

КРЕМНИЙ-СТРУКТУРИРОВАННЫЕ ГИДРОКСИАПАТИТОВЫЕ ЦЕМЕНТЫ ДЛЯ КОСТНО-ПЛАСТИЧЕСКОЙ ХИРУРГИИ

Свентская Н. В., Лукина Ю.С., Зайцев А.С.

На основе кремний-структурированных α -трикальцийфосфатов получены кремний-структурированные гидроксипатитовые цементы, обладающие повышенными значениями растворимости. Исследовано влияние содержания кремния в структуре кремний-структурированных α -трикальцийфосфатов и концентрации жидкости затворения – гидрофосфата натрия на химические и физико-механические свойства полученных цементов. Оптимизированы составы кремний-структурированных гидроксипатитовых цементов для применения в костно-пластической хирургии.

Ключевые слова: кремний-структурированные фосфаты кальция, трикальцийфосфат, гидроксипатит, гидроксипатитовый цемент, пористость, прочность

Введение

В настоящее время для лечения и восстановления дефектов костной ткани используют различные типы трансплантационных и имплантационных материалов. Имплантационные материалы на основе гидроксипатита кальция ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, ГА) нашли широкое применение в медицине за счет схожести химического состава с естественной костной тканью и технологических возможностей: создания блочных изделий (по керамической технологии) или цементных паст, создания на основе гидроксипатита композиций с полимерами, упрочняющими волокнами или в виде покрытий по титановым имплантатам, возможности направленно регулировать поровую структуру изделий. Однако, по своим свойствам гидроксипатит является высокостабильным соединением и способен длительное время после операции оставаться в зоне подсадки (в зависимости от пористости изделия, степени закристаллизованности гидроксипатита и объема материала срок нахождения ГА имплантата может составлять пять и более лет). Для повышения реакционной способности имплантатов на основе гидроксипатита кальция и ускорения протекания процессов связывания с костной тканью используют следующие подходы:

- введение в структуру гидроксипатита различных модифицирующих ионов, действующих как на катионную (ионы Na^+ , K^+ и др), так и на анионную подрешетку (ионы SiO_4^{4-} , CO_3^{2-} и др.);
- создание материалов на основе кальций-дефицитного гидроксипатита с общей формулой $\text{Ca}_9(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ с атомным отношением Ca/P=1,5;
- создание материалов с низкой степенью закристаллизованности кристаллической решетки: использование низкотемпературной керамики или гидроксипатитовых цементов вместо высокотемпературной гидроксипатитовой керамики;
- создание композиций, включающих гидроксипатит и биорезорбируемые компоненты, например, трикальцийфосфат, полилактид и др.
- формирование материалов с открытой поровой структурой и размером пор в пределах 50-500 мкм;

В работах Carlisle E., Schwarz K., Воронкова М. Г. [1-3] было показано, что значительным индуцирующим влиянием на процессы формирования соединительной костной и хрящевой ткани обладают различные растворимые соединения кремния. Сравнительные исследования формирования костной ткани при имплантации синтетических кальцийфосфатных материалов и фосфатов кальция, содержащих в своей структуре химически связанный кремний, показывают,

что введение кремния вызывает значительно более высокий биологический отклик, что может быть связано с Si-индуцирующим изменением свойств материала, а также важной ролью кремния в физиологических процессах роста и перестройки костной ткани. К таким остеиндуцирующим материалам относят стекло Bioglass, различные композиты на его основе, имплантаты, содержащие псевдоволластонит (CaSiO_3), а также кремний-структурированный гидроксипатит (Si-ГА) и кремний-структурированный трикальцийфосфат (Si-ТКФ) [4-7].

При введении ультрамалых количеств кремния (в пределах 1-2 % мас.) в кристаллическую структуру ГА (конечный продукт описывается формулой $\text{Ca}_{10}^{2+}(\text{PO}_4^{3-})_{6-x}(\text{SiO}_4^{4-})_x(\text{OH})_{2-x}$) изменяется эффективный заряд поверхности материала (характеризуется более высокими значениями электроотрицательности), что связано со специфическим расположением силикат-ионов относительно фосфат-ионов в кристаллической решётке Si-ГА. В испытаниях Si-ГА и эталонного ГА в условиях *in vivo* было показано, что на поверхности образцов Si-ГА в значительно более короткие сроки происходит адсорбция протеинов из физиологической среды организма, а также в более короткие сроки протекают специфические клеточные реакции, такие как активация щелочной фосфатазы и синтез коллагена I типа и, соответственно, в более короткий срок отмечается прикрепление клеток остеобластов с последующей минерализацией молодого костного матрикса [5, 6].

В работе [6] оценивали влияние изменения содержания ультрамалых концентраций кремния в структуре Si-ГА (содержание Si составляло 0; 0,2; 0,4; 0,8; 1,5 % мас.) на протекание процессов формирования костного матрикса при имплантации пористых цилиндров в бедренную кость кролика. Результаты гистологических исследований свидетельствуют, что оптимальная концентрация кремния в структуре Si-ГА соответствует 0,8% по массе. Образцы Si_{0,8}-ГА вызывают наибольший физиологический отклик во все периоды: на 1 неделе поддерживают инфльтрацию и васкуляризацию образца, на 2-3 неделе – формирование молодого костного матрикса (остеоида) в объеме материала, на 2-3 неделе инициируют протекание процессов минерализации остеоида, обеспечивают в более короткие сроки формирование в порах имплантата развитой костной ткани в отличие от всех остальных образцов.

