# ИСПОЛЬЗОВАНИЕ АТОМАРНО-СЛОЕВОГО *осаждения диоксида титана для придания биоактивных свойств поверхности титановых имплантатов*

**А.П.Алехин**
• д.т.н., профессор,
зав. кафедрой общей химии,
Московский физико-технический институт
(Государственный университет)
Адрес: Московская обл., г. Долгопрудный,
Институтский пер, д. 9
Тел.: 8 (495) 408-74-41
E-mail: alekhinap@gmail.com

**А.М.Маркеев**
• к.ф.-м.н., старший научный сотрудник,
МФТИ, Москва
Адрес: Московская обл., г. Долгопрудный,
Институтский пер, д. 9
Тел.: 8 (495) 408-74-41

**С.А.Гудкова**
• аспирант, научный сотрудник,
МФТИ, Москва
Адрес: Московская обл., г. Долгопрудный,
Институтский пер, д. 9
Тел.: 8 (495) 408-74-41

**Д.В.Тетюхин**
• "Конмет", Москва
Адрес: Москва, ул. Онежская, д. 24/1
Тел.: 8 (495) 234-91-13
E-mail: conmet@conmet.ru

**Е.Н.Козлов**
• "Конмет", Москва
Адрес: Москва, ул. Онежская, д. 24/1
Тел.: 8 (495) 234-91-13
E-mail: conmet@conmet.ru

**Резюме**. В данной работе выявлялись биоактивные свойства титановых образцов с покрытием диоксидом титана (анатаз), сформированные методом атомарно-слоевого осаждения, посредством исследования поведения клеток остеобластов MC3T3-E1. Подтверждено, что диоксид титана с кристаллической структурой анатаз является биоактивным материалом и может использоваться как покрытие для дентальных имплантатов. Также подтверждено, что выдержка образцов в растворе, моделирующем тканевую жидкость, является адекватной оценкой биоактивности покрытий, коррелирует с данными культуральных исследований и может использоваться для предварительной оценки биологически активных свойств материалов.

**Ключевые слова**: анатаз, гидроксиапатит, атомарно-слоевое осаждение.

**Application of atomic-layer deposition of titanium dioxide for creation of bioactive properties of titanium implant surface** (A.P.Alekhin, A.M.Markeev, S.A.Gudkova, D.V.Tetyukhin, E.N.Kozlov).

**Summary.** In this paper identified the bioactive properties of the samples coated titanium dioxide (anatase), formed by atomic-layer deposition by means of investigating the behavior of osteoblast cells MC3T3-E1. It is founded, that titanium dioxide anatase crystal structure is a bioactive material and can be used as a coating for dental implants. Also confirmed that the extract of the samples in solution, body simulate fluid is adequate assessment of bioactivity of coatings, correlates with the data of cultural studies and can be used for preliminary evaluation of bioactive properties of materials.

**Key words**: anatase, hydroxiappatite, atomic-layer deposition.

Большинство производителей используют титан для изготовления дентальных имплантатов благодаря сочетанию хороших прочностных характеристик и биоинертности. При обычных условиях титан легко окисляется и на его поверхности появляется тонкая пленка аморфного диоксида титана, обладающая биоинертными свойствами. Известно, что кристаллические модификации $TiO_2$ обладают биоактивными свойствами, при этом предпочтение отдается кристаллической структуре анатаза [1]. Существует множество методов осаждения диоксида титана, однако большинство из них неспособны конформно покрывать тонкими слоями объекты сложной формы. Методом атомарно-слоевого осаждения (АСО), основанном на ряде последовательных химических реакций в газовой среде, принципиально возможно осаждение бинарных соединений, в том числе $TiO_2$ со структурой анатаза, на подложки различной формы.

Однако при разработке новых материалов и методов осаждения необходима методика, позволяющая в лабораторных условиях оценивать биоактивные свойства получаемых покрытий. Традиционно биоактивность материалов дентальных имплантатов принято оценивать с помощью тестов in vivo на генетически близких животных в условиях вивария, что требует больших материальных и временных затрат. Более оперативные данные о биологической активности покрытий имплантатов можно получить с помощью наблюдений за поведением клеточных культур на их поверхности.

Примером альтернативной предварительной оценки биоактивности материала может служить методика выдержки опытных образцов имплантатов в растворе, моделирующем тканевую жидкость [2]. Этот раствор имеет практически такую же концентрацию всего комплекса ионов, как и плазма крови человека. Согласно методике, показателем биоактивности материала служит образование гидроксиапатита $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ на поверхности образца. Механизм образования основан на взаимодействии направленных ОН-групп на исходной поверхности покрытия с ионами $Ca^{2+}$ с последующим формированием сначала аморфного кальцийфосфатного слоя, а затем и кристаллического гидроксиапатита.

