

УДК 620.193::616–77:[546.41+546.46/.47]

<https://doi.org/10.52420/2071-5943-2024-23-1-77-89><https://elibrary.ru/LEVZFY>

Экспериментальное исследование коррозионных и биосовместимых свойств биорезорбируемых имплантатов из сплава Mg-Ca-Zn

Иван Иванович Гордиенко¹✉, Екатерина Сергеевна Марченко²,
Семён Александрович Борисов¹, Степан Петрович Черный¹,
Наталья Александровна Цап¹, Арина Андреевна Шишелова²,
Антон Павлович Хрусталёв², Павел Игоревич Бутягин², Светлана Сергеевна Арбузова²

¹ Уральский государственный медицинский университет, Екатеринбург, Россия

² Национальный исследовательский Томский государственный университет, Томск, Россия

✉ ivan-gordienko@mail.ru

Аннотация

Актуальность. Магний и его сплавы используются в качестве биоразлагаемых костных имплантатов из-за высокой биосовместимости, однако проблемой их использования является быстрая биодеградация с потерей прочности.

Цель исследования. Экспериментальная оценка биорезорбируемых имплантатов из сплава Mg-Ca-Zn *in vitro* и в костной ткани *in vivo* для определения оптимальной скорости биодеградации, биосовместимости и репаративного ответа костной ткани.

Материалы и методы. Образцы из сплава Mg-Ca-Zn покрывали в ванне микродугового оксидирования (МДО), а для дальнейшего определения оптимального фазового состава и свойств поверхности образцы выдерживали в электролите. Для оценки биоразложения образцы в асептических условиях погружали в синтетическую культуральную среду DMPI-1840. Биодеградация имплантатов оценивалась по потере массы образцов *in vitro* и наличию газа в костной ткани *in vivo*, а биосовместимость и репаративный ответ костной ткани — по ее перимплантной плотности.

Результаты. Все образцы Mg-Ca-Zn с покрытием демонстрируют снижение потери массы по сравнению с образцом без покрытия. Имплантаты из магния с 20-минутной выдержкой в электролите показали оптимальную скорость биодеградации, биосовместимости и репаративного ответа костной ткани.

Обсуждение. При использовании МДО, в нашем исследовании показана хорошая биосовместимость и низкая скорость коррозии образцов. Получены аналогичные с литературными данные о значительном 5-кратном увеличении коррозионной стойкости у имплантатов с покрытием по сравнению с образцами без него.

Заключение. Результаты экспериментальной оценки биорезорбируемых имплантатов Mg-Ca-Zn *in vitro* и в костной ткани *in vivo* показали, что образцы с покрытием демонстрируют малую потерю массы при биодеградации с минимальным выделением газа в кость. Отмечается отрицательная корреляция между длительностью выдержки образца в электролите (толщиной покрытия) со степенью биодеградации, прямая корреляция с репаративным ответом.

Ключевые слова: магниевые сплавы, микродуговое оксидирование, биодеградация, биосовместимость, репаративный ответ

Финансирование. Экспериментальные исследования на лабораторных животных и КТ-исследования проводились в рамках госзадания «Новые биоэквивалентные и биорезорбируемые остеопластические материалы для травматологии и реконструктивной хирургии» № 056-00063-22-01 от 2022 г. Получение образцов и исследование структуры проводилось в рамках госзадания Минобрнауки России, проект № FSWM-2020-0022.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии явных и потенциальных конфликтов интересов.

Соответствие принципам этики. Протокол исследования одобрен локальным этическим комитетом Уральского государственного медицинского университета (протокол № 6 от 17 июня 2022 г).

Для цитирования: Экспериментальное исследование коррозионных и биосовместимых свойств биорезорбируемых имплантатов из сплава Mg-Ca-Zn / И. И. Гордиенко, Е. С. Марченко, С. А. Борисов [и др.] // Уральский медицинский журнал. 2024. Т. 23, № 1. С. 77–89. DOI: <https://doi.org/10.52420/2071-5943-2024-23-1-77-89>. EDN: <https://elibrary.ru/LEVZFFV>.

Experimental Study of the Corrosive and Biocompatible Properties of Bioresorbable Mg-Ca-Zn Alloy Implants

Ivan I. Gordienko¹ ✉, Ekaterina S. Marchenko², Semen A. Borisov¹,
Stepan P. Chernyy¹, Natalia A. Tsap¹, Arina A. Shishelova²,
Anton P. Khrustalev², Pavel I. Butyagin², Svetlana S. Arbuzova²

¹ Ural State Medical University, Ekaterinburg, Russia

² National Research Tomsk State University, Tomsk, Russia

✉ ivan-gordienko@mail.ru

Abstract

Introduction. Magnesium and its alloys are used as biodegradable bone implants due to their high biocompatibility, however, the problem of use is rapid biodegradation with loss of strength.

The purpose of the study. Experimental evaluation of bioresorbable Mg-Ca-Zn alloy implants in vitro and in bone tissue in vivo, in order to determine the optimal rate of biodegradation, biocompatibility and reparative response of bone tissue.

Materials and methods. Samples from the obtained Mg-Ca-Zn alloy were coated in a microarc oxidation bath (MDO), and to further determine the optimal phase composition and surface properties, the samples were kept in an electrolyte. The biodegradation of implants was assessed by the loss of mass of samples in vitro, and the release of gas into bone tissue in vivo, and the biocompatibility and reparative response of bone tissue density.

Results. All Mg-Ca-Zn coated samples show reduced weight loss compared to the uncoated sample. Magnesium samples with a 20-minute exposure in electrolyte, in the context of its application in anatomically unloaded areas, showed the optimal rate of biodegradation, biocompatibility and reparative response of bone tissue.

Discussion. In our study using the microarc oxidation for control the corrosion resistance samples of magnesium alloy shows good biocompatibility and low corrosion rate. We found 5-fold increase in corrosion resistance in coated implants, compared with uncoated samples.

Conclusion. The results of an experimental evaluation of bioresorbable Mg-Ca-Zn alloy implants in vitro and in bone tissue in vivo showed that Mg-Ca-Zn coated samples demonstrate low weight loss during biodegradation, with minimal gas release into the bone.

Keywords: magnesium alloys, microarc oxidation, biodegradation, biocompatibility, reparative response

Funding. Experimental studies on laboratory animals and CT studies were carried out within the framework of the state task “New Bioequivalent and Bioresorbable Osteoplastic Materials for Traumatology and Reconstructive Surgery” No. 056-00063-22-01 of 2022. Obtaining samples and studying the structure was carried out within the framework of the State Task of the The Ministry of Education and Science of Russia, No. FSWM-2020--0022.

