

МЕТОДИКИ ИССЛЕДОВАНИЯ МИКРО- И МАКРОПОРОВОЙ СТРУКТУРЫ ПОРИСТЫХ ИМПЛАНТАТОВ ИЗ ПОРОШКОВ ТИТАНА

Савич В.В.¹, Шелухина А.И.¹, Маркова Л.В.¹, Макаренко М.В.²

¹ГНУ «Институт порошковой металлургии» НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

²ГНУ «Институт биоорганической химии» НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

Пористые порошковые и волоконные металлические проницаемые материалы, благодаря своим уникальным эксплуатационным характеристикам, определяемым свойствами их поровой структуры, находят самое широкое применение практически во всех областях современной техники. Разработку и производство таких материалов и изделий из них невозможно вести без исследования особенностей свойств их поровой структуры.

Известен ряд стандартных методов определения пористости, размеров пор, коэффициента проницаемости пористых порошковых материалов (ППМ) [1]. Разработаны и некоторые специальные методы и приборы для определения капиллярных, физических и иных специфических свойств ППМ [1, 2]. Все эти методы используются и при разработке особой группы изделий медицинской техники – дентальных, ортопедических и кардиологических имплантатов, в которых в поры ППМ врастают костные или иные ткани и обеспечивают тем самым интеграцию имплантата с организмом, длительное стабильное и эффективное функционирование имплантата в нем [3-4]. Для оценки взаимодействия биологических тканей и ППМ необходимы специфические методы исследования микро- и макропористой структуры металлических ППМ, поры которых заполнены тканями.

Целью данной работы является комплексное представление методик исследования структуры ППМ совместно с биологическими тканями, жидкостями и иными средами, заполняющими поры в нем.

Исследования оптической микроскопией. Специалистами ГУ «РНЦ неврологии и нейрохирургии» МЗ РБ и ГНУ «Институт порошковой металлургии» НАН Беларуси разработана методика препарирования и исследования на металлографическом микроскопе на просвет фрагментов пористых имплантатов. Методика подготовки препарата заключается в следующем. Извлеченный из организма имплантат с вросшими в его поры костными тканями фиксируют под отрицательным давлением (750 мм рт. столба) в течение 3 суток. Затем проводят дегидратацию, помещая образцы последовательно в 70%-ти, 80%-ти, 90% и 100%-ный этиловый спирт, после чего - в 100%-ный ацетон на 3 суток. Полная сушка осуществляется в вакууме в эксикаторе в течение 24 часов. Высушенные та-

ким образом образцы заливают под вакуумом эпоксидной смолой и выдерживают в вакууме до момента прекращения выделения пузырьков газа. В эпоксидную смолу можно добавить для повышения текучести и ускорения последующего твердения до 5-10% ацетона. После полной полимеризации смолы из образцов делают тонкие поперечные срезы в виде пластин 1-2 мм толщиной при помощи алмазной пилы. Вырезанные пластины наклеивают циакрином на аналоги предметных стекол из оптически прозрачного полиметилметакрилата. Подготовленные таким образом препараты шлифуют и полируют абразивными пастами до толщины 0,10-0,15 мм и менее. Затем проводят окраску препаратов по А. Khiara et all (1987) смесью красителей, включающей метиленовый синий, основной фуксин и светло - зеленый. Окрашенные препараты помещают на предметный столик микроскопа и исследуют на просвет.

На рис.1 представлена фотография подобного препарата, полученного после пребывания в течение 3-х месяцев в кости лабораторного животного [5, 6].

