

О.В. Саввова, О.І. Фесенко, Г.К. Воронов, М.В. Карбазін

ВЗАЄМОЗВ'ЯЗОК СТРУКТУРНИХ ПАРАМЕТРІВ ПОВЕРХНІ КАЛЬЦІЙФОСФАТОСИЛКАТНИХ ПОКРИТТІВ НА СПЛАВАХ ТИТАНУ З ЇХНЬОЮ БІОЛОГІЧНОЮ АКТИВНІСТЮ

Харківський національний університет міського господарства ім. О.М. Бекетова
вул. Маршала Бажанова, 17, Харків, 61002, Україна, E-mail: fesenco_alex@ukr.net

Метою даної роботи є встановлення взаємозв'язку структурних параметрів поверхні кальційфосфатосилікатних покриттів на сплавах титану з їх біоактивністю.

Структуру матеріалу вивчали за допомогою петрографічного (мікроскоп Mi-2e) та рентгенофазового (ДРОН-3М) методів аналізу. Розчинність та біоактивність покриттів оцінювали в дистильованій воді (ГОСТ Р 31576-2012) та розчинах: модельній рідині організму (МРО) (ISO 23317:2012) і 10 % розчині альбуміну. Вільну енергію поверхні визначали методом Оуенса-Вендета-Ребел-Каєбле. Мікрорельєф поверхні покриттів оцінювали за середнім арифметичним відхиленням профілю R_a (Surtronic 3+ profilometer). Структуру поверхневого шару досліджували рентгенофлуоресцентним (спектрометр-аналізатор «СПРУТ») і рентгеноспектральним (скануючий електронний мікроскоп РЕМ Tesla 3 LMU та енергодисперсійний спектрометр Oxford X-max 80 mm) методами. Поведінку стовбурових клітин на поверхні покриттів оцінювали методом флуоресцентної мікроскопії (Carl Zeiss Axio Observer Z1).

Обрано критерії одержання біосумісних склокристалічних покриттів по титану та зварено вихідні модельні стекла. За шлікерною технологією нанесення в умовах короткотривалої низькотемпературної термічної обробки синтезовано склокристалічні покриття по титану. Встановлено, що модельні стекла, після термообробки, характеризуються перебігом об'ємної тонкодисперсної (кристали розміром менше 1 мкм) кристалізації фосфатів кальцію – ГАП і ФАП ($\Sigma \approx 24\div 44$ об. %). Підтверджено можливість мимовільної адсорбції протейнів на поверхні покриттів завдяки забезпеченню параметрів покриття: ВЕП ≈ 65 мДж/м², $R_a \approx 3.5$ мкм і наявності наскрізних пор діаметром $10\div 100$ мкм.

Досліджено зміни структури і складу поверхні покриттів після витримки в МРО впродовж 1 місяця. Встановлено що забезпечення для даних модельних стекел комплексу показників, а саме: розчинність в дистильованій воді (30 днів) – 0.89 мас. %; вихід іонів Ca^{2+} – 0.26 мас. % та груп $[PO_4]^{3-}$ – 0.162 мас. %, рН ~ 7.3 , є достатнім для формування прекурсорів гідроксиапатиту на поверхні покриттів *in vitro*. Встановлено поступове зміцнення (наростання) поверхневих шарів покриття (за рахунок розчинення покриття і осадження компонентів МРО) в межах до 6.7 мкм і формування апатитоподібного шару за 28 днів витримки. Зазначені структурні та хімічні перетворення поверхні склокристалічного покриття дозволять сформувати міцний апатитоподібний шар протягом 35 днів в умовах *in vitro*. Утворення даного шару створює умови для збільшення площі розпластування мезенхімальних стовбурових клітин на поверхні покриттів і дає можливість їх використання при створенні біоінженерних конструкцій зі стовбуровими клітинами (*in vivo*).

Ключові слова: поверхня, кальційфосфатосилікатні покриття, структурні параметри, апатитоподібний шар

ВСТУП

В рамках підвищення соціальних норм значно зросла необхідність створення нових видів склокомпозиційних матеріалів та покриттів медичного призначення, зокрема, таких, що характеризуються біоактивністю та нетоксичністю. Особливо гостро ця проблема постає у розрізі практичного застосування біоактивних матеріалів та покриттів для

кісткового ендопротезування зі скороченими термінами зрощування з кісткою. Численними дослідженнями, в тому числі авторами [1, 2], встановлена ефективність використання як імплантатів для заміщення кісткових дефектів резорбуючих кальційсилікофосфатних склокристалічних матеріалів і покриттів. Зважаючи на необхідність підвищення ефективності лікування, а також значного зниження

тривалості реабілітаційного періоду пацієнтів після імплантації, термін зрощування біоактивних матеріалів з кісткою повинен бути суттєво скорочений. Звертає на себе увагу той факт, що напрямки розробки та впровадження вказаних матеріалів для дентальної імплантології пов'язані зі зростаючою необхідністю відновлення й заміни зубів та тканин пародонту, і, як наслідок, значними обсягами виробництва сучасних ефективних ендопротезів [3].

Однак більшість відомих склокристалічних матеріалів для заміщуючої хірургії характеризуються тривалими термінами зрощування з кісткою (від 0.5 до 1 року) і утворенням механічно нестабільного зв'язку імплантатів, на основі даних видів матеріалів, з прилеглими тканинами в процесі експлуатації [4, 5]. Використання відомого біокомпозиту «Синтекість», для якого повна резорбція може бути досягнута впродовж 4÷6 тижнів [6], обмежується багато-стадійністю процесу його одержання та нестабільністю термічного коефіцієнта лінійного розширення (ТКЛР) при його нанесенні на сплави титану.

Рішенням цієї проблеми є створення резорбційних біосумісних кальційфосфато-силікатних склокристалічних покриттів по титану в умовах одностадійної короткотривалої низькотемпературної термічної обробки з визначеними механічними властивостями та значним рівнем їхньої біоактивності, що і визначає актуальність даної роботи.

Одним з важливих аспектів використання склокристалічних покриттів по титану як штучних замінників фрагментів кісткової структури пародонта є забезпечення їхньої біологічної активності відносно кісткоутворюючих клітин [7].

Ключовим питанням теорії біосумісності неорганічних матеріалів є виявлення характеру їхньої поведінки в живому організмі [4]. У результаті узагальнення проведених на сьогоднішній день досліджень в галузі розробок біосумісних матеріалів були сформульовані основні умови прояву біоактивності, а саме:

– необхідність утворення на поверхні матеріалу перехідної аморфно-кристалічної зони, що включає полікристалічний

кальційфосфатний шар з апатитоподібною структурою, близькою до структури кісткового гідроксиапатиту;

– перебіг на поверхні матеріалу біохімічних процесів за участю колагену, протеїнів, пектинів, макрофагів, що обумовлюють остеогенез в перехідній зоні.