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious or potential conflict of interest.

Conformity with the principles of ethics. The study was approved by the Local Ethics Committee of the Ural State Medical University (Protocol No. 6 from 17 June 2022).

For citation: Gordienko II, Marchenko ES, Borisov SA, Chernyy SP, Tsap NA, Shishelova AA, et al. Experience in the use of surgical access to the distal part of the radius in comminuted intra-articular fractures. *Ural Medical Journal*. 2024;23(1):77–89. DOI: <https://doi.org/10.52420/2071-5943-2024-23-1-77-89>. EDN: <https://elibrary.ru/LEVZFFV>.

Введение

Магний (Mg) и его сплавы очень часто используются в качестве биоразлагаемых костных имплантатов и стентов из-за высокой биосовместимости с костной тканью и физико-механических свойств, таких как высокая прочность, жесткость и низкий модуль Юнга [1, 2]. Однако магний в чистом виде имеет очень короткие сроки резорбции в агрессивной среде организма, что требует его легирования другими элементами для повышения коррозионной стойкости. За последние годы проведено множество исследований по повышению коррозионной стойкости и механических характеристик сплавов на основе магния [3–5].

Введение редкоземельных металлов (РЗМ) в магниевые сплавы позволяет повышать предел текучести более 450 МПа, но эти элементы являются нежелательными для организма, выделение которых происходит в процессе биодеградации имплантата [6, 7]. Легирование кальцием (Ca) и цинком (Zn) позволяет добиться повышения прочности и жесткости магниевых сплавов. В связи с этим сплавы Mg-Ca-Zn являются привлекательными для использования в медицинских имплантатах, таких как ортопедические и зубные. Кроме того, сплавы Mg-Ca-Zn хорошо поддаются деформационной и механической обработке, имеют низкую плотность, что существенно увеличивает привлекательность производства имплантатов на их основе [8–12]. Однако высокая скорость деградации сплавов Mg-Ca-Zn не позволяет имплантатам выполнять свою хирургическую функцию до их извлечения. Неоднородная локальная коррозия, начинающаяся с поверхности магниевых сплавов, делает поведение коррозии неконтролируемым.

В качестве решения проблем коррозии применяются покрытия, полученные разными методами, фазовый состав которых существенно различается. Например, в работе Ш. Чен и др. (англ. S. Chen et al.) [13] получено комбинированное покрытие на основе фтора, покрытия Mg (OH)₂ методом щелочно-термической обработки [14], фосфата кальция [15] и др. Ранее в собственных исследованиях были найдены покрытия на основе TiN, полученные методом магнетронного напыления [16, 17]. Несмотря на существенное повышение коррозионной стойкости сплава Mg-Ca-Zn при нанесении покрытия TiN, из-за особенностей метода, связанных с нагревом подложки, не всегда удается получить стабильное по толщине и фазовому составу покрытие. Также такой метод нанесения покрытия не обеспечивал возможность контроля биодеградации полученного имплантата. Более экономически выгодным для получения на поверхности медицинских имплантатов защитных покрытий является метод микродугового оксидирования (МДО) [18]. Процесс нанесения покрытия осуществляется в ванне с растворами солей, что не приводит к локальному перегреву магниевых сплавов и позволяет получать более стабильное покрытие с заданной скоростью коррозии [19]. Кроме того, МДО позволяет получать покрытия различного химического состава в зависимости от типа электролита и режима обработки [20–23]. В зависимости от фазового и элементного состава сплава структура и свойства покрытий, полученных с использованием МДО, существенно отличаются, поэтому актуальным является исследование покрытий в процессе разработки сплава, что в том числе при необходимости позволит оптимизировать состав сплава [23–25]. Выбор оптимальных параметров получения покрытий на сплавах Mg-Ca-Zn позволит контролировать процесс биодеградации в зависимости от конкретной медицинской задачи. Таким образом, исследование влияния параметров МДО на формирование структуры и свойства покрытий сплавов Mg-Ca-Zn является перспективным с точки зрения создания медицинских биоразлагаемых имплантатов с контролируемой скоростью коррозии.

Цель исследования — экспериментальная оценка биорезорбируемых имплантатов из сплава Mg-Ca-Zn *in vitro* и в костной ткани *in vivo* для определения оптимальной скорости биодеградации, биосовместимости и репаративного ответа костной ткани.

Материалы и методы

Получение образцов и нанесение покрытия

В этой работе для получения исследуемых сплавов Mg-Ca-Zn использованы технически чистый магний (99,99%), кальций (99,99%) и цинк (99,99%). Порошковый Mg в количестве 1000 г помещался в стальной тигель и расплавлялся в муфельной печи открытого типа с одновременным

продувом аргоном в качестве инертной среды для предотвращения горения. При достижении расплавом 720 °С вводился Zn с массовой долей 1,5 % с последующим механическим перемешиванием со скоростью вращения 1 200 об/мин до его полного растворения. После повторного нагрева расплава до 720 °С при помощи стального колышка в расплав вводился Ca с массовой долей 0,5 % с перемешиванием в течение 60 с. Заливка расплава в стальной кокиль сопровождалась вибрационной обработкой на вибростол с частотой 60 Гц и амплитудой 0,5 мм.

Образцы из полученного сплава Mg-Ca-Zn покрывали в ванне МДО объемом 10 л из нержавеющей стали с барботажем для перемешивания электролита и змеевиками для его охлаждения. Температура электролита поддерживалась в интервале 20–25 °С. Охлаждение осуществляли с помощью чиллера. К ванне МДО подключали однополярный импульсный источник питания ARCCOR мощностью 6 кВт (завод приборов и средств автоматизации «Элеси», Россия)¹. Для покрытия использовали слабощелочной фосфатно-боратный электролит Manel-W (pH = 8–9) (АО «МАНЭЛ»)². Использовали следующие режимы формирования покрытий: напряжение 450 В, длительность импульса 150 мкс, частота следования импульса 50 Гц. Для дальнейшего определения оптимального фазового состава и свойств поверхности образцы выдерживали в электролите 5, 10 и 20 мин. Нумерация образцов:

M0 — исходный сплав Mg-Ca-Zn без покрытия;

M5 — Mg-Ca-Zn после 5-минутной выдержки в электролите;

M10 — Mg-Ca-Zn после 10-минутной выдержки в электролите;

M20 — Mg-Ca-Zn после 20-минутной выдержки в электролите.