Целью настоящей работы является получение и оптимизация состава кремний-структурированных гидроксипатитовых цементов, обладающих

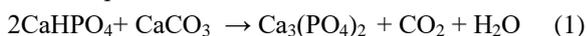
повышенной растворимостью для применения в костно-пластической хирургии.

Для получения Si-ГА цементов, обладающих повышенной реакционной способностью, в работе был использован следующий комплекс подходов:

- получение Si-ГА цементов на основе химически модифицированных Si-α-ТКФ с малым содержанием кремния (содержание Si составляло 1 и 2 % мас.);
- получение Si-ГА цементов с пониженным атомным отношением Ca/P=1,5, описываемых общей формулой Ca₉(PO₄)₆(OH)₂;
- дополнительного введения в состав Si-ГА цементов ионов натрия через жидкость затворения – раствор Na₂HPO₄·2H₂O.

Материалы и методы

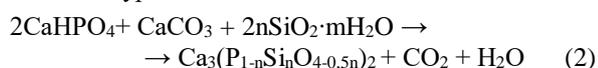
Для получения гидроксипатитовых цементов синтезировали исходный α-трикальцийфосфат (Ca₃(PO₄)₂, α-ТКФ) твердофазным методом согласно уравнению реакции 1:



Исходные компоненты ДКФ и CaCO₃ брали в стехиометрических количествах. Измельчение, смешение и механоактивацию порошков ДКФ и CaCO₃ проводили в шаровой мельнице с корундовыми шарами в среде ацетона. Смеси компонентов сушили на воздухе и обжигали в лабораторной электрической печи при T=1400°C, в течении 1 часа. Далее измельчали.

Получение кремний-структурированного α-трикальцийфосфата (Si-α-ТКФ) проводили по описанному методу, путем дополнительного введения в состав смеси исходных компонентов белой сажи (nSiO₂·mH₂O) в количестве 0 – 2 % на 100 % конечного продукта. Были получены смеси Si-α-ТКФ (1), Si-α-ТКФ (2), схема получения представлена на рис. 1.

Встраивание кремния в структуру α-ТКФ описывается уравнением 2:



Синтез цементов состава гидроксипатита и кремний-структурированного гидроксипатита проводили согласно уравнению 3:



В работе были получены и исследованы 2 серии ГА и Si-ГА цементов, отличающихся концентрацией

используемой жидкости затворения – раствора Na₂HPO₄·2H₂O (концентрация 1 и 1,5 моль/л). Для всех систем сроки схватывания определяли в одинаковых условиях: при температуре 20 °С и нормальной густоте цементного теста. Состав и содержание исследуемых цементных систем представлено в табл. 1.

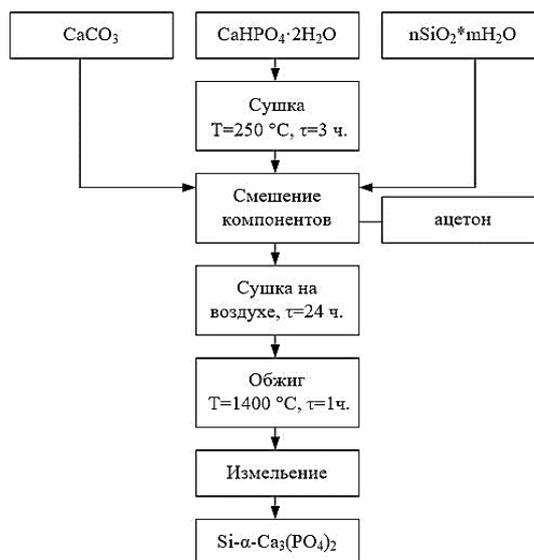


Рисунок 1 - Технологическая схема получения Si-α –Ca₃(PO₄)₂

РФА образцов α-ТКФ, Si-α-ТКФ (1), Si-α-ТКФ (2), обожженных при T=1400 °С с изотермической выдержкой при заданной температуре в течении 1 ч, и цементов ГА, Si-ГА (1), Si-ГА (2) после 7 и 28 сут. затворения в воздушно-влажных условиях выполняли на дифрактометре «ДРОН-3М» с ионизационной регистрацией лучей в диапазоне углов 2θ=20-70 град. Расшифровку рентгенограмм проводили на основе картотеки дифракционных паспортов ASTM.

Электронно-микроскопический анализ проводили на сканирующем (растровом) электроном микроскопе JSM 6510 LV с предварительным напылением серебра на свежеприготовленный скол образца. Диапазон увеличений составлял от x5 до x300000. Изображения получали во вторичных электронах и регистрировали в оцифрованном виде на ЭВМ.