Обробка біоактивних склокристалічних матеріалів у фізіологічних розчинах та середовищах, що імітують плазму крові, приводить, поряд з фізико-хімічними процесами гідролізу та конденсації, до осадження на їхній поверхні різних сполук і кристалізації апатитоподібних структур. В утворенні цих сполук і рості кристалів беруть участь як компоненти матеріалу, що перейшли в розчин, так і компоненти самого розчину. Силікатні матеріали гідролізуються з утворенням гелевидного високо-кремнеземистого шару, насиченого групами –ОН. Цей шар відіграє важливу роль у механізмі апатитоутворення на поверхні матеріалів. Вважають, що структурні елементи $\equiv\text{Si}-\text{OH}$ забезпечують місця для гетерогенного зародкоутворення кристалів апатиту. Підтвердженням цього є той факт, що при обробці в штучній плазмі різних матеріалів виникнення кристалів апатиту спостерігається, головним чином, при наявності в складі матеріалу кремнезему в зв'язаному (скло) або вільному (кремнеземний гель) стані. При цьому швидкість спонтанного хімічного розчинення матеріалу, що супроводжується супернасиченням матриксу кальцій-фосфатними іонами, не повинна перевищувати швидкість репреципітації біологічного апатиту на поверхні імплантату.

Для забезпечення безпосереднього контакту і функціонального зв'язку між імплантатом і кісткою необхідно забезпечити перебіг процесу мимовільної адсорбції протеїнів та адгезії кісткоутворюючих клітин. Перебіг цих процесів на поверхні біосумісних матеріалів, головним чином, залежить від її хімічного складу (зокрема, співвідношення Ca:P та вмісту SiO_2), морфології (шорсткості поверхні R_a , поруватості та ін.) і вільної енергії поверхні (ВЕП) [5]. Домінуючим фактором для адгезії кісткових клітин є ВЕП [3], оскільки змочування поверхні, яке обумовлює ступінь контакту з фізіологічним середовищем, багато в чому залежить від

поверхневої енергії [1]. Забезпечення для склокристалічних матеріалів і покриттів необхідних значень заданих показників ($Ca:P = 1.0 \div 2.2$, $SiO_2 \approx 50$ мас. % [5, 8], $R_a \approx 1 \div 10$ мкм [3], $ВЕР \approx 50 \div 120$ мДж/м² [9]) дозволить створити умови для утворення на їхній поверхні апатитоподібного шару, який характеризується наявністю попередника гідроксиапатиту – аморфного фосфату кальцію (АФК), а також проростанням клітин біоструктур в матеріал в умовах живого організму. Слід зазначити, що адгезія протеїнів багато в чому залежить від заряду поверхні біоматеріалу та його діелектричних і електропровідних властивостей. Наявність негативного заряду на поверхні біоматеріалу, наприклад скла, сприяє закріпленню на них клітинних мембран за рахунок електростатичних сил [10].

Остеоіндуктивні властивості кальційфосфатних матеріалів визначаються численними фізико-хімічними і структурними параметрами, такими як розмір, форма, величина пор, хімічний склад, поверхнева мікроструктура біоматеріалу та ін. [11]. Поява нової кісткової тканини, як і її розростання (остеокондукція) на поверхні імплантату, виявляється можливою, коли забезпечується значна площа поверхні контакту біологічних рідин і імплантату, тобто при достатній (≥ 30 %) пористості останнього. Матеріал повинен мати розмір пор, близький до розміру остеонів – структурно-функціональних одиниць природної кістки, тобто $80 \div 300$ мкм. Це має велике значення для імплантатів, які виконують функцію заміни кістки, для забезпечення швидкого і міцного зв'язку з живою кісткою.

Ці закономірності і послужили основою при створенні нового типу біоактивних покриттів по сплавам титану з регульованими термінами резорбції і можливістю формування міцного апатитоподібного шару на їхній поверхні в скорочені терміни.

ПОСТАНОВКА ЗАДАЧІ ТА МЕТОДИКА ДОСЛІДЖЕННЯ

Метою роботи є встановлення взаємозв'язку структурних параметрів поверхні кальційфосфатосилікатних покриттів на сплавах титану з їхньою біологічною активністю.

Оцінку кристалізаційної здатності проводили методами петрографічного (мікроскоп Мі-2е) та рентгенофазового (дифрактометр ДРОН-3М) аналізу склокристалічних покриттів.

Розчинність матеріалів визначали у дистильованій воді (ДВ) за ГОСТ Р 31576-2012. Оцінку біологічної дії матеріалів проводили в модельній рідині організму (МРО) (ISO 23317:2012). Вміст іонів у розчинах визначали на полум'яному фотометрі ПФМ-УЧ.І та фотокolorиметрі КФК-2.

Структуру поверхневого шару досліджували за допомогою взаємодоповнюючих методів фізико-хімічного аналізу: рентгенофлуоресцентного (спектрометр-аналізатор «СПРУТ») вглиб від поверхні на ≈ 1 мкм, рентгеноспектрального (скануючий електронний мікроскоп РЕМ Tesla 3 LMU з роздільною здатністю 1 нм з використанням енергодисперсійного спектрометра Oxford X-max 80 mm) вглиб від поверхні на $1.7 \div 15.0$ мкм.

Оцінку поверхневої енергії дослідних покриттів здійснювали непрямим методом, запропонованим Оуенсом–Вендтом–Рабелем–Каелбле [12] за крайовим кутом змочування поверхні зразків полярними (дистильована вода, бензиловий спирт, формамід) та неполярними (толуол, гліцерин, етиленгліколь) рідинами. Для встановлення можливості перебігу процесу адсорбції органічної складової плазми людини дослідні покриття витримували впродовж 16 год та 3 діб в 10 % розчині альбуміну, який характеризується значним вмістом гідрофільних груп –ОН, –СООН, –NH₂. Мікрорельєф поверхні покриттів оцінювали за середнім арифметичним відхиленням профілю R_a та вивчали за допомогою профілографа типу Surtronic 3+ profilometer.

Для визначення характеру взаємодії різних матеріалів та мезенхімальних стовбурових клітин використовували клітини 4÷8 пасажу, отримані з кісткового мозку. Стан цитоскелета клітин та ядра при розпластуванні оцінювали за допомогою методу флуоресцентної мікроскопії (Carl Zeiss Axio Observer Z1) через 48 год після пересіву. Швидкість проліферації культури визначали як відношення кількості клітин, знятих через 1, 3, 6 і 7 діб культивування, до

кількості посіяних. Дослідження проводили на базі Інституту проблем кріобіології і кріомедицини НАН України (м. Харків).

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

Вибір критеріїв для розробки біосумісних склокристалічних покриттів. Синтез біосумісних склокристалічних покриттів проводять на основі кальцій-фосфатосилікатних стекел з високою реакційною здатністю, біоактивність яких визначається:

- рівнем розчинності стекел при $f_{Si} < 0.32$;
- наявністю тонкодисперсної об'ємної кристалізації фосфатів кальцію з розміром кристалів до 1 мкм при співвідношенні $CaO:P_2O_5$ 1.2÷1.67 у складі стекел.

Для склокристалічних покриттів визначальним фактором прояву їхньої біоактивності є:

- забезпечення показників ВЕП ≥ 60.0 мДж/м² для забезпечення адсорбції протеїнів;
- перебіг поверхневої кристалізації в покритті з наявністю кристалів фосфатів кальцію розміром 1.0÷3.0 мкм для забезпечення відповідної мікросорсткості в межах $R_a = 3.5\div 4.0$ мкм для досягнення максимального прояву біоактивності [12].