Морфологическая характеристика поверхности

Морфологию поверхности покрытия образцов M5, M10, M20 исследовали методом растровой электронной микроскопии (РЭМ) с последующим анализом элементарного картирования с использованием энергодисперсионной рентгеновской спектроскопии (ЭДС).

Исследование биодеградации *in vitro* и эксперимент *in vivo*

Для оценки биоразложения образцы в асептических условиях погружали в синтетическую культуральную среду DMPI-1840 с низким содержанием питательных микроэлементов (NaCl — 5,9 г/л; KCl — 0,4 г/л; Na₂CO₃ — 0,8 г/л; Ca(CO₃)₂·4H₂O — 0,1 г/л; MgSO₄, аминокислоты и витамины — 0,049 г/л; Sigma-Aldrich, США) при 37 °С (использовали 1 мл среды на каждый образец согласно ISO 10993-6:2016³). Перед испытанием погружением все образцы размером 2×10×10 мм стерилизовали сухим жаром при 453 К в течение 1 ч. Образцы извлечены через 21 день и высушены при температуре на воздухе при 22 °С в течение 14 дней для регистрации изменения массы образцов. Масса образцов взвешивалась на аналитических весах ВМ-П с высшей точностью по ГОСТ 22261-94⁴ (среднеквадратичное отклонение при взвешивании составляло 0,003–0,009 мг).

Экспериментальное исследование проведено на базе вивария Уральского государственного медицинского университета в соответствии с Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных⁵ и принципами, изложенными в Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для эксперимента и других целей (Страсбург, 1986).

Экспериментальное исследование, приведенное в статье, направленное на изучение инновационного сплава Mg-Ca-Zn с покрытием, одобрено локальным этическим комитетом Уральского государственного медицинского университета (протокол № 6 от 17 июня 2022 г.).

¹ Технические условия ПСЕА.435311.003 ТУ, ГОСТ 15150 УХЛ 4*, ГОСТ 12.2.007.0 класс I, ГОСТ 30804.6.2, ГОСТ Р 51318.11.

² Патент № 2671311 РФ. Электролит для нанесения покрытия на вентильные металлы и их сплавы, способ нанесения покрытия и покрытие, полученное таким способом : № 2016123306 : заявл. 10.06.2016 ; опубл. 31.10.2018 / П. И. Бутягин, С. С. Арбузова, А. В. Большанин ; заявитель АО «МАНЭЛ». 15 с. EDN: <https://elibrary.ru/qcicap>.

³ ГОСТ ISO 10993-6-2021. Изделия медицинские. Оценка биологического действия медицинских изделий. Ч. 6. Исследования местного действия после имплантации. URL: <https://clck.ru/397H9p> (дата обращения: 10.01.2024).

⁴ ГОСТ 22261-94. Средства измерений электрических и магнитных величин. Общие технические условия. URL: <https://clck.ru/397HC6> (дата обращения: 10.01.2024).

⁵ Правила проведения работ с использованием экспериментальных животных : прил. к приказу М-ва здравоохранения СССР от 12 августа 1977 г. № 755. URL: <https://clck.ru/397HAR> (дата обращения: 10.01.2024). Прим. — не действуют на территории России с 25 июня 2020 г.

Все животные содержались в соответствии с СанПиН 3.3686–21¹. Эксперимент проводился на 10 половозрелых самцах лабораторных кроликов породы «Советская шиншилла» весом 1900–3100 г. Всем животным в каждую лапу имплантированы цилиндрические имплантаты диаметром 2 мм из сплава Mg-Ca-Zn с покрытием.

Для исследования биосовместимости сплавов Mg-Ca-Zn с покрытием проведено экспериментальное моделирование патологии с последующей имплантацией образцов материала.

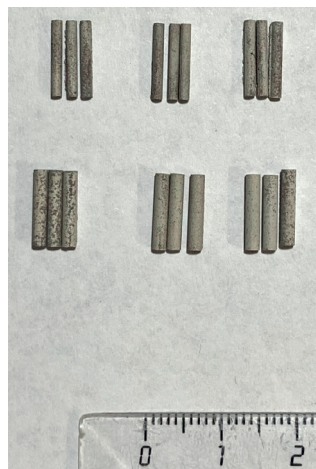


Рис. 1. Образцы материала Mg-Ca-Zn для имплантации в бедренную кость лабораторного кролика

Исследование проводилось в стерильных условиях под общей анестезией. Проведение наркоза осуществляли путем внутримышечной инъекции препарата «Золетил 100» из расчета 10 мг/кг. После подготовки операционного поля, удаления шерсти и обработки растворами антисептика производился операционный доступ путем разреза кожи до 3 см по наружной поверхности дистального отдела бедренной кости на обеих лапах. Тупым и острым путем выделен дистальный метафиз бедренной кости, при помощи гравера со стерильным цилиндрическим наконечником диаметром 2 мм выполнено трефинационное отверстие в дистальном метафизе бедренной кости размерами 2×10 мм (рис. 2, а). Далее в полученное отверстие при помощи пинцета устанавливали имплантат соответствующего диаметра и плотно погружали его до противоположного кортикального слоя (рис. 2, б).

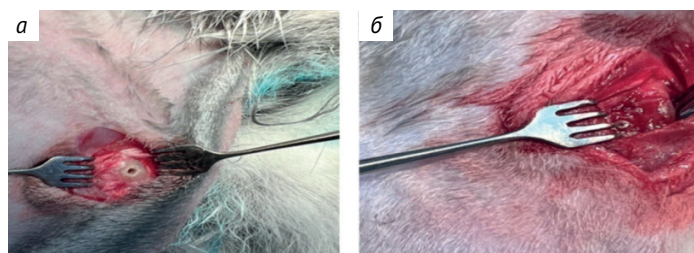


Рис. 2. Трефинационное отверстие в дистальном метафизе бедренной кости лабораторного кролика диаметром 2 мм (а) и вид имплантированного имплантата в дистальный метафиз бедренной кости лабораторного кролика диаметром 2 мм (б)

Для предупреждения миграции имплантата из кости плотного ушивали над ним надкостницу. Завершали операцию послойными швами раны и обработкой бриллиантовой зеленью области основного доступа. Послеоперационный период протекал без особенностей, обезболивание проводили препаратом «Флекспрофен» 2,5 % из расчета 2,5 мг/кг.