Таблица 1 – Состав и содержание компонентов в цементных системах

Система, содержание кремния в структуре, %	Исходные компоненты				Обозначение состава цемента
	Содержание компонентов, % мас.		Жидкость затворения Na ₂ HPO ₄ ·2H ₂ O, моль/л		
	Si-α-ТКФ	МКФМ	1	1,5	
Серия 1					
α-ТКФ	97	3	+	-	ГА
Si-α-ТКФ (1)	97	3	+	-	Si-ГА(1)
Si-α-ТКФ (2)	97	3	+	-	Si-ГА(2)
Серия 2					
α-ТКФ	97	3	-	+	ГА
Si-α-ТКФ (1)	97	3	-	+	Si-ГА(1)
Si-α-ТКФ (2)	97	3	-	+	Si-ГА(2)

Пористость (общую, открытую, закрытую) определяли по стандартной методике насыщением в керосине.

Исследование механических характеристик проводили по стандартной методике на разрывной машине.

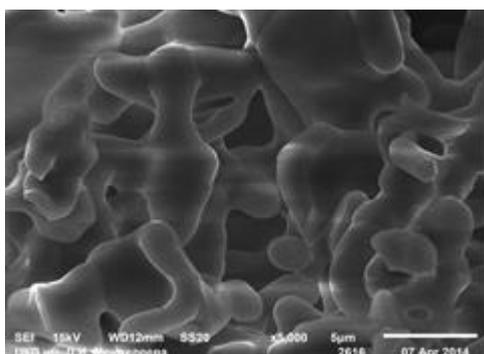
Определение pH контактной среды проводили с помощью pH-метра-милливольтметра-410 и комбинированного стеклянного электрода. При определении pH навеску исследуемого вещества 3-5 г помещали в коническую колбу вместимостью 50 мл, наливали дистиллированную воду, соотношение $m(\text{обр})/V(\text{H}_2\text{O})$ соответствовало 1/10. Полученную суспензию тщательно фильтровали и далее определяли значение pH.

Растворимость образцов-балочек из ГА цемента в дистиллированной воде с pH=6,6 оценивали по потерям массы на 1, 2, 3, 5, 6, 7, 14, 21, 28 сутки.

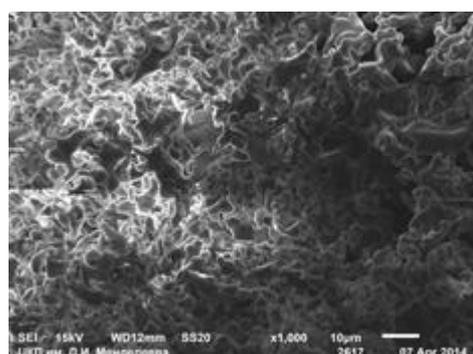
Результаты и обсуждение

Синтез и исследование α -ТКФ и Si- α -ТКФ

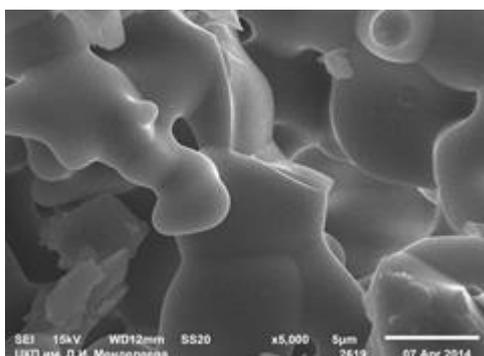
Анализ фазового состава и микроструктуры образцов α -ТКФ и Si- α -ТКФ (1) и (2), полученных по реакции 1, показал, что фазовый состав всех трех образцов представлен одной фазой - α -ТКФ (карточка №29-0359). На рисунке 2 представлена микроструктура образцов α -ТКФ (1) и Si- α -ТКФ (2), полученных после твердофазового синтеза.



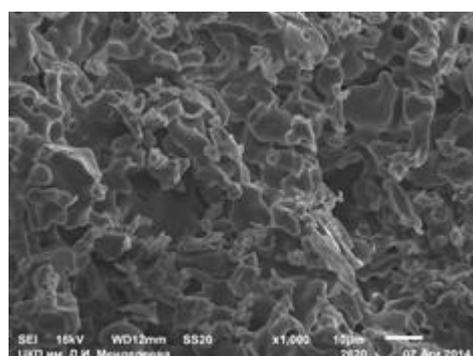
а



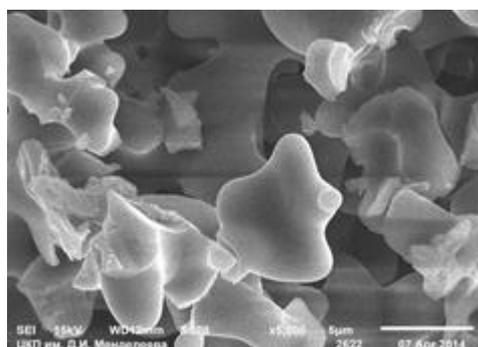
б



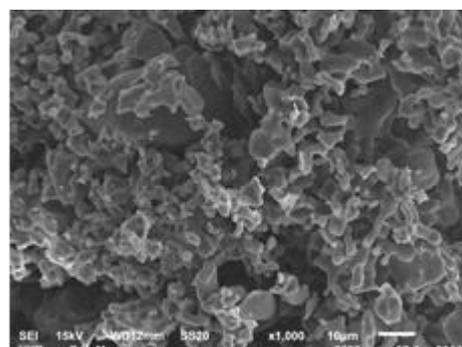
в



г



д



е

Рисунок 2 – Микроструктура Si- α -ТКФ с различным содержанием кремния в образцах: а, б) α -ТКФ; в, г) Si- α -ТКФ(1); д, е) Si- α -ТКФ(2).