Вибір системи, розробка модельних стекел та покриттів на їхній основі. З урахуванням обраних критеріїв до

склокристалічних покриттів для дентальної імплантології було обрано вихідну систему $R_2O - RO - CaF_2 - R_2O_3 - P_2O_5 - SiO_2$, де $R_2O - Na_2O, K_2O, Li_2O$; $RO - CaO, ZnO$; $R_2O_3 - B_2O_3, Al_2O_3$. Для кристалізації біоактивних фаз гідроксиапатиту (ГАП) і фторапатиту (ФАП) в області визначених концентраційних меж обрано модельні стекла серії FAR зі співвідношенням фазоутворюючих компонентів $CaO/P_2O_5 = 1.2\div 1.67$ та вмістом $CaF_2 = 1.54\div 6.78$ мас. %. Для підвищення ступеня дисперсності кристалічної фази до складу стекел поряд з флюоритом вводили каталізатор кристалізації ZnO (табл. 1).

Стекла були зварені в корундових тиглях у силітової печі при 1200÷1300 °С з наступним охолодженням на металевому листі. Помел фрити проводили в шаровому млині впродовж двох годин до залишку на ситі № 0065 не більше 9 мас. %. Покриття на основі розроблених стекел були отримані за шлікерною технологією. Як оптимальне дисперсійне середовище для отримання бездефектних покриттів обрано 0.2 мас. % розчин ксантанової камеді. Отримані шлікери наносили методом занурення на біоінертний титановий сплав ВТ1-00, після піскоструменевої обробки. Зразки з нанесеними покриттями висушували при 80÷120 °С та випалювали при температурі 700÷780 °С впродовж 1.0÷1.5 хв.

Таблиця 1. Хімічний склад модельних стекел, кристалічні фази, які утворюються після їх варки та термічної обробки та технологічні параметри одержання покриттів

Маркування	Хімічний склад модельних стекел, мас. %						Вміст кристалічної фази в стеклах, об. %		Технологічні параметри		Вміст кристалічної фази в покриттях, об. %	
	Фазоутворюючі компоненти		Каталізатори кристалізації		Співвідношення RO:P ₂ O ₅	ГАП	ФАП	Температура, °С		фаз в покриттях		
	CaO	P ₂ O ₅	SiO ₂	ZnO				CaF ₂	варки	обробки	ГАП	ФАП
FAR-1	9.40	5.60	42.50	4.53	6.78	2.48	0	0	1200	700	24	1
FAR-2	9.40	5.60	50.00	1.02	1.54	1.85	18	1	1300	760	33	2
FAR-3	16.30	9.80	42.50	1.38	2.08	1.81	17	1	1350	720	32	3
FAR-4	9.40	5.60	46.30	2.77	4.17	2.16	13	2	1300	720	26	2
FAR-5	12.80	7.70	46.30	1.20	1.81	1.83	12	2	1300	750	37	3
FAR-6	12.80	7.70	42.50	2.95	4.44	2.05	15	2	1300	740	40	4
FAR-5.1	9.39	7.74	38.98	1.21	5.35	1.37	5	5**	1250	780	20	10*+15**
FAR-5.2	9.29	7.73	44.61	1.21	5.34	1.36	13	3	1250	760	32	3
FAR-5.3	9.14	6.53	44.61	5.56	5.34	2.25	14	2	1250	760	37	3

*флюорит; ** куспідин

Дослідження здатності та розчинності дослідних покриттів. кристалізаційної. За даними рентгенофазового та петрографічного методів аналізу встановлено, що після випалу для покриттів серії FAR характерним є перебіг об'ємної кристалізації з утворенням та ростом основних фаз ГАП та ФАП в межах 24÷44 об. % з розміром кристалів близько 1 мкм.

Характерною особливістю дослідних покриттів серії FAR є їх значна розчинність у дистильованій воді. Це пов'язано з їхньою високою реакційною здатністю ($f_{Si} < 0.32$) [13], яка визначається незначним вмістом резистивних кристалічних фаз ГАП та ФАП і вмістом резорбційної фосфатосилікатної склофази (табл. 2).

Вихід іонів кальцію та фосфатних груп після витримки дослідних покриттів у ДВ визначається, значною мірою, структурою і

складом залишкової склофази, вміст якої в дослідних покриттях складає 55÷75 об. %. Так, для покриттів FAR-1, FAR-2, FAR-3 та FAR-4 зі знизженими показниками водостійкості вміст іонів Ca^{2+} та фосфатних груп є вищим у порівнянні з покриттями FAR-5 та FAR-6. Високий вміст іонів кальцію після доби витримки для покриттів FAR-1, FAR-2, FAR-3 та FAR-4, при порівнянні з покриттями FAR-5 та FAR-6 має суттєвий вплив на зменшення виходу фосфатних груп у розчин після 30 діб витримки (табл. 2). Це може негативно позначитися на формуванні апатитоподібного шару на поверхні дослідних покриттів FAR-1, FAR-2, FAR-3 та FAR-4. Оптимальний вихід фосфатних груп у ДВ після тридцяти діб витримки покриттів FAR-5 та FAR-6 при співвідношенні $RO/P_2O_5 = 1.83$ та 2.05 відповідно забезпечує показник $pH \sim 7.3$, що є необхідним для формування апатитоподібного шару.

Таблиця 2. Розрахунковий ступінь зв'язності кремнекисневого каркасу, втрати маси та вилуговування у дистильованій воді

Показники	Маркування стекел							
	FAR-1	FAR-2	FAR-3	FAR-4	FAR-5	FAR-6	FAR-5.2	FAR-5.3
Ступінь зв'язності кремнекисневого каркаса скла (f_{Si})	0.270	0.300	0.280	0.280	0.280	0.280	0.280	0.284
Втрати маси у ДВ, мас. % (1 доба)	0.0534	0.0482	0.0529	0.0549	0.0092	0.0085	0.0092	0.0095
Втрати маси у ДВ, мас. % (30 діб)	1.122	0.943	0.949	1.094	0.870	0.635	0.875	0.890
Вихід фосфатних груп у ДВ, мас. % (1 доба)	0.0091	0.0044	0.0034	0.0080	0.0013	0.0012	0.0036	0.0023
Вихід фосфатних груп у ДВ, мас. % (30 діб)	0.204	0.102	0.152	0.163	0.145	0.144	0.153	0.162
Вихід іонів кальцію у ДВ, мас. % (1 доба)	0.018	0.015	0.014	0.0115	0.0052	0.0043	0.0057	0.0032
Вихід іонів кальцію у ДВ, мас. % (30 діб)	0.294	0.169	0.168	0.225	0.143	0.125	0.147	0.126

Оптимальним з точки зору виходу вищезазначених іонів та показнику pH є склад FAR-5. Однак для вказаного покриття вихід фосфатних груп є недостатнім для формування кальційфосфатного шару впродовж 1 місяця. З метою інтенсифікації вказаного процесу було модифіковано склад модельного скла FAR 5 шляхом зниження співвідношення CaO/P_2O_5 від 1.67 до 1.2 (табл. 1, див. FAR-5.1, FAR-5.2, FAR-5.3).