¹ СанПиН 3.3686–21. Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней. URL: <https://clck.ru/393vUp> (дата обращения: 10.01.2024).

Сравнивались две группы кроликов *in vivo*: контрольная — 2 кролика подгруппы M0, которым вживлялись имплантанты без покрытия (4 лапы); основная — по 2 кролика в подгруппах M5, M10, M20 с имплантатами с покрытием с разной степенью выдержки в электролите (всего 6 кроликов, 12 лап). Суммарно в исследовании участвовало 8 кроликов, 16 лап.

Биодеградация оценивалась количественно по потере массы образцов *in vitro* после погружения в культуральную среду DMPI-1840 и выделению газа в костную ткань *in vivo*, а биосовместимость и репаративный ответ — по периимплантной плотности костной ткани с помощью оценки сканов компьютерной томографии (КТ).

Статистическая обработка данных выполнена с использованием статистического пакета Jamovi 2.3.28. Использовались количественные переменные с параметрическим распределением, с расчетом среднего значения (*англ.* Mean, M) и стандартного отклонения (*англ.* Standard Deviation, SD); относительные переменные, или доли (%). Применялся корреляционный анализ Пирсона. Значимыми считались различия с вероятностью нулевой гипотезы менее 0,05.

Результаты и обсуждение

На всех образцах сформированное покрытие имеет пористую структуру, характерную для микродугового оксидирования (рис. 3).

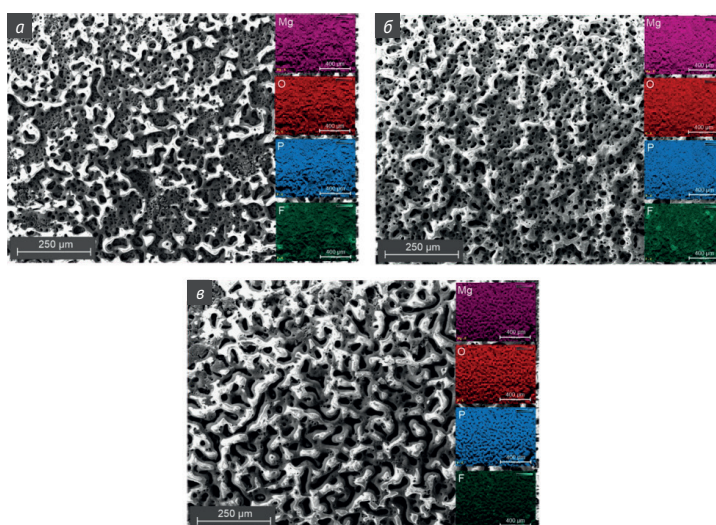


Рис. 3. РЭМ-снимки морфологии поверхности сплава Mg-Ca-Zn с покрытиями и ЭДС-картирование образцов M5 (а), M10 (б) and M20 (в)

Пористая структура покрытия наиболее благоприятна для его хорошей биосовместимости. Пористое пространство заполняется тканевыми жидкостями, соединительной тканью, молодыми хрящевыми и костными тканями при замещении дефектов живой костной ткани. Это уменьшает сроки и увеличивает качество интеграции имплантата. Отмечается высокая шероховатость поверхности всех образцов, о чем свидетельствует сильный перепад контраста на РЭМ-снимках. Поверхность покрытия состоит преимущественно из Mg, кислорода (O), фосфора (P). В табл. 1 приведены концентрации элементов поверхности для всех образцов. Включения на основе фтора (F) зафиксированы в результате проникновения электронов в более глубокие слои покрытия при ЭДС-картировании. При увеличении времени выдержки и росте толщины покрытия концентрация и размер включений на основе F снижается. Наименьшее значение F зафиксировано для образца M20 (табл. 1).

Проведены количественные измерения потери массы *in vitro* методом погружения в агрессивный раствор для оценки коррозионного поведения и биодеградации сплавов. В табл. 2 представлены значения начальной и конечной массы образцов спустя 21 день после погружения в культураль-

ную среду DMPI-1840. Три образца Mg-Ca-Zn с покрытием демонстрируют существенное снижение потери массы по сравнению с образцом без покрытия. Следовательно, представленный метод нанесения покрытия успешно защищает сплавы Mg-Ca-Zn от биодеградации.

Таблица 1

Данные энергодисперсионной рентгеновской спектроскопии поверхности сплавов Mg-Ca-Zn с покрытием при разной выдержке в электролите

Образец	Концентрация элемента, %					
	Mg	O	P	F	Ca	Zn
M5	24,2	63,4	7,5	4,2	0,3	0,4
M10	23,9	65,1	7,7	2,9	0,3	0,2
M20	23,1	67,9	7,7	1,1	0,1	0,1

Таблица 2

Результаты биодеградации образцов Mg-Ca-Zn с покрытием и без покрытия in vitro

Образец	Начальная масса 1 образца, г	Масса 1 образца через 21 день, г	Потеря массы			
			г	%	M (SD)	
					г	%
M0	0,459	0,298	0,16	34,8	0,07 (0,06)	6,9 (1,4)
M5	0,496	0,456	0,04	8,1		
M10	0,551	0,520	0,03	5,4		
M20	0,559	0,519	0,04	7,1		

Относительная потеря массы имплантата без покрытия in vitro составила 34,8 %, абсолютная потеря массы 0,16 г. В случае образцов с покрытием in vitro наблюдается значительное снижение скорости деградации имплантатов: в случае образца с 5-минутной выдержкой относительная потеря массы составила 8,1 %, 10-минутной — 5,4 %, 20-минутной — 7,1 %. Среднее значение M (SD) потери массы из 3 имплантатов in vitro составило в абсолютных значениях 0,07 (0,06) г (6,9 (1,4) %) от начальной массы образца, что в 5 раз ниже, чем у имплантатов без покрытия. Динамика потери массы имплантатов представлена на рис. 4.

