RĪGAS TEHNISKĀ UNIVERSITĀTE
Materiālzinātnes un lietišķās ķīmijas fakultāte
Vispārīgās ķīmijas tehnoloģijas institūts

Inga NARKEVICA
Doktora studiju programmas "Materiālzinātne" doktorante

BIOMATERIĀLI UZ TITĀNA DIOKSĪDA KERAMIKAS BĀZES UN TO ĪPAŠĪBU PĒTĪJUMI

Promocijas darba kopsavilkums

Zinātniskais vadītājs:
Profesors *Dr. sc. ing.*
J. OZOLIŅŠ

RTU Izdevniecība
Rīga 2016

Narkevica I. Biomateriāli uz titāna dioksīda keramikas bāzes un to īpašību pētījumi. Promocijas darba kopsavilkums. – R.: RTU Izdevniecība, 2016. – 32. lpp.

Iespiests saskaņā ar RTU Materiālzinātnes un lietišķās ķīmijas fakultātes Vispārīgās ķīmijas tehnoloģijas institūta 2016. gada 16. jūnija sēdes lēmumu, protokols Nr. 15-15/16.

ISBN 978-9934-10-883-9

PROMOCIJAS DARBS IZVIRZĪTS INŽENIERZINĀTŅU DOKTORA GRĀDA IEGŪŠANAI RĪGAS TEHNISKAJĀ UNIVERSITĀTĒ

Promocijas darbs inženierzinātņu doktora grāda iegūšanai tiek publiski aizstāvēts 2016. gada 14. decembrī Rīgas Tehniskās universitātes Materiālzinātnes un lietišķās ķīmijas fakultātē, Paula Valdena ielā 3, 272. auditorijā.

OFICIĀLIE RECENZENTI

Profesors *Dr. habil. sc. ing.* Jānis Grabis
Neorganiskās ķīmijas institūts, Rīgas Tehniskā universitāte

Profesors *Dr. habil. med.* Andrejs Skaģers
Stomatoloģijas institūts, Rīgas Stradiņa Universitāte

Profesors *Dr. -Ing. habil.* Aldo R. Boccaccini
Biomateriālu institūts, Erlangenas-Nirnbergas universitāte

APSTIPRINĀJUMS

Apstiprinu, ka esmu izstrādājusi šo promocijas darbu, kas iesniegts izskatīšanai Rīgas Tehniskajā universitātē inženierzinātņu doktora grāda iegūšanai. Promocijas darbs zinātniskā grāda iegūšanai nav iesniegts nevienā citā universitātē.

Inga Narkevica ……

Datums: ……

Promocijas darbs ir uzrakstīts latviešu valodā, tajā ir ievads, trīs nodaļas, secinājumi, izmantotās literatūras saraksts un pielikumi. Promocijas darba saturs izklāstīts 162 lapaspusēs. Darbā ir 104 attēli, 24 tabulas un izmantotās literatūras saraksts, kas ietver 193 literatūras avotus.

PATEICĪBA

Izsaku lielu pateicību promocijas darba zinātniskajam vadītājam profesoram *Dr. sc. ing.* Jurijam Ozoliņam par darba vadīšanu, vērtīgiem ieteikumiem, sapratni, atbalstu un zinātniskajām diskusijām, kas deva motivāciju un jaunas idejas darba izstrādē un pilnveidē.

Vēlos pateikties RTU Materiālzinātnes un lietišķās ķīmijas fakultātes Vispārīgās ķīmijas tehnoloģijas institūta vadītājai un kolēģiem, kuri mani atbalstīja promocijas darba izstrādes laikā, palīdzēja ar noderīgiem padomiem un nodrošināja ar infrastruktūru, kā arī deva iespēju piedalīties starptautiskās konferencēs.

Paldies RSU Bioloģijas un mikrobioloģijas katedras darbiniekiem – Jutai Kroičai, Ingum Skadiņam un Aigaram Reinim – par iespēju novērtēt baktēriju mijiedarbību ar izstrādāto materiālu.

Paldies arī P.Stradiņa Klīniskās universitātes slimnīcas Šūnu transplantācijas centra vadītājam Ērikam Jakobsonam un RSU Onkoloģijas institūta vadošai pētniecei Inesei Čakstiņai par iespēju veikt šūnu pētījumus.

Liels paldies Valdim Teterim un Jānim Barloti par padomiem un iespēju veikt elektrisko īpašību mērījumus.

Paldies RTU Polimērmateriālu institūta, RTU Tehniskās fizikas institūta, LU Fizikas un matemātikas fakultātes un Latvijas Koksnes ķīmijas institūta darbiniekiem par iespēju izmantot iekārtas materiālu īpašību pētījumiem.

Sirsnīgs paldies manai ģimenei par atbalstu, izturību, sapratni un uzmundrinājumu promocijas darba izstrādes laikā.

Inga Narkevica

SATURS

DARBA VISPĀRĪGS RAKSTUROJUMS 6
Tēmas aktualitāte 6
Darba mērķis 6
Darba uzdevumi 6
Darba zinātniskā novitāte 7
Darba praktiskā nozīme 7
Aizstāvamās tēzes 7
Darba aprobācija 7
LITERATŪRAS APSKATS 8
METODISKĀ DAĻA 9
REZULTĀTI UN TO IZVĒRTĒJUMS 11
1. TiO_2 keramikas struktūras un īpašību pētījumi 11
Termiskās apstrādes ietekme uz fizikālām īpašībām 11
TiO_2 keramikas *in vitro* īpašību pētījumi 13
2. Porainas TiO_2 keramikas iegūšana un raksturošana 15
Šlikera pagatavošanas tehnoloģija 15
Termiskās apstrādes ietekme 17
Atkārtota TiO_2 pamatņu pārklāšana ar $mTiO_2$ suspensiju 18
Elektrovadošas TiO_{2-x} pamatnes 19
3. Poraino pamatņu pārklājumi 20
Nanoizmēra TiO_2 pārklājumi uz porainām pamatnēm 20
Polimēru pārklājumi uz porainām pamatnēm 23
Hidroksilapatīta/polivinilspirta pārklājums uz porainām TiO_2 pamatnēm 24
4. *In vitro* šūnu pētījumi 27
SECINĀJUMI 28
LITERATŪRAS SARAKSTS 29
DARBA APROBĀCIJA 30
Publikācijas zinātniskajos žurnālos 30
Dalība starptautiskās zinātniskās konferencēs 31