Образцы α -ТКФ и Si- α -ТКФ, полученные в результате твердофазового синтеза, представлены конгломератом мелких гранул. Микроструктура образцов рыхлая, пористая, плохо окристаллизована. Форма кристаллов не четкая, зерна неправильной формы, плотно связаны друг с другом, четко ограничены друг от друга. Сrostки кристаллов Si- α -ТКФ по размерам в 1,5-2 раза превосходят сrostки кристаллов α -ТКФ.

Синтез и исследование свойств цементов состава ГА и Si-ГА

Анализ результатов определения отношения жидкость/твердое (Ж/Тв, табл. 2) цементов на основе α -ТКФ и Si- α -ТКФ свидетельствует, что с введением и

Таблица 2 – Зависимость Ж/Тв от содержания кремния в составе Si- α -ТКФ

Система, содержание кремния в структуре, %	Жидкость затворения Na ₂ HPO ₄ ·2H ₂ O, с, моль/л	Ж/Тв	Система, содержание кремния в структуре, %	Жидкость затворения Na ₂ HPO ₄ ·2H ₂ O, с, моль/л	Ж/Тв
α -ТКФ	1	0,58	α -ТКФ	1,5	0,53
Si- α -ТКФ (1)		0,53	Si- α -ТКФ (1)		0,50
Si- α -ТКФ (2)		0,50	Si- α -ТКФ (2)		0,50

Анализ фазового состава полученных цементов показал, что для всех составов цементов в сериях 1 и 2 формирование конечной кристаллической фазы – гидроксиапатита происходит со временем. На рис. 3 приведены рентгенограммы ГА и Si-ГА цементов серии 1, твердевших в течении 7 сут. Цементная матрица данных составов содержит в качестве кристаллизующихся фаз фазу гидроксиапатита и непрореагировавшего α -ТКФ.

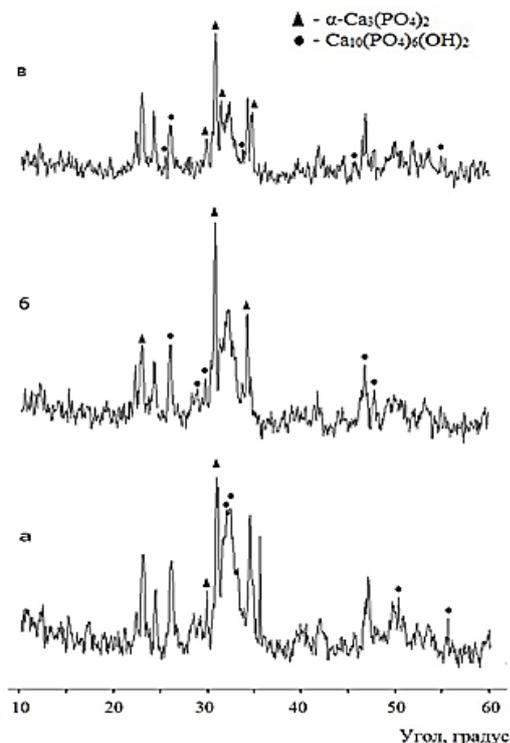


Рисунок 3 – Рентгенограммы ГА и Si-ГА цементов на 7 сутки твердения на основе: а) α -ТКФ, б) Si- α -ТКФ (1), в) Si- α -ТКФ (2)

увеличением содержания кремния в структуре исходного Si- α -ТКФ наблюдается незначительное снижение отношения Ж/Тв. Снижению отношения Ж/Тв также способствует повышение концентрации раствора затворяющей жидкости: так для цементов серии 1 с затворяющей жидкостью концентрацией 1 моль/л, Ж/Тв находится в пределах 0,5 – 0,58, а для цементов серии 2 с жидкостью затворения концентрацией 1,5 моль/л – в пределах 0,5 – 0,53. Снижение Ж/Тв в рассматриваемых сериях цементов при увеличении концентрации кремния в структуре Si- α -ТКФ обусловлено снижением удельной поверхности порошков Si- α -ТКФ, что согласуется с данными СЭМ порошков Si- α -ТКФ (рис. 2).

На 28 сут. твердения цементная матрица данных составов представлена единственной фазой – гидроксиапатитом кальция (рис.4). Фазовые превращения при формировании ГА и Si-ГА цементов серии 2 аналогичны.