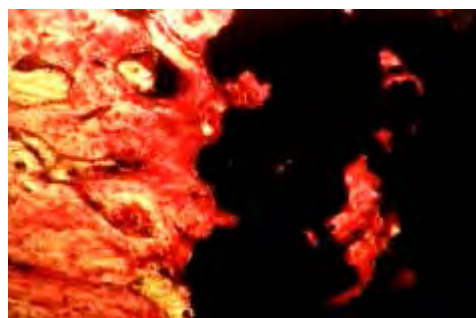


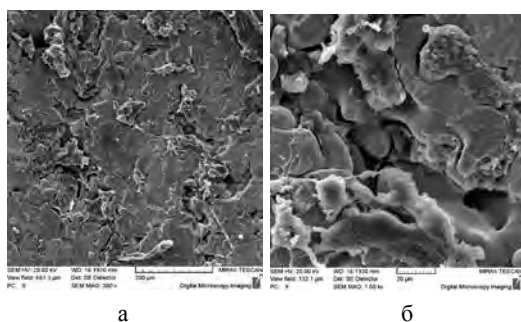
Рисунок 1 – Остеоинтеграция пористого имплантата из губчатого порошка титана. Размер частиц – 0,4-0,63 мм. $\times 100$

Как видно из рис.1, методика позволяет выявить не только особенности микро- и макроструктуры ППМ, из которого выполнен имплантат, но и все компоненты новообразованных костных тканей.

Исследования методами СЭМ. В разработанной методике [7] используется сканирующий электронный микроскоп (СЭМ) высокого разрешения MIRA фирмы TeScan (Чехия) с приставкой микрорентгеноспектрального анализа INCA 350. Особенностью методики исследований СЭМ является нанесение золотого токопроводящего слоя для получения качественных изображений

структуры.

Результаты исследований фрагмента пористых вставок в ножку эндопротеза системы SLPS [5], удаленного в ходе ревизионной операции представлены на рисунках 2 - 5. На рис.2 видно, что СЭМ позволяет охватывать при исследованиях в одном поле зрения как довольно крупные объекты размерами 1-2 мм (рис.2, а), так и наблюдать микронные и субмикронные структурные элементы, такие, например, как остеоны и фрагменты вросших в поры тканей, интегрированных на поверхности отдельных частиц исходного порошка (рис.2, б). При этом четко можно определить, что костные ткани заполняют практически весь объем пор вставки из губчатого порошка титана, а также морфология поверхности костной ткани, весьма похожа на поверхность губчатых частиц титана. На рис. 2 (б) особенно хорошо видно, как костные фрагменты буквально врастают, внедряются во все микронеровности губчатых частиц порошка титана, причем прочность сцепления клеток с поверхностью частиц порошка, покрытой слоем оксида титана выше, чем прочность собственно костных тканей.



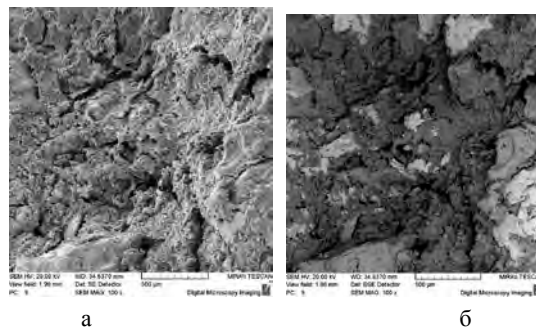
а – $\times 300$; б – $\times 1500$.

Рисунок 2 – Морфология наружной поверхности пористой вставки ножки эндопротеза тазобедренного сустава типа SLPS с фрагментами проросшей костной ткани

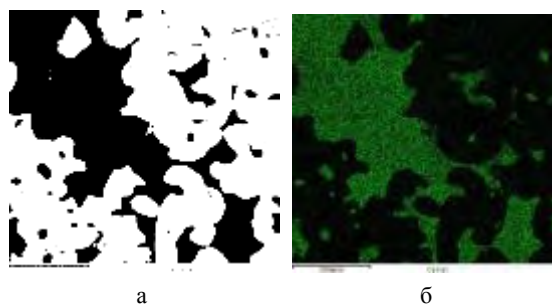
Из рис.3 видно, что и на глубине костные ткани заполняют практически весь объем пор. При этом на рис.3,б, полученном в режиме съемки BSE (обратно рассеянных электронов) это особенно хорошо видно из-за повышенного контраста. При режиме BSE цвет структурных составляющих определяется усредненным атомным номером каждой структурной составляющей. Так органический материал имеет темно-серый цвет, а губчатый титан светло-серый (почти белый). Такой режим съемки позволяет точно диагностировать присутствие костной ткани в губчатом титане.