DARBA VISPĀRĪGS RAKSTUROJUMS

Tēmas aktualitāte

Mūsdienās arvien vairāk pieaug nepieciešamība pēc dažādiem ortopēdiskiem implantiem locītavu un kaulu lūzumu labošanai, osteoporozes un kaulu audzēju bojājumu vietu atjaunošanai. Katru gadu pēc statistikas notiek 15 miljonu lūzuma gadījumu, un 10 % gadījumos kaulaudi lūzuma vietā nesaaug. Līdz ar to katru gadu palielinās prasības cieto kaulaudu materiāliem, piemēram, tiem jābūt ne tikai bioaktīviem, kas veicinātu apatīta veidošanos uz tā virsmas, bet arī kaulaudu pamatnēm jāatbilst noteiktiem kritērijiem, ieskaitot porainību, poru izmēru un mehāniskām īpašībām, kas līdzīgas bojātās vietas kaulaudu mehāniskajai izturībai. Liela interese kaulaudu inženierijā veltīta 3D porainām audu pamatnēm ar pilnībā caurejošu poru struktūru, jo tās var veicināt vaskularizāciju, dzīvo šūnu piesaistīšanos un proliferēšanos, kas savukārt veicina jaunu kaulaudu rašanos. Viens no biosaderīgiem materiāliem, ko var izmantot bojātu kaulaudu aizvietošanai, ir poraina titāna dioksīda (TiO_2) keramika, kas uzrāda labākas mehāniskās īpašības, salīdzinot ar citiem porainiem keramiskiem materiāliem, un tai piemīt osteokonduktīvas īpašības.

Daudz pētījumi ir veikti par TiO_2 nanodaļiņu (1D) un pārklājumu (2D) bioaktivitātes uzlabošanu, bet trūkst informācijas par bioaktīvu, 3D augsti porainu TiO_2 keramisko pamatņu iegūšanu un īpašību izpēti. Pēdējo gadu laikā uzsvars tiek likts arī uz elektriskā stimula pielietošanu kaulu defektu vietās, lai veicinātu kaulaudu atjaunošanos. Pētījumos novērots, ka, izmantojot elektrisko strāvu, tiek veicināta kaulu veidojošo šūnu jeb osteoblastu aktivitāte, tai skaitā, migrācija uz kaulu defektu vietu, piesaistīšanās pie virsmas un proliferācija, kas paātrina jaunu kaulaudu veidošanos. Šie atklājumi rosināja izstrādāt materiālus, kas spētu lokāli piegādāt elektrisko stimulu kaulu defektu vietās un veicināt kaulaudu reģenerāciju. Par elektrovadošu un porainu keramisku materiālu izmantošanu šāda veida pētījumos literatūrā nav minēts. Līdz ar to darba eksperimentālajā daļā mēģināts risināt šīs problēmas, izstrādājot augsti porainas TiO_2 keramiskās pamatnes ar vēlamiem implantmateriāla raksturlielumiem, piemēram, porainību, poru izmēru un mehāniskām īpašībām, un tālāk jau veicot dažādu pamatņu modificēšanu, lai iegūtu bioaktīvas vai elektrovadošas pamatnes. Iegūstot 3D porainas un elektrovadošas keramiskās pamatnes, tās var izmantot arī kā elektrodus elektroforēzes procesā, par ko dati zinātniskā literatūrā praktiski nav atrodami.

Promocijas darba mērķis

Iegūt augsti porainas pamatnes uz titāna dioksīda keramikas bāzes kaulaudu reģenerācijai, izmantojot polimēra replikas metodi, pētīt iegūtās keramikas īpašības un novērtēt tās modificēšanas iespējas.

Darba uzdevumi

1. Apkopot jaunāko zinātnisko literatūru par kaulaudu reģenerāciju, biomateriālu svarīgākajiem raksturlielumiem, porainas keramikas iegūšanas tehnoloģijām un TiO_2 keramikas īpašībām un pielietojumu.
2. Izvērtēt izmantotā TiO_2 pulvera un termiskās apstrādes ietekmi uz iegūtās keramikas fizikālām īpašībām, bioaktivitāti, proteīnu sorbciju un mijiedarbību ar baktērijām.
3. Izstrādāt metodiku augsti porainu un bioaktīvu pamatņu iegūšanai uz TiO_2 keramikas bāzes un novērtēt to fizikālās īpašības.

4. Iegūt elektrovadošas, porainas TiO_{2-x} keramiskās pamatnes un novērtēt to fizikālās īpašības.
5. Analizēt ar vakuuma infiltrēšanas metodi uznestā polimēra un polimēra/HAp pārklājuma ietekmi uz porainas TiO_2 keramikas mehānisko izturību, *in vitro* bioaktivitāti un degradāciju.
6. Novērtēt poraino pamatņu citosaderību, izmantojot osteoblastu un fibroblastu šūnu līnijas.

Darba zinātniskā nozīme un novitāte

Veikti sistemātiski pētījumi TiO_2 daļiņu izmēra un sekojošas pēcapstrādes ietekmes izvērtēšanai uz iegūtās keramikas fizikāliem parametriem, virsmas īpašībām, *in vitro* bioaktivitāti un mijiedarbību ar baktērijām.

Pirmo reizi iegūtas 3D augsti porainas, citosaderīgas un elektrovadošas TiO_{2-x} keramiskās pamatnes, kuras potenciāli var lietot kaulaudu reģenerācijā elektriskā stimula nodrošināšanai, kā arī kā substrātu elektroforētiskā izgulsnēšanā.

Pirmo reizi iegūtas ar hidroksilapatīta/polivinilspirta kompozītu pārklātas augsti porainas TiO_2 keramiskās pamatnes ar uzlabotām mehāniskām īpašībām un *in vitro* bioaktivitāti, kuras var pielietot arī lokālai zāļu piegādei.

Darba praktiskā nozīme

Izstrādāta metodoloģija augsti porainu TiO_2 keramisko pamatņu iegūšanai un modificēšanai, kas ļautu tās potenciāli izmantot kaulaudu reģenerācijā, nodrošinot vēlamo mehānisko izturību, atvērto poru struktūru un biokativitāti/citosaderību.

