

УДК 669: 675.043.82: 620.172.2: 620.187

IN VITRO ИССЛЕДОВАНИЯ БЕЗНИКЕЛЕВОГО СПЛАВА ПАМЯТИ ФОРМЫ

*Новикова Дарья Андреевна⁽¹⁾, Насакина Елена Олеговна, Сударчикова Мария Андреевна, Колмаков Алексей Георгиевич
Магистр 2 курса⁽¹⁾,
кафедра «Материаловедение»
Московский государственный технический университет
им. Н.Э. Баумана
Научный руководитель: Р.С. Фахуртдинов,
кандидат технических наук, доцент кафедры «Материаловедение»*

Биологическая совместимость имплантируемого материала является одной из самых важных характеристик таких объектов. В связи с чем разрабатываемые материалы стараются производить из биологически инертных составляющих. Активно ведутся исследования по замене элементов в сплавах памяти формы, наделенных набором необходимых для эксплуатации в организме механических характеристик (сверхупругость, низкое значение модуля Юнга, запаздывающая реакция на воздействие) [1-3]. Наиболее известным из таких сплавов является NiTi [4–5].

В то же время, отмечается существенная зависимость свойств материала от состояния поверхности. Способ получения, обработка традиционными методами [6-7] и, главное, токсические свойства содержащегося в высокой концентрации никеля и вероятность коррозионного разрушения материала (повреждение продукта в рабочей среде) [8-11] – это решающие факторы, определяющие необходимость изменения состава.

Эффект памяти формы отмечен у титановых сплавов с содержанием ниобия, тантала, молибдена 20-40 %, циркония менее 8 ат. %. Поэтому эти сплавы можно рассматривать как перспективные материалы для медицинского производства. Данная работа была направлена на изучение биосовместимости сплава Ti-Nb-Zr нескольких составов.

При исследовании биосовместимости *in vitro* использовали клетки нейробластомы SH-SY5Y, культивируемые в среде DMEM (Gibco) с добавлением 10% бычьей сыворотки (FBS, Gibco) и 15 мкг/мл гентамицина. Суспензию равномерно распределяли по поверхности пластины и помещали в CO₂-инкубатор (95% воздуха, 5% CO₂, влажность 100%) для прикрепления клеток. Через 30 мин неприкрепленные клетки смывали, а объем культуральной среды увеличивали таким образом, чтобы

столб культуральной среды возвышался над образцом с клетками на 2 мм. Культуру оставляли в CO₂-инкубаторе (95% воздуха, 5% CO₂, влажность 100%) на 72 часа.

Клетки прокрашивали флуоресцентными красителями Hoechst 33342 (Ное, 5 мкМ) – синие ядра, окрашивает живые клетки, Propidium Iodide (PI, 3 мкМ) – красный, мертвые клетки, MitoTracker Deep Red FM (MTDR, 0,3 нМ) – окрашивает митохондрии, т.е. носители хромосом, в зеленый, для определения MI – 20 мин в среде Хенкса с добавлением 20 мМ HEPES, pH = 7,36, затем отмывали 10 мин в среде Хенкса без красителей и помещали в измерительную ячейку. Исследования проводили с помощью инвертированного флуоресцентного микроскопа Leica DMI6000 В с использованием объектива Leica HCX PL APO 63x/1.40-0.60na OIL (Leica Microsystems GmbH, Wetzlar, Germany). В каждом образце случайно выбирались не менее чем 3 области.

Подсчет прокрашенных ядер производили в программе ImageJ с помощью плагина Cell Counter. Оценивали количество клеток на площади в 1 мм² (по количеству ядер, окрашенных Hoechst 33342, который проникает через плазматическую мембрану и связывается с ДНК в ядре), процент клеток, находящихся в состоянии деления (митотический индекс, MI, определяется по наличию видимых хромосом), количество мертвых клеток (по флуоресценции Propidium Iodide, который не проникает в жизнеспособные клетки, но окрашивает ДНК в ядрах мертвых клеток и клеток с нарушенной проницаемостью плазмалеммы). При этом подсчитывали суммарное количество клеток в трех полях зрения.