Использование метода МРСА и исследование с его помощью стандартного для пористых порошковых материалов шлифа позволяет четко

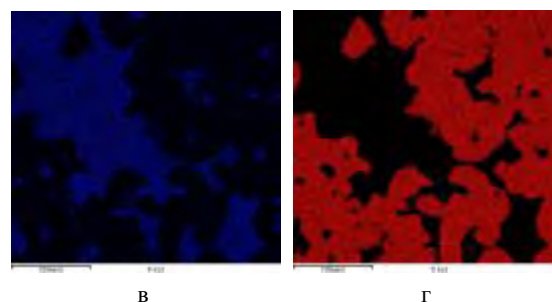
устанавливать распределение химических элементов в плоскости шлифа и на некоторую глубину. Так из фотографий (рис.4) хорошо видно, что Ca и P – основные неорганические компоненты костных тканей – занимают практически весь объем пор вставки (рис.4, б, в), а металлическая компонента - это практически чистый титан (рис.4, г). Определить это на исходной фотографии шлифа практически невозможно.



а - в обычном режиме, б – в режиме BSE. $\times 100$.
Рисунок 3 – Морфология поверхности излома пористой вставки с фрагментами проросшей костной ткани



а б



в г

а – исходный; полученные съемкой в характеристическом рентгеновском излучении CaK α (б), PK α (в) и TiK α (г).

Рисунок 4 – Микроструктура шлифа пористой вставки

Метод СЭМ, особенно в режиме BSE, позволяет четко идентифицировать поверхность губчатой частицы порошка титана и поверхность разрыва костных тканей, образованную в результате удаления ножки эндопротеза из тела паци-

ента. При этом морфология поверхности губчатых частиц порошка титана и поверхности костных тканей весьма подобны. Это предопределяет преимущество пористых имплантатов из губчатых частиц титана перед аналогичными имплантатами из сферических частиц титана.

Комплексная методика оценки эффективности пористых имплантатов адсорбцией белков. Проведение исследований имплантатов *in vivo* занимает длительное время, затратно и связано с рядом этико-социальных проблем. В связи с этим, специалистами ГНУ «Институт биоорганической химии» НАН Беларуси были предложены методы оценки эффективности пористых имплантатов адсорбцией белков [8-11].

В качестве модельных сред выбран человеческий сывороточный альбумин (ЧСА), содержание которого в сыворотке крови составляет 52-62 % от общего количества белков. Изучение адсорбции ЧСА проводили при концентрации 20-25 мг/мл, что близко к концентрации ЧСА в плазме крови человека (35-45 мг/мл) [12]. Время инкубации равно 15 час при комнатной температуре.

Измерение массы образцов имплантатов на аналитических весах с точностью измерений до 0,0001 г позволило установить четкую зависимость увеличения массы образцов (в единицах мг) за счет адсорбции альбумина от микро- и макротекстуры поверхности, вида ее обработки даже у непористых титановых имплантатов [8-11]. Еще больший привес (десятки мг) имеют пористые образцы имплантатов. Для сравнения разных образцов степень адсорбции альбумина удобнее выражать в мг/г – прирост массы к исходной массе образца либо в мг/см² – прирост массы к площади поверхности образца, что более удобно для непористых образцов.