Aizstāvamās tēzes

1. TiO_2 keramikas *in vitro* bioaktivitāti jeb materiāla spēju uz tā virsmas veidot biomimētiskā apatīta slāni, kas pēc sastāva un struktūras līdzīgs kaulos esošajam bioloģiskajam apatītam, ietekmē termiskās apstrādes apstākļi, kuras rezultātā izmainās iegūtās keramikas virsmas morfoloģija un īpašības.
2. Izmantojot polimēra replikas metodi, iespējams iegūt 3D augsti porainas TiO_2 keramiskās pamatnes, kuru porainību un mehāniskās īpašības ietekmē šlikera pagatavošana tehnoloģija un termiskā apstrāde. Poraino pamatņu *in vitro* bioaktivitāti iespējams uzlabot, pārklājot tās ar nanoizmēra TiO_2 vai hidroksilapatīta/polivinilspirta pārklājumu.
3. Veicot termisko apstrādi augsta vakuuma apstākļos, ir iespējams iegūt elektrovadošas, augsti porainas TiO_{2-x} keramiskās pamatnes, kuras var izmantot kā substrātu pārklājumu uznešanai ar elektroforēzes metodi.

Darba aprobācija

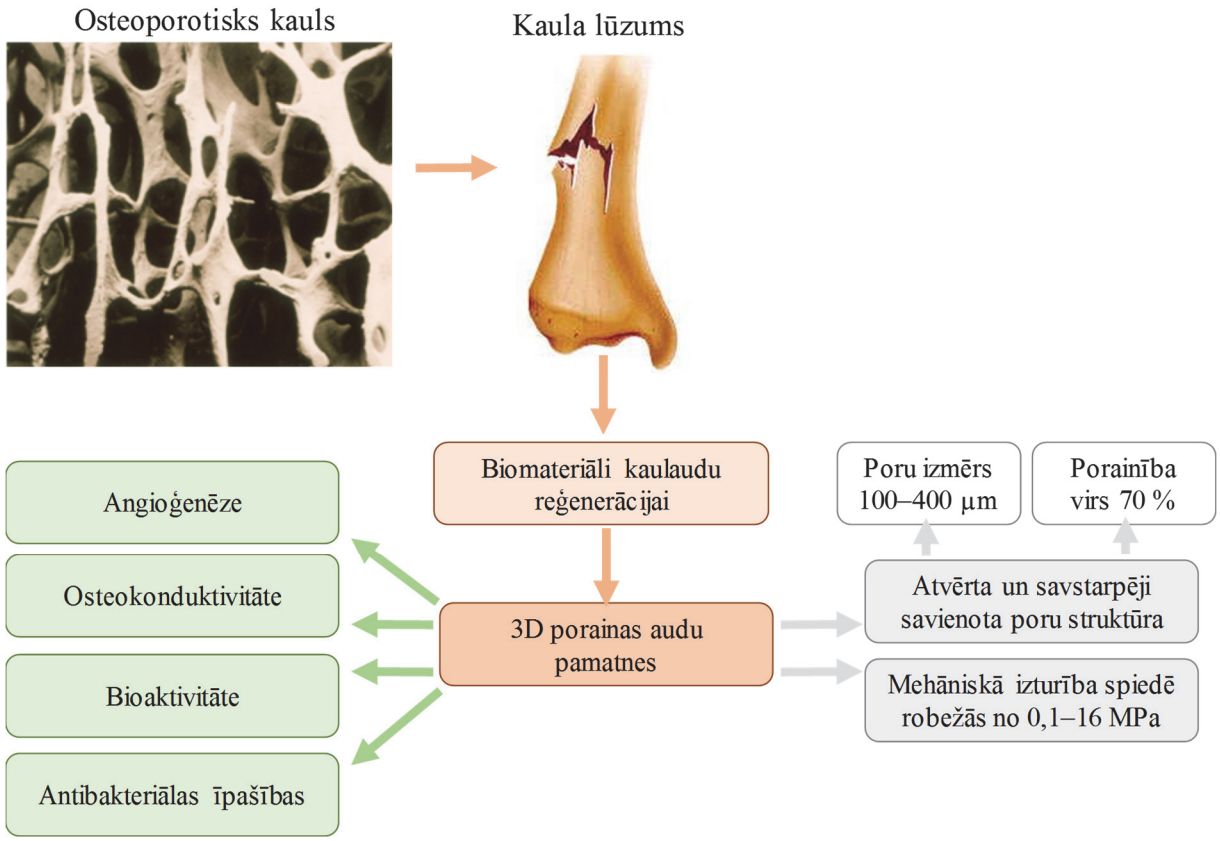
Promocijas darba rezultāti publicēti 12 publikācijās un prezentēti 21 starptautiskā konferencē.

LITERATŪRAS APSKATS

Literatūras apskatā apkopota informācija par kaulaudu inženieriju un kaulaudu atjaunošanās procesu, tajā izmantotajiem biomateriāliem, augsti porainas keramikas ieguvi, TiO_2 īpašībām un pielietojumu, kā arī biomateriālu mijiedarbību ar organismu.

Muskuloskeletālās sistēmas slimības ir ļoti aktuālas un bieži sastopamas, un līdz ar to pieaug nepieciešamība pēc dažādiem ortopēdiskiem implantiem locītavu un kaulu lūzumu ārstēšanai, osteoporozes un kaulu audzēju bojāto vietu atjaunošanai [1], [2]. Viens no veidiem ir izmantot augsti porainu keramiku kā 3D pamatni jaunu kaulaudu ieaugšanai, jo tā kalpo kā matrica, uz kuras tiek uznestas šūnas un/vai augšanas faktori, tādejādi nodrošinot nepieciešamo mikrovidi audu reģenerācijai [3], [4], [5]. Kaulaudu atjaunošanā liela nozīme ir asinsvadiem, jo tie nodrošina visus nepieciešamos apstākļos kaulu šūnu augšanai. Līdz ar to jaunu asinsvadu ieaugšanai no jau esošajiem asinsvadiem jeb angioģenēzei ir būtiska loma kaulaudu reģenerācijā [6], [7]. Viens no svarīgākajiem faktoriem, kas ietekmēs kaulaudu reģenerāciju, ir poraino pamatņu porainība un poru izmērs. Poru izmēri virs 100 μm veicina jaunu kaulaudu ieaugšanu un vaskularizāciju, bet mazāka izmēra poras (zem 20 μm) veicina kaulu veidojošo šūnu un proteīnu piesaistīšanos [8].

Izstrādājot implantmateriālu, jāņem vērā kāda kaula aizvietošanai tas tiks paredzēts. Kauli pēc to uzbūves tiek iedalīti kortikālos jeb blīvajos un trabekulāros jeb porainos. Kaula mehāniskās īpašības ietekmē tā uzbūves īpatnības, piemēram, porainība (trabekulārais vai kortikālais kauls), mineralizācijas pakāpe, kolagēna šķiedru orientācija utt. Literatūras avotos minētas dažādas cilvēka kaula mehāniskās īpašības un trabekulārā kaula mehāniskā izturība spiedē minēta robežās no 0,1 MPa līdz 16 MPa. Vēlams, lai implantmateriāla raksturlielumi būtu pēc iespējas tuvāki dabīgajam kaulam.