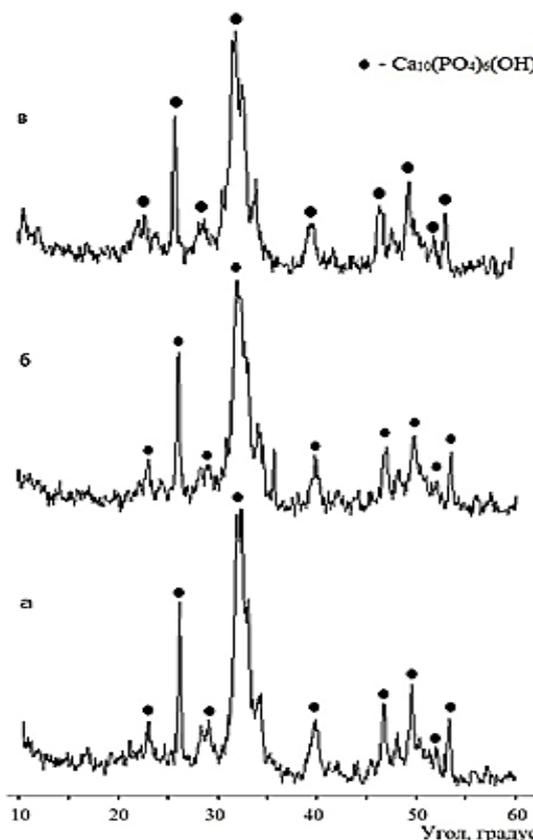
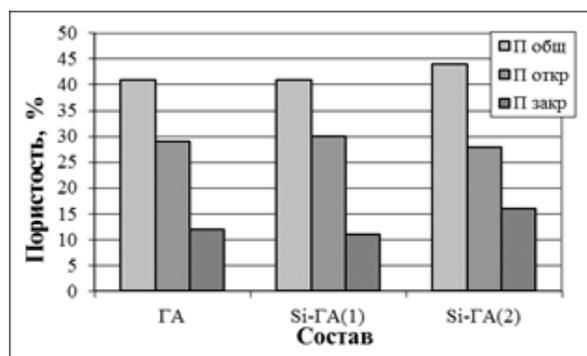
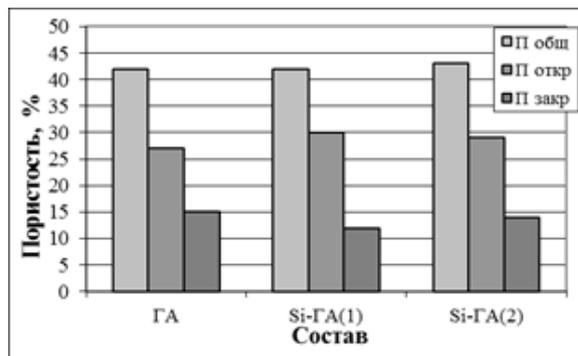


Рисунок 4 – Рентгенограммы ГА и Si-ГА цементов на 28 сутки твердения на основе: а) α -ТКФ, б) Si- α -ТКФ (1), в) Si- α -ТКФ (2)

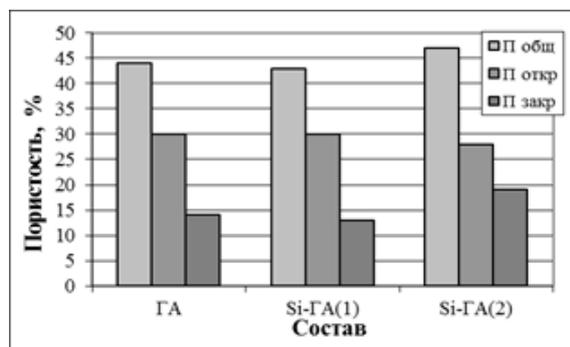
Результаты определения пористости ГА и Si-ГА цементов показывают, что общая пористость на 7 сут. находится в пределах 40 – 44 % (рис. 5 а, в), на 28 сутки значения общей пористости повышается до 44 – 48 % (рис. 5 б, г), что может быть связано с протеканием процессов кристаллизации в воздушно-влажных условиях ГА из α -ТКФ в структуре цементного камня со временем. Доля открытых пор для всех исследуемых цементов преобладает над долей закрытых пор и находится в пределах 27 – 31 %. С увеличением времени выдержки цементов в воздушно-влажных условиях наблюдается незначительный рост доли закрытых пор, что связано с кристаллизацией апатита в порах материала.



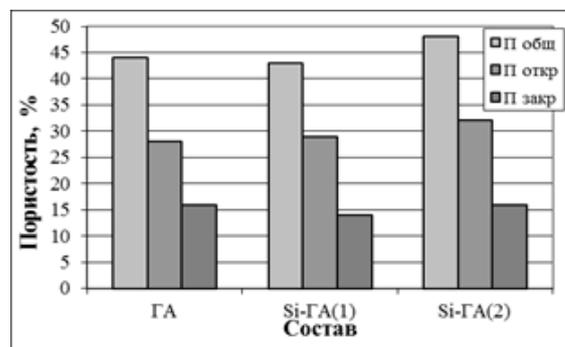
а



в



б



г

Рисунок 5 – Изменение пористости ГА и Si-ГА цементов: а) цементы серии 1, твердение 7 сут.; б) цементы серии 1, твердение 28 сут.; в) цементы серии 2, твердение 7 сут.; г) цементы серии 2, твердение 28 сут.

