УДК 57.089.67
DOI 10.47367/0021-3497_2025_1_279

РАЗРАБОТКА КОМПОЗИТНОГО МАТЕРИАЛА ДЛЯ ИЗГОТОВЛЕНИЯ 2,5D-КАРКАСОВ С ЦЕЛЬЮ ПРИМЕНЕНИЯ В КОСТНОЙ ИНЖЕНЕРИИ

DEVELOPMENT OF A COMPOSITE MATERIAL FOR THE MANUFACTURE OF 2.5D SCAFFOLDS FOR USE IN BONE ENGINEERING

Д.С. ГЕРАСИМОВА, А.В. ШУЛЬГИН, Д.Ю. СЕЛЯКОВА, Г.О. МОЛОКАНОВ, А.М. КОПТЕВА, В.В. ШУПЛЕЦОВА

D.S. GERASIMOVA, A.V. SHULGIN, D.Y. SELYAKOVA, G.O. MOLOKANOV, A.M. KOPTEVA, V.V. SHUPLETSOVA

(Балтийский федеральный университет им. Иммануила Канта)

(Immanuel Kant Baltic Federal University)

E-mail: gerasimova.smartex@yandex.ru

Создание композитов для применения костной инженерии позволяет достигать необходимых свойств материала. Это происходит благодаря объединению нескольких компонентов, устраняющих недостатки друг друга. Так, полиэфирэфиркетон обладает превосходными механическими свойствами, низким влагопоглощением, термостойкостью. В свою очередь гидроксиапатит способен влиять на скорость образования новой костной ткани, обладая определенным уровнем биоактивности. Механические характеристики материала имплантата играют важную роль в продолжительности его срока службы, а также носимости и последующей необходимости в проведении повторной операции. Целью нашего исследования являлось установление зависимости изменения механических свойств от добавления гидроксиапатита в полимерную

матрицу, а также подтверждение отсутствия цитотоксичности полученного композита. В работе исследовались композиты с процентным содержанием гидроксиапатита 0,1% и 1% в полимерной матрице. Волокна для изготовления каркасов получены методом экструзии нити из расплава, смешение наполнителя и полимерной матрицы происходило в расплаве полимера. Проведенные механические испытания показали, что добавление гидроксиапатита в концентрации 1% приводит к уменьшению относительного удлинения, но повышению прочности и выживаемости клеток.

The creation of composites for the application of bone engineering makes it possible to achieve the necessary properties of the material. This is due to the combination of several components that eliminate each other's shortcomings. Thus, polyetheretherketone has excellent mechanical properties, low moisture absorption and heat resistance. In turn, hydroxyapatite is able to influence the rate of formation of new bone tissue, having a certain level of bioactivity. The mechanical characteristics of the implant material play an important role in its service life, as well as wearability and the subsequent need for reoperation. The purpose of our study was to establish the dependence of changes in mechanical properties on the addition of hydroxyapatite to the polymer matrix, as well as to confirm the absence of cytotoxicity of the resulting composite. In this work, composites with a percentage of hydroxyapatite of 0.1% and 1% in a polymer matrix were studied. Fibers for the manufacture of scaffolds were obtained by extrusion of a filament from a melt, mixing of the filler and the polymer matrix occurred in the polymer melt. Mechanical tests have shown that the addition of hydroxyapatite at a concentration of 1% leads to a decrease in elongation, but an increase in cell strength and survival.

Ключевые слова: полиэфирэфиркетон, гидроксиапатит, полимерный композит, медицинский композит, костная инженерия, механические испытания, клеточные испытания.

Keywords: polyesteresterketone, hydroxyapatite, polymer composite, medical composite, bone engineering, mechanical testing, cellular testing.