1. attēls. Shematisks attēlojums poraino pamatņu īpašībām ar pielietojumu kaulaudu reģenerācijā.

Implatmateriālus atkarībā no to mijiedarbības ar apkārtējiem audiem var iedalīt: biotolerantos, bioinertos, bioaktīvos un biorezorbējošos. Mūsdienās liela interese ir tieši par bioaktīviem materiāliem, jo tie nodrošina bioloģisko saiti starp materiālu un apkārtējiem audiem, kā arī veicina jaunu kaulaudu veidošanos. Biomateriāli, kas tiek izmantoti porainu pamatņu izgatavošanā, iedalās metālos, polimēros un keramikā. Biokeramiski materiāli jau sen tiek izmantoti kaulaudu aizvietošanai, un tie tiek iedalīti dažādās paaudzēs. Īpaša uzmanība tiek vērsta uz trešās paaudzes biokeramiku, kas balstās uz iepriekšminēto poraina materiāla jeb pamatnes izmantošanu kaulaudu reģenerācijai. Mūsdienās intensīvs darbs norit pie biosaderīgu un bioaktīvu, 3D porainu keramisko pamatņu izstrādes ar nepieciešamo mikro un makro porainību un piemērotām mehāniskajām īpašībām, kas tajā paša laikā veicinātu osteokonduktivitāti, jo tā nodrošinās implantmateriāla un apkārt esošo kaulaudu bioloģisko sasaisti un ieaugšanu [8]. Literatūras apskatā minētās svarīgākās īpašības porainām pamatnēm ar pielietojumu kaulaudu reģenerācijā apkopotas 1. attēlā.

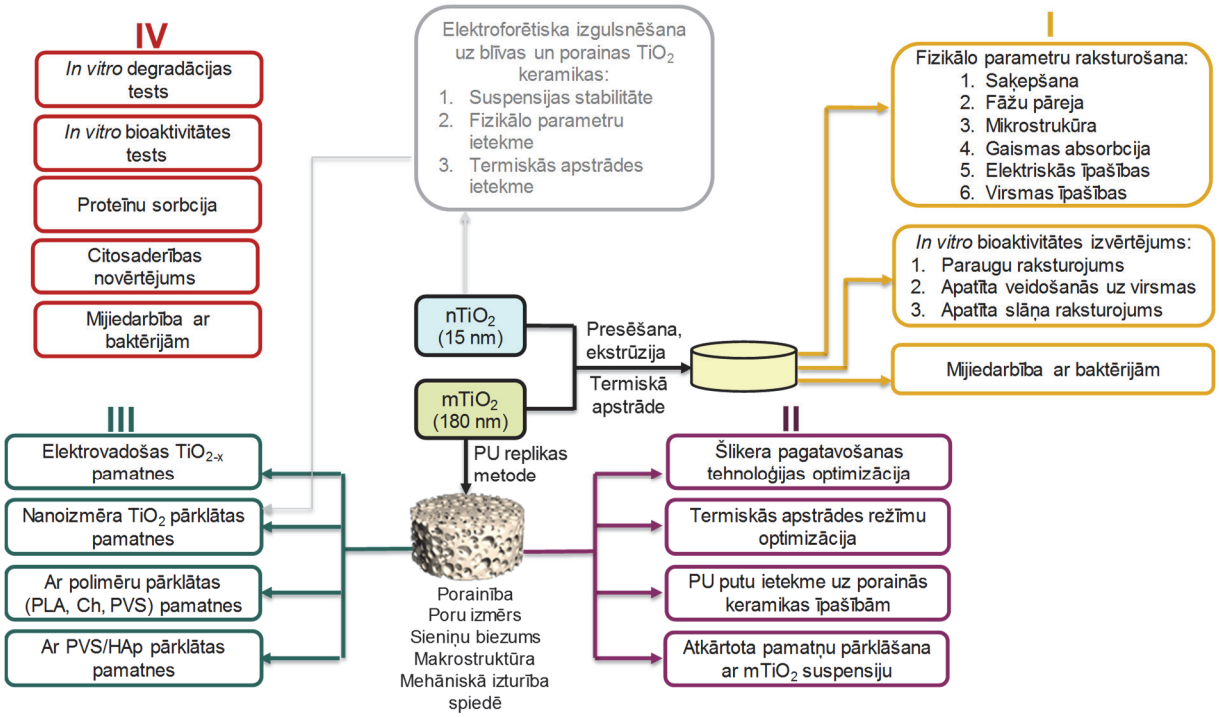
Literatūrā minētas dažādas metodes porainas keramikas iegūšanai. Atkarībā no izmantotās metodes mainās materiāla porainība, poru izmērs un morfoloģija. Poraina materiāla pamatnes piesūcināšanas metode, literatūrā dēvēta arī par prekursora piesūcināšanas, struktūras atdarināšanas jeb replikas metodi, ir viena no pirmajām makroporainu materiālu iegūšanas metodēm, kas ir arī viena no visbiežāk literatūrā minētajām metodēm augsti porainas TiO_2 keramikas iegūšanai [9]. TiO_2 keramika ir viens no materiāliem, ko var izmantot pamatņu izstrādē, jo tādējādi var iegūt mehāniski izturīgākas pamatnes, salīdzinot, piemēram, ar hidroksilapatīta keramiku, kā arī, to modificējot, iespējams iegūt virkni citu priekšrocību, kas saistās ar TiO_2 struktūru un īpašībām.

No literatūras apskata secināts, ka daudz pētījumi ir veikti par TiO_2 nanodaļiņu (1D) un pārklājumu (2D) bioaktivitātes uzlabošanu, bet trūkst informācijas par bioaktīvu, 3D augsti porainu TiO_2 keramisko pamatņu iegūšanu un īpašību izpēti. Līdz ar to eksperimentālajā darbā risinātas šīs problēmas, izstrādājot augsti porainas TiO_2 keramiskās pamatnes ar vēlamiem implantmateriāla raksturlielumiem, piemēram, porainību, poru izmēru un mehāniskām īpašībām, un tālāk jau veicot dažādu pamatņu modificēšanu.