Измерения pH среды, контактирующей с образцами цементного камня при выдержке показывает, что введение кремния в структуру ГА цемента не приводит к изменению pH контактной среды. В начальный период времени (в течении 1 часа после затворения) pH для всех систем находится на уровне 8,7 – 8,9. Увеличение времени экспозиции цементов в контактной среде до 7 сут. приводит к снижению pH до значений 7,7 – 7,9 для серии 1 и 7,9 – 8,4 для серии 2.

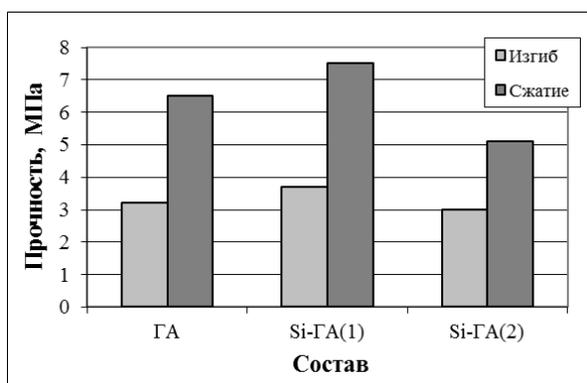
Графики зависимости потерь массы со временем исследуемых цементов представлены на рис. 7.

Кривые потери массы цементов соответствуют кривой насыщения, наибольшая потеря массы наблюдается в первые 14 сут. В этот период происходит активная диффузия ионов Na^+ , Ca^{2+} и PO_4^{3-} в контактную среду и растворение материала. В дальнейшем наклон кривой уменьшается, что связано со стабилизацией процессов «растворение – образование новых

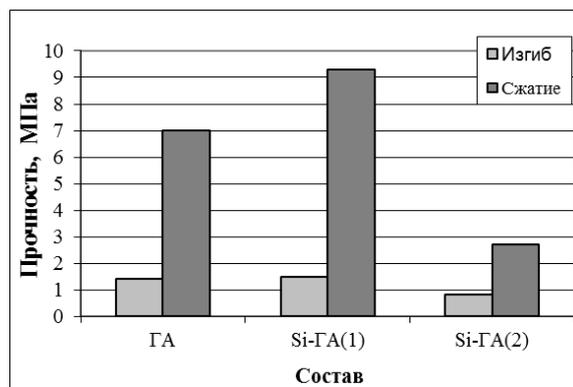
поверхностей». Отмечается четкая зависимость влияния содержания кремния в структуре цемента на изменение потерь массы: с увеличением содержания кремния от 0 до 2 % наблюдается увеличение потерь массы для составов обеих серий, что связано с увеличением дефектности кристаллической решетки кристаллов Si-ГА. Увеличение концентрации жидкости затворения приводит к увеличению потерь массы для всех составов цементов.

Данные СЭМ ГА и Si-ГА цементов серии 1 не выявили характерных особенностей формирования цементной матрицы в зависимости от содержания кремния в составе ГА (рис. 8, 9).

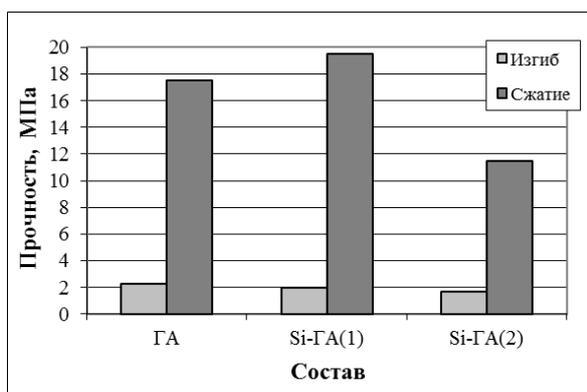
На микрофотографиях видно формирование цементного камня в виде сростка сферообразных кристаллов, размер пор между кристаллами составляет около 5 – 25 мкм, при этом имеется сеть взаимосвязанных пор.