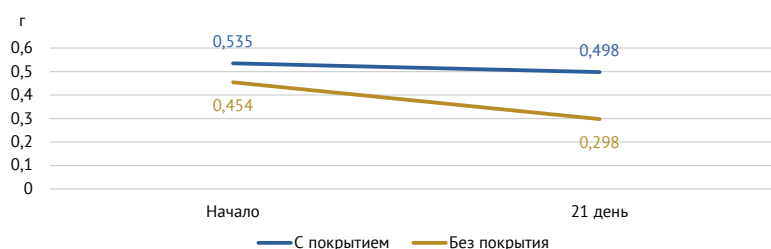


Рис. 4. Динамика биодеградации (потери массы, г) образцов Mg-Ca-Zn с покрытием и без покрытия от времени

При проведении клинической оценки результатов в первые 28 дней от момента установки имплантата отмечалось полное отсутствие гнойно-воспалительных осложнений у всех животных. В зоне имплантации материала пальпация безболезненная, местная температура не повышена, передвижение животных в клетке не затруднено.

На 28 сутки всем особям проведена КТ, на которой произведены измерения количества выделенного газа в ткани.

Для образца M5 присутствует значительное количество газа в костномозговом канале бедренной кости лабораторного животного, который заполняет до 1/4 всей полости канала. Сам имплан-

тат на снимках контурируется плохо, что может свидетельствовать об активной стадии биодеградирования (рис. 5, а).

На КТ-сканах бедренной кости кролика с имплантатом из образца M10 также отмечается выделение газа в полость костномозгового канала, однако в визуально меньшем объеме (рис. 5, б). Сам имплантат контурируется хорошо, что может свидетельствовать о медленной биорезорбции.

Результаты КТ-сканов, полученных у лабораторных кроликов с имплантатом из образца M20, показывают наименьшее количество газа в области введенного имплантата (рис. 5, в). Сам имплантат прослеживается по всей его длине.

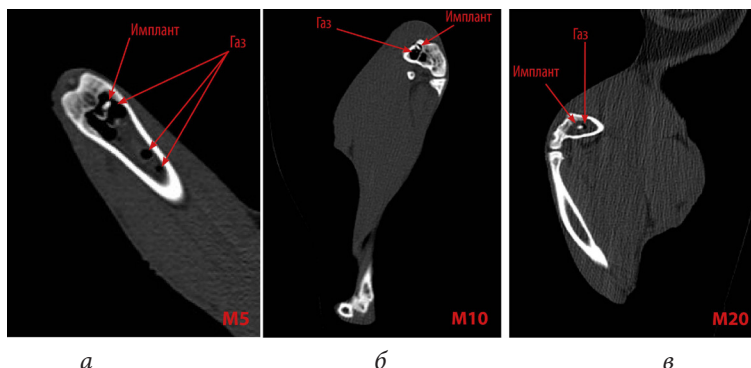


Рис. 5. Фронтальный срез КТ лабораторных кроликов на 28 сутки от момента имплантации образцов M5 (а), M10 (б) и M20 (в)

Сравнительно оценено процентное отношение выделившегося газа к общей площади метафиза.

В подгруппе M5 среднее значение M (SD) выделившегося газа к общей площади метафиза составило 19,25 (0,96) %, в образцах M10 — 10 (0,82) %, M20 — 5 (0,82) % (табл. 3).

Таблица 3

Содержание газа в метафизе в месте стояния имплантата, %

Образец	1 кролик		2 кролик		M (SD)
	1 лапа	2 лапа	1 лапа	2 лапа	
M5	18	19	20	20	19,25 (0,96)
M10	10	9	11	10	10,0 (0,82)
M20	6	5	4	5	5,0 (0,82)

Связь между временем выдержки имплантата в электролите и количеством выделившегося газа при его биодеградации изучена с помощью корреляционного анализа Пирсона. В результате получено значение $r = -0,982$ при $p < 0,001$. Оценивая данные по шкале Чеддока, можно сделать вывод о сильной отрицательной корреляции между временем выдержки в электролите (толщиной имплантата) и степенью выделения газа H_2 (скоростью коррозии). Аналогично при просмотре 3D-моделирования КТ-исследования в режиме Bones and skin можно визуально наблюдать пространственное сравнение объема выделенного газа в бедренных костях кроликов (рис. 6). Имплантат из образца M20 имеет незначительный объем выделенного газа по сравнению с имплантатом из образца M10.

При оценке КТ-сканов не обнаружено гиподенсных жидкостных скоплений, инфильтратов в периимплантном пространстве. Видимые ткани однородны, что косвенно свидетельствует о биоинертности и биосовместимости используемого нами материала.

Для оценки репаративного ответа проведено измерение плотности костной ткани в точках, расположенных вентрально и дорсально по отношению к имплантату, что соответствует кортикальной плотности кости (англ. Cortical Bone Density, CBD), и в точках, расположенных по направлению от имплантата, что соответствует трабекулярной плотности кости (англ. Trabecular Bone Density, TBD).

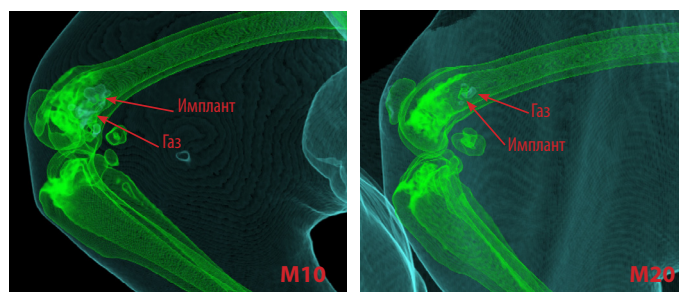


Рис. 6. 3D-моделирование КТ срезов бедренной кости лабораторных кроликов с имплантатами из образцов M10, M20 на 28 сутки от момента имплантации

Измерение плотности осуществлялось с помощью специализированного программного обеспечения RadiAnt DICOM Viewer. К 28 дню послеоперационного периода получены результаты, представленные в табл. 4.

Таблица 4

Средние значения CBD и TBD, HU

Образец	M (SD)	
	CBD	TBD
M5, n = 4	650 (8,4)	491 (7,3)
M10, n = 4	674 (8,6)	501 (7,8)
M20, n = 4	684 (10,2)	511 (8,4)
M5 + M10 + M20, n = 12	669 (18,3)	501 (16,4)

В итоге в образцах с покрытием ($n = 12$) среднее значение CBD составило 669 (18,3) HU, TBD — 501 (16,4) HU, что сопоставимо с плотностью кортикальной и трабекулярной кости метадиафизарных зон интактной костной ткани и свидетельствует о хорошем репаративном ответе костной ткани [26, 27]. Связь между временем выдержки имплантат в электролите и периимплантной плотностью кортикальной и трабекулярной кости изучена с помощью корреляционного анализа Пирсона. В результате получено значение $r = 0,970$ при $p < 0,001$ для кортикальной кости, $r = 0,935$ при $p < 0,001$ — для трабекулярной. Оценивая данные по шкале Чеддока, можно сделать вывод о сильной положительной корреляции между временем выдержки в электролите (толщиной имплантата) и плотностью кортикальной и трабекулярной костей метадиафизарных зон (репаративный ответ).