METODISKĀ DAĻA

Promocijas darba shēma parādīta 2. attēlā. Darbā kā izejmateriāls keramikas iegūšanai izmantots TiO_2 pulveris anatāza fāzē ar vidējo daļiņu izmēru 15 nm ($nTiO_2$) vai 180 nm ($mTiO_2$). TiO_2 keramikas fizikālo īpašību (blīvums, porainība, saķepšanas process, fāžu pāreja, elektriskās, mehāniskās un virsmas īpašības) un *in vitro* īpašību pētījumiem (biokativitāte un mijiedarbība ar baktērijām) izmantota blīva keramika, kas iegūta, izmantojot presēšanas vai ekstrūzijas metodi. Proteīnu sorbcijas pētījumos izmantots termiski apstrādāts $nTiO_2$ pulveris. Porainu TiO_2 keramisko pamatņu iegūšanai izmantota porainas pamatnes piesūcināšanas jeb replikas metode, kā prekursoru izmantojot elastīgās PU putas un veicot termisko apstrādi divās stadijās – PU putu izdedzināšanu un augsttemperatūras apstrādi. Metodes būtība uzskatāmi ilustrēta 3. attēlā.

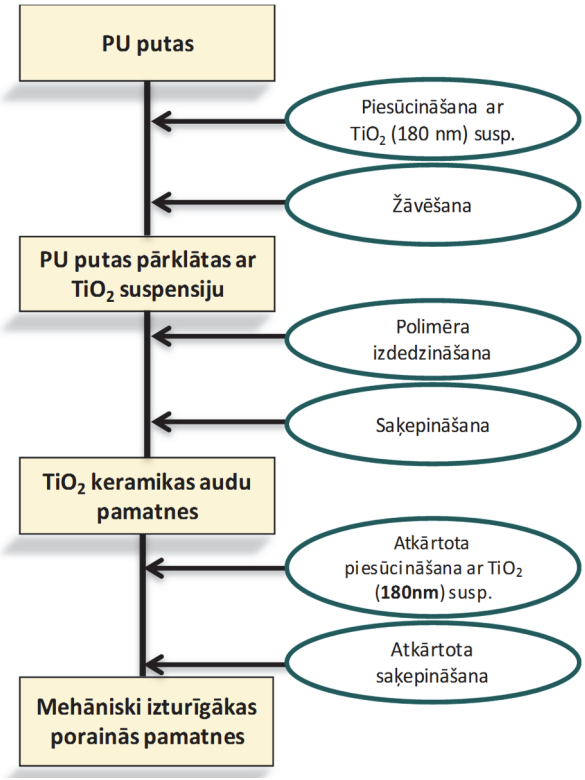
Darbā izmantoti dažādi termiskās apstrādes režīmi, temperatūras un izturēšanas laiki, atkarībā no izmantotā TiO_2 pulvera un pētāmām īpašībām.



2. attēls. Promocijas darba struktūra.

Metodiskajā daļā aprakstīta pārklājumu uznešana uz porainām pamatnēm. Polimēru (PLA, Ch, PVS), HAp/PVS un TiO_2 nanodaļiņu pārklājums uznestas ar vakuuma infiltrēšanas metodi, kam seko izpūšana ar saspiestu gaisu. Aprakstīta arī metodika TiO_2 nanodaļiņu elektroforētiskai izgulsnēšanai, kurā kā substrāts izmantots TiO_{2-x} keramiskais elektrods.

Metodiskajā daļā raksturotas darbā izmantotās iekārtas un pētīšanas metodes, kas lietotas iegūtās keramikas īpašību raksturošanai. Keramikas saķepšanas procesa analīzei izmantots augsttemperatūras mikroskops. Paraugu fāžu pārejas un struktūras raksturošanai izmantots rentgenstaru difraktometrs, Furjē transformāciju infrasarkanais spektroskops un *Raman* spektroskops. TiO_2 keramisko paraugu gaismas absorbcija pētīta ar difūzās atstarošanas spektroskopijas metodi. Paraugu īpatnējais virsmas laukums noteikts ar slāpekļa adsorbcijas porozimetriju. Paraugu virsmas īpašības (virsmas enerģija, komponenšu sadalījums, slapēšanas leņķis) pētītas ar optisko kontaktleņķa mērīšanas ierīci. Iegūtās keramikas mikrostruktūra pētīta ar skenējošo elektronu mikroskopu un digitālo mikroskopu. Porainas keramikas



3. attēls. Porainas TiO_2 keramikas iegūšanas shēma.

iegūšanai izmantotā šlikera daļiņu izmēra sadalījums noteikts ar lāzera granulometru, bet reoloģiskās īpašības pētītas ar reometru, nosakot *Casson* viskozitāti un tecēšanas robežspriegumu, kas aprēķināts pēc *Casson* modeļa.

Gan blīvai, gan porainai keramikai pētīts blīvums, porainība, elektriskās un mehāniskās īpašības. Porainība un blīvums blīvai keramikai noteikts ar Arhimēda jeb iegremdēšanas metodi, savukārt porainai keramikai – ar ģeometrisko metodi. Blīvu keramisko paraugu mehāniskās īpašības noteiktas četrpunktu lieces eksperimentos, bet porainas keramikas – spiedes izturības eksperimentos.

In vitro pētījumos analizēta TiO_2 keramisko paraugu izgatavošanas apstākļu ietekme uz proteīnu sorbciju, *in vitro* bioaktivitāti, mijiedarbību ar baktērijām un šūnu (fibroblastu, osteoblastu) adhēziju/proliferāciju.

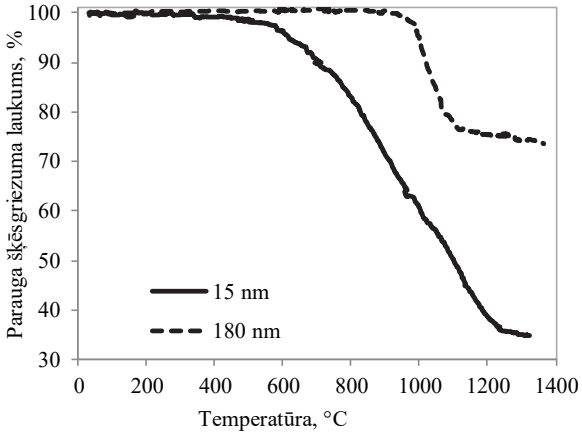
REZULTĀTI UN TO IZVĒRTĒJUMS

1. TiO_2 keramikas struktūras un īpašību pētījumi

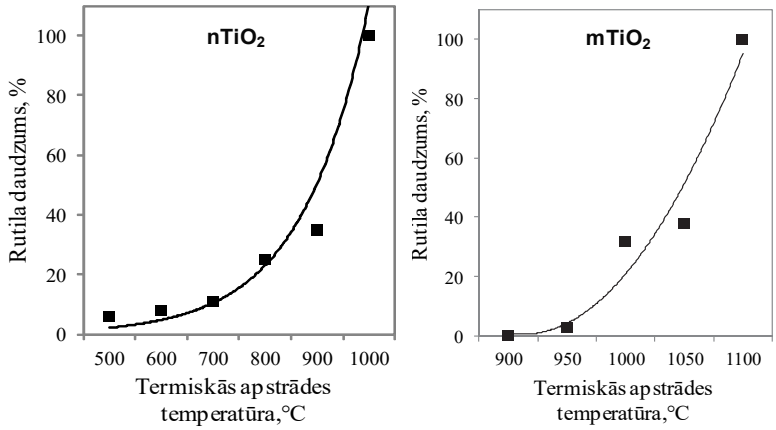
Termiskās apstrādes ietekme uz fizikālām īpašībām