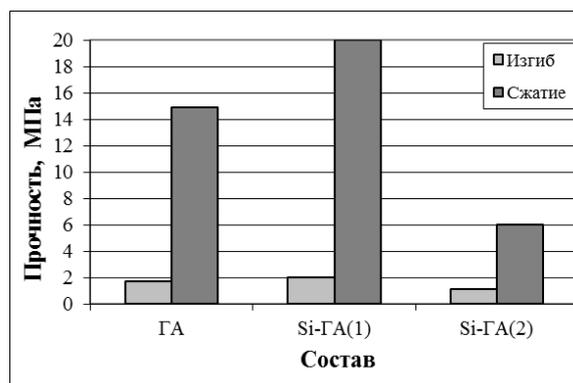
а



в

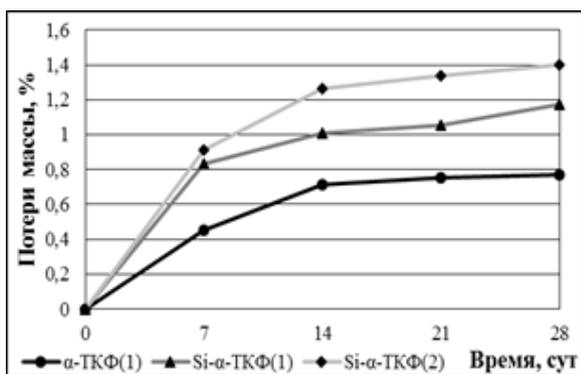


б

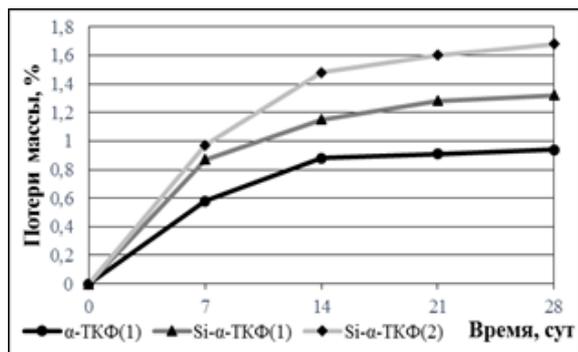


г

Рисунок 6 – Изменение прочности ГА и Si-GA цементов: а) цементы серии 1, твердение 7 сут.; б) цементы серии 1, твердение 28 сут.; в) цементы серии 2, твердение 7 сут.; г) цементы серии 2, твердение 28 сут.



а



б

Рисунок 7 – Растворимость образцов ГА и Si-GA цементов: а) цементы серии 1; б) – цементы серии 2

Размер сростка кристаллов по большой оси до 50 мкм, отдельных дискретных сферообразных кристаллов – от 5 до 11 мкм.

При увеличении в 1 микрон на поверхности сферообразных кристаллов наблюдаются пластинчатые кристаллы. Размер отдельных пластинчатых кристаллов по большой оси составляет от 0,5 до 1 мкм, в некоторых случаях больше 1 микрометра, по меньшей оси – около 0,3 – 0,5 мкм.

Следует отметить, что микроструктура цементного камня, в срок 28 сут. характеризуется более компактными сростками кристаллов.

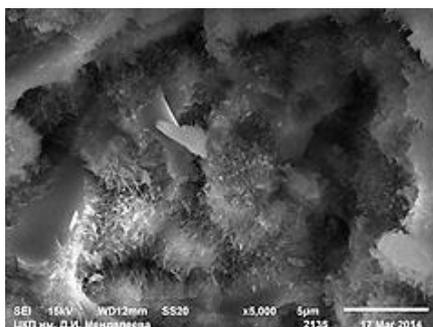
Выводы

В настоящей работе отработана технология получения пористых и гидроксипатитовых и кремний-структурированных гидроксипатитовых цементов на основе кремний-структурированных α-трикальцийфосфатов, монокальцийфосфата моногидрата и жидкости затворения – гидрофосфата натрия. Установлено, что в исследуемых сериях цементов формирование конечной фазы гидроксипатита кальция происходит со временем, и в срок 28 сут. цементная матрица представлена единственной фазой – гидроксипатитом.

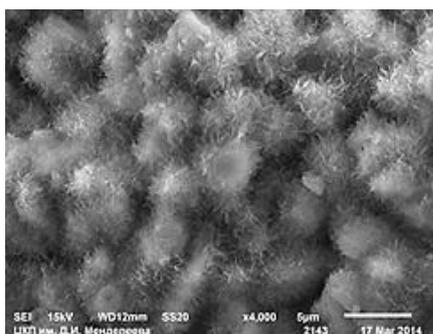
Полученные цементы всех серий характеризуются общей пористостью в пределах 40-48% и достаточной для протекания процессов инфильтрации и васкуляризации открытой пористостью – в пределах 27 – 31 %. Установлено, что введение кремния в структуру

исходного α -ТКФ приводит к увеличению растворимости получаемых цементов. Сравнительные исследования изменения механических свойств ГА и Si-ГА цементов показывают, что наибольшими значениями прочности обладают цементы состава Si-ГА (1).

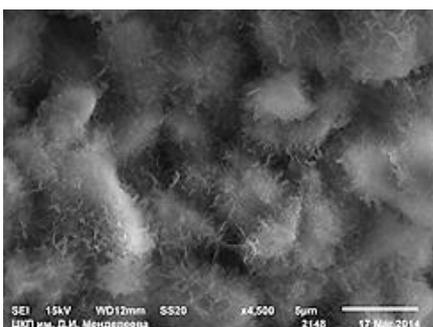
По показателям пористости, прочности, растворимости в водных средах и pH контактной среды оптимальны для применения в костно-пластической хирургии цементы состава Si-ГА (1) с использованием жидкости затворения – гидрофосфата натрия концентрацией 1 моль/л.