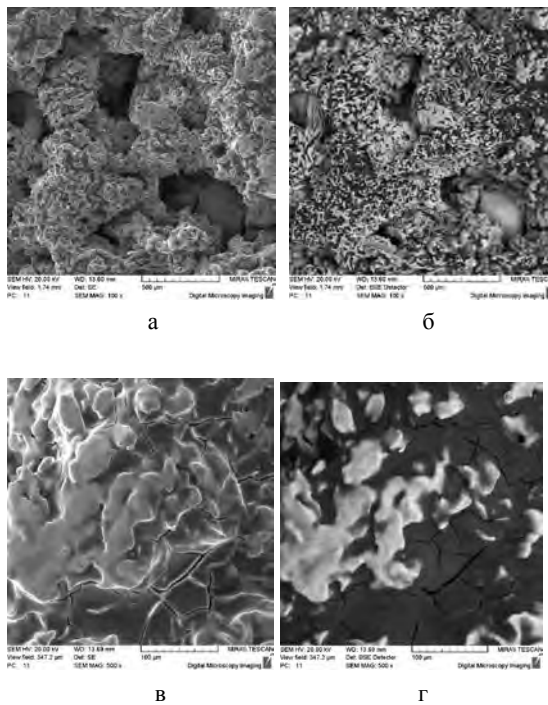
Методами СЭМ, в том числе и в режиме BSE (обратно рассеянных электронов) можно установить как собственно морфологию адсорбированных белковых фрагментов на поверхности металлического имплантата, так и оценить занимаемую ими площадь (рис.5).

Выводы

1. Предложена методика подготовки и исследования методами оптической микроскопии на просвет препаратов пористых имплантатов с вросшими в них костными тканями, позволяющая сохранить биологические ткани, выделить их компоненты и оценить контакт с поверхностью пор.

2. Предложена методика исследования СЭМ излома пористых имплантатов с вросшими в них костными тканями, позволяющая в режиме BSE четко идентифицировать металлическую и органическую фазы, а при большом увеличении четко фиксировать и отдельные элементы тканей – остеоны, фибриллы и т.п. без их окрашивания.

3. Использование метода МРСА и исследование с его помощью стандартного шлифа имплантата с вросшими в него тканями позволяет установить распределение химических элементов в плоскости шлифа и на некоторую глубину, что позволяет определить долю объема пор, которую занимают Са и Р – основные неорганические компоненты костных тканей.



а и б – $\times 100$; в и г – $\times 500$;

а, в – режим SE; б и г – режим BSE.

Рисунок 5 – Адсорбция ЧСА на поверхности и в объеме пористого имплантата из губчатого порошка титана с размером частиц 0,4-0,63 мм

4. Изучение адсорбции ЧСА (человеческого сывороточного альбумина) методами гравиметрии и СЭМ (в том числе – в режиме BSE) позволяет не только оценить степень адсорбции, но и установить морфологию адсорбированных фрагментов на поверхности имплантата, оценить занимаемую ими площадь, заменить эксперименты *in vivo* при разработке новых конструкций имплантатов, совершенствовании технологии их изготовления, на более оперативные и доступные исследования *in vitro*.

1. Спеченные порошковые материалы: методы и приборы контроля свойств исходных порошков, исследования структуры и эксплуатационных характеристик изделий из них / Савич В.В., Дьячкова Л.Н., Шипица Н.А. и др. - Мн: Тонпик, 2008. - 320 с.
2. Методы и приборы исследования структуры и свойств порошков и спеченных материалов из них, разработанные в Беларуси. В кн.: 50 лет порошковой металлургии Беларуси. История,