Результати рентгенофазового аналізу розроблених покриттів дозволили встановити, що зразок FAR-5.1 характеризується наявністю куспідину та фториду кальцію, що може негативно позначитися на біосумісності покриття. Для дослідного покриття FAR-5.2 підвищення вмісту оксиду натрію до

8.13 мас. % у порівнянні з покриттям FAR-5.3 ($Na_2O = 5.13$ мас. %) позначилось на зниженні його втрат маси в ДВ (табл. 2). Забезпечення необхідних показників виходу іонів кальцію і фосфатних груп поряд з наявністю ГАП та ФАП у загальній кількості 40 об. % дозволяє використовувати склокристалічне покриття FAR-5.3 для подальших досліджень.

Дослідження хімічного складу та структури поверхні дослідного склокристалічного покриття FAR-5.3 після витримки в модельній рідині організму. Аналіз хімічного складу поверхневого шару вихідного дослідного покриття FAR-5.3, методом рентгенофлуоресцентного аналізу дозволив встановити, що значення співвідношення $Ca/P = 4.57$ відповідає

співвідношенню даних елементів у складі вихідного покриття (рис. 1). Даний показник є визначальним фактором при формуванні апатитоподібного шару *in vitro*. Після витримки в МРО впродовж 7-ми діб даний показник значно знижується (до 1.5), що може вказувати на перебіг процесу кристалізації АФК на поверхні покриття. На 14-ту, 21-шу та 28-му добу наближення співвідношення Са/Р до 1.58÷1.64 вказує на можливість формування осадженого

гідроксиapatиту (ОГА) на поверхні розробленого покриття впродовж вказаного терміну. Після 35 діб співвідношення Са/Р на поверхні покриття дещо зростає і складає 1.67. Даний факт свідчить про те, що кристалізація ГАП на поверхні покриття відбувається не безпосередньо, а через стадії осадження проміжних фаз – прекурсорів нестехіометричного гідроксиapatиту (нГАП), який має співвідношення Са/Р ≤ 1.67 (рис. 1).

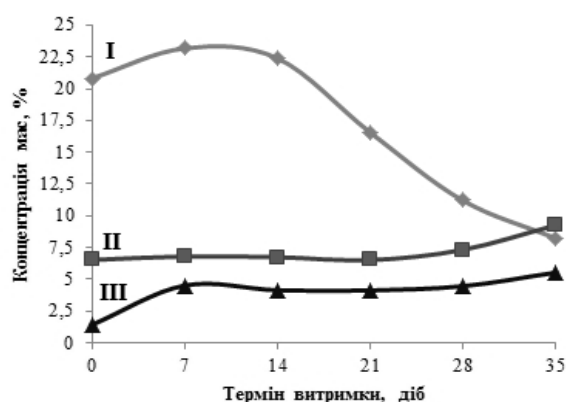


Рис. 1. Розподілення концентрації елементів в поверхневому шарі покриття FAR-5.3 після витримки в модельній рідині організму (I – силіцій, II – кальцій, III – фосфор)

Таблиця 3. Розподіл концентрації елементів на глибину від поверхні покриття FAR-5.3 після витримки в МРО

№ шару	Глибина від поверхні, мкм	Концентрація елементів, мас. %											Співвідношення Са/Р	
		O	F	Na	Mg	Al	Si	P	Cl	K	Ca	Zn		C
після однієї доби витримки														
1	2.1	42.40	1.36	3.12	–	5.47	24.09	3.26	0.14	8.39	7.13	4.64	–	2.19
2	6.3	42.46	1.32	3.97	–	5.44	22.52	2.85	–	10.39	6.35	4.70	–	2.23
3	9.1	42.84	1.38	3.15	–	5.53	22.84	2.38	–	10.79	6.46	4.63	–	2.71
після 14 діб витримки														
1	1.7	43.72	1.56	2.08	0.57	2.09	23.78	5.02	1.77	6.48	7.99	3.94	1.04	1.59
2	6.7	42.77	2.21	3.91	–	4.01	23.74	2.55	0.21	9.14	6.94	4.52	–	2.72
3	15.0	42.65	1.41	2.71	–	5.60	23.21	2.91	–	10.82	6.22	4.47	–	2.14
після 28 діб витримки														
1	1.7	53.92	1.63	0.90	1.28	0.28	13.78	7.44	0.92	2.22	11.73	0.88	5.02	1.56
2	6.7	50.65	1.39	0.96	1.06	1.71	14.56	6.29	1.02	5.17	11.34	1.63	2.17	1.83
3	15.0	43.48	2.40	4.47	–	3.78	23.36	2.69	0.85	8.58	6.22	4.17	–	2.31

Дослідження пошарового розподілу концентрації елементів вглиб від поверхні дослідного покриття після витримки в МРО методом рентгеноспектрального аналізу дозволило встановити наступні особливості розчинення матеріалів. Концентрація елемента

силіцію вглиб від поверхні ≈ 1 мкм покриття складає близько 21.0 мас. %. Після однієї доби витримки на глибину 2.1 мкм від поверхні спостерігається підвищення вмісту силіцію до 21.59 мас. %, що може бути пов'язано з формуванням кремнегелевого шару (гелю)

силікатної кислоти $\text{SiO}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (табл. 3). У даному випадку біоактивність матеріалу реалізується за рахунок того, що негативно заряджені групи поверхні шару силікатної кислоти притягують з навколишнього розчину міжтканинної рідини іони Ca^{2+} . Заряд поверхні стає позитивним, потім на поверхню осаджуються фосфат-іони, що в подальшому призводить до появи та росту шару осадженого гідроксиапатиту. Зміна концентрації силіцію на глибину від поверхні більше 6.3 мкм є практично незмінною і відповідає початковій концентрації елемента у матеріалі. На 14-ту та 28-му добу витримки вміст силіцію як на поверхні покриття так і на глибину 1.7 мкм поступово знижується, що свідчить про формування змішаного кальційсиліко-фосфатного шару на вказаному діапазоні глибин.

Підтвердженням формування на поверхні апатитоподібного покриття є підвищення вмісту фосфору від 1.5 мас. % (рис. 1) до витримки до 3.26 мас. % (табл. 3) після однієї доби витримки на глибину 2.1 мкм. Для кальцію, навпаки, спостерігається незначне зниження цього показника від поверхневого шару (6.53 мас. %) і на глибину 2.1 мкм (7.13 мас. %). Після 14 та 28 діб витримки концентрація фосфору значно зростає як на поверхні покриття, так і вглиб на 1.7 мкм. Для елемента кальцію при його розподіленні на глибину 1.7 мкм спостерігається підвищення його концентрації на 14-ту добу

до 7.99 мас. % та на 28-му добу до 14.73 мас. % при порівнянні з початковою концентрацією у поверхневому шарі. Концентрація фосфору і кальцію на глибині від поверхні ≥ 6.3 мкм після однієї та на глибину ≥ 15 мкм на 14 та 28 доби витримки є практично незмінною та нижчою, аніж у поверхневому шарі вихідного покриття. Це може вказувати на те, що на поверхні зразка має місце поверхнева кристалізація фосфатів кальцію, у результаті якої відбувається накопичення вказаних елементів на поверхні. Винятково важливим є ріст вмісту кальцію та фосфору на глибину до 6.7 мкм після 28 діб витримки. Це вказує на можливість завершення процесів формування апатитоподібного шару на поверхні склокристалічного покриття. Включення до поверхневого шару на 14-ту та 28-му добу витримки елемента вуглецю може бути свідченням формування груп $[\text{CO}_3]^{2-}$, які є складовою тканин зуба.