Обсуждение

Перспектива применения биорезорбируемых металлов в медицинской практике не может быть преувеличена. Магний как основной элемент биорезорбируемых сплавов показал хорошие физические и механические свойства в контексте его применения в анатомически не нагружаемых областях [1, 2]. В нашем исследовании получен сплав аналогичный по физико-механическим свойствам сплавам, исследуемым в мировой литературе [3–5].

В литературе представлена информация о способах легирования сплавов. Так, И. Антониак и др. (англ. I. Antonias et al.) отмечают, что одним из перспективных методов легирования сейчас является анодирование и микродуговое оксидирование. МДО все чаще используется для контроля коррозионной стойкости магниевого сплава [2]. В нашем исследовании также применялся этот метод. Полученные с помощью МДО образцы показали хорошую биосовместимость и низкую скорость коррозии.

В литературе представлена информация о биодеградации имплантатов на основе Mg-Ca-Zn. Например, С. Агарвал и др. (англ. S. Agarwal et al.) исследовали биодеградацию образцов Mg-Ca-Zn in vitro. Коррозионная стойкость сплава Mg-Zn-Ca оценивалась следующим образом: первоначально магниевый сплав подвергался предварительной обработке в щелочных условиях с последующей оценкой методом спектрометрии электрохимического импеданса (англ. Electro-

chemical Impedance Spectroscopy, EIS). Образцы с покрытием показали почти шестикратное увеличение стойкости к коррозии по сравнению с образцами без покрытия [23]. Методы исследования биodeградации *in vitro* разнообразны. Так, И. Антониак и др. утверждают, что обычно используемыми коррозионными средами для оценки скорости коррозии являются комплексные солевые растворы и среды для культивирования клеток [2]. В нашем исследовании оценка биodeградации *in vitro* производилась в культуральной среде DMPI-1840. Получены аналогичные с литературными данные о значительном 5-кратном увеличении корзинной стойкости (уменьшении скорости потери массы) у имплантатов с покрытием по сравнению с образцами без покрытия.

С. Агарвал и др. [23] отмечают, что при коррозии Mg и его сплавов выделяется газ H_2 . Д. Сонг и др. (англ. J. Song et al.) [7] предположили, что водород выделяется со скоростью $0,01 \text{ мл/см}^2$ в день. Коррозия в жидкостях организма зависит от различных факторов, таких как pH, концентрация, тип ионов и биохимическая активность окружающих тканей. В нашем исследовании мы определили, что наименьшее выделение газа отмечалось у образцов с 20-минутной выдержкой в электролите. В исследовании Т. Краус и др. (англ. T. Kraus et al.) биodeградация материалов и выделение газа оценивалась с помощью непрерывной микрофокусной компьютерной томографии (мкКТ) на одном и том же живом животном [10]. В результате полученные данные говорят об уменьшении выделения газа у имплантатов с покрытием по сравнению с образцами без него. Нами же оценка производилась с помощью компьютерной томографии, но были получены схожие результаты.

В литературе представлена информация о возможном методе оценки биосовместимости имплантатов. Так И. Антониак и др. исследовали сплав Mg-Ca-Zn как подходящий материал для лечения небольших переломов костей. Образцы имплантировали в бедренную кость кролика. При исследовании кроликов с помощью лучевых методов было ясно, что исследуемый материал не образует местных токсичных продуктов и газа после имплантации в кость [2]. В нашем исследовании степень реакции тканей организма на имплантат также оценивались лучевыми методами, а именно КТ. В результате анализа КТ-сканов выявлено, что имплантаты с покрытием, полученные с помощью МДО, имели большую биосовместимость по сравнению с образцами без него за счет отсутствия местной патологической реакции и минимального выделения газа.

В оценку репаративного ответа местного состояния кортикальной и трабекулярной кости в нашем исследовании легло измерение периимплантной костной плотности. Показано, что имплантаты с покрытием имеют хороший репаративный ответ со стороны костной ткани.

В нашем исследовании получен оптимальный баланс скорости коррозионной стойкости материала, биосовместимости и применением максимальной толщины покрытия 20 мкм в исследовании *in vitro*. Первичные результаты экспериментального исследования *in vivo* также показали положительный результат в виде отсутствия острой аллергической реакции с отторжением имплантатов и отсутствием гнойно-воспалительных осложнений. Рентген-исследования показали присутствие продуктов резорбции Mg в виде наличия газа в области введения имплантата, объем которого напрямую коррелируется с толщиной покрытия. При максимальном покрытии 20 мкм выделения газа были минимальными. Это подтверждается с помощью оценки КТ-снимков с помощью специального программного обеспечения. Выявление взаимосвязи проводилось с помощью корреляционного анализа Пирсона. Отсутствие гнойно-воспалительных осложнений и патологических очагов на КТ обусловлено встраиванием медленно выделяемых в процессе биodeградации сплавов продуктов распада в биохимический процесс построения костных тканей и ускорением этапов репаративного остеогенеза. Полученные нами результаты не противоречат данным мировой литературы.

Заключение

Результаты экспериментальной оценки биорезорбируемых имплантатов из сплава Mg-Ca-Zn *in vitro* и в костной ткани *in vivo*, показали, что образцы Mg-Ca-Zn с покрытием демонстрируют малую потерю массы при биodeградации, с минимальным выделением газа в кость, что подтверждается количественными, статистическими измерениями и оценкой с помощью компьютерной томо-

графии. Отмечаются отрицательная корреляция между длительностью выдержки образца в электролите (толщиной покрытия) со степенью биодеградации, прямая корреляция с репаративным ответом. Клинически отмечается положительный результат в виде отсутствия острой аллергической реакции, гнойно-воспалительных осложнений в первые 28 дней. Соответственно, мы можем говорить о хорошей биосовместимости, репаративном ответе и оптимальной степени биодеградации имплантатов Mg-Ca-Zn с максимальным покрытием с костной тканью.