Обеспечение максимально комфортного восстановления пациента после повреждения костной ткани, а также отсутствие необходимости в проведении повторных операций остается важной и актуальной целью в развитии реконструкционной хирургии и костной инженерии. На сегодняшний день наиболее распространенным материалом, применяющимся в операциях при переломах и восстановлении костной ткани, является титан. Он обладает хорошей биосовместимостью, химической стабильностью и высокими механическими характеристиками. Однако имплантаты на основе такого материала из-за большого различия в механических характеристиках костной ткани и титана приводят к резорбции кости вокруг них и повторным операциям, а также со временем происходит выщелачивание ионов металла [1]. Полиэфирэфиркетон (ПЭЭК) может стать хорошей заменой титановым имплантатам [2]. Он обладает механическими характеристиками, сравнимыми с механическими характеристиками костной ткани. Например, модуль упругости титана составляет 102…110 ГПа, а модуль упругости ПЭЭК – 3…4 ГПа, что гораздо ближе к значению модуля упругости трабекулярной кости человека (0,1…2 ГПа) [3]. Совершенствовать свойства полимерного материала можно путем повышения его биологической активности для лучшего приживания в организме человека. Одним из

материалов, придающих биоактивность, является гидроксиапатит ($Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$). Он выполняет роль основного компонента минеральной фазы костной ткани человека, поэтому его использование в костной инженерии может помочь в создании необходимой интеграции между поврежденной костью и имплантатом, а также образовании химических связей. Такая модификация ортофосфата кальция является наиболее устойчивой и наименее растворимой. Гидроксиапатит (ГА) стимулирует процесс остеогенеза, при этом не вызывая реакции отторжения. Существует несколько подходов введения гидроксиапатита: напыление на поверхность имплантата или введение непосредственно в расплав полимера при экструзии волокна.

Объекты и методы исследования

Исходными компонентами для изготовления композита являлись полиэфирэфиркетон и гидроксиапатит. Полиэфирэфиркетон синтезирован в центре прогрессивных материалов и аддитивных технологий КБГУ, а гидроксиапатит получен научной группой Томского государственного университета по методике микроволнового синтеза с применением СВЧ-излучения [4…6]. Оба материала находились в форме порошка. Предварительно навески материалов смешивались в лабораторном стакане, а затем – в расплаве полимера. Оптимальное соотношение скорости вращения шнеков и времени перемешивания обеспечивали достаточную гомогенизацию расплава.

Композитное волокно было получено методом экструзии из расплава полимера через фильеру с отверстием круглого сечения. Линия для изготовления волокна с микрокомпаундером Xplore MC 15 HT полностью повторяет технологическую промышленную линию, а небольшой объем камеры экструдера (15 мл) позволяет получать большое количество различных образцов, расходуя малое количество материалов. Так как все полимеры в той или иной степени обладают свойством гигроскопичности, для удаления поглощенной воды полимер проходил этап предварительной сушки в течение 16 часов при температуре 150 °С в сушильном шкафу UT-4830V. Полученные волокна имели диаметр от 0,15 до 0,25 мм.

Механические испытания волокон на основе ПЭЭК проводили на разрывной испытательной машине Instron 34TM-10 с пневматическими захватами бокового действия. Все параметры и технология измерения соответствовали ГОСТ 6611.2-73. Деформационно-прочностные свойства исследовались методом одноосного растяжения волокон. Базовая длина каждого образца составляла 150 мм, давление захвата 3 бар, предварительная нагрузка 10 гс. Для испытания всех образцов выбрана оптимальная скорость 10 мм/мин, все результаты рассчитаны с 95% вероятностью.

Результаты и обсуждения

Проведены механические испытания образцов из чистого полиэфирэфиркетона, а также с добавлением гидроксиапатита в концентрации 0,1% и 1%. Получены механические характеристики для трех видов волокон при скорости растяжения 10 мм/мин.

Физико-механические свойства полимерного материала определяются не только природой наполнителя и полимерной матрицы, но и состоянием межфазного слоя на границе двух фаз [7]. Полимерная матрица обладает способностью перераспределения напряжения между соседними дисперсными частицами, а также препятствует росту трещин за счет относительно высокой пластичности. При улучшении одного из параметров обычно ухудшается другое свойство материала. Так, при повышении прочности полимерного композита его максимальное удлинение и способность к деформациям уменьшается.