Підсумовуючи отримані дані (рис. 1, табл. 3), можна зробити висновок про поступове зміщення поверхневих шарів покриття в межах 6.7 мкм за 28 діб витримки в МРО.

Важливим фактором підтвердження формування апатитоподібного шару на поверхні дослідного покриття після витримки у МРО є різка зміна співвідношення Ca:P та Si:Ca:P за перші сім діб – період інтенсивної резорбції поверхні матеріалу (табл. 4).

Таблиця 4. Зміна співвідношення Ca:P та Si:Ca:P на поверхні покриття FAR-5.3 після витримки у МРО

Співвідношення	Термін витримки, доба					
	0	7	14	21	28	35
Ca/P	4.57	1.50	1.63	1.58	1.64	1.67
Si:Ca:P	1.0:0.31:0.07	1.0:0.29:0.19	1.0:0.30:0.19	1.0:0.39:0.25	1.0:0.65:0.4	1.0:1.12:0.67

Після 14-ої та 21-ої доби витримки на поверхні дослідного покриття концентрація кальцію та фосфору по черзі поступово збільшується. У результаті цього процесу формується надлишок груп $[\text{HPO}_4]^{2-}$, які адсорбовані поверхнею. Це призводить до росту співвідношення $\text{Ca:P} = 1.64$ на поверхні склокристалічного покриття FAR-5.3 після 28 діб витримки в МРО. У даному випадку спостерігається формування кальційдефіцитного ГАП, який являє серію твердих

розчинів, де групи $[\text{HPO}_4]^{2-}$ заміщені групами $[\text{PO}_4]^{2-}$. Підвищення ступеня стехіометричності кальційдефіцитного ГАП відбувається за рахунок іммобілізації з розчину іонів кальцію та призводить до формування ГАП зі співвідношенням $\text{Ca:P} \approx 1.67$. Формування апатитоподібного шару на основі нГАП на поверхні матеріалів відбувається при забезпеченні $\text{pH} = 7 \div 11$ до моменту, коли Ca:P досягає 1.71, за наступною реакцією [11]:

АФК(Ca/P = 1.0) → ОКФ(Ca/P = 1.33) →
нГАП(Ca/P < 1.67) → ГАП(Ca/P = 1.67÷1.71)

Вказаний механізм реалізується вже в перші години витримки в МРО покриття FAR-5.3 шляхом гідролізу з утворенням зв'язків $\equiv\text{Si}-\text{OH}$ та наступною поліконденсацією $\equiv\text{Si}-\text{OH} + \text{HO}-\text{Si}\equiv \rightarrow \equiv\text{Si}-\text{O}-\text{Si}\equiv + \text{H}_2\text{O}$. Формування тонкого гелеподібного шару (гелю) силіцевої кислоти у вигляді сфер на поверхні дослідного покриття (рис. 2 а І) впродовж однієї доби є важливим проявом біоактивності матеріалів. Відомо, що на стадії синтезу колагенових волокон і на початкових стадіях біомінералізації кістки силіцій асоціюється з кальцієм, ініціюючи процес осадження кісткових мінералів. Силіцій є важливим «перехідним» елементом в процесах формування і розвитку хрящових і кісткових структур [14]. Додатковим чинником забезпечення адсорбції катіонів Ca^{2+} та груп $[\text{PO}_4]^{3-}$, $[\text{CO}_3]^{2-}$ на поверхні

дослідного матеріалу є наявність груп OH^- , характерних для кристалів ГАП (рис. 2 а ІІ).

Прискорене формування апатитоподібного шару на поверхні дослідного покриття також пов'язане з його розвиненою поверхнею з великими порами і кавернами, що утворилися на місці більш розчинних іоногенних ділянок склофази. Такий характер структури поверхні покриття сприяє інтенсивній адсорбції біологічно активних речовин апатитовим шаром. На стінках пор спостерігається ріст голковидних кристалів гідроксиапатиту (рис. 2 б І) розміром 0.5÷1.0 мкм та їх сполучення у сноповидні агрегати (рис. 2 б ІІ). Після витримки покриття впродовж 35 діб спостерігається ріст кристалів гідроксиапатиту на поверхні (рис. 2 в І). Нуклеатором даного процесу також є кристалічний гідроксиапатит, що виступає на поверхню покриття після короткотривалої низькотемпературної термічної обробки (рис. 2 в ІІ). Формування щільного кортикального шару пов'язано з наявністю у структурі вихідного матеріалу наскрізних пор розміром 10÷100 мкм (рис. 2 з).

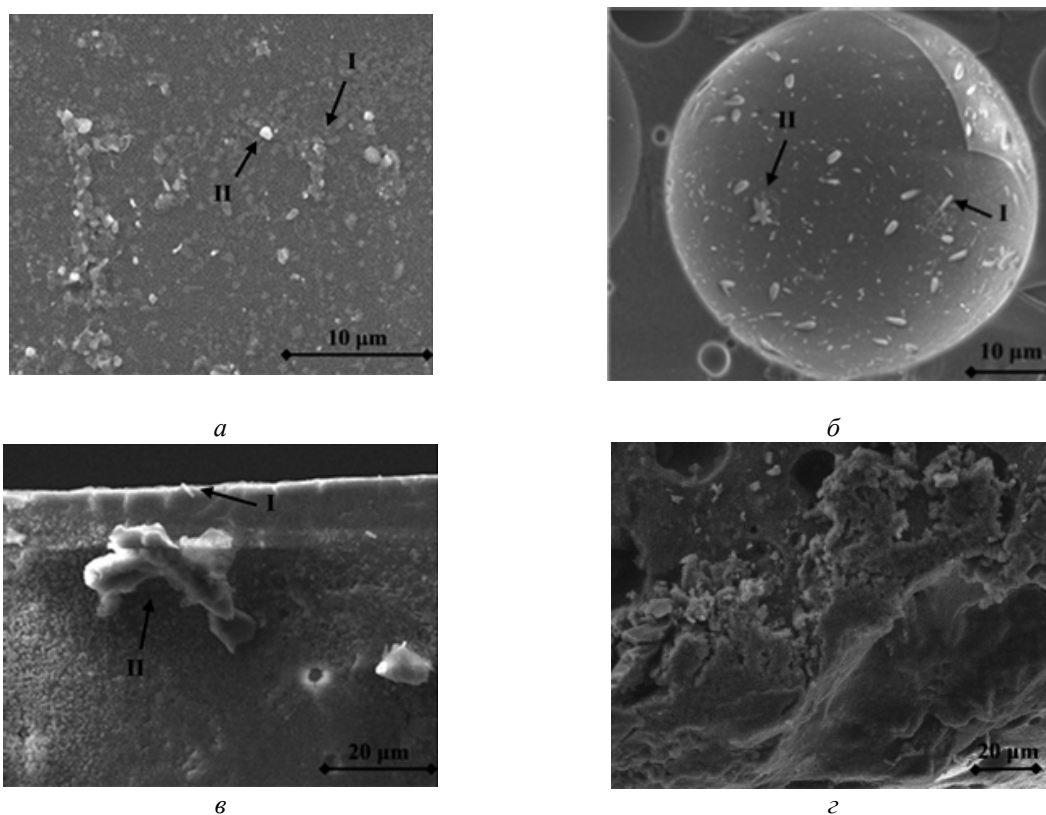


Рис. 2. Структура дослідного покриття FAR-5.3 після витримки в модельній рідині організму впродовж: а, б – однієї доби; в, з – 35 діб

Дослідження зміни вільної енергії поверхні покриття FAR-5.3 при взаємодії з альбуміном. Основними характеристиками адсорбуючої поверхні покриття FAR-5.3, як склокристалічного матеріалу є його енергетичні (в простому випадку, ступінь гідрофобності або гідрофільності) та електрохімічні властивості. Наявність поверхневого заряду призводить до електростатичної взаємодії між зарядженою поверхнею і зарядженими ділянками молекули протеїну. Стимулювання процесу адсорбції протеїнів на поверхні дослідного склокристалічного покриття відбувається за рахунок забезпечення, зокрема, значень $f_{Si} = 0.284$. Це створює можливість росту загального значення ВЕП поверхні до 62.13 мДж/м^2 за рахунок підвищення частки електростатичної компоненти хімічного зв'язку у скломатеріалі.

