doi.org/10.1038/srep06172>
20. *Priyadarshini B., Rama M., Vijayalakshmi C. et al.* // J. Asian Cer. Soc. 2019. V. 7. № 4. P. 397.  
<https://doi.org/10.1080/21870764.2019.1669861>
21. *Grishchenko D.N., Slobodyuk A.B., Kuryavyi V.G. et al.* // Russ. J. Inorg. Chem. 2020. V. 65. № 10. P. 1606.  
<https://doi.org/10.1134/S0036023620100083>
22. *Asri R.I.M., Harun W.S.W., Samykano M. et al.* // Mater. Sci. Eng. C. 2017. V. 77. P. 1261.  
<https://doi.org/10.1016/j.msec.2017.04.102>
23. *Ieshkin A., Ermakov Y., Chernysh V. et al.* // Nucl. Instrum. Methods. A. 2015. V. 795. P. 395.  
<https://doi.org/10.1016/j.nima.2015.06.026>
24. *Yamada I.* // Curr. Opin. Solid. State Mater. Sci. 2015. V. 19. P. 12.  
<https://doi.org/10.1016/j.cossms.2014.11.002>
25. *Kirkpatrick A., Kirkpatrick S., Walsh M. et al.* // Nucl. Instrum. Methods, B. 2013. V. 307. P. 281.  
<https://doi.org/10.1016/j.nimb.2012.11.084>
26. *De Vido M., Ertel K., Jonathan Ph.P. et al.* // Optic. Mater. Expr. 2017. V. 7. № 9. P. 3303.  
<https://doi.org/10.1364/OME.7.003303>