Darbā pētīts, kā $nTiO_2$ un $mTiO_2$ pulveru sagatavošanas tehnoloģija un termiskā apstrāde ietekmē iegūtās keramikas saķepšanas procesu, fāžu pāreju, blīvumu, porainību, mikrostruktūru, gaismas absorbciju, elektriskās, mehāniskās un virsmas īpašības.

Viens no svarīgākajiem procesiem keramisko materiālu iegūšanā ir pulvera saķepšana, kura laikā no pulvera formētais izstrādājums pārvēršas kompaktā ķermenī. Salīdzinot darbā izmantoto TiO_2 pulveru ar vidējo daļiņu izmēriem 15 nm un 180 nm dilatometriskās līknes, novērojamas būtiskas atšķirības pulveru saķepšanas procesā (4. attēls). $nTiO_2$ pulvera saķepšana sākas aptuveni 550 °C, bet $mTiO_2$ gadījumā – 950 °C. Paraugu saķepšanas laikā norit arī fāžu pāreja no anatāza kristāliskās modifikācijas uz rutila, kā liecina XRD dati. Aprēķināts rutila procentuālais daudzums paraugos fāžu pārejas intervālā pēc anatāza 101 un rutila 110 maksimumiem rentgenogrammās, kas parādīts 5. attēlā. Nanopulvera gadījumā novērojama fāžu pāreja daudz zemākās temperatūrās, kas var būt saistīts ar relatīvi mazo daļiņu izmēru un lielu īpatnējo virsmas laukumu ($mTiO_2$ ~12 m^2/g un $nTiO_2$ ~150 m^2/g).

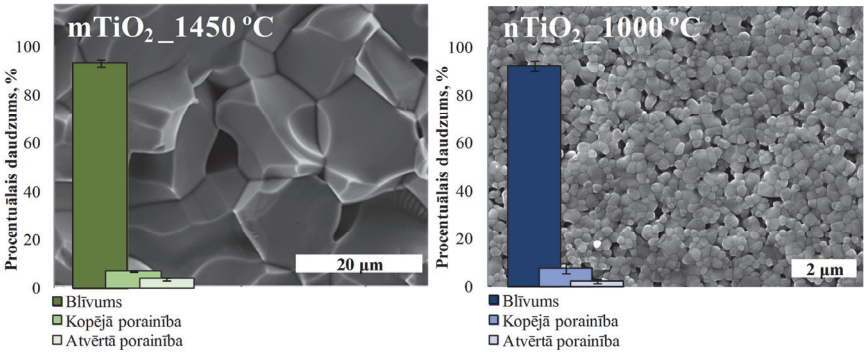


4. attēls. TiO_2 dilatometriskās līknes.



5. attēls. Rutila procentuālais daudzums paraugos atkarībā no termiskās apstrādes temperatūras.

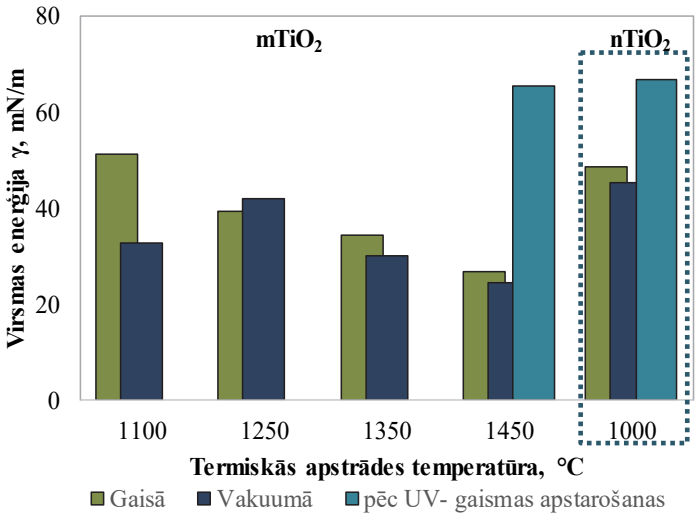
Augsta blīvuma keramiku (~93 % no teorētiskā rutila blīvuma) $mTiO_2$ keramikas gadījumā var iegūt, veicot termisko apstrādi 1450 °C, iegūtā keramika raksturojas ar mikroizmēra graudiem (virs 20 µm) (6. attēls). $nTiO_2$ keramikas gadījumā šāda blīvuma keramiku ar daudz mazākiem graudu izmēriem (zem 300 nm) iegūst jau 1000 °C.



6. attēls. TiO_2 keramikas mikrostruktūra atkarībā no termiskās apstrādes temperatūras un izmantotā pulvera.

Izstrādājot biomateriālus, tai skaitā, kaulu pamatnes, svarīgas ir šo materiālu virsmas īpašības, kas var būtiski iespaidot to bioaktivitāti un biosaderību. Lai analizētu termiskās apstrādes ietekmi uz materiāla slapēšanas leņķi un virsmas enerģiju, pētījumos izmantoti presēti $mTiO_2$ paraugi pēc termiskās apstrādes 1100 °C, 1250 °C, 1350 °C un 1450 °C. Salīdzināšanai analizēti arī paraugi, iegūti no TiO_2 nanopulvera pēc termiskās apstrādes 1000 °C. Novērtēta arī papildu termiskās apstrādes augstvakuuma apstākļos un apstarošanas ar UV gaismu ietekme uz materiāla virsmas īpašībām. Balstoties uz slapēšanas leņķa mērījumiem, aprēķināja paraugu virsmas enerģiju, tās polāro un disperso komponenti. Palielinot apdedzināšanas temperatūru, iegūto keramisko paraugu kopējai virsmas enerģijai ir tendence samazināties (7. attēls). Šis fakts ir saistīts ar sistēmas kopējo tieksmi saķepšanas un graudu augšanas procesā samazināt brīvo virsmas enerģiju. Keramisko paraugu papildus termiskā apstrāde augsta vakuuma apstākļos neizsauc būtiskas virsmas enerģijas izmaiņas, savukārt apstarošana ar UV-gaismu ievērojami to paaugstina. Virsmas enerģija blīvai $nTiO_2$ keramikai (1000 ºC) ir divas reizes augstāka nekā blīvai $mTiO_2$ keramikai (1450 ºC), kas liecina, ka TiO_2 keramikas virsmas morfoloģija, t. sk. graudu izmērs, ietekmē virsmas enerģiju. Visiem pētītajiem paraugiem ūdens slapēšanas leņķis Ɵ bija mazāks par 90°, un tas nozīmē, ka TiO_2 keramikas virsmai ir hidrofīlas īpašības.