**Целью** данной работы является исследование биоактивности покрытий из диоксида титана, формируемых методом атомарно-слоевого осаждения, с применением как описанной выше методики оценки биоактивности материалов, так и с помощью культуральных исследований.

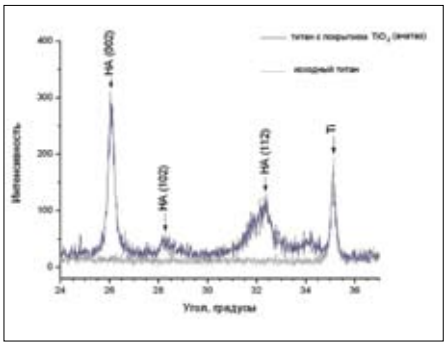
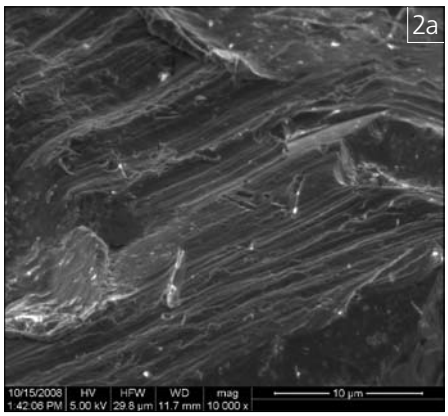
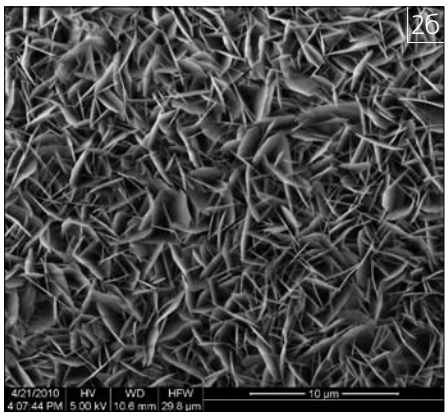



Рис. 1. Рентгеновская дифрактограмма от поверхностей титана с покрытием $TiO_2$ (анатаз) и без покрытия, выдержанных с течение 2 недель в растворе DPBS

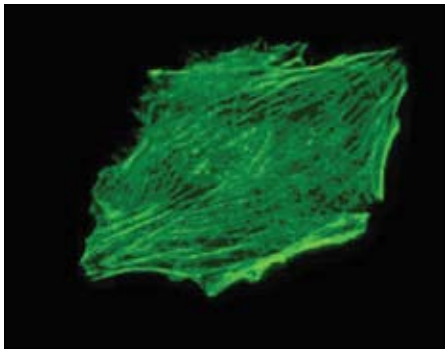
Для исследования биоактивных свойств использовались отпескоструенные титановые пластинки с покрытием из диоксида титана, полученным методом АСО. Пластинки предварительно проходили пескоструйную обработку частицами $Al_2O_3$. С помощью метода рентгеновской дифракции на установке ARL X'TRA (Швейцария) установлено, что полученное покрытие обладает кристаллической структурой анатаза [3].

Метод АСО, используемый для получения $TiO_2$, основан на попеременной хемосорбции молекул тетраэксититана и воды. Вода является источником –ОН групп на поверхности покрытия, что приводит к гидрофилизации поверхности $TiO_2$. Подтверждением данной модели служит исследование смачиваемости титановых пластинок до и после осаждения диоксида титана. Контактный угол смачивания пластины титана после пескоструйной

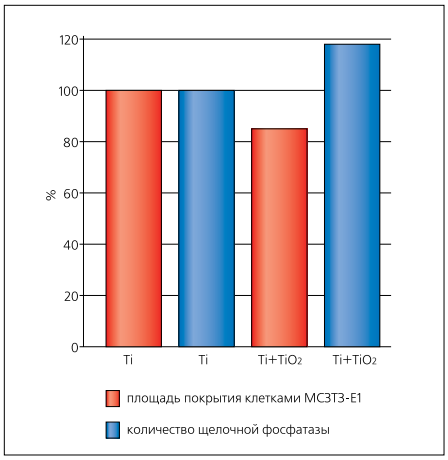



▪Рис. 2. РЭМ-изображение поверхности титана без покрытия (а) и с покрытием $TiO_2$ (анатаз) (б) после выдержки в течение 2 недель в растворе DPBS



▪Рис. 3. Типичное изображение клетки остеобластов МС3Т3-Е1 на поверхности титанового образца




▪Рис. 4. Диаграмма, отражающая относительное изменение площади покрытия клеточной культурой МС3Т3-Е1 и количества щелочной фосфатазы поверхностей титана без покрытия и с покрытием $TiO_2$ (анатаз)

▪Рис. 5. Дентальные имплантаты после выдержки в растворе DPBS в течение 2 недель: 1 – титановый имплантат без покрытия; 2 – имплантат с покрытием $TiO_2$ (анатаз) и сформировавшимся слоем гидроксиаппатита

обработки и последующей ультразвуковой очистки в ацетоне, этиловом спирте и дистиллированной воде составляет 15,0±2,5°, при этом измерения контактного угла смачивания на поверхности пескоструйно обработанного титанового образца с покрытием $TiO_2$ показало значительно меньшую величину (7,5±1,2°).