а

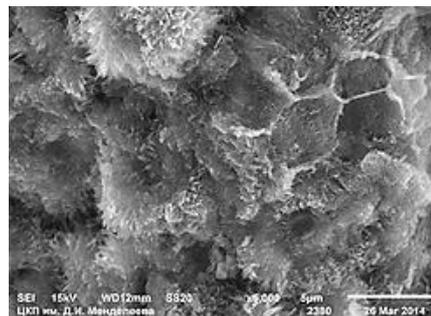


б

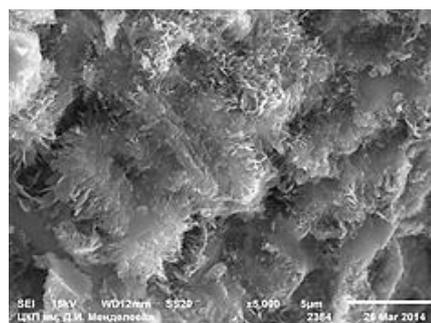


в

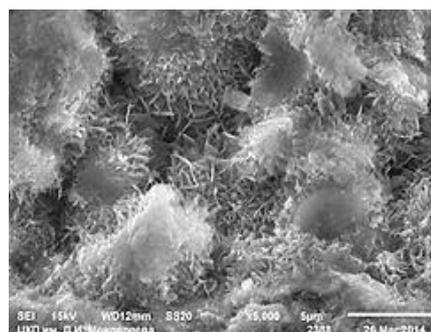
Рисунок 8 – Сканирующая электронная микроскопия ГА и Si-ГА цемента серии 1 на 7-е сут. твердения, на основе: а) α -ТКФ, б) Si- α -ТКФ (1); в) Si- α -ТКФ (2)



а



б



в

Рисунок 9 – Сканирующая электронная микроскопия ГА и Si-ГА серии 1 на 28-е сут. твердения, на основе: а) α -ТКФ, б) Si- α -ТКФ (1); в) Si- α -ТКФ (2)

Литература:

1. Carlisle E. Si: an essential element for the chick // Science. – 1972. – Vol. 178. – P. 619-621.
2. Schwarz K., Milne D. Growth promoting effects of Si in rats // Nature. – 1972. – Vol.239. – P. 333–334.
3. Воронков М.Г., Зелчан Г.И., Лукевиц Э.Я. Кремний и жизнь. - Рига. Знание, 1978. – 552 С.
4. Alexis M. Pietak, Joel W. Reid, Malcom J. Stott, Michael Sayer Silicon substitution in the calcium phosphate bioceramics // Biomaterials 2007; 28. – P. 4023–4032.
5. A.E. Portera, N. Patela, J.N. Skepperb, S.M. Besta, W. Bonfielda Comparison of in vivo dissolution processes in

References:

1. Carlisle E. Si: an essential element for the chick // Science. – 1972. – Vol. 178. – P. 619-621.
2. Schwarz K., Milne D. Growth promoting effects of Si in rats // Nature. – 1972. – Vol.239. – P. 333–334.
3. Voronkov MG, Zelchan G.I., Lukevits E.Ya. Kremniy i zhizn' [Silicium and life]. - Riga. Znaniye, 1978. – 552 S.
4. Alexis M. Pietak, Joel W. Reid, Malcom J. Stott, Michael Sayer Silicon substitution in the calcium phosphate bioceramics // Biomaterials 2007; 28. – P. 4023–4032.

hydroxyapatite and silicon-substituted hydroxyapatite bioceramics // *Biomaterials* 2003; 24. – P. 4609–4620.

6. Karin A. Hinga, Peter A. Revellb, Nigel Smithc, Thomas Buckland Effect of silicon level on rate, quality and progression of bone healing within silicate-substituted porous hydroxyapatite scaffolds // *Biomaterials* 2006; 27. – P. 5014–5026.

7. M. Mastrogiacomoa, A. Papadimitropoulosb, A. Cedolac, F. Peyrind, P. Giannonie Engineering of bone using bone marrow stromal cells and a silicon-stabilized tricalcium phosphate bioceramic: Evidence for a coupling between bone formation and scaffold resorption // *Biomaterials* 2007; 28. – P. 1376–1384.

5. A.E. Portera, N. Patela, J.N. Skepperb, S.M. Besta, W. Bonfielda Comparison of in vivo dissolution processes in hydroxyapatite and silicon-substituted hydroxyapatite bioceramics // *Biomaterials* 2003; 24. – P. 4609–4620.

6. Karin A. Hinga, Peter A. Revellb, Nigel Smithc, Thomas Buckland Effect of silicon level on rate, quality and progression of bone healing within silicate-substituted porous hydroxyapatite scaffolds // *Biomaterials* 2006; 27. – P. 5014–5026.

7. M. Mastrogiacomoa, A. Papadimitropoulosb, A. Cedolac, F. Peyrind, P. Giannonie Engineering of bone using bone marrow stromal cells and a silicon-stabilized tricalcium phosphate bioceramic: Evidence for a coupling between bone formation and scaffold resorption // *Biomaterials* 2007; 28. – P. 1376–1384.

Свентская Н. В., канд. техн. наук (s.w.natali@mail.ru), **Лукина Ю. С.**, канд. техн. наук, **Зайцев А. С.** – Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева, Москва, Россия