Hidroksilgrupu daudzumu uz virsmas iespējams noteikt gan kvalitatīvi, izmantojot FT-IR spektrus, gan kvantitatīvi, aizvietojot uz TiO_2 virsmas esošās –OH grupas ar Zn^{2+} joniem un nosakot to daudzumu ar atomabsorbcijas metodi. No iegūtajiem rezultātiem var secināt, ka, palielinot termiskās apstrādes temperatūru no 700 °C līdz 1000 °C, –OH grupu daudzums uz TiO_2 keramikas virsmas samazinās, kas sakrīt arī ar virsmas enerģijas pētījumiem.

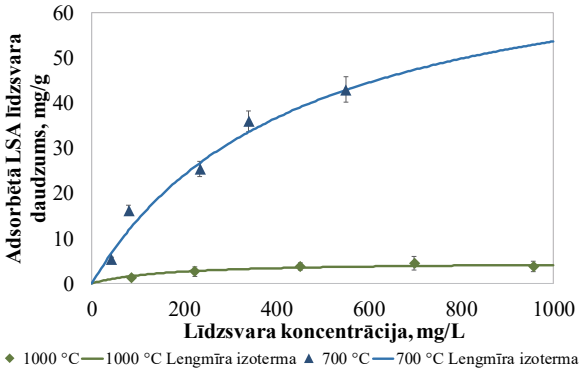


7. attēls. TiO_2 keramikas kopējā virsmas enerģija γ atkarībā no dažādiem paraugu iegūšanas apstākļiem.

TiO_2 keramikas *in vitro* īpašību pētījumi

Biomateriālu *in vitro* īpašību pētījumi ir ļoti svarīgi, lai prognozētu materiāla mijiedarbību ar apkārtējo vidi dzīvā organismā un palīdzētu izvēlēties atbilstošākos apstrādes apstākļus, kas varētu vecināt bioloģisko sasaisti ar apkārtējiem audiem.

Proteīnu sorbcija. Biomateriālu ievietojot organismā, tas nonāk saskarē ar asins plazmā esošajiem proteīniem. Specifisku proteīnu adsorbcija nodrošina dažādu šūnu piesaistīšanos biomateriāla virsmai, kas veicina kaulaudu atjaunošanos bojātajā kaula vietā [10]. Proteīnu sorbcijas pētījumos noteikta proteīna – liellopa seruma albumīna adsorbcijas kinētika, kā arī sorbcijas izotermas uz pulverveida $nTiO_2$ paraugiem, kas termiski apstrādāti 700 °C un 1000 °C. Labāka proteīnu sorbcijas spēja piemīt $nTiO_2$ pulverim, kas apstrādāts 700 °C temperatūrā (8. attēls). Šādi apstrādāts TiO_2 ir ar lielāku īpatnējās virsmas laukumu (700 °C–37,1 m^2/g, 1000 °C–3,4 m^2/g), kā arī augstāku virsmas enerģiju un uz tā virsmas atrodas vairāk –OH grupu, tāpēc var secināt, ka šie virsmas parametri uzlabo proteīnu sorbciju. Iegūtie rezultāti liecina, ka sorbcijas process vairāk atbilst Lengmīra izortermai, kas nozīmē, ka uz TiO_2 virsmas veidojas proteīnu molekulu monoslānis.



8. attēls. Proteīnu sorbcijas Lengmīra izotermas $nTiO_2$ paraugiem termiski apstrādātiem dažādās temperatūrās.

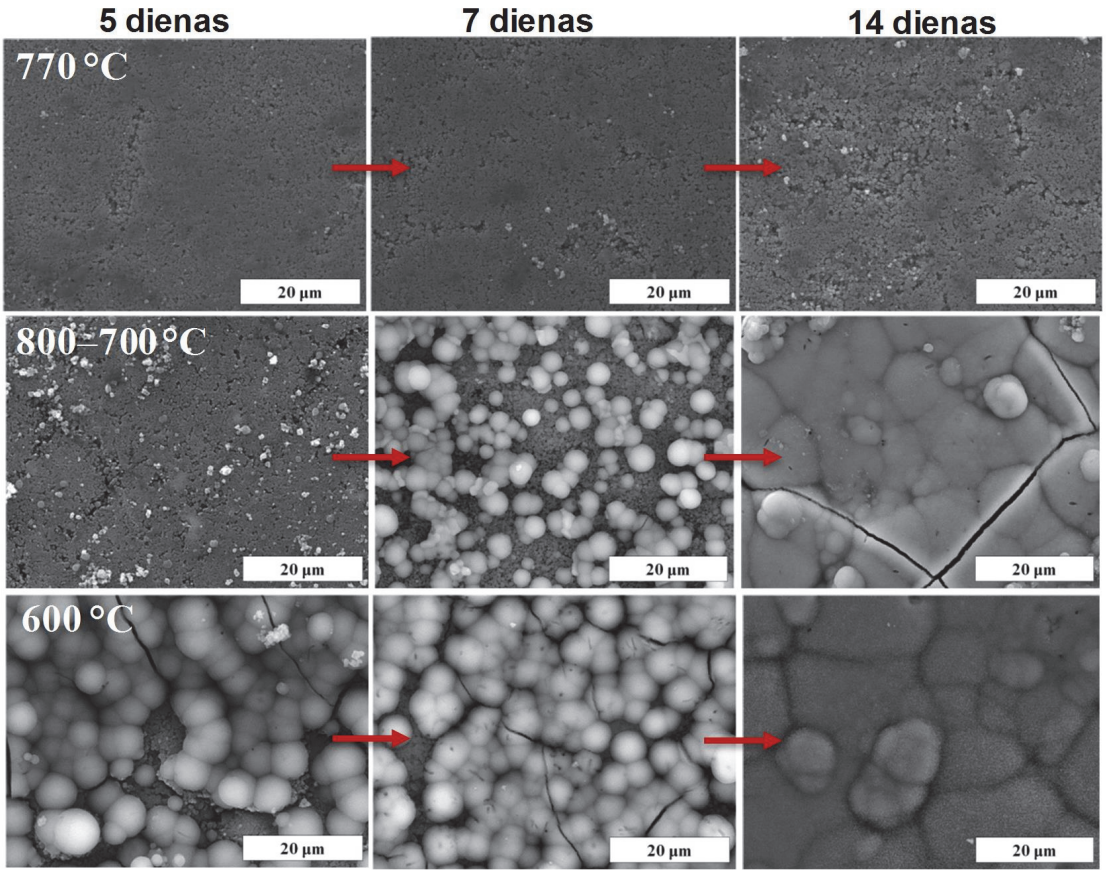
***In vitro* biokativitāte.** TiO_2 keramika agrāk tika uzskatīta par bioinertu, tomēr pēdējo gadu pētījumi parāda, ka noteiktos apstākļos apstrādāta TiO_2 keramika uzrāda *in vitro* bioaktivitāti jeb spēj ierosināt apatīta nukleāciju uz tās virsmas [11]. Lai noteiktu iegūšanas apstākļu ietekmi uz TiO_2 keramikas biokativitāti, izvēlēts TiO_2 nanopulveris ar vidējo daļiņu lielumu 15 nm. Sapresētos paraugus apstrādāja divos termiskās apstrādes režīmos: vienpakāpes un divpakāpju termiskā apstrāde. Iegūto paraugu fizikālie raksturlielumi redzami 1. tabulā.