Після витримки дослідного покриття FAR-5.3 в розчині альбуміну впродовж 16-ти год та 3-х діб встановлено, що загальне значення ВЕП поверхні зростає до 64.31 та 64.82 мДж/м^2 відповідно. Це може свідчити про можливість перебігу процесів остеоінтеграції на поверхні дослідного покриття із залученням основного транспортного протеїну крові – альбуміну. Забезпечення вказаного значення ВЕП та мікросорсткості поверхні розробленого покриття $R_a \approx 3.5 \text{ мкм}$ визначає роботу утворення зародків нової фази на межі поділу та вільну енергію активації процесу фазового перетворення в процесі кристалізації апатитоподібного шару.

Дослідження характеру адгезії клітин-попередників при їх культивуванні на поверхні дослідного склокристалічного покриття. При культивуванні мезенхімальних стовбурових клітин (МСК) кісткового мозку (КМ), на пластику морфологія клітин представлена полігональною, ветереноподібною і фібробластоподібною формами з рівномірним просторовим розташуванням філаментів актинового цитоскелета по об'єму цитоплазми (індекс форми 0.43 ± 0.14) (рис. 3 а, 3 б), а форма МСК КМ при їхній взаємодії з дослідним покриттям є полігональні і веретеноподібні форми з численними відростками (індекс форми 0.50 ± 0.12) (рис. 3 в). При цьому пучки мікрофіламентів актинового цитоскелета мають рівномірну просторову організацію (рис. 3). Слід зазначити, що на поверхні зразка FAR-5.3 спостерігається підвищення значення площі розпластування клітин (рис. 4). Цей показник є вищим, ніж таким для раніше розроблених авторами [15] біоактивних склокристалічних матеріалів та покриттів для кісткового ендопротезування.

Цей факт може бути обумовлений високою розчинністю скломатриці покриття та утворенням стабільних зародків кристалів гідроксиапатиту при формуванні апатитоподібного шару ($\text{Ca/P} < 1.67$). Отже, можна зробити висновок, що при застосуванні дослідного покриття FAR-5.3 в дентальній імплантології можна очікувати прогресивної динаміки репараційних процесів.

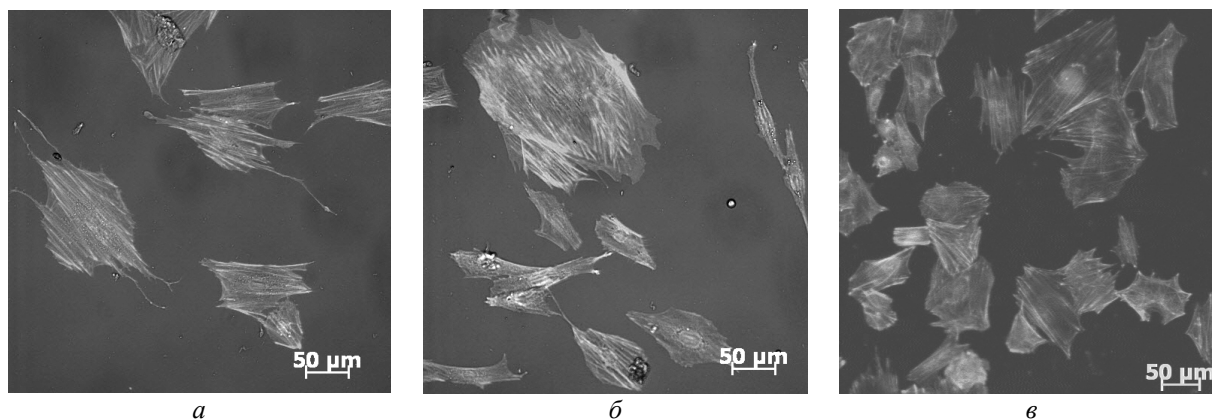


Рис. 3. Мікрофотографії поверхні контрольного зразка (а, б), та дослідного зразка FAR-5.3 (в) після взаємодії з мезенхімальними стовбуровими клітинами кісткового мозку

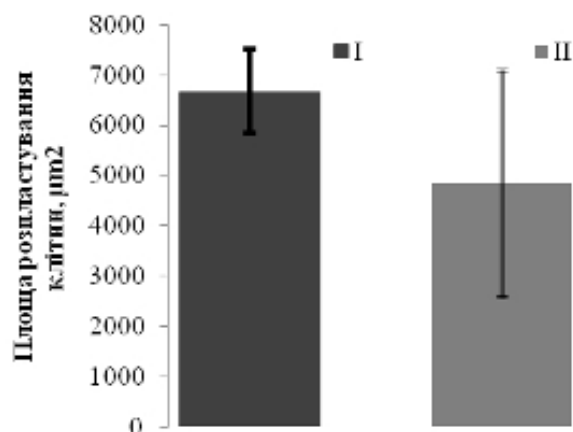


Рис. 4. Площа росту клітин дослідного склокристалічного покриття FAR-5.3 (I) та контрольного зразка (II)

ВИСНОВКИ

Обрано критерії до властивостей та обґрунтовано вибір системи $R_2O - RO - CaF_2 - R_2O_3 - P_2O_5 - SiO_2$ для одержання склокристалічних покриттів по сплавах титану для дентального ендопротезування. Синтезовано кальційсилікофосфатні стекла та на їхній основі отримано склокристалічні покриття на титані за шлікерною технологією нанесення в умовах низькотемпературної короткотривалої термічної обробки.

Встановлено параметри формування прекурсорів ГАП, а саме: розчинність в дистильованій воді (30 днів) – 0.89 мас. %; вихід іонів Ca^{2+} – 0.26 мас. % та груп $[PO_4]^{3-}$ – 0.162 мас. % та $pH \sim 7.3$, при забезпеченні співвідношення $CaO/P_2O_5 = 1.2$.

Досліджено закономірності утворення перехідної структури на поверхні і елементного складу на поверхні розробленого склокристалічного покриття, які полягають у поступовому формуванні кальційфосфатосилікатного шару зі збільшенням співвідношення Ca/P від 4.57 (0 діб) до 1.64 (28 діб) та 1.67 (35 діб). Це

дозволяє створити умови для збільшення площі розпластування мезенхімальних стовбурових клітин на поверхні покриттів, що є одним із факторів зменшення терміну зрощування імплантату з кістковою тканиною.