График зависимости напряжения от концентрации гидроксиапатита имеет линейный характер (рис. 1). Для образца на основе чистого ПЭЭК значение напряжения при разрушении составляет 99±12 МПа. С увеличением концентрации ГА значение напряжения увеличивается прямо пропорционально. Прочность при разрушении при добавлении 1% гидроксиапатита увеличивается примерно в 1,5 раза. Таким образом, гидроксиапатит выступает в роли армирующей добавки и повышает прочность полученного волокна.

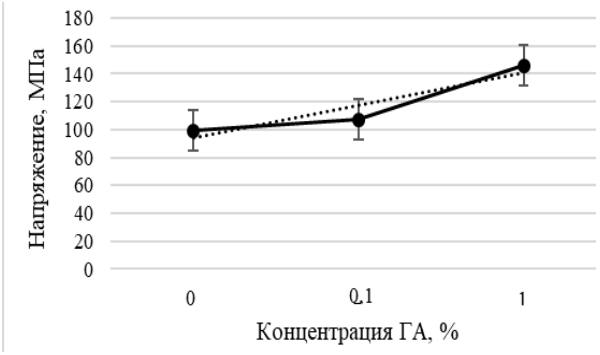


Рис. 1

Осевое растяжение вдоль волокна при различной концентрации гидроксиапатита показано на рис. 2. При введении дисперсного наполнителя в матрицу полимера возникает перенапряжение на границе между частицей и матрицей, что приводит к микроразрушению и дальнейшему разрастанию образующейся трещины.

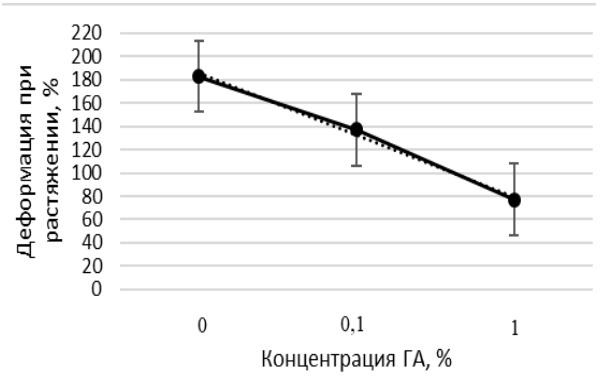


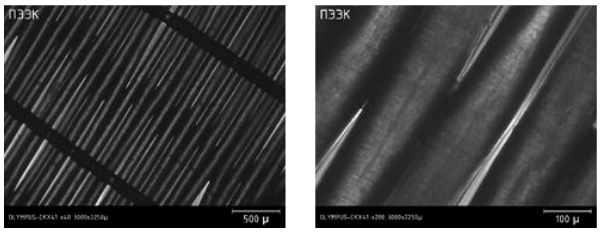
Рис. 2

Значение деформации при растяжении для волокна из чистого ПЭЭК составляет 183±16 %. При введении 0,1% ГА деформация при разрыве снижается на 25%, а при введении 1% ГА – на 60%.

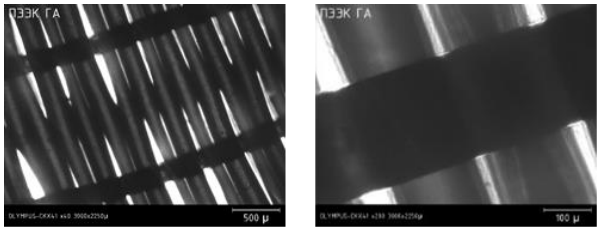
Для проведения клеточных испытаний были изготовлены 2,5D-каркасы на основе полученного волокна (рис. 3). 2,5D-каркасы плелись методом простого полотняного переплетения на пластиковой канве с шагом плетения ≈2 мм. Размер каждого каркаса составлял не менее 15×20 мм. Диаметр волокна находился в диапазоне 0,15…0,25 мм, расстояние между волокнами составляло не более 250 мкм. Модельное волокно для отработки методики плетения было на основе полиамида (ПА).