1. tabula

Rutila fāzes daudzums un mikrostruktūru raksturojošo lielumu izmaiņas $nTiO_2$ paraugos atkarībā no apstrādes temperatūras

Termiskās apstrādes temperatūra, ° C	Rutila fāzes daudzums, %	Īpatnējais virsmas laukums, m^2/g	Graudu izmērs, nm
600	7,8 ± 0,4	66,1 ± 6,6	37 ± 4
700	12,1 ± 0,8	39,3 ± 3,9	46 ± 5
770	14,0 ± 0,7	33,0 ± 3,3	61 ± 6
800	25,0 ± 0,7	18,2 ± 1,8	103 ± 12
800-700	14,1 ± 1,0	30,1 ± 3,0	49 ± 6
900-700	35,3 ± 1,2	20,0 ± 2,0	90 ± 9

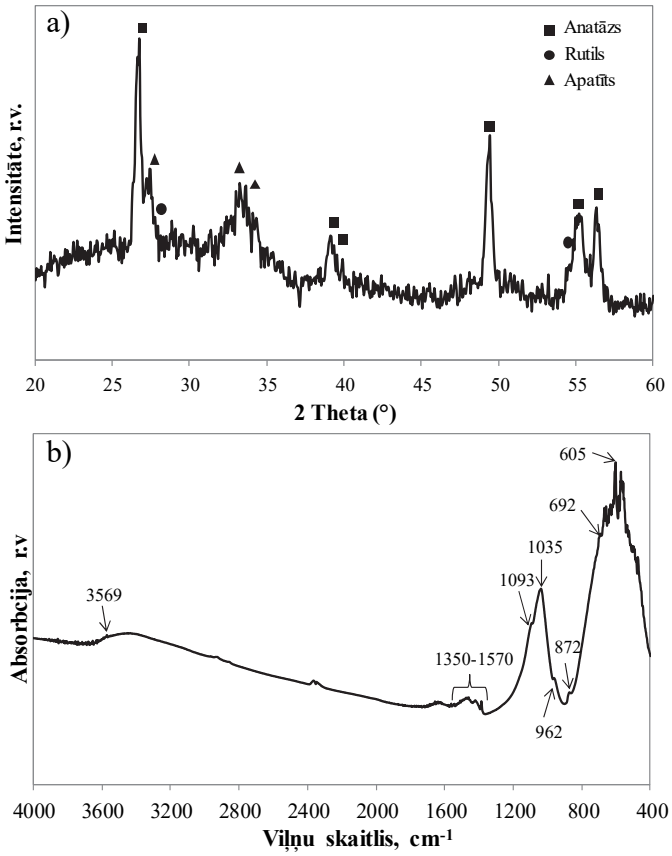
Apatīta slāņa veidošanās uz nanoizmēra TiO_2 virsmas pēc termiskās apstrādes dažādās temperatūras redzama 9. attēlā. Kā redzams, termiskā apstrāde būtiski ietekmē apatīta veidošanās procesu. Uz paraugu virsmas, kas termiski apstrādāti zemākās temperatūrās (600 °C, 700 °C, 800–700 °C), novērojama apatīta mikrosfēru veidošanās jau pēc piecām dienām SĶŠ. Palielinot izturēšanas laiku SĶŠ līdz 21 dienai, šo paraugu virsma tiek pilnībā pārklāta ar apatīta slāni. Paraugi, kas apstrādāti nedaudz augstākās temperatūrās (770 °C, 800 °C un 900–700 °C), neuzrādīja *in vitro* biokativitāti pat pēc izturēšanas SĶŠ 28 dienas.



9. attēls. $nTiO_2$ paraugu SEM mikrofotogrāfijas pēc izturēšanas SĶŠ.

Iegūtie rezultāti norāda, ka apatīta veidošanas uz TiO_2 keramikas virsmas ietekmē vairāki faktori – graudu izmērs, īpatnējais virsmas laukums un fāžu sastāvs, tomēr būtiskākais ir graudu izmērs. Palielinoties termiskās apstrādes temperatūrai, dehidratācijas rezultātā samazinās Ti-OH grupu skaits uz materiāla virsmas, kā arī palielinās keramikas graudu izmērs un samazinās īpatnējais virsmas laukums. Nanoizmēra graudi raksturojas ar lielāku virsmas enerģiju un tādēļ tie cenšas samazināt to, absorbējot jonus no apkārt esošās vides, t. i., no SĶŠ, un tā rezultātā notiek apatīta augšana uz materiāla virsmas.

In vitro bioaktīviem $nTiO_2$ keramiskiem paraugiem novērtēja apatīta slāņa veidošanās



10. attēls. Izgulsnētā slāņa (a) rentgenstaru difraktogramma un (b) FT-IR spektrs.

dinamiku, nosakot paraugu masas pieaugumu un apatīta slāņa biezumu atkarībā no izturēšanas laika SĶŠ.

Izgulsnētam slānim veikta morfoloģijas un struktūras analīze, izmantojot skenējošo elektronu mikroskopu, enerģijas dispersīvo rentgenstaru spektroskopