

На правах рукописи

**Тетерина Анастасия Юрьевна**

**КОМПОЗИЦИОННЫЕ МАТЕРИАЛЫ НА ОСНОВЕ ФОСФАТОВ  
КАЛЬЦИЯ И БИОПОЛИМЕРОВ ДЛЯ ЗАМЕЩЕНИЯ ДЕФЕКТОВ  
КОСТНЫХ ТКАНЕЙ**

Специальность 05.17.11 – Технология силикатных и тугоплавких  
неметаллических материалов

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата технических наук

Москва – 2016

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институт металлургии и материаловедения им. А.А. Байкова Российской академии наук (ИМЕТ РАН)

Научный руководитель: доктор технических наук,  
профессор РАН  
**Комлев Владимир Сергеевич**

Официальные оппоненты:

**Козик Владимир Васильевич** доктор технических наук, профессор  
Федеральное государственное автономное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет» (ТГУ)

**Строганова Елена Евгеньевна** кандидат технических наук, доцент  
Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева (РХТУ)

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки  
Институт общей и неорганической химии им. Н.С. Курнакова Российской академии наук (ИОНХ РАН)

Защита диссертации состоится \_\_ \_\_\_\_\_ 2016 г. в \_\_. \_\_ на заседании диссертационного совета Д 002.060.04 при Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институт металлургии и материаловедения им. А.А. Байкова Российской академии наук по адресу: 119334, г. Москва, Ленинский проспект, д. 49.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт металлургии и материаловедения им. А.А. Байкова Российской академии наук, на сайте института [www.imet.ac.ru](http://www.imet.ac.ru) и на сайте ВАК <http://vak.ed.gov.ru/> .

Автореферат разослан «\_\_» \_\_\_\_\_ 2016 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета, к.геол.н.

Ивичева Светлана Николаевна

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность работы

Восстановление костной ткани является актуальной медицинской проблемой, ее значимость обусловлена распространенностью патологических состояний костной ткани, возникающих, в частности, в результате травм, опухолевого (первичного и метастатического) поражения, возрастного остеопороза. Традиционно при реконструктивно-пластических операциях для восполнения объема утраченной костной ткани применяются алло- и аутографты (фрагменты кости донора или собственной кости пациента, соответственно). Недостатки этих материалов хорошо известны: получение аутоматериала связано с дополнительными хирургическими вмешательствами для пациента и применимо лишь при небольших объемах дефекта; имплантация аллогенной костной ткани не исключает переноса инфекционных агентов от донора к реципиенту, аллергических реакций и имеет ряд проблем этического характера. Это ограничивает прогресс в хирургических подходах и, соответственно, расширение показаний к хирургическим вмешательствам.

Одним из рациональных путей решения проблемы могло бы стать использование синтетических биосовместимых материалов с оптимизированными в плане остеозамещения свойствами. Наиболее перспективны материалы на основе фосфатов кальция (ФК), близкие по составу к минеральной составляющей костной ткани. Кальцийфосфатные цементы (КФЦ) представляют собой реакционно - твердеющие системы, состоящие из порошка и жидкости, при смешении которых происходит химическое взаимодействие, сопровождающееся схватыванием и последующим твердением. К несомненным достоинствам этих материалов можно отнести, во-первых, их способность заполнять дефекты самой сложной конфигурации и объема, во-вторых, малую инвазивность вмешательств, то есть возможность введения данных материалов в инъекционной форме непосредственно в зону дефекта под контролем УЗИ или рентгена, т.е. без обширных оперативных вмешательств, и наконец, возможность трехмерной фиксации костной ткани пациента.

Основным недостатком таких материалов является их высокая хрупкость. Сравнительно новым подходом является создание композиционных материалов по цементной технологии на основе ФК и биополимеров, в которых полимерная составляющая образует каркас, придающий цементному материалу необходимую деформируемость, при сохранении биосовместимости и биоактивности за счет наличия кальцийфосфатной фазы. Формирование полимерного каркаса может происходить одновременно с процессом образования неорганических фаз. В результате в процессе схватывания будет образовываться эластичный полимерный каркас, армированный дисперсными частицами фосфатов, упрочняющих каркас и придающих материалу биоактивность.

В проблеме создания композиционных КФЦ существуют фундаментальные и прикладные задачи, которые необходимо решить. Это создание КФЦ с заданной формуемостью, способностью к полному заполнению дефекта *in situ*,

регулируемыми скоростью схватывания и твердения, контролируемой кинетикой биодegradации, заданными пористостью и механическими свойствами.

Работа выполнена в соответствии с планом НИР Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт металлургии и материаловедения им. А.А. Байкова Российской академии наук. Представленные в работе результаты являются частью исследований, проведенных при поддержке гранта РФФИ № 12-03-00079 «Создание новых композиционных костных цементов биополимер - фосфаты кальция с улучшенными свойствами» и Соглашения № 0015042 для финансирования НИР по теме «Создание композиционных реакционно-твердеющих систем биополимер - фосфаты кальция для заполнения костных дефектов» победителя конкурса «Участник молодежного научно-инновационного конкурса» («УМНИК»); Соглашения № 14.604.21.0132 (уникальный идентификатор ПНИ RFMEF 160414X0132) между Федеральным государственным бюджетным учреждением науки Институт металлургии и материаловедения им. А.А. Байкова Российской академии наук (ИМЕТ РАН) и Федеральным государственным бюджетным учреждением «Национальный медицинский исследовательский радиологический центр» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава России) о предоставлении гранта в рамках реализации федеральной целевой программы «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2014 - 2020 годы», утвержденной постановлением Правительства Российской Федерации от 28 ноября «2013» г. № 1096.

**Целью работы** является развитие физико – химических основ технологии получения композиционных материалов в системах биополимер – фосфаты кальция, обладающих повышенной деформируемостью.

Для достижения поставленной цели в ходе работы решались следующие задачи:

1. Установление условий формирования непрерывного полимерного каркаса, армированного частицами ФК, в процессе схватывания и твердения цемента в зависимости от параметров вяжущей системы и условий проведения процесса.

2. Изучение влияния полимерного компонента на кинетику фазообразования, фазовый состав и морфологические характеристики кальцийфосфатных фаз, в том числе на микроструктуру материала и его прочностные свойства.

3. Исследование возможности повышения прочностных характеристик материала армированием гранулами ФК и резорбируемого полисахарида. Выявление закономерностей влияния армирующих фаз на прочностные свойства и микроструктуру.

4. Изучение влияния на формирование микроструктуры и физико – химические свойства материалов физиологически важных катионов: магния и цинка.

5. Выявление кинетических особенностей деградации в модельных жидкостях организма человека разработанных материалов и исследование их биологических свойств *in vitro*.

#### **Научная значимость**

1. Разработаны композиционные КФЦ на основе АФК, ТТКФ и высокомолекулярного хитозана (600 кДа), в которых в процессе схватывания формируется непрерывный полимерный каркас, придающий затвердевшему цементу повышенную по сравнению с известными аналогами деформацию до разрушения. Изучены особенности формирования микроструктуры цементов и их механические свойства в зависимости от состава (соотношение компонентов твердая фаза/жидкая фаза) и условий схватывания и твердения (значение pH, выдержка на воздухе и в жидкостях, моделирующих внеклеточную жидкость организма).
2. Выявлены особенности упрочнения композиционных КФЦ, армированных керамическими гранулами ТКФ (100-200 и 300-500 мкм с содержанием до 30 масс. %) и альгината натрия (100-200 и 300-50 мкм с содержанием до 5 масс. %). Установлена немонотонность изменения значений прочности при сжатии от содержания гранул. Исследованы структурные изменения цементов, армированных гранулами альгината натрия в процессе формирования пористости *in situ* в условиях, моделирующих внеклеточную жидкость организма.
3. Установлено влияние физиологически важных катионов магния ( $Mg^{2+}$ ) и цинка ( $Zn^{2+}$ ) (1, 2 и 5 % замещения по кальцию) на формирование микроструктуры композиционных КФЦ и их механические свойства при различных условиях схватывания (выдержка на воздухе и в жидкостях, моделирующих внеклеточную жидкость организма).
4. Выявлены кинетические особенности растворения разработанных материалов. Для композиционных цементов КФЦ, установлено, что переход во времени закона растворения к экспоненциальному, соответствует кинетике скоростей реакций первого порядка. Армирование композиционных КФЦ гранулами ТКФ не оказывает влияния на растворимость цементов, а армирование гранулами альгината натрия приводит к обратной зависимости.

#### **Практическая значимость**

Созданы композиционные КФЦ, различные по фазовому составу, структуре, механическим и биологическим свойствам, которые могут найти широкое применение для замещения дефектов костных тканей.

Разработан технологический регламент изготовления композиционных систем биополимер - фосфаты кальция с заданной скоростью схватывания и твердения, контролируемой кинетикой биodeградации, заданными пористостью и механическими свойствами. Изготовлены лабораторные партии материалов. В сотрудничестве с Федеральным государственным бюджетным учреждением «Национальный медицинский исследовательский радиологический центр»

Министерства здравоохранения Российской Федерации проведены сравнительные биологические исследования *in vitro* для выбора оптимального состава.

Разработанные КФЦ были использованы для получения композиционных функционально – ориентированных трехмерных каркасов на основе полимера – фосфатов кальция методом прототипирования.

По результатам работы получен патент РФ № 2485978 (от 07.06.2012) «Пористый кальций - фосфатный цемент» и поданы заявки на патент № 2015144535 (от 16.10.2015) «Способ получения композиционного трёхмерного каркаса для замещения костно – хрящевых дефектов» и № 2016126010 (от 29.06.2016) «Гидрогель для получения композиционных материалов с антибактериальной активностью для замещения костно – хрящевых дефектов методом 3D печати».

#### **На защиту выносятся:**

1. Изучение микроструктуры и механических свойств композиционных КФЦ на основе фосфатов кальция и биополимеров.
2. Исследование влияния введения органических и неорганических наполнителей на упрочнение композиционных КФЦ в зависимости от состава, содержания и размера армирующих компонентов в условиях, моделирующих внеклеточную жидкость организма.
3. Закономерности формирования микроструктуры композиционных КФЦ и их механические свойства при введении в их состав физиологически важных катионов магния и цинка в различных условиях.
4. Особенности растворения разработанных материалов и результаты биологических испытаний *in vitro*.

#### **Апробация работы**

Материалы диссертационной работы были представлены на следующих конференциях: Всероссийские конференции аспирантов и молодых научных сотрудников «Физико-химия и технология неорганических материалов» Москва, 2013, 2014, 2015; Всероссийское совещание «Биоматериалы в медицине» Москва, 2013, 2015; конференция «Нанотехнологии в онкологии» Москва, 2013; Международная конференция «Функциональные наноматериалы и высокочистые вещества» Суздаль, 2015; Training School COST Action NAMABIO MP1005 3<sup>rd</sup> Course, Загреб, Хорватия, 2014; конгресс TERMIS EU Chapter Meeting, Генуя, Италия, 2014; Training School COST Action NAMABIO MP1005 4<sup>rd</sup> Course, Никозия, Кипр, 2015; International Conference Unified scientific approaches towards regenerative orthopaedics and dentistry. Венеция, Италия, 2015; World conference on regenerative medicine. Лейпциг, Германия, 2015.

#### **Публикации**

По результатам проведенных исследований опубликовано 32 работы, в том числе 15 статей в журналах рекомендованных ВАК, 14 тезисов докладов трудов конференций, получен 1 патент РФ и поданы 2 заявки на патент РФ.

#### **Личный вклад автора**

Автор принимала непосредственное участие в разработке методик эксперимента и их аппаратурного оформления, проведении экспериментов, обсуждении результатов и их оформлении в виде научных публикаций.

### **Достоверность полученных результатов**

Достоверность полученных результатов обусловлена применением современных приборов и методов, сопоставлением полученных результатов с данными других исследований в области создания материалов для замещения костной ткани и применением статистических методов обработки результатов.

### **Объем и структура работы**

Диссертационная работа изложена на 138 страницах машинописного текста, иллюстрирована 41 рисунком и 12 таблицами, а так же содержит 1 приложение. Список цитируемой литературы содержит 149 ссылок. Работа состоит из введения, списка используемых сокращений, 6 глав, включая литературный обзор, описание материалов и методов исследования, экспериментальную часть, а также выводов и списка литературы.

## **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

Во введении обоснована актуальность темы диссертации, сформулированы цели и задачи исследования, показаны научная новизна и практическая значимость работы, изложены основные положения, выносимые на защиту.

В первой главе представлен аналитический обзор литературы по биоматериалам для замещения костной ткани. Подробно описаны современные материалы на основе фосфатов кальция, способы их получения, преимущества и недостатки. Особое внимание уделено кальций фосфатным цементам, основным физико – химическим свойствам и их применению в клинической практике. Рассмотрены способы создания композиционных материалов на основе фосфатов кальция и биосовместимых полимеров. На основании данных аналитического обзора сформулированы цели и задачи исследования.

Вторая глава посвящена объектам и методам исследования. В качестве объектов исследования были использованы следующие материалы: аморфный фосфат кальция (АФК), тетракальциевый фосфат (ТТКФ) и высокомолекулярный хитозан (600 кДа). В качестве армирующих компонентов - керамические гранулы трикальцийфосфата (ТКФ) и гранулы полисахарида – альгинат натрия (AlgNa).

Для решения поставленных задач в работе применяли комплекс современных методов: рентгеновская дифрактометрия (РФА); сканирующая электронная микроскопия с энергодисперсионным анализом (СЭМ); просвечивающая электронная микроскопия (ПЭМ); Фурье ИК-спектроскопия; ионометрия растворов; механические испытания на сжатие; количественный химический анализ. Оценку резорбции проводили в соответствии с ГОСТ Р ИСО 10993-14-2001. Исследование минерализации материалов проводили в растворе, имитирующем внеклеточную жидкость человека (simulation body fluid, SBF). В сотрудничестве с Федеральным государственным бюджетным

учреждением «Национальный медицинский исследовательский радиологический центр» Министерства здравоохранения Российской Федерации были проведены биологические испытания *in vitro* по оценке острой цитотоксичности материалов.

Третья глава посвящена установлению условий формирования непрерывного хитозанового каркаса и частиц фосфатов кальция – продуктов взаимодействия компонентов вяжущей системы, в процессах схватывания и твердения композиционных КФЦ в зависимости от параметров вяжущей системы и условий проведения процесса.

Неорганическая составляющая композиционного КФЦ состояла из аморфного фосфата кальция (АФК) и тетракальциевого фосфата (ТТКФ) в соотношении от 1 до 1,3. В качестве цементной жидкости (ЦЖ) использовали хитозан в водных растворах ортофосфорной кислоты концентрации 1-3 масс. %, водных суспензиях глутаминовой или молочной кислоты концентрации 1-3 масс. %. Проводили сравнительные исследования с жидкой фазой без хитозана и с хитозаном в количестве 1-3 масс. %.

Установлена последовательность введения компонентов в систему для того, чтобы получить хитозановый каркас: сначала готовят смесь ЦЖ с АФК ( $\text{pH} \approx 4$ ), а затем в эту смесь добавляют ТТКФ, который изменяет значение  $\text{pH}$  в сторону нейтральной реакции, что приводит к полимеризации хитозана и образованию каркаса. Одновременно в результате взаимодействия АФК с ТТКФ происходит формирование апатитоподобной фазы. Процесс схватывания происходит в течение времени от 20 минут до 2 часов, с последующим твердением цемента (нарастанием прочности цементного камня) в течение времени до 14 суток. Критической стадией процесса взаимодействия компонентов является, по-видимому, растворение ТТКФ. Повышение дисперсности порошкового компонента ТТКФ до среднего размера частиц менее 10 мкм приводит к снижению времени схватывания до 5 – 7 минут. Время схватывания снижается и при повышении соотношения твердой и жидкой фаз. Установлено, что проведение процесса в жидкостях, моделирующих внеклеточную жидкость организма (*simulation body fluid, SBF*) интенсифицирует транспорт и взаимодействие компонентов цементной системы.

По данным РФА продукт взаимодействия состоит из двух кристаллических фаз: фазы, по структуре близкой к гидроксипатиту (ГА), и непрореагировавшего ТТКФ (до 2-3 %) (рис. 1).

Анализ КФЦ методом ПЭМ подтверждает результаты РФА, не исключая, кроме апатитоподобной фазы и непрореагировавшего ТТКФ, возможности присутствия аморфно-нанокристаллической фазы (АНФ). Частицы всех цементных порошков являются агрегатами микро - и нанокристаллов, связанными аморфно-нанокристаллической фазой по структуре близкой к ГА.



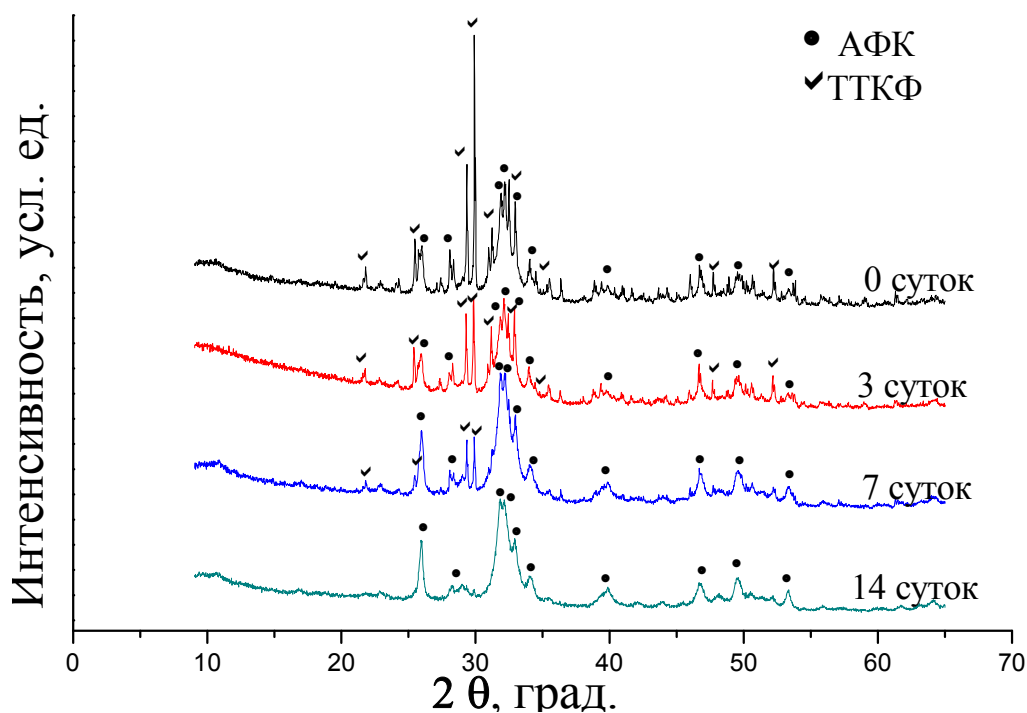


Рисунок 1 - Дифрактограмма композиционных кальцийфосфатных цементов

Микрокристаллы соответствуют частицам порошка ТТКФ, нанокристаллы – длиннопризматические частицы апатитоподобной фазы. АНФ связывает эти полидисперсные частицы, местами образуя глобулярные и игольчатые нанокристаллические выделения. Несмотря на одинаковый фазовый состав всех образцов и общие совокупные характеристики субструктуры и морфологии, на ПЭМ изображениях заметны индивидуальные особенности, обусловленные различием цементобразования в системе хитозан/АФК+ТТКФ для различных цементных жидкостей. Для удобства сравнения субструктурные и морфологические параметры в зависимости от состава и содержания затворяющей жидкости сведены в таблицу 1.

Размеры нанокристаллических глобул и игл больше в цементах, полученных на основе цементной жидкости с более низкими значениями pH. В частицах цемента на основе 3 % хитозана в растворе 3 % молочной кислоты присутствуют нанопоры размером около 2 нм (рис. 2).

По данным сканирующей электронной микроскопии композиционных кальцийфосфатных материалов установлено, что материал представляет собой хитозановый каркас, в котором по всем объему распределены частицы АФК размером менее 1 мкм. Также наблюдаются частицы непрореагировавшего ТТКФ размером до 10 мкм (рис. 3).

На рисунке 4 показана диаграмма зависимости прочности цемента после 7 суток твердения на воздухе и в SBF от содержания хитозана в ЦЖ. Прочность композиционных КФЦ, выдержанных на воздухе, была в 3-4 раза выше прочности цементов, твердевших в SBF (7 МПа и 1,2 МПа соответственно). Прочность возрастает с увеличением содержания хитозана и при переходе от

органических глутаминовой и молочной кислот к неорганической ортофосфорной кислоте. Последнее может быть обусловлено более высокой степенью завершенности взаимодействия компонентов системы: взаимодействие органических кислот с хитозаном происходит через амино - группы хитозана и карбокси - группы кислот, тогда как ортофосфорная кислота более эффективна из-за образования протонов.

Таблица 1

Морфологические особенности композиционных КФЦ

Состав ЦЖ	ТТКФ	Апатитоподобная фаза	АНФ	
			глобулы	иглы
ЦЖ на основе 3 % хитозана в растворе 3 % ортофосфорной кислоты	0,1-2,0 мкм	Вытянутые призмы 20/8 нм	3 нм	40/ 5 нм
ЦЖ на основе 1 % хитозана в растворе 1 % ортофосфорной кислоты	0,1-2,0 мкм	20/8 нм	2 нм	нет
ЦЖ на основе 3 % хитозана в растворе 3 % молочной кислоты	0,1-2,0 мкм	20/8 нм нанопоры 2 нм	5 нм	50/ 8 нм
ЦЖ на основе 1 % хитозана в растворе 1 % молочной кислоты	0,1-2,0 мкм	20/8 нм	2 нм	40/ 5 нм
ЦЖ на основе 1 % хитозана в растворе 1 % глутаминовой кислоты	0,1-2 мкм	20/8 нм	4 нм	40/ 4 нм
ЦЖ на основе 3 % хитозана в растворе 3 % глутаминовой кислоты	0,1-2,0 мкм	20/8 нм	4 нм	40/ 4 нм

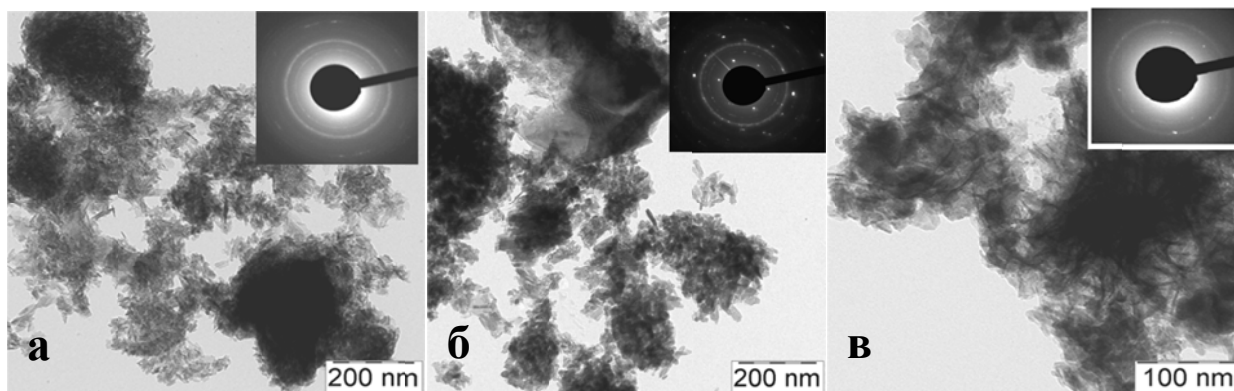


Рисунок 2 - Микроэлектроннограмма и светлоскопические изображения КФЦ на основе: а – 3% ортофосфорной кислоты; б – 3 % молочной кислоты; в – 3 % глутаминовой кислоты

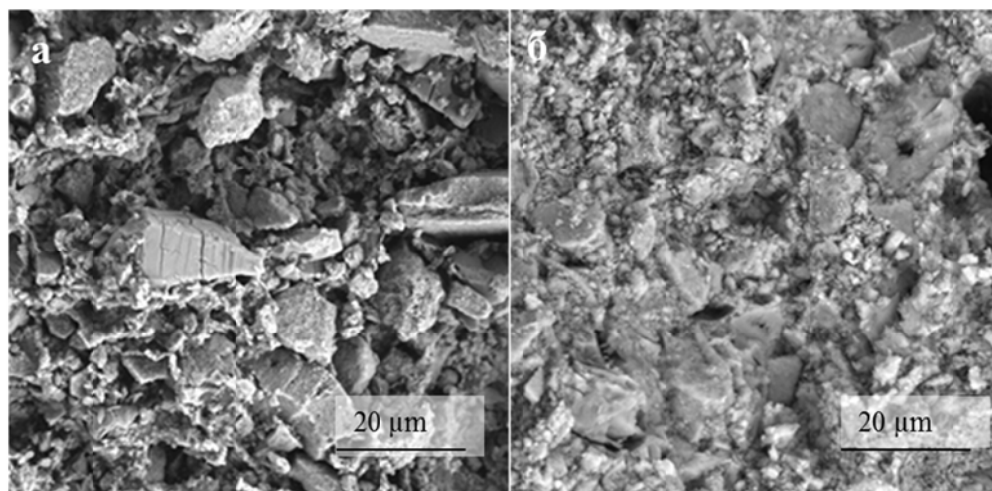


Рисунок 3 - Микроструктура композиционных КФЦ на 14 сутки: а - твердение на воздухе, б - твердение в SBF

На рисунке 5 приведены диаграммы деформирования композиционных цементов на основе с 3 % хитозана в растворе 3 % ортофосфорной кислоты при твердении на воздухе и в SBF в течение 3, 7, и 14 суток. Деформация КФЦ при твердении на воздухе оставляет 8 -9 %. Твердение в SBF приводит к значительному повышению деформируемости цемента (рис. 5 б). Предельная деформация до разрушения таких цементов достигает 20-25 %.

Таким образом, установлены условия формирования полимерного каркаса, армированного частицами ФК. Выявлены зависимости влияния полимерного компонента на кинетику фазообразования, фазовый состав и морфологические характеристики кальцийфосфатных фаз. В том числе на микроструктуру и прочностные свойства материала.

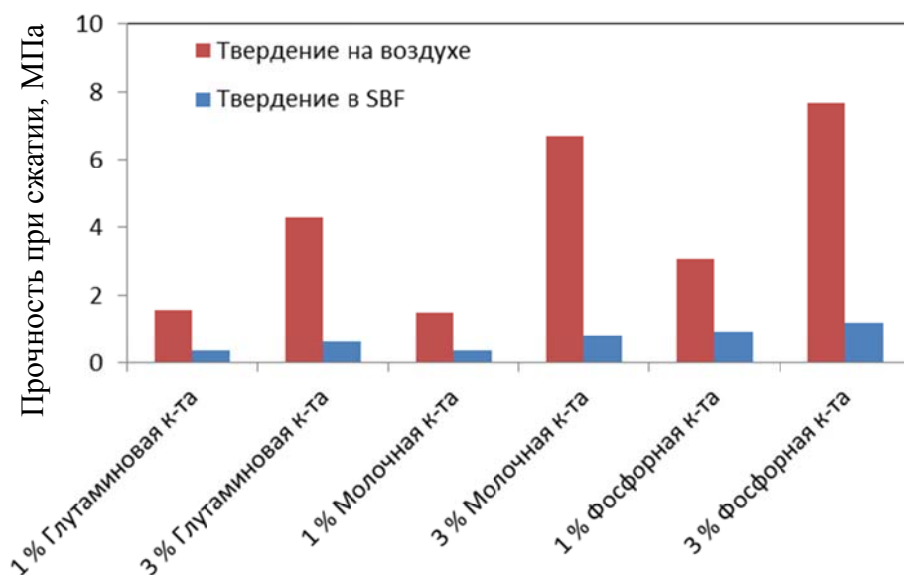


Рисунок 4 - Диаграмма зависимости прочности КФЦ от состава цементной жидкости при твердении на воздухе и в SBF на 7 сутки

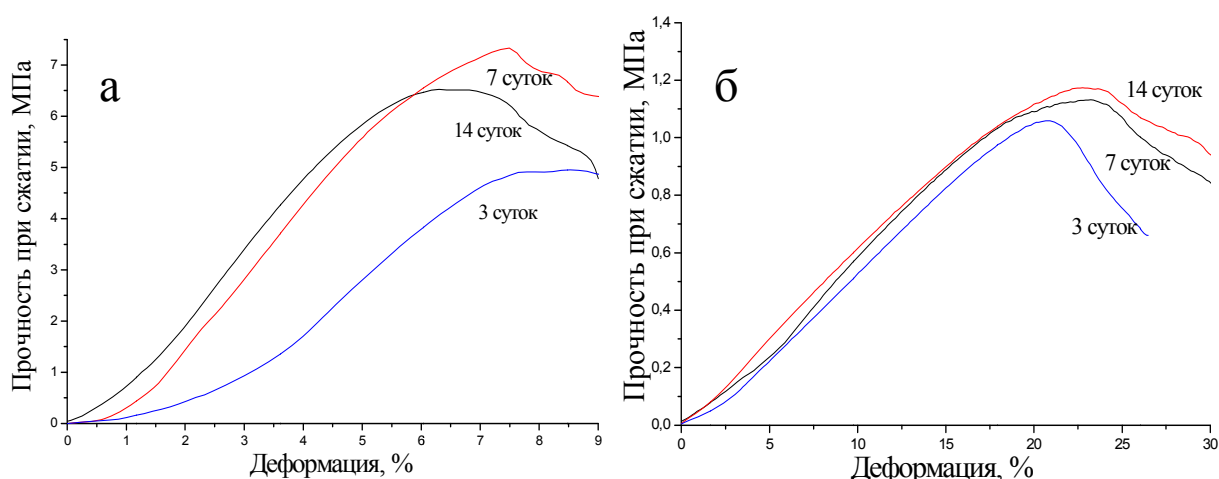


Рисунок 5 - Диаграммы деформирования при сжатии КФЦ на основе 3 % хитозана в 3 % растворе фосфорной к-ты после твердения: а – на воздухе; б – в растворе SBF

В четвертой главе представлены результаты исследования технологии армирования КФЦ гранулами фосфатов кальция - для упрочнения цемента и резорбируемого полисахарида - для формирования пористости в цементе имплантате.

Для формирования матрицы композиционного материала выбрана цементная система АФК/ТеКФ – ЦЖ на основе хитозана и ортофосфорной кислоты. Армирующая составляющая - керамические гранулы на основе ТКФ. Гранулы получали методом диспергирования суспензии порошка ТКФ и биополимера на капли с последующей термической обработкой при

температуре 1300 °С. Гранулы ТКФ диаметром 100-200 и 300-500 мкм вводили в порошок АФК в количестве до 30 масс. %. В полученную смесь добавляли ЦЖ, а затем в эту смесь добавляли порошок ТТКФ, который изменял значение рН в сторону нейтральной реакции.

Установлено, что время схватывания композиционного цемента снижается при увеличении количества гранул ТКФ. По данным РФА основными фазовыми составляющими композиционных материалов являются ГА и ТКФ. Согласно данным ИК-спектроскопии, исследуемые образцы содержат  $\text{CO}_3^-$  группу - полосы в диапазоне 1540-1300  $\text{cm}^{-1}$  характерны для моды  $\nu_3$  колебаний. Это является следствием частичного поглощения цементным материалом углекислого газа из атмосферы. Также в спектре присутствует полоса деформационных колебаний  $\text{OH}^-$  групп при 3571  $\text{cm}^{-1}$ , полосы  $\nu_4$  - моды колебаний фосфат-групп, расположенные в интервале волновых чисел 660-520  $\text{cm}^{-1}$ , и  $\nu_3$  - моды при 1080-1030  $\text{cm}^{-1}$ . Смещение полосы при 1578  $\text{cm}^{-1}$ , характерной для амино-групп, до 1542  $\text{cm}^{-1}$  может свидетельствовать о депротонировании амино-групп. Наиболее вероятным механизмом взаимодействия хитозана с ФК является фосфорилирование хитозана фосфат-группами.

Продукт взаимодействия компонентов, не содержащий гранул ТКФ, имеет прочность при сжатии около 8 МПа. В случае использования керамических гранул ТКФ прочность цемента увеличивалась при введении фракций гранул 100-200 мкм (рис. 6). При этом наибольшие значения прочности до 15 МПа были получены на образцах, содержащих 20 масс. % частиц ТКФ. С введением гранул ТКФ большего размера 300-500 мкм наблюдается уменьшение значения прочности при сжатии до 11 - 12 МПа (30 масс. % частиц ТКФ).

Изменение прочности в разработанных материалах носит сложный характер, что связано, в первую очередь, с равномерностью распределения армирующего компонента и прочностью контакта на границе фаз (матрица-добавка). Так, при увеличении размера вводимых гранул ТКФ, максимум прочности смещается в сторону больших значений. Это можно объяснить тем, что частицы большего размера распределяются по объему образца менее равномерно. Поэтому эффект упрочнения проявляется только при содержаниях армирующей составляющей ТКФ менее 20 %. При дальнейшем повышении содержания армирующего компонента (гранул ТКФ) прочность незначительно снижается, так как нарушается целостность цементной матрицы. Можно предположить, что основная причина повышения прочности композиционных цементов при сжатии состоит в увеличении работы разрушения за счет транскристаллитного разрушения вводимых керамических гранул ТКФ. Наличие транскристаллитного разрушения связано с близостью химического состава фаз: апатитовой матрицы и наполнителя - гранул ТКФ.

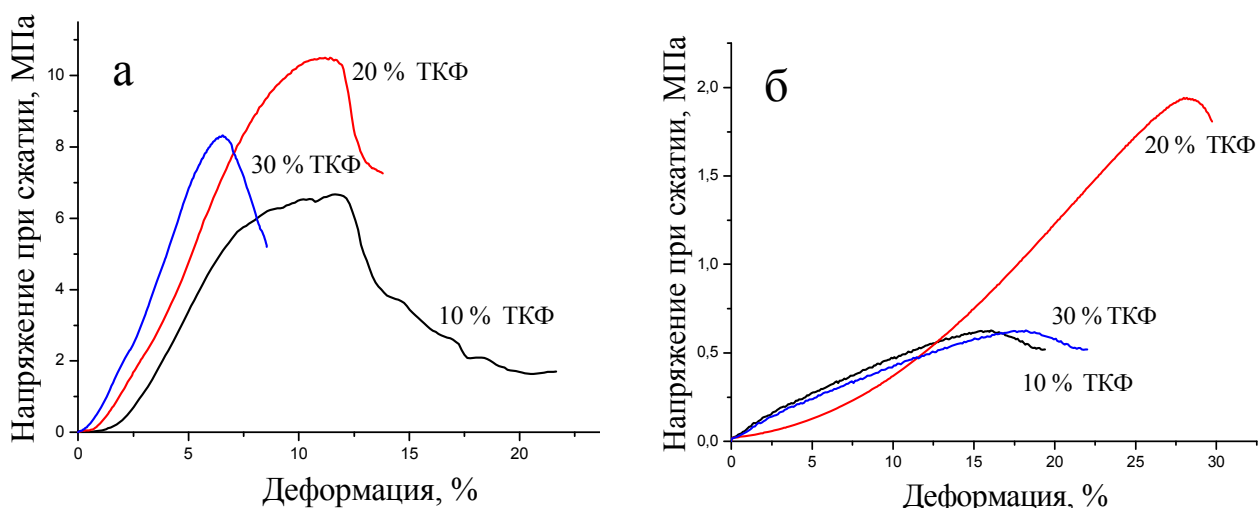


Рисунок 6 - Диаграммы деформирования КФЦ, армированного гранулами ТКФ размером 100-200 мкм на 14 сутки твердения: а – на воздухе; б – в SBF

Прочность образцов, выдержанных в SBF, значительно ниже: 0,6 – 1,8 МПа, но сохраняется та же зависимость прочности от размера и количества керамических гранул ТКФ, что и для образцов, твердевших на воздухе. Низкие значения прочности при сжатии композиционного КФЦ и исследования микроструктуры подтверждают предположения об образовании непрерывного хитозанового каркаса как элемента микроструктуры, который постепенно растворяется в SBF. Выдержка в SBF значительно повышает деформируемость цементов, которая достигает 20 - 30 % (деформация до разрушения при сжатии) по сравнению с 6 – 12 % для цементов того же состава, но твердевших на воздухе.

Исследованы композиционные КФЦ, упрочненные гранулами альгината натрия (AlgNa) в количестве до 5 масс. % разного размера (100-200 и 300-500 мкм в диаметре). Экспериментально установлено, что введение более 5 масс. % гранул AlgNa в порошок АФК препятствует смешению исходных компонентов с ЦЖ.

По данным СЭМ в процессе схватывания и твердения аморфная фаза покрывает гранулы AlgNa, цементируя их между собой. В результате формируется прочный и одновременно эластичный цементный камень с равномерным распределением частиц AlgNa по объему. При введении частиц AlgNa прочность материала достигает максимума 18 МПа при их содержании 1 масс. % (рис. 7). Эффект от армирования незначительно возрастает с увеличением размера вводимых частиц AlgNa при равном содержании. Основными механизмами повышения прочности материала являются блокировка распространяющейся трещины при ее встрече с частицей; увеличение поверхности разрушения за счет огибания частиц фронтом распространяющейся трещины; влияние полей сжимающих напряжений в матрице, препятствующих раскрытию трещины; неупругая (вязко - упругая) деформация полимерных частиц. Трещина распространяется по хрупкой

матрице, огибая частицы AlgNa. Эти частицы могут блокировать трещину, поскольку интенсивность напряжений, необходимая для распространения трещины в плоскости, отличной от плоскости разрушения нормальным отрывом, всегда выше.

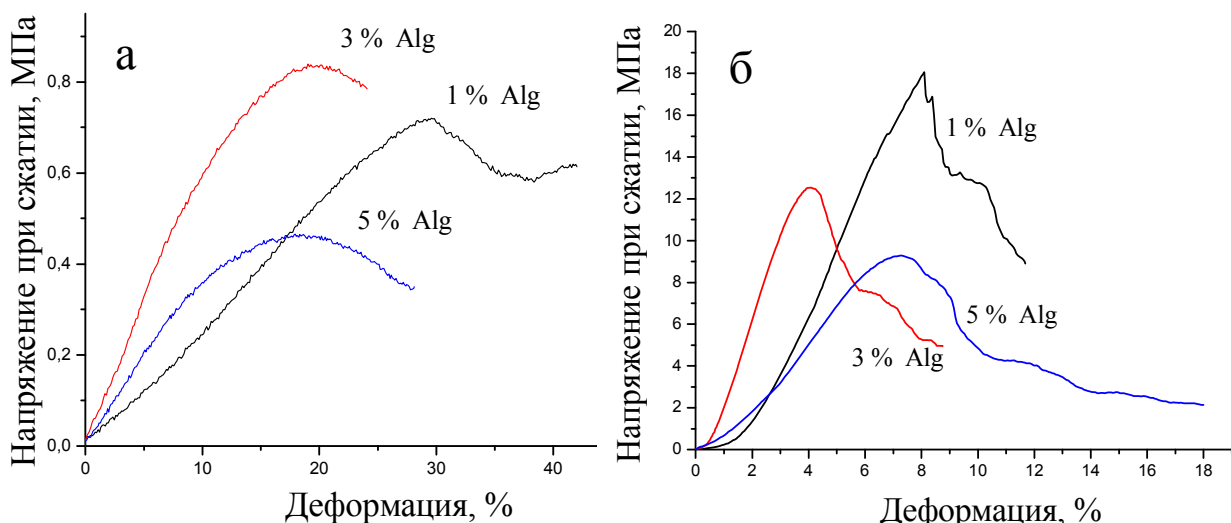


Рисунок 7 - Диаграммы деформирования КФЦ, армированного гранулами альгината натрия размером 100-200 мкм., на 14 сутки твердения: а – на воздухе, б – в SBF

С увеличением содержания гранул AlgNa (размер частиц 100-200 мкм) прочность композиционного материала монотонно уменьшается до 12 МПа и 8,5 МПа, соответственно. Это процесс обусловлен разупрочнением композиционного материала вследствие формирования в нем пористости и трещин. Трещиноподобные дефекты появляются в местах контактов между частицами альгината. Частицы не взаимодействуют между собой, и контактная граница представляет собой трещину. Согласно известным положениям механики хрупкого разрушения, разрушающее напряжение обратно пропорционально корню квадратному из размера дефекта. Очевидно, что с увеличением размера частиц, вводимых в цемент, размер контактной зоны между ними и, соответственно, трещины возрастает, приводя к более значительному снижению прочности, чем при армировании частицами меньшего размера. Таким образом, выбор фракции частиц AlgNa для армирования цемента зависит от требуемого соотношения между их содержанием и достигаемым уровнем механических свойств. Прочность при сжатии композиционного цемента с гранулами AlgNa выдержанного в SBF, монотонно уменьшается с увеличением выдержки с 0,9 – 1,1 МПа (3 сутки) до 0,5 – 0,6 МПа (14-е сутки), что обусловлено растворением хитозанового каркаса и гранул AlgNa.

Таким образом, выявлены возможности упрочнения КФЦ армированием неорганической и органической составляющей. Исследованы особенности влияния армирования на микроструктуру и прочностные характеристики.

В пятой главе представлены результаты формирования микроструктуры и свойств композиционных КФЦ, содержащих физиологически важные катионы магния и цинка.

Показана возможность введения магния и цинка в количествах до 1, 2 и 5 масс. % замещения кальция, соответственно, при синтезе АФК осаждением из растворов солей согласно реакции:



где  $\text{Me}^{2+} = \text{Mg}^{2+}$  или  $\text{Zn}^{2+}$  в количестве 1, 2 и 5 масс. % по отношению к содержанию кальция, соответственно. Согласно данным ИК - спектроскопии катионы входят в структуру АФК.

Установлено, что введение магния и цинка не влияло на время схватывания, которое составляло от 15 до 30 минут. Для цементов всех разработанных составов характерно начальное значение рН от 7,1 до 7,3 и к 7-м суткам оно повышалось до 7,5 - 7,6. Согласно данным РФА, основной фазой в затвердевших цементах является АФК. На рис. 10 показана микроструктура поверхностей разрушения исходного КФЦ, не содержащего катионы магния или цинка (рис. 10 а), КФЦ с 5 %-ным замещением цинком (рис.10 б) и КФЦ с 5 %-ным замещением магнием (рис.10 в) при твердении в SBF на 14-е сутки.

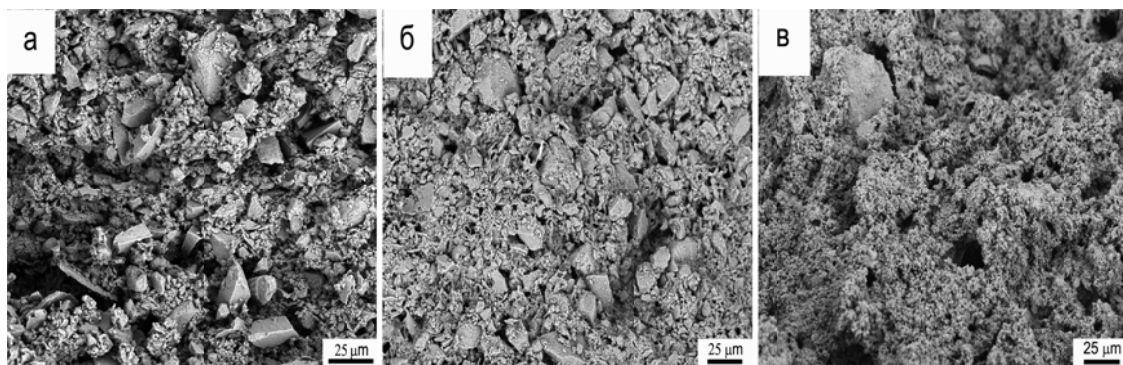


Рисунок 10 - СЭМ – изображения поверхностей разрушения КФЦ, выдержанных в SBF : а – не содержащих катионы магния/цинка; б - 5 %-ное замещение магнием; д – 5 %-ное замещение цинком

Структура исходного цемента, не содержащего катионов магния и цинка, однородна, представляет собой цементный камень на основе хитозана, с равномерно распределенными по всему объему частицами размером менее 1 мкм. В случае композиционных КФЦ, содержащих катионы цинка наблюдается образование пластинчатых кристаллов, морфология которых соответствует кристаллам дикальцийфосфата дигидрата, что, видимо, происходит в процессе твердения КФЦ. Разработанные цементы имеют высокую деформируемость при сжатии (до 30 %). На рисунке 11 приведены диаграммы деформирования при сжатии образцов КФЦ с 5 %-ным замещением цинком, выдержанных на воздухе и в SBF. Значения прочности при сжатии таких КФЦ, выдержанных на



воздухе достигает 16 МПа и 1,2-1,4 МПа при выдержке в SBF, содержание катионов металлов не оказывает существенного влияния на прочностные характеристики. При этом пористость таких цементов при твердении в жидкости SBF изменялась с 17 % (1-е сутки твердения) до 26 % (28-е сутки твердения) в случае магний - содержащих образцов и с 16 % до 19 % для образцов, содержащих цинк.

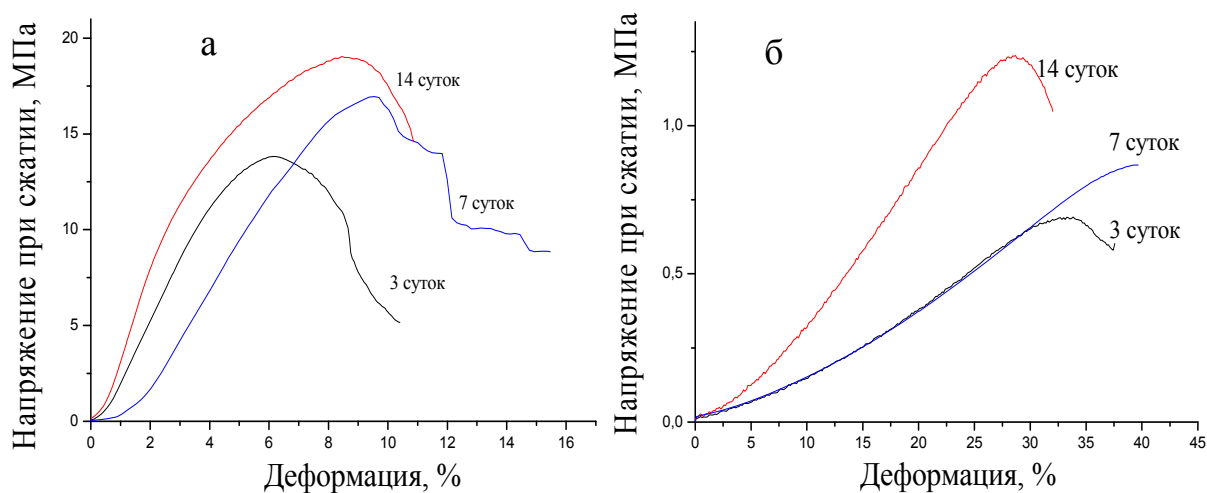


Рисунок 11 - Диаграммы деформирования при сжатии цинк – замещенных КФЦ; а – твердение на воздухе, б – твердение в жидкости SBF

Был исследован выход ионов в изотонический раствор при выдержке КФЦ с введенными в него катионами магния или цинка (рис.12). В обоих случаях кинетический закон может быть описан экспоненциальной функцией, что соответствует кинетике реакций первого порядка (скорость изменения концентрации пропорциональна текущему ее значению).

Таким образом, установлено влияние физиологически важных катионов магния и цинка на формирование микроструктуры композиционных КФЦ, их механические свойства при твердении на воздухе и в жидкостях, моделирующих внеклеточные жидкости организма.

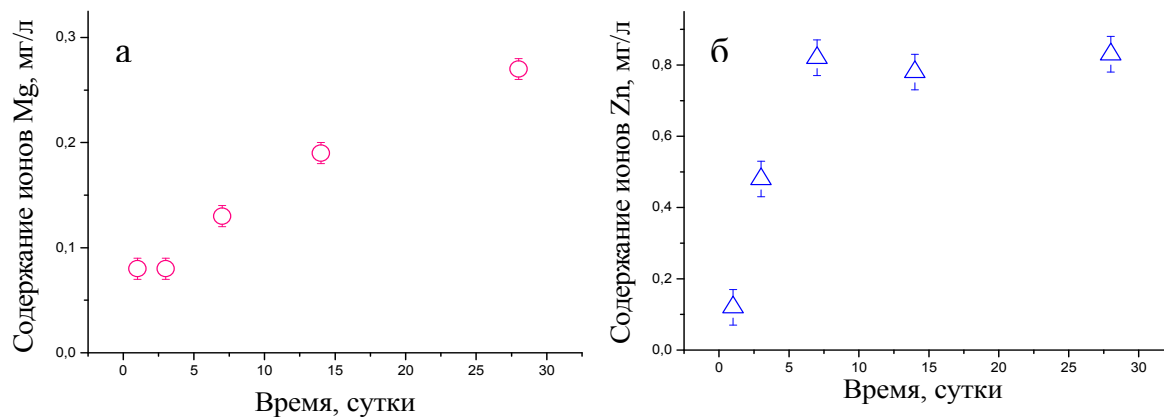


Рисунок 12 - Кривая изменения концентрации ионов магния (а) и цинка (б) при выдержке КФЦ в изотоническом растворе

В шестой главе представлены данные по кинетике растворимости разработанных композиционных КФЦ и результаты сравнительных биологических исследований *in vitro*.

Проведено сравнительное исследование кинетических особенностей деструкции (растворения) композиционного материала без армирующей составляющей, с 20 масс. % гранул ТКФ размерами 100-200 мкм и 300-500 мкм и с 3 масс. % гранул AlgNa размером 100-200 мкм и 300-500 мкм, соответственно. Растворимость проводили в изотоническом 0,1 М растворе NaCl до 28 суток при постоянном объеме жидкой фазы (замкнутая система), значение pH = 7,4 и температуре 37 °С.

Результаты исследования кинетики растворения КФЦ без армирующей составляющей, с гранулами ТКФ и с гранулами AlgNa отличны. Концентрация ионов кальция в изотоническом растворе КФЦ без армирующего компонента достигает максимума к 7 – м суткам (111,9 мг/л) и далее существенных изменений не происходит (92,8 мг/л на 28 сутки). Содержание кальция в композиционном КФЦ армированным гранулами ТКФ на 1 сутки резко возрастает (89,5 мг/л для КФЦ с ТКФ 100-200 мкм и 40,7 мг/л ТКФ 300-500 мкм) и далее практически не изменяется до 28 суток (101, 5 мг/л для КФЦ с ТКФ 100-200 мкм и 105,6 мг/л ТКФ 300-500 мкм) (рис. 13).

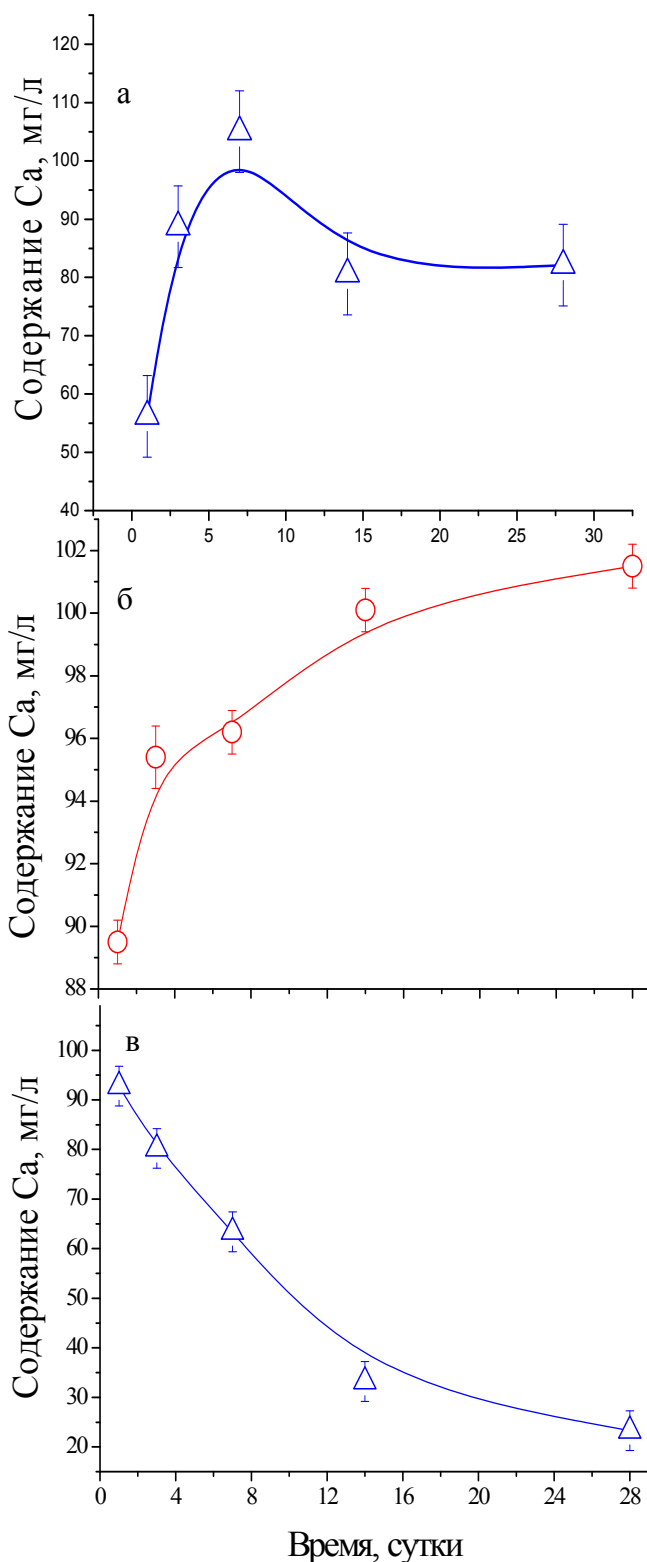


Рисунок 13 - Кинетические кривые изменения концентрации ионов кальция в изотоническом растворе: а– армирование гранулами ТКФ (20 масс. %), б – армирование гранулами альгината натрия (3 масс. %)

Кинетика растворения на начальном этапе описывается степенной функцией. Содержание кальция в материалах, армированных гранулами альгината разного размера, достигает к 1-м суткам максимального значения (93 мг/л для КФЦ с гранулами альгината размером 100-200 мкм и 111,1 мг/л с гранулами альгината размером 300-500 мкм), но затем содержание кальция в физиологическом растворе резко падает и к 28 суткам составляет 67 мг/л для композитов с гранулами альгината размером 100-200 мкм и 23 мг/л для композитов с гранулами альгината натрия размером 300-500 мкм. Это может быть обусловлено способностью альгината взаимодействовать с ионами кальция, что также подтверждается ИК - спектроскопическими исследованиями. По данным СЭМ гранулы альгината натрия со временем частично растворяются, что приводит к формированию пористости, необходимой для биологических потоков в цементном имплантате (рис. 14).

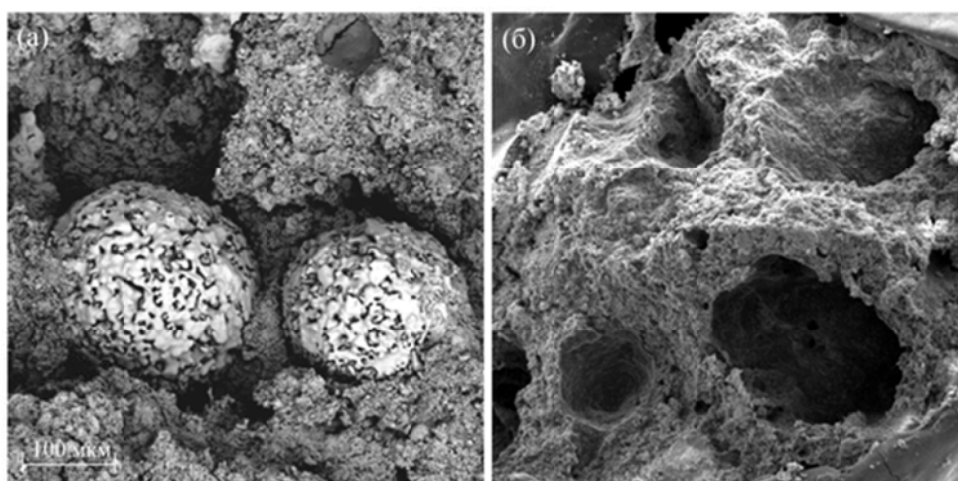


Рисунок 14 - СЭМ изображения поверхности композиционных КФЦ, армированных гранулами ТКФ (а) и гранулами альгината натрия (б) после выдержки в изотоническом растворе

Были проведены исследования растворимости КФЦ, модифицированных катионами магния и цинка (5 масс. %) по потере массы образца при выдержке в буферном растворе согласно ГОСТ Р ИСО 10993 – 14 -2001.

Значения потери массы КФЦ, модифицированного ионами магния значительно возрастают (до 10 %) к 7-м суткам выдержки образца в растворе. Затем это значение продолжает увеличиваться достигая к 28 суткам значений 16 % потери массы образца (рис. 15). Потеря массы КФЦ, модифицированных ионами цинка резко возрастает к 3-м суткам растворения (до 8 %), но далее скорость растворения замедляется (9,75 % на 7 – е сутки и 10,77 % на 14 сутки) и к 28 сутками составляет 11,54 %.

Перед проведением испытаний *in vitro* разработанные композиционные КФЦ подвергали стерилизации  $\gamma$  - облучением. Установлено, что при дозе облучения выше 15 кГр происходит деструкция полимерной компоненты цементных материалов.

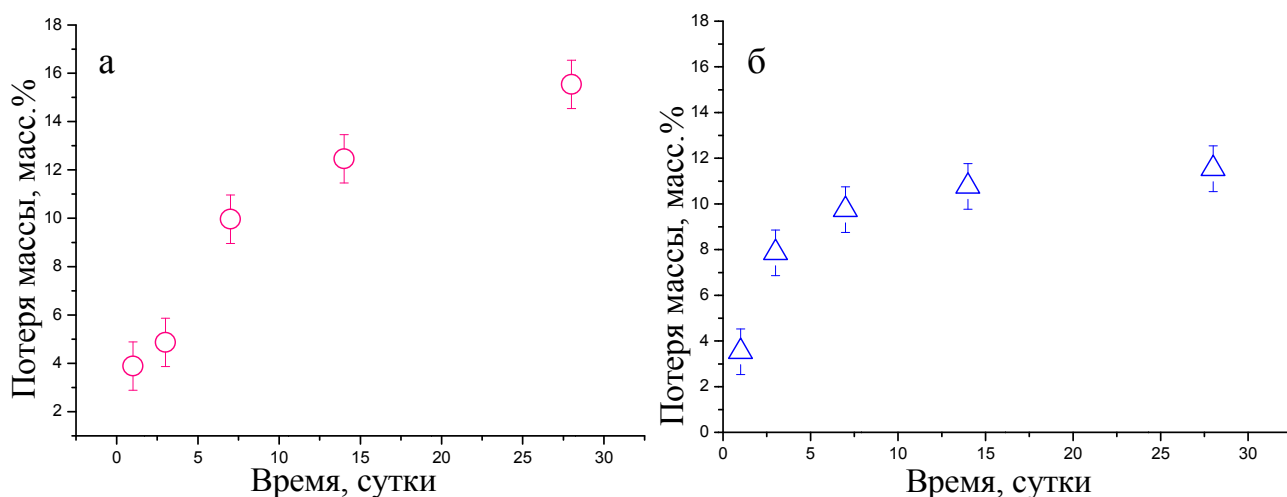


Рисунок 15 – Изменение массы образца КФЦ при выдержке в изотоническом растворе : а – модифицирование 5 масс. % магния; б – модифицирование 5 масс. % цинка

Для определения острой цитотоксичности были выполнены эксперименты на модели тест - культуры адгезионной клеточной линии иммортализованных фибробластов человека (ФЧ), штамм 1608 hTERT (Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, г. Москва). Получены данные, свидетельствующие об отсутствии острой цитотоксичности всех исследуемых образцов КФЦ в отношении тест – культуры ФЧ и наличии матричных свойств поверхности разной степени выраженности. Наиболее перспективными представляются образцы КФЦ, модифицированные катионами цинка (5 масс. %). Данные образцы обеспечивают эффективную адгезию культуры ФЧ, их распластывание и длительную пролиферацию (рис. 16).

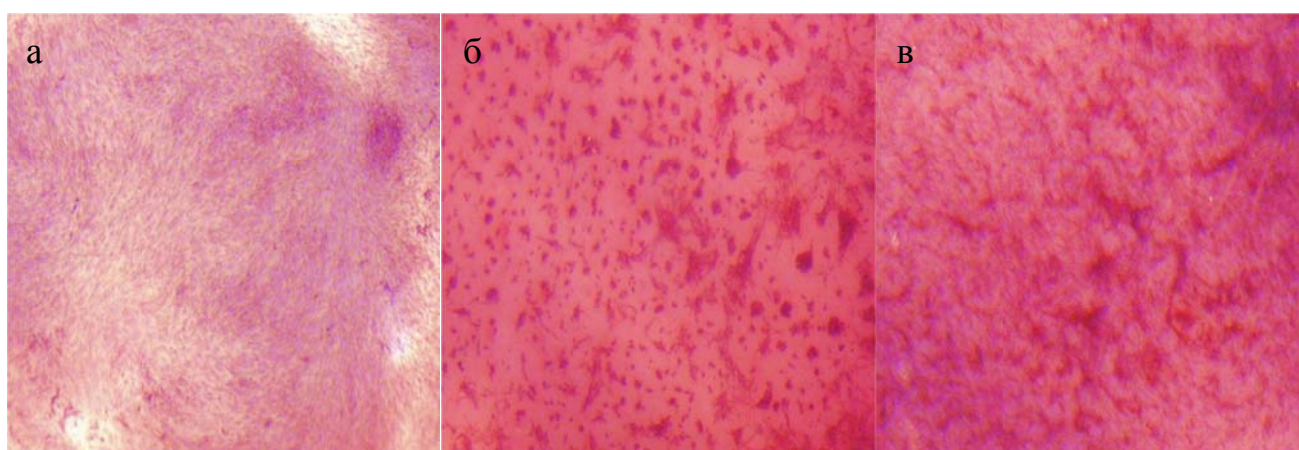


Рисунок 16 – Поверхность КФЦ через 6 суток проведения МТТ-теста: а – контрольный образец; б - КФЦ с содержанием магния 5 масс.%; в - КФЦ с содержанием цинка 5 масс.%. Увеличение – 60 крат.

## ОСНОВНЫЕ ВЫВОДЫ

1. Разработаны композиционные КФЦ с непрерывным хитозановым каркасом на основе АФК, ТТКФ и 1-3 % раствора хитозана в 1-3 % растворах ортофосфорной, глутаминовой и молочной кислот с варьируемым временем схватывания от 15 до 30 минут и значениями pH = 7,5 – 7,6. Установлено, что основной фазой продукта взаимодействия является апатитоподобная фаза. Значения прочности разработанных композиционных КФЦ при сжатии составляет 7 МПа при твердении на воздухе и 1,3 МПа при твердении в SBF. Предельная деформация до разрушения таких КФЦ составляет 20-25 %.
2. Разработаны армированные композиционные КФЦ, содержащие до 30 масс. % гранул ТКФ размером 100 -200 и 300 – 500 мкм. Установлено, что зависимость прочности армированных композиционных КФЦ от содержания упрочняющей дисперсной фазы немонотонна - положение максимума зависит от вида и дисперсности армирующей фазы. Для КФЦ, армированного гранулами ТКФ максимальное значение прочности при сжатии достигается с введением 20 масс. % гранул 100 – 200 мкм – 12 МПа при твердении на воздухе и 1,8 МПа при твердении в SBF.
3. Разработаны композиционные КФЦ, армированные 1 – 5 масс. % частицами резорбируемого полисахарида – альгината натрия – размером 100 – 200 мкм и 300- 500 мкм. Показано, что максимальное значение прочности при сжатии достигается при введении 1 масс. % частиц альгината натрия 100 - 200 мкм и составляет при твердении на воздухе 18 МПа и 1 МПа при твердении в SBF. С увеличением содержания гранул альгината (размер частиц 100-200 мкм) прочность композиционного материала монотонно уменьшается до 8,5 МПа и 0,6 МПа, соответственно.
4. Получены композиционные КФЦ на основе АФК, с замещением до 5 масс. % кальция физиологически важными катионами магния и цинка. Установлено, что введение магния и цинка не влияло на время схватывания, которое составляло от 15 до 30 минут. Для цементов всех разработанных составов характерно начальное значение pH = 7,1 - 7,3 и основным продуктом твердения – апатитоподобная фаза. Показано, что модифицирование КФЦ катионами магния и цинка не оказывает существенного влияния на прочностные характеристики. Значения прочности при сжатии КФЦ с замещением кальция 5 масс. %, при твердении на воздухе достигает 16 МПа и 1,2-1,4 МПа при твердении в SBF Разработанные цементы имеют высокую деформируемость при сжатии (до 30 %).
5. Выявлены кинетические особенности растворения разработанных материалов. Для композиционных цементов КФЦ, установлено, что переход во времени закона растворения к экспоненциальному,

соответствует кинетике скоростей реакций первого порядка. Армирование композиционных КФЦ гранулами ТКФ не оказывает влияния на растворимость цементов, а армирование гранулами Al<sub>3</sub>Na приводит к обратной зависимости. Введение магния и цинка в состав композиционного КФЦ увеличивает скорость растворения системы до 16 и 11,5 масс. % к 28 суткам.

6. На основании проведенных исследований разработан технологический регламент «Композиционные материалы на основе фосфатов кальция и биополимеров» и изготовлены лабораторные партии образцов. Проведены сравнительные доклинические биологические исследования экспериментальных образцов разработанных композиционных КФЦ *in vitro*, которые продемонстрировали отсутствие острой цитотоксичности материалов в отношении тест – культуры ФЧ и наличие матричных свойств поверхности разной степени выраженности.

### ПУБЛИКАЦИИ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

#### В научных изданиях, рекомендованных ВАК:

1. Фадеева И.В., Комлев В.С., Тетерина А.Ю., Баринов С.М. Биодegradуемый костный цемент на основе β-трикальцийфосфата // *Материаловедение*. 2012. № 12. С. 45-47.
2. Федотов А.Ю., Комлев В.С., Тетерина А.Ю., Баринов С.М., Фадеева И.В. Деформируемые костные цементы в системе фосфаты кальция - хитозан // *Материаловедение*. 2013. № 5. С. 44-48.
3. Федотов А.Ю., Баринов С.М., Тетерина А.Ю., Фадеева И.В., Комлев В.С. Композиционный костный цемент в системе фосфаты кальция – хитозан // *Доклады Академии наук*. 2013. Т. 448. № 4. С. 430 - 432.
4. Федотов А.Ю., Севостьянов М.А., Сергиенко К.В., Тетерина А.Ю., Цванг Ф.М., Егоров А.А., Комлев В.С., Колмаков А.Г., Баринов С.М. Пленки на основе хитозана с лекарственными препаратами // *Материаловедение*. 2014. № 2. С. 15-18.
5. Комлев В.С., Баринов С.М., Вахрушев И.В., Миронов А.В., Попов В.К., Тетерина А.Ю., Федотов А.Ю., Ярыгин К.Н. Трехмерная печать синтетических керамических материалов на основе фосфатов кальция для инженерии костной ткани // *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2014. № 2 (доп. изд.). С. 247.
6. Сергеева Н.С., Комлев В.С., Свиридова И.К., Кирсанова В.А., Ахмедова С.А., Шанский Я.Д., Кувшинова Е.А., Федотов А.Ю., Тетерина А.Ю., Егоров А.А., Зобков Ю.В., Баринов С.М. Некоторые физико-химические и биологические характеристики трехмерных конструкций на основе альгината натрия и фосфатов кальция, полученных методом 3d-печати и предназначенных для реконструкции костных дефектов // *Гены и клетки*. 2015. Т. 10. № 2. С. 39-45.

7. Тетерина А.Ю., Егоров А.А., Федотов А.Ю., Баринов С.М., Комлев В.С. Модифицирование костных цементов в системе фосфаты кальция – хитозан керамическими и альгинатными гранулами // Доклады Академии наук. 2015. Т. 461. № 5. С. 546.
8. Тетерина А.Ю., Федотов А.Ю., Егоров А.А., Баринов С.М., Комлев В.С. Формирование микроструктуры пористых костных цементов системы фосфаты кальция – хитозан // Неорганические материалы. 2015. Т. 51. № 4. С. 396-399.
9. Тетерина А.Ю., Егоров А.А., Федотов А.Ю., Баринов С.М., Комлев В.С. Упрочнение деформируемых костных цементов в системе фосфаты кальция – хитозан гранулами трикальцийфосфата // Материаловедение. 2015. № 5. С. 52-56.
10. Баринов С.М., Вахрушев И.В., Комлев В.С., Миронов А.В., Попов В.К., Тетерина А.Ю., Федотов А.Ю., Ярыгин К.Н. Трехмерная печать керамических матриц для инженерии костной ткани // Материаловедение. 2015. 2015. № 2. С. 50-56.
11. Севостьянов М.А., Федотов А.Ю., Насакина Е.О., Тетерина А.Ю., Баикин А.С., Сергиенко К.В., Колмаков А.Г., Иванов В.Е., Карп О.Э., Гудков С.В., Баринов С.М. Кинетика высвобождения антибиотиков из биodeградируемых биополимерных мембран на основе хитозана // Доклады Академии наук. 2015. Т. 465. № 2. С. 194 - 197.
12. Сергеева Н.С., Свиридова И.К., Кирсанова В.А., Ахмедова С.А., Кувшинова Е.А., Федотов А.Ю., Тетерина А.Ю., Баринов С.М. Оценка композиционных материалов состава альгинат - фосфаты кальция, предназначенных для использования в технологиях прототипирования, при замещении костных дефектов *in vitro* // Вестник травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова. 2015. № 1. С. 28-34.
13. Сергеева Н.С., Федотов А.Ю., Свиридова И.К., Кирсанова В.А., Ахмедова С.А., Тетерина А.Ю., Зобков Ю.В., Кувшинова Е.А., Шанский Я.Д., Баринов С.М. Исследование физико-химических и биологических свойств композиционных матриц в системе альгинат фосфаты кальция, предназначенных для использования в технологиях прототипирования при замещении костных дефектов // Материаловедение. 2016. № 3. С. 38-42.
14. Павлов Н.А., Тетерина А.Ю., Баринов С.М., Комлев В.С., Федотов А.Ю. Композиционные гидрогели на основе альгината натрия, армированные кальцийфосфатной керамикой, для тканевой инженерии // Материаловедение. 2016. № 5. С. 29-31.
15. Тетерина А.Ю., Егоров А.А., Федотов А.Ю., Баринов С.М., Комлев В.С. Костные цементы в системе фосфаты кальция – хитозан, содержащие магний и цинк // Доклады Академии наук. 2016. Т. 468. № 4. С. 413 - 418.

## Патенты:

16. Баринов С.М., Комлев В.С., Фадеева И.В., Тютюкова Ю.Б., Тетерина А.Ю., Гурин А.Н. Пористый кальций - фосфатный цемент. Патент РФ № 2485978. 07.06.2012.
17. Комлев В.С., Федотов А.Ю., Тетерина А.Ю., Зобков Ю.В., Тютюкова Ю.Б., Баринов С.М., Сергеева Н.С., Свиридова И.К., Кирсанова В.А. Способ получения композиционного трёхмерного каркаса для замещения костно – хрящевых дефектов. Заявка на патент РФ № 2015144535. 16.10.2015.
18. Комлев В.С., Сергеева Н.С., Федотов А.Ю., Тетерина А.Ю., Баринов С.М., Свиридова И.К., Тютюкова Ю.Б., Каралкин П.А., Кирсанова В.А., Кувшинова Е.А., Каприн А.Д. Гидрогель для получения композиционных материалов с антибактериальной активностью для замещения костно – хрящевых дефектов методом 3D печати. Заявка на патент № 2016126010. 29.06.2016.

## В сборниках трудов конференций:

19. Баринов С.М., Фадеева И.В., Комлев В.С., Тетерина А.Ю., Ферро Д., Петракова Н.В., Тютюкова Ю.Б. Костный цемент на основе  $\beta$ -трикальцийфосфата // IV Международная конференция с элементами научной школы для молодежи «Функциональные наноматериалы и высокочистые вещества». Суздаль. 2012. С. 149.
20. Федотов А.Ю., Баринов С.М., Тетерина А.Ю., Фадеева И.В., Комлев В.С. Костный цемент в системе фосфаты кальция – хитозан для тканевой инженерии // сборник тезисов IV международной специализированной конференции "КерамСиб2012". Москва. 2012. С. 109.
21. Тетерина А.Ю. Формирование микроструктуры и свойства костных цементов на основе  $\beta$ -трикальцийфосфата // 9 Российская ежегодная конференция молодых научных сотрудников и аспирантов «Физико-химия и технология неорганических материалов». 2012. С. 53.
22. Тетерина А.Ю., Комлев В.С., Федотов А.Ю., Фадеева И.В., Баринов С.М. Костный цемент на основе биополимера и фосфатов кальция // Тр. X юбил. всес. конференции "Нанотехнологии в онкологии". Москва, МНИОИ им. П.А.Герцена. 2012. С. 96-97.
23. Тетерина А.Ю., Федотов А.Ю., Баринов С.М., Комлев В.С. Костный цемент на основе биополимера и фосфатов кальция // Тезисы докладов «Биоматериалы в медицине». 2013. С. 68.
24. Комлев В.С. Федотов А.Ю., Тетерина А.Ю., Баринов С.М., Цванг Ф.М., Егоров А.А. Минерализация композиционного материала хитозан – октакальциевый фосфат в модельной жидкости организма человека // Тезисы докладов «Биоматериалы в медицине». 2013. С. 28.



25. Тетерина А.Ю. Композиционные реакционно-твердеющие системы биополимер – фосфаты кальция для заполнения костных дефектов // 10 Российская ежегодная конференция молодых научных сотрудников и аспирантов «Физико-химия и технология неорганических материалов». Москва. 2013. С.56-57.
26. Тетерина А.Ю., Федотов А.Ю., Комлев В.С., Баринов С.М. Цементная система биополимер – фосфаты кальция для заполнения костных дефектов // V Всероссийская конференция по наноматериалам (НАНО 2013). 2013. С. 463.
27. Федотов А.Ю., Карпихин А.Е., Сиротинкин В.П., Тетерина А.Ю., Баринов С.М., Шамрай В.Ф., Комлев В.С. Исследование структурных изменений гидролиза дикальцийфосфат дигидрата в октакальциевый фосфат и гидроксиапатит ткани // Сб. материалов V Международной конференции с элементами научной школы для молодежи «Функциональные наноматериалы и высокочистые вещества». Суздаль. 2014. С. 361-363.
28. Тетерина А.Ю., Егоров А.А., Федотов А.Ю., Баринов С.М., Комлев В.С. Композиционные костные цементы в системе фосфаты кальция – хитозан, армированные керамическими и полимерными гранулами // Сб. материалов V Международной конференции с элементами научной школы для молодежи «Функциональные наноматериалы и высокочистые вещества». Суздаль. 2014. С. 354 -355.
29. Тетерина А.Ю. Костные цементы в системе биополимер-фосфаты кальция, армированные керамическими и полимерными гранулами // Сб. материалов XI Российской ежегодной конференции молодых научных сотрудников и аспирантов «Физико-химия и технология неорганических материалов». Москва. 2014. С. 263.
30. Komlev V.S., Popov V.K., Mironov A.V., Fedotov A.Yu., Teterina A.Yu., Smirnov I.V., Bozo I.I., Deev R.V., Sergeeva N.S., Sviridova I.K., Kirsanova V.A. 3D printing of octacalcium phosphate bone substitutes // International Conference Unified scientific approaches towards regenerative orthopaedics and dentistry. Италия, Венеция. 2015. P. 196 -197.
31. Тетерина А.Ю. Костные цементы в системе биополимер - фосфаты кальция, модифицированные физиологически важными катионами // Сб. материалов XII Российской ежегодной конференции молодых научных сотрудников и аспирантов «Физико-химия и технология неорганических материалов». Москва. 2015. С. 248.
32. Тетерина А.Ю., Комлев В.С., Сергеева Н.С., Федотов А.Ю., Зобков Ю.В., Свиридова И.К., Кирсанова В.А., Ахмедова С.А., Кувшинова Е.А., Миронов А.В., Попов В.К. Трехмерная печать минерал - полимерных структур на основе кальцийфосфатных фаз и полисахаридов для тканевой инженерии // Сб. материалов второго междисциплинарного молодежного научного форума с международным участием «Новые материалы». Сочи. 2016. С. 203.