Встановлена можливість адсорбції протеїнів, проростання і закріплення остеобластів на поверхні розробленого покриття для досягнення міцного шару зчеплення імплантату з кісткою завдяки забезпеченню, зокрема, ВЕП ≈ 65 мДж/м² і $R_a \approx 3.5$ мкм та наявністю наскрізних пор діаметром $10 \div 100$ мкм.

Оцінка стану актинового цитоскелета при розпластуванні і динаміки проліферації клітин-попередників МСК 4-8 пасажу при їх культивуванні на склокристалічному покритті дозволила встановити можливість їх використання при створенні біоінженерної конструкції зі стовбуровими клітинами.

Розроблене склокристалічне покриття на титані може бути рекомендовано для використання при розробці біоактивних дентальних імплантатів.

Relationship of structural parameters of surface of calcium phosphate silicate coatings on titanium alloys with their biological activity

O.V. Savvova, O.I. Fesenko, H.K. Voronov, M.V. Karbazin

O.M. Beketov National University of Urban Economy in Kharkiv
17 Marshala Bazhanova Str., Kharkiv, 61002, Ukraine, fesenco_alex@ukr.net

The aim of the research is the development of compositions and technology for obtaining bioactive glass-ceramic calcium phosphate-silicate coatings on titanium for dental prosthetics, to find the relationship between the structural parameters of the calcium phosphate-silicate coatings surface on titanium with their bioactivity.

The structure of the material was studied by means of petrographic analysis (microscope Mi-2e) and X-ray phase analysis (DRON-3M). Solubility and bioactivity of coatings were evaluated in solutions: distilled water (GOST R 31576-2012), SBF (ISO 23317:2012), 10 % albumin solution. The surface free energy was determined by the Owens-Wendet-Rebel-Kaebel method. The surface microrelief of the coatings was assessed by the mean arithmetic deviation of the profile Ra (Surtronic 3+ profilometer). The surface layer structure was investigated by X-ray fluorescence (SPRUT spectrometer-analyzer) and X-ray spectral (PEM Tesla 3 LMU + oxygen spectrometer Oxford X-max 80 mm) methods. The behavior of stem cells on the coatings surface was investigated by fluorescence microscopy (Carl Zeiss Axio Observer Z1).

Criteria were selected of model glass synthesis and the model glasses were melted. Glass-ceramic coatings for titanium were applied by slip technology and synthesized under conditions of short-term low-temperature heat treatment. It has been found that the model glasses, after heat treatment, are characterized by behaviour of a volumetric fine-dispersed (crystals $\leq 1 \mu\text{m}$) crystallization of calcium phosphate – HAP and FAP ($\Sigma \approx 24\div 44$ % by volume). The possibility of spontaneous adsorption of proteins on the coatings surface has been confirmed due to the provision of coating parameters: SEM $\approx 65 \text{ mJ/m}^2$, $R_a \approx 3.5 \mu\text{m}$ and the presence of through pores with a diameter of $10\div 100 \mu\text{m}$.

The changes in the structure and composition of the coatings surface after ageing in SBF have been studied for 1 month period. It has been found that the provision for these model glasses of a set of indicators, namely: solubility in distilled water (30 days) – 0.89 wt. %; ion yield of Ca^{2+} is 0.26 wt. % and groups $[\text{PO}_4]^{3-}$ – 0.162 wt. %, pH ~ 7.3 , is sufficient for the formation of precursors of hydroxyapatite on the coatings surface in vitro. Gradual displacement (build-up) of the coatings surface layers (due to the dissolution of the coating and deposition of the SBF components) was found within the boundaries up to $6.7 \mu\text{m}$ and the apatite-like layer was formed in 28 days of soaking. These structural and chemical transformations of the surface of glass-ceramic coating form a durable apatite-like layer for 35 days period under in vitro conditions. The formation of this layer creates conditions for increasing the area of mesenchymal stem cell spacing on the coatings surface and allows their use in the creation of bioengineering design with stem cells (in vivo).

Keywords: surface, calcium phosphate silicate coatings, structural parameters, apatite-like layer

Взаимосвязь структурных параметров поверхности кальцийфосфатосиликатных покрытий на сплавах титана с их биологической активностью

A.V. Savvova, A.I. Fesenko, K. Voronov, M.V. Karbazin

Харьковский национальный университет городского хозяйства им. А.Н. Бекетова
ул. Маршала Бажанова, 17, Харьков, 61002, Украина, fesenco_alex@ukr.net

Целью данной работы является установление взаимосвязи структурных параметров поверхности кальцийфосфатосиликатных покрытий на сплавах титана с их биоактивностью.

Структуру материала изучали с помощью петрографического (микроскоп Ми-2е) и рентгенофазового (ДРОН-3М) методов анализа. Растворимость и биоактивность покрытий оценивали в дистиллированной воде (ГОСТ Р 31576-2012) и растворах: МРО (ISO 23317:2012) и 10 % растворе альбумина. Свободную энергию поверхности определяли методом Оуэнса-Вендета-Ребела-Каэбля. Микрорельеф поверхности

покрытий оценивали по среднему арифметическому отклонению профиля R_a (Surtronic 3+ profilometer). Структуру поверхностного слоя исследовали рентгенофлуоресцентным (спектрометр-анализатор «СПРУТ») и рентгеноспектральным (сканирующий электронный микроскоп РЕМ Tesla 3 LMU и энергодисперсионный спектрометр Oxford X-max 80 mm) методами. Поведение стволовых клеток на поверхности покрытий оценивали методом флуоресцентной микроскопии (Carl Zeiss Axio Observer Z1).

Выбраны критерии получения биосовместимых стеклокристаллических покрытий по титану и сварено исходные модельные стекла. По иликерной технологии нанесения в условиях кратковременной низкотемпературной термической обработки синтезированы стеклокристаллические покрытия по титану. Установлено что модельные стекла, после термообработки, характеризуются протеканием объёмной тонкодисперсной (кристаллы размером меньше 1 мкм) кристаллизации фосфатов кальция – ГАП и ФАП ($\Sigma \approx 24 \div 44$ об. %). Подтверждена возможность самопроизвольной адсорбция протеинов на поверхности покрытий благодаря обеспечению параметров покрытия: СЭП ≈ 65 мДж/м², $R_a \approx 3.5$ мкм и наличию сквозных пор диаметром $10 \div 100$ мкм.

Исследовано изменения структуры и состава поверхности покрытий после выдержки в МРО в течение 1 месяца. Установлено, что обеспечение для данных модельных стёкол комплекса показателей, а именно: растворимость в дистиллированной воде (30 дней) – 0.89 мас. %; выход ионов Ca^{2+} – 0.26 мас. % и групп $[PO_4]^{3-}$ – 0.162 мас. %, pH ~ 7.3 , является достаточным для формирования прекурсоров гидроксиапатита на поверхности покрытий *in vitro*. Установлено постепенное смещение (нарастание) поверхностных слоёв покрытия (за счёт растворения покрытия и осаждения компонентов МРО) в границах до 6.7 мкм и формирование апатитоподобного слоя за 28 дней выдержки. Указанные структурные и химические преобразования поверхности стеклокристаллического покрытия позволяют сформировать прочный апатитоподобный слой в течение 35 дней в условиях *in vitro*. Образование данного слоя создаёт условия для увеличения площади распыливания мезенхимальных стволовых клеток на поверхности покрытий и даёт возможность их использования при создании биоинженерных конструкций со стволовыми клетками (*in vivo*).