- достижения, перспективы / ред. кол.: А.Ф.Ильющенко [и др.]. Ильющенко А.Ф., Андреев М.А., Жарин А.Л. и др. – Минск, ГНПО ПМ, 2010. – Глава 19. – С.437-487.
3. Современные материалы хирургических имплантатов и инструментов / Савич В.В., Киселев М.Г., Воронович А.И.- Мн.: «Техно-принт», 2003. - 119 с.
 4. Технологии и материалы порошковой металлургии в производстве имплантатов / Савич В.В., Киселев М.Г., Павич Т.П. // Порошковая металлургия. - 2005. - №28. – С.192-209.
 5. В.В.Савич. Разработка технологии изготовления и конструкции безцементного тотального эндопротеза тазобедренного сустава системы SLPS (SelfLockingPorousSystem) // I Symposium Inzynieria Ortopedyczna i Protetyczna - IOP'97. - Bialystok, 23-24 czerwca 1997. - S.515-525.
 6. Савич В.В. Влияние морфологии поверхности частиц порошка титана на остеоинтеграцию образцов пористых имплантатов из них // Пористые проницаемые материалы: технологии и оборудование на их основе: Материалы докладов международного симпозиума, 21-22 октября 2008 г., Минск. Институт порошковой металлургии ГНПО ПМ НАН Беларуси. – 2008. – С.345-360.
 7. Методика исследования фрагментов пористых имплантатов с костными тканями с использованием сканирующей электронной микроскопии / Савич В.В., Маркова Л.В., Гамзелева Т.В. // Порошковая металлургия. 2009. - №32. – С.174-179.
 8. Модификация поверхности титановых имплантатов: топография и адсорбция белков / Макаренко М.В., Савич В.В., Шипица Н.А. и др. // Материалы VIII международной научно-технической конференции «Энерго- и материалосберегающие экологически чистые технологии» (Гродно, 29-30 окт.2009 г.). В 2 ч. Ч.2 /редкол.: А.И.Свириденко (отв. ред.) [и др.]. -Гродно: ГрГУ, 2010. – С.90-96.
 9. Оценка химических методов формования биоактивных поверхностей имплантатов / Макаренко М.В., Савич В.В., Шипица Н.А. и др. // Новые материалы и технологии: порошковая металлургия, композиционные материалы, защитные покрытия, сварка: Материалы докладов 9-й международной научно-технической конференции, Минск, Беларусь 29-30 сентября 2010 г. Минск, Институт порошковой металлургии ГНПО ПМ, 2010 г. С. 228-229.
 10. Savich V.V. Comparative Study on the Morphology and Biocompatibility of Titanium Jet-Abrasive Processed Surfaces and Porous Structures From Sponge Titanium Powder // Proceedings of EuroPM2011 Powder Metallurgy Congress & Exhibition. Barcelona, 10-13 October 2011, Vol.2 , p.471-477.
 11. Модификация поверхности титановых имплантатов и ее влияние на их физико-химические и биомеханические параметры в биологических средах / Савич В.В., Сарока Д.И., Макаренко М.В., Киселев М.Г. – Мн.: Беларуская навука, 2012. - 256 с.
 12. Мецлер, Д. Биохимия // Москва, 1980. -Т. 1, - С. 103.
- УДК 389.1

СТАНДАРТИЗАЦИЯ ПОНЯТИЙ, СВЯЗАННЫХ С РАЗРЕШАЮЩЕЙ СПОСОБНОСТЬЮ ЦВЕТОПЕРЕДАЮЩИХ УСТРОЙСТВ

Савкова Е.Н., Гиль Н.Н., Демидович А.Г.

*Белорусский национальный технический университет
Минск, Республика Беларусь*

Цвет является трехмерной векторной величиной и количественно описывается координатами цвета и цветности в цветовых пространствах. Встречаются ситуации, когда в рекламных целях производители цифровой техники заявляют о возможности воспроизведения нескольких миллионов цветов (теоретически – около 16 777 216 цветов). Часто эти данные являются неоправданно завышенными, поскольку существует нижний порог, ограниченный дефиниционной неопределенностью, что связано с субъективными особенностями человеческого глаза, однако при объективном измерительном контроле системы технического зрения позволяют повысить точность, поскольку дают возможность отстраиваться от зрительных феноменов

цветовосприятий. Установлено, что воспроизведение оттенков каждого цвета ограничивается по яркости количеством градаций в каждом цветовом канале (8, 12 и 24 бит на канал), а по времени – частотой Найквиста, равной половине частоты дискретизации. Для корректной оценки точности методов и средств колориметрических измерений, основанных на регистрации объектов с помощью матричных фотоприемных устройств и обработке их изображений, необходимо решить задачу оценивания неопределенности идентификации цвета как точки (или множества точек) на шкалах цветовых пространств. В этом смысле важно определить понятие цветового разрешения, довольно часто используемое в литературе, посвященной обра-