Рис. 3

При проведении тестов использовали мезенхимальные стволовые клетки, выделенные из жировой ткани человека. Тесты проводились с двумя видами каркасов – на основе чистого полиэфирэфиркетона и с добавлением 1% гидроксиапатита. До заселения каркаса клетками и после была проведена фазово-контрастная микроскопия. Исследования проводились на японском конвертированном микроскопе Olympus CKX 41. Расстояние между волокнами данного образца составляет 50…100 микрон (рис. 4 – фазово-контрастное микроскопическое изображение каркасов до заселения клетками: а) ПЭЭК; б) ПЭЭК+1% ГА).



а)

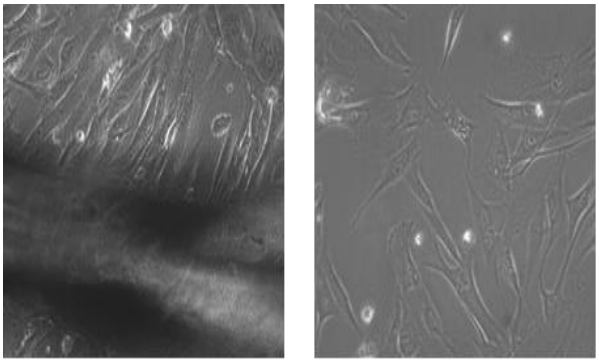


б)

Рис. 4

С помощью метода фазово-контрастной микроскопии в том числе была оценена морфология клеток на образцах ПЭЭК, ПЭЭК с 1% ГА через 48 часов и 7 суток со дня посева клеток. Такой метод позволяет обнаружить значительно больше структурных деталей. Например, различимыми

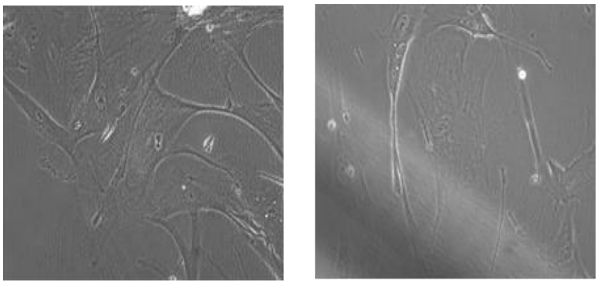
становятся места прикрепления клеток и в значительной степени внутренняя структура (рис. 5 – фазово-контрастное микроскопическое изображение клеток на каркасах после 48 часов экспозиции: а) ПЭЭК, б) ПЭЭК+1% ГА).



а) б)

Рис. 5

Ядра здоровых, патологически не измененных клеток четко оформленные, с ярко выраженными ядрышками и внутриядерными структурами. Ядерно-цитоплазматический индекс значительно меньше единицы, что свидетельствует об отсутствии воспалительных реакций и патологических пролиферативных процессов в культуре. Клетки в нормальной культуре имеют стандартную форму, характерную для зрелых фибробластоидных клеточных типов. Отмечены нормальные межклеточные взаимодействия, опосредованные мембранными контактами и клеточными отростками (рис. 6 – фазово-контрастное микроскопическое изображение клеток на каркасах после 7 суток экспозиции: а) ПЭЭК, б) ПЭЭК+1% ГА)



а) б)

Рис. 6

Подсчет жизнеспособных клеток проводился методом окрашивания трипановым синим с использованием камеры Горяева. В результате 7-суточной экспозиции получены данные, приведенные в табл. 1. Контроль положительный (КП) в остеоиндуктивной среде отображает способность клеток дифференцироваться в остеобластоподобные клетки при воздействии на них индукторами. Контроль отрицательный (КО) показывает отсутствие самопроизвольной клеточной дифференцировки, а также отсутствие влияния среды на процесс дифференцирования.

Таблица 1

Название	Количество живых клеток в мл
КО	$0{,}4\times10^5$
КП	$1{,}4\times10^5$
ПЭЭК	$1{,}2\times10^5$
ПЭЭК+1% ГА	2×10^5

По результатам подсчета заметно различие в количестве жизнеспособных клеток на образцах из полиэфирэфиркетона и полиэфирэфиркетона с добавлением ГА. Таким образом, гидроксиапатит оказал существенное влияние на выживаемость клеток на образце ПЭЭК, повысив значение более чем на 60%. Невысокий показатель жизнеспособных клеток в образце положительного контроля вызван торможением пролиферации и началом дифференцировки ММСК в остеобластоподобные клетки.