Список источников | References

1. Zheng, YF, Gu, XN, Witte F. Biodegradable metals. *Materials Science and Engineering: R: Reports*. 2014;77:1–34. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mser.2014.01.001>.
2. Antoniac I, Miculescu M, Mănescu Păltănea V, Stere A, Quan PH, Păltănea G, et al. Magnesium-based alloys used in orthopedic surgery. *Materials*. 2022;15(3):1148. DOI: <https://doi.org/10.3390/ma15031148>.
3. Xu C, Nakata T, Fan GH, Li XW, Tang GZ, Kamado S. Enhancing strength and creep resistance of Mg-Gd-Y-Zn-Zr alloy by substituting Mn for Zr. *Journal of Magnesium and Alloys*. 2019;7:388–399. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jma.2019.04.007>.
4. Pan H, Qin G, Huang Y, Ren Y, Sha X, Han X, et al. Development of low-alloyed and rareearth-free magnesium alloys having ultra-high strength. *Acta Materialia*. 2018;149:350–363. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.actamat.2018.03.002>.
5. Malik A, Yangwei W, Huanwu C, Nazeer F, Khan MA, Mingjun W. Microstructural evolution of ultra-fine grained Mg-6.62Zn-0.6Zr alloy on the basis of adiabatic rise in temperature under dynamic loading. *Vacuum*. 2019;168:108810. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vacuum.2019.108810>.
6. Yu Z, Xu C, Meng J, Kamado S. Microstructure evolution and mechanical properties of a high strength Mg-11.7Gd-4.9Y-0.3Zr (wt %) alloy prepared by pre-deformation annealing, hot extrusion and ageing. *Materials Science and Engineering: A*. 2017;703:348–358. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.msea.2017.06.096>.
7. Song J, She J, Chen D, Pan F. Latest research advances on magnesium and magnesium alloys worldwide. *Journal of Magnesium and Alloys*. 2020;8(1):1–41. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jma.2020.02.003>.
8. Tie D, Liu H, Guan R, Holt-Torres P, Liu Y, Wang Y, et al. In vivo assessment of biodegradable magnesium alloy ureteral stents in a pig model. *Acta Biomaterialia*. 2020;116:415–425. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2020.09.023>.
9. Lu Y, Deshmukh S, Jones I, Chiu YL. Biodegradable magnesium alloys for orthopaedic applications. *Biomaterials Translational*. 2021;2(3):214–235. DOI: <https://doi.org/10.12336/biomatertransl.2021.03.005>.
10. Kraus T, Fischerauer SF, Hänzli AC, Uggowitzer PJ, Löffler JF, Weinberg AM. Magnesium alloys for temporary implants in osteosynthesis: In vivo studies of their degradation and interaction with bone. *Acta Biomaterialia*. 2012;8(3):1230–1238. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2011.11.008>.
11. Amukarimi S, Mozafari M. Biodegradable magnesium-based biomaterials: An overview of challenges and opportunities. *MedComm*. 2021;2(2):123–144. DOI: <https://doi.org/10.1002/mco2.59>.
12. Stürznickel J, Delsmann MM, Jungesblut OD, Stücker R, Knorr C, Rolvien T, et al. Magnesium-based biodegradable implants in children and adolescents. *Injury*. 2022;53(6):2382–2383. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.injury.2022.02.037>.
13. Chen S, Wan P, Zhang B, Yang K, Li Y. Facile fabrication of the zoledronate-incorporated coating on magnesium alloy for orthopaedic implants. *Journal of Orthopaedic Translation*. 2020;22:2–6. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jot.2019.09.007>.
14. Söntgen S, Keilig L, Kabir K, Weber A, Reimann S, Welle K, et al. Mechanical and numerical investigations of biodegradable magnesium alloy screws for fracture treatment. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*. 2023;111(1):7–15. DOI: <https://doi.org/10.1002/jbm.b.35127>.
15. Dai Y, Guo H, Chu L, He Z, Wang M, Zhang S, et al. Promoting osteoblasts responses in vitro and improving osteointegration in vivo through bioactive coating of nanosilicon nitride on polyetheretherketone. *Journal of Orthopaedic Translation*. 2020;24:198–208. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jot.2019.10.011>.
16. Baigonakova G, Marchenko E, Zhukov I, Vorozhtsov A. Structure, cytocompatibility and biodegradation of nanocrystalline coated Mg-Ca-Zn alloys. *Vacuum*. 2023;207:111630. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vacuum.2022.111630>.
17. Khrustalyov A, Monogenov A, Baigonakova G, Akhmadieva A, Marchenko E, Vorozhtsov A. Effect of TiN coating on the structure, mechanical properties and fracture of the Mg-Ca-Zn alloy. *Metals*. 2022;12(12):2140. DOI: <https://doi.org/10.3390/met12122140>.
18. Li L, Li T, Zhang Z, Chen Z, Chen C, Chen F. Superhydrophobic graphene/hydrophobic polymer coating on a microarc oxidized metal surface. *Journal of Coatings Technology and Research*. 2022;19:1449–1456. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11998-022-00618-w>.
19. Yao W, Wu L, Wang J, Jiang B, Zhang D, Serdechnova M, et al. Micro-arc oxidation of magnesium alloys: A review. *Journal of Materials Science & Technology*. 2022;118:158–180. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jmst.2021.11.053>.

20. Yuan B, Chen H, Zhao R, Deng X, Chen G, Yang X, et al. Construction of a magnesium hydroxide/graphene oxide/hydroxyapatite composite coating on Mg-Ca-Zn-Ag alloy to inhibit bacterial infection and promote bone regeneration. *Bioactive Materials*. 2022;18:354–367. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2022.02.030>.
21. Kamrani S, Fleck C. Biodegradable magnesium alloys as temporary orthopaedic implants: A review. *BioMetals*. 2019;32:185–193. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10534-019-00170-y>.
22. Rout PK, Roy S, Ganguly S, Rathore DK. A review on properties of magnesium-based alloys for biomedical applications. *Biomedical Physics & Engineering Express*. 2022;8(4):22–25. DOI: <https://doi.org/10.1088/2057-1976/ac6d81>.
23. Agarwal S, Curtin J, Duffy B, Jaiswal S. Biodegradable magnesium alloys for orthopaedic applications: A review on corrosion, biocompatibility and surface modifications. *Materials Science and Engineering: C*. 2016;68:948–963. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.msec.2016.06.020>.
24. Kiani F, Wen C, Li Y. Prospects and strategies for magnesium alloys as biodegradable implants from crystalline to bulk metallic glasses and composites — A review. *Acta Biomaterialia*. 2020;103:1–23. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2019.12.023>.
25. Willbold E, Weizbauer A, Loos A, Seitz JM, Angrisani N, Windhagen H, et al. Magnesium alloys: A stony pathway from intensive research to clinical reality. Different test methods and approval-related considerations. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*. 2017;105(1):329–347. DOI: <https://doi.org/10.1002/jbm.a.35893>.
26. Hamanishi C, Yoshii T, Totani Y, Tanaka S. Bone mineral density of lengthened rabbit tibia is enhanced by transplantation of fresh autologous bone marrow cells. An experimental study using dual X-ray absorptiometry. *Clinical Orthopaedics and Related Research*. 1994;(303):250–255. PMID:8194242.
27. Dong Y, Zhou B, Huang Z, Huang Q, Cui S, Li Y, et al. Evaluating bone remodeling by measuring Hounsfield units in a rabbit model of rhinosinusitis: Is it superior to measuring bone thickness? *International Forum of Allergy & Rhinology*. 2018;8(11):1342–1348. DOI: <https://doi.org/10.1002/alr.22205>.

Информация об авторах

Иван Иванович Гордиенко ✉ — кандидат медицинских наук, доцент, проректор по научно-исследовательской и инновационной деятельности, доцент кафедры детской хирургии, Уральский государственный медицинский университет (Екатеринбург, Россия).

E-mail: ivan-gordienko@mail.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3157-4579>

Екатерина Сергеевна Марченко — доктор физико-математических наук, доцент, заведующий лабораторией сверхэластичных биоинтерфейсов, Национальный исследовательский Томский государственный университет, Томск, Россия.

E-mail: 89138641814@mail.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4615-5270>

Семён Александрович Борисов — ассистент кафедры детской хирургии, заведующий лабораторией новых биоэквивалентных и биорезорбируемых остеопластических материалов для травматологии и реконструктивной хирургии, Уральский государственный медицинский университет, Екатеринбург, Россия.

E-mail: drborissovs@gmail.com

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1783-3776>

Степан Петрович Черный — лаборант-исследователь лаборатории новых биоэквивалентных и биорезорбируемых остеопластических материалов для травматологии и реконструктивной хирургии, аспирант кафедры детской хирургии, Уральский государственный медицинский университет, Екатеринбург, Россия.

E-mail: stechernyy@yandex.ru

ORCID: <https://orcid.org/0009-0002-0129-1244>

Наталья Александровна Цап — доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой детской хирургии, Уральский государственный медицинский университет, Екатеринбург, Россия.

E-mail: tsapna-ekat@rambler.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9050-3629>

Арина Андреевна Шишелова — инженер-исследователь лаборатории сверхэластичных биоинтерфейсов, Национальный исследовательский Томский государственный университет, Томск, Россия.

E-mail: arina.sh9906@gmail.com

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2364-0142>

Антон Павлович Хрусталёв — кандидат физико-математических наук, заведующий лабораторией многоуровневого динамического анализа материалов и конструкций, Национальный исследовательский Томский государственный университет, Томск, Россия.

E-mail: tofik0014@gmail.com

Павел Игоревич Бутягин — кандидат химических наук, инженер химик технолог, старший научный сотрудник лаборатории сверхэластичных биоинтерфейсов, Национальный исследовательский Томский государственный университет, Томск, Россия.

E-mail: pavel.butyagin@manel.ru

Светлана Сергеевна Арбузова — кандидат химических наук, научный сотрудник лаборатории сверхэластичных биоинтерфейсов, Национальный исследовательский Томский государственный университет, Томск, Россия.

E-mail: svetlana.safronova@manel.ru

Information about the authors

Ivan I. Gordienko — Candidate of Sciences (Medicine), Associate Professor, Vice-Rector for Research and Innovations, Associate Professor of the Department of Pediatric Surgery, Ural State Medical University, Ekaterinburg, Russia.

E-mail: ivan-gordienko@mail.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3157-4579>

Ekaterina S. Marchenko — Doctor of Sciences (Physics and Mathematics), Associate Professor, Head of the Laboratory of Superelastic Biointerfaces, National Research Tomsk State University, Tomsk, Russia.

E-mail: 89138641814@mail.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4615-5270>

Semen A. Borisov — Assistant of the Department of Pediatric Surgery, Head of the Laboratory of New Bioequivalent and Bioresorbable Osteoplastic Materials for Traumatology and Reconstructive Surgery, Ural State Medical University, Ekaterinburg, Russia.

E-mail: drborisovsa@gmail.com

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1783-3776>

Stepan P. Chernyy — Laboratory Technician-Researcher of the Laboratory of New Bioequivalent and Bioresorbable Osteoplastic Materials for Traumatology and Reconstructive Surgery, Postgraduate Student of the Department of Pediatric Surgery, Ural State Medical University, Ekaterinburg, Russia.

E-mail: stechernyy@yandex.ru

ORCID: <https://orcid.org/0009-0002-0129-1244>

Natalia A. Tsap — Doctor of Sciences (Medicine), Professor, Head of the Department of Pediatric Surgery, Ural State Medical University, Ekaterinburg, Russia.

E-mail: tsapna-ekat@rambler.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9050-3629>

Arina A. Shishelova — Research Engineer of the Laboratory of Superelastic Biointerfaces, National Research Tomsk State University, Tomsk, Russia.

E-mail: arina.sh9906@gmail.com

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2364-0142>

Anton P. Khrustalev — Candidate of Sciences (Physics and Mathematics), Head of the Laboratory of Multilevel Dynamic Analysis of Materials and Structures, National Research Tomsk State University, Tomsk, Russia.

E-mail: tofik0014@gmail.com

Pavel I. Butyagin — Candidate of Sciences (Chemistry), Chemical Technologist Engineer, Senior Researcher of the Laboratory of Superelastic Biointerfaces, National Research Tomsk State University, Tomsk, Russia.

E-mail: pavel.butyagin@manel.ru

Svetlana S. Arbuzova — Candidate of Sciences (Chemistry), Researcher of the Laboratory of Superelastic Biointerfaces, National Research Tomsk State University, Tomsk, Russia.

E-mail: svetlana.safronova@manel.ru

Рукопись получена: 31.01.2024. Одобрена после рецензирования: 22.02.2024. Принята к публикации: 26.02.2024.

Received: 31.01.2024. Revised: 22.02.2024. Accepted: 26.02.2024.