Ключевые слова: поверхность, кальцийфосфатосиликатные покрытия, структурные параметры, апатитоподобный слой

ЛІТЕРАТУРА

1. Hench L.L. The future of bioactive ceramics // J. Mater. Sci. Mater. Med. – 2015. – V. 26(2), N 86. – P. 1–4.
2. Stroganova E.E., Mikhailenko N.Yu., Moroz O.A. Glass-Based Biomaterials: Present and Future (A Review) // Glass Ceram. – 2003. – V. 60, N 9. – P. 315–319.
3. Turkyilmaz Ilser. Implant Dentistry – A Rapidly Evolving Practice. – London: INTECH, 2011. – P. 83–108.
4. Саркисов П.Д. Направленная кристаллизация стекла – основа получения многофункциональных стеклокристаллических материалов. – Москва: РХТУ им. Д.И. Менделеева, 1997. – 218 с.
5. Загородько О.В., Антонюк Н.Г., Бурбан А.Ф. Загальна характеристика основних остеозаміщувальних імплантатів для кісткової пластики // Магістеріум. – 2008. – № 33, Хімічні науки. – С. 29–35.
6. Дубок В.А., Костюк Г.Я., Бруско А.Т. и др. Усовершенствование биоактивных керамик, используемых для восстановления костной ткани // Biomedical and Biosocial Anthropology. – 2005. – № 4. – С. 128–132.
7. Savvova O.V., Bragina L.L., Shadrina G.M. et al. Surface properties of biocompatible calcium-silicon-phosphate glass ceramic materials and coatings // Glass Ceram. – 2017. – V. 74, N 1. – P. 33–38.
8. Dorozhkin S.V. Bioceramics based on calcium orthophosphates (Review) // Glass Ceram. – 2007. – V. 64, N 11. – P. 442–447.
9. Kubies D., Himmlová L., Riedel T. et al. The interaction of osteoblasts with bone-implant materials: The effect of physicochemical surface properties of implant materials // Physiol. Res. – 2011. – V. 60, N 1. – P. 95–111.
10. Карпов А.В., Шахов В.П. Системы внешней фиксации и регуляторные механизмы оптимальной биомеханики. – Томск: STT, 2001. – 480 с.
11. Хлусов И.А., Сурменева М.А., Сурменев Р.А. и др. Клеточно-молекулярные аспекты иммунологической совместимости имплантатов с наноструктурным кальцийфосфатным покрытием // Бюллетень сибирской медицины. – 2012. – № 4(11). – С. 78–85.
12. Яковец Н.В., Крутько Н.П., Опанасенко О.Н. Определение свободной поверхностной энергии порошкообразных смолисто-асфальтеновых веществ методом Оуэнса–Вендта–Рабея–Каелбле // Свиридовские чтения. – 2012. – Вып. 8. – С. 253–260.

13. Savvova O., Shadrina G., Babich O., Fesenko O. Investigation of surface free energy of the glass ceramic coatings on titanium for medical purposes // *Chem. Chem. Technol.* – 2015. – V. 9, N 3. – P. 349–354.
14. Beletskii B.I., Svetskaya N.V. Silicon in living organisms and new-generation biocomposite materials (review) // *Glass Ceram.* – 2009. – V. 66, N 3–4. – P. 104–108.
15. Kiroshka V.V., Savvova O.V., Bozhkova Yu. O. et al. Spreading and proliferation of cultured rat bone marrow stromal cells on the surface of bioactive glass ceramics // *Biopolymers and Cell.* – 2017. – V. 33, N 1. – P. 48–57.

REFERENCES

1. Hench L.L. The future of bioactive ceramics. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 2015. **26**(86): 1.
2. Stroganova E.E., Mikhailenko N.Yu., Moroz O.A. Glass-Based Biomaterials: Present and Future (A Review). *Glass Ceram.* 2003. **60**(9): 315.
3. Turkyilmaz Ilser. *Implant Dentistry – A Rapidly Evolving Practice.* (London: INTECH, 2011).
4. Sarkisov P.D. *Directional crystallization of glass - the basis for production of multifunctional glass-ceramic materials.* (Moscow: D.I. Mendeleev Russian Chemical-Technological University, 1997). [in Russian].
5. Zagorodko O.V., Antonyuk N.G., Burban A.F. Genital characteristics of the basic osteosynthesis of implants for plastic brushing. *Magisterium.* 2008. (33): 29. [in Ukrainian].
6. Dubok V.A., Kostyuk G.Ya., Brusko A.T., Kindrat, V.V., Shynkaruk A.V., Kostiuk V.G. Improvement of bioactive ceramics used to restore bone tissue. *Biomedical and Biosocial Anthropology.* 2005. (4): 128. [in Russian].
7. Savvova O.V., Bragina L.L., Shadrina G.M., Babich O.V., Fesenko A.I. Surface properties of bio-compatible calcium-silicophosphate glass-ceramic materials and coatings (Review). *Glass Ceram.* 2017. **74**(1): 29.
8. Dorozhkin S.V. Bioceramics based on calcium orthophosphates (Review). *Glass Ceram.* 2007. **64**(11): 442.
9. Kubies D., Himmlová L., Riedel T., Chánová E., Balík K., Douděrová M., Bártová J., Pešáková V. The interaction of osteoblasts with bone-implant materials: The effect of physicochemical surface properties of implant materials. *Physiol. Res.* 2011. **60**(1): 95.
10. Karpov A.B., Shakhov V.P. *External fixation systems and regulatory mechanisms for optimal biomechanics.* (Tomsk: STT, 2001). [in Russian].
11. Khlusov I.A., Surmeneva M.A., Surmenev R.A., Ryazantseva N.V., Savelieva O.Ye., Ivanova A.A., Prokhorenko T.S., Tashireva L.A., Dvornichenko M.V., Pichugin V.F. Cellular and molecular aspects of immunologic compatibility of implants with nanostructured calcium phosphate coating. *Bulletin of Siberian Medicine.* 2012. **4**(11): 78. [in Russian].
12. Yokavets N.V., Krutko N.P., Opanasenko O.N. Determination of surface free energy of powdery resin-asphaltene substances by Owens–Wendt–Rabel–Kaelble method. *Sviridovskie Chteniya.* 2012. **8**: 253. [in Russian].
13. Savvova O.V., Shadrina G.M., Babich O.V., Fesenko O.I. Investigation of surface free energy of the glass ceramic coatings on titanium for medical purposes. *Chem. Chem. Technol.* 2015. **9**(3): 349.
14. Beletskii B.I., Svetskaya N.V. Silicon in living organisms and new-generation biocomposite materials (Review). *Glass Ceram.* 2009. **66**(3–4): 104.
15. Kiroshka V.V., Savvova O.V., Bozhkova Yu.O., Tamarina I.V., Fesenko A.I. Spreading and proliferation of cultured rat bone marrow stromal cells on the surface of bioactive glass ceramics. *Biopolymers and Cell.* 2017. **33**(1): 48.

Надійшла 11.11.2019, прийнята 25.05.2020