ВЫВОДЫ

В результате проведенной работы создан композит на основе полиэфирэфиркетона и неорганического наполнителя – гидроксиапатита. Добавление такого рода наполнителя позволило увеличить биоактивность материала и, как следствие, выживаемость клеток примерно на 60 %. Для проведения клеточных испытаний отработана методика получения каркасов размером 20×15 мм методом полотняного переплетения. Волокна для изготовления каркасов получены методом экструзии нити из расплава, смешение наполнителя и полимерной матрицы происходило в расплаве полимера. Проведенные механические испытания показали, что добавление гид-

роксиапатита как в концентрации 0,1%, так и в концентрации 1% приводит к уменьшению относительного удлинения, то есть уменьшению деформации при растяжении. При этом прочность волокна практически не меняется при добавлении 0,1% гидроксиапатита, но увеличивается примерно в 1,5 раза при добавлении 1% гидроксиапатита. Понимание механизма проявления тех или иных макроскопических свойств полимерных материалов дает возможность создавать полимерные материалы с заданными свойствами и влиять на них в нужном направлении.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Czarnowska E., Morgiel J., Ossowski M. etc.* Microstructure and biocompatibility of titanium oxides produced on nitrided surface layer under glow discharge conditions // J Nanosci Nanotechnol. 2011. № 11. P. 17...23.

2. *Bharadwaz A., Jayasuriya A.C.* Recent trends in the application of widely used natural and synthetic polymer nanocomposites in bone tissue regeneration // Mater. Sci. Eng. 2020, 110.

3. *Kurdanova Z.I., Zhansitov A.A., Slonov A.L. etc.* Synthesis and research of properties of polyether ether ketone // Key Engineering Materials. 2019. № 816. P. 55...60.

4. *Беев А.А., Хаширова С.Ю., Беева Д.А. и др.* Порошкообразные ароматические полиэфирэфиркетоны и сополиэфирэфиркетоны // Пластические массы. 2022. С. 6...9.

5. *Рассказова Л.А., Коротченко Н.М., Гузеев В.В.* Сравнение свойств немодифицированного и кремниймодифицированного гидроксиапатитов, полученных при микроволновом воздействии // Ползуновский вестник. 2013. №1.

6. *Bankole I.O., Sikiru O.I., Oluwole K.B. etc.* Lattice design and 3D-printing of PEEK with Ca10(OH)(PO4)3 and in-vitro bio-composite for bone implant // International Journal of Biological Macromolecules. 2020, 165. P. 50...62.

REFERENCES

1. *Czarnowska E., Morgiel J., Ossowski M. etc.* Microstructure and biocompatibility of titanium oxides produced on nitrided surface layer under glow discharge conditions // J Nanosci Nanotechnol. 2011. № 11. P. 17...23.

2. *Bharadwaz A., Jayasuriya A.C.* Recent trends in the application of widely used natural and synthetic polymer nanocomposites in bone tissue regeneration // Mater. Sci. Eng. 2020, 110.

3. *Kurdanova Z.I., Zhansitov A.A., Slonov A.L. etc.* Synthesis and research of properties of polyether ether ketone // Key Engineering Materials. 2019. № 816. P. 55...60.

4. *Beev A.A., Khashirova S.Yu., Beeva D.A. etc.* Powdered aromatic polyetheretherketones and copolyetheretherketones // Plasticheskie massy. 2022. P. 6…9.

5. *Rasskazova L.A., Korotchenko N.M., Guzeev V.V.* Comparison of properties of unmodified and silicimodified hydroxyapatites obtained by microwave exposure // Polzunovsky vestnik. 2013. №.1.

6. *Bankole I.O., Sikiru O.I., Oluwole K.B. etc.* Lattice design and 3D-printing of PEEK with Ca10(OH)(PO4)3 and in-vitro bio-composite for bone implant // International Journal of Biological Macromolecules. 2020, 165. P. 50...62.

Рекомендована оргкомитетом XX Международной научно-практической конференции «Новые полимерные композиционные материалы». Поступила 01.10.24.