Митотический индекс – это показатель, показывающий процент делящихся клеток от общего числа проанализированных клеток. Данный индекс можно вычислить, просчитав в поле зрения клетки с видимыми хромосомами и разделив его на общее число клеток в поле зрения. Показывает интенсивность деления по наличию клеток в фазе роста (делящихся клеток). Чем выше значение, тем интенсивнее происходит процесс деления клеток и наоборот.

Все образцы являлись биосовместимыми *in vitro*. В результате проведенного исследования наблюдалась митохондриальная активность и хорошая выживаемость клеток. Наилучшими характеристиками обладал сплав Ti-28Nb-5Zr.

Таким образом, был получен новый функциональный материал медицинского назначения, наиболее приспособленный к работе в живом организме.

Работа выполнена при поддержке гранта Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых российских ученых - кандидатов наук МК-1820.2020.8.

Литература

1. Petrzhik M., Dynamics of martensitic structure at TiNb-based quenched alloys under heating and loading // *Journal of Physics: Conference Series*, 2013, 438. P. 1-5.
DOI:10.1088/1742-6596/438/1/012020
2. Yilmazer H., Niinomi M., Nakai M., et al., Heterogeneous structure and mechanical hardness of biomedical β -type Ti-29Nb-13Ta-4.6Zr subjected to high-pressure torsion // *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 2012, 10. P. 235-245.
DOI:10.1016/j.jmbbm.2012.02.022
3. Dubinskiy S.M., Prokoshkin S.D., Brailovski V., et al., Structure formation during thermomechanical processing of Ti-Nb-Zr(Ta) alloys and manifestation of the shape-memory effect // *Physics of Metals and Metallography*, 2011, 112. P. 529-542.
DOI:10.1134/S0031918X11050206
4. Pelton A.R., Huang G.H., Moine P., Sinclair R., Effects of thermal cycling on microstructure and properties in nitinol // *Mater. Sci. Eng.*, 2012, 532. P. 130-138. DOI: 10.1016/j.msea.2011.10.073.
5. Spaggiari A., Castagnetti D., Golinelli N., Dragoni E., Scirè Mammano G., Smart materials: Properties, design and mechatronic applications // *Journal of Materials: Design and Applications*, 2019, 233. P. 734-762. DOI:10.1177/1464420716673671
6. Chaudhari R., Vora J.J., Patel V., de Lacalle L.L.N., Parikh D.M., Surface analysis of wire-electrical-discharge-machining-processed shape-memory alloys // *Materials*, 2020, 13. P. 1-3. DOI: 10.3390/ma13030530
7. Chaudhari R., Vora J.J., Mani Prabu S.S., Palani I.A., Patel V.K., Parikh D.M., de Lacalle L.N.L., Multi-response optimization of WEDM process parameters for machining of superelastic nitinol shape-memory alloy using a heat-transfer search algorithm // *Materials*, 2019, 12. P. 1-22. DOI: 10.3390/ma120812770
8. Zhang Y., Zhang Z., Xie Y., Wang S., Qiu Q., Zhou Y., Zeng G., Toxicity of nickel ions and comprehensive analysis of nickel ion-associated gene expression profiles in THP-1 cells // *Mol. Med. Rep*, 2015, 12. P. 3273-3278. DOI:10.3892/mmr.2015.3878

9. Lu X., Bao X., Huang Y., Qu Y., Lu H., Lu Z., Mechanisms of cytotoxicity of nickel ions based on gene expression profiles // *Biomaterials*, 2009, 30. P. 141–148. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2008.09.011
10. Sevost'yanov M.A., Nasakina E.O., Baikin A.S., Sergienko K.V., Konushkin S.V., Kaplan M.A., Seregin A.V., Leonov A.V., Kozlov V.A., Shkirin A.V., Bunkin N.F., Kolmakov A.G., Simakov S.V., Gudkov S.V., Biocompatibility of new materials based on nano-structured nitinol with titanium and tantalum composite surface layers: experimental analysis in vitro and in vivo // *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 2018, 29. P. 1-12. DOI: 10.1007/s10856-018-6039-3.
11. Nasakina E.O., Sudarchikova M.A., Sergienko K.V., Konushkin S.V., Sevost'yanov M.A., Ion Release and Surface Characterization of Nanostructured Nitinol during Long-Term Testing // *Nanomaterials*. 2019, 9. P. 1-24. DOI: 10.3390/nano9111569.