Образцы в соответствии с методикой [2] выдерживались в коммерчески доступном растворе "Dulbecco's phosphate buffered saline" (DPBS) в течение 2 недель при температуре 37°С. Параллельно на поверхность аналогичных образцов высаживалась клеточная культура МС3Т3-Е1 и определялась способность клеток остеобластов МС3Т3-Е1 к пролиферации, адгезии и дифференцировке. Способность к дифференцировке клеток контролировалась по изменению количества щелочной фосфатазы на образцах с покрытием и без него. Активность щелочной фосфатазы определялась количественным колориметрическим методом [4].

В результате выдержки в растворе DPBS титановых пластинок с покрытием из анатаза наблюдалось образование на их поверхности слоя белого цвета толщиной 1-3 мкм. При этом на титановых образцах без покрытия кристаллическим диоксидом титана образование такой пленки не наблюдалось. Рентгенодифракционные исследования слоя, образовавшегося после выдержки в растворе DPBS на образцах титана с покрытием из анатаза, показали, что он соответствует кристаллической структуре гидроксиапатита $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$. На рис. 1 показаны рентгеновские дифрактограммы титанового образца без покрытия и образца с покрытием из диоксида титана (анатаз), выдержанных в растворе DPBS. На поверхности титанового образца с покрытием образовался гидроксиапатит (Hydroxiappatite-HA), в то время как на поверхности образца без покрытия гидроксиапатит не обнаружен. Характерные изображения поверхностей образцов, полученные с помощью растрового электронного микроскопа, представлены на рис. 2 а, б.

Исследование способности клеток остеобластов МС3Т3-Е1 к адгезии и дифференцировке на поверхности $TiO_2$ (анатаз) показало, что адгезия клеток на сформированной поверхности не хуже, чем на поверхности титанового образца без покрытия. Типичное изображение морфологии клетки по данным иммунофлюоресцентной микроскопии приведено на рис. 3: фокальные контакты клеток обозначены красным цветом, актин — зеленым. Общая площадь клеток на поверхности титанового образца с покрытием уменьшилась на 15% относительно поверхности образца без покрытия, при этом количество щелочной фосфатазы (как параметра клеточной дифференцировки) в клетках на поверхности титанового образца с покрытием $TiO_2$ (анатаз) увеличилось на 18,3% по сравнению с поверхностью без покрытия (рис. 4).

Методика испытана на опытных образцах имплантатов фирмы "Конмет", вид которых представлен на рис. 5. На левом имплантате (без покрытия) гидроксиапатит не обнаружен, в то время как на правом имплантате с покрытием $TiO_2$ (анатаз) слой гидроксиапатита покрывает практически всю поверхность.

В данной работе установлено, что покрытие из диоксида титана ($TiO_2$) с кристаллической структурой анатаза, полученное методом АСО, является биоактивным материалом и может использоваться как покрытие для дентальных имплантатов. Также подтверждено, что выдержка образцов в растворе, моделирующем тканевую жидкость, является адекватной оценкой биоактивности покрытий, коррелирует с данными культуральных исследований и может использоваться для предварительной оценки биологически активных свойств материалов.

КОНМЕТ
125413, Москва, ул. Онежская, 24/1
тел.: +7(495)234-91-13; факс: +7(495)232-19-31
E-mail: conmet@conmet.ru, www.conmet.ru

ЛИТЕРАТУРА:

1. *Bangcheng Yang, Masaiki Uchida, Hyun-Min Kimc, Xingdong Zhang, Tadashi Kokubo* // Preparation of bioactive titanium metal via anodic oxidation treatment//Biomaterials 25 (2004) pp.1003-1010
2. *J.Heinrichs, T.Jaumar, M.Rooth and H.Enqvist* // In vitro bioactivity of Atomic Layer Deposited titanium dioxide on titanium and silicon substrates // Key Engineering Materials / №361-363, 689-692 (2008).
3. *А.П.Алехин, Г.И.Лапушкин, А.М.Маркеев, А.А.Сигарев, В.Ф.Токнова* // Атомно-слоевое осаждение тонких пленок диоксида титана из тетраэтоксититана и воды //Поверхность: рентгеновские, нейтронные и синхротронные исследования. - 2010. - №5. - С. 23-27.
4. *H.-W.Kim, H.-E.Kim, J.C.Knowles* // Hydroxyapatite/ poly (-caprolactone) composite coatings on hydroxyapatite porous bone scaffold for drug delivery // Biomaterials/ Vol. 25, No17, PP. 3351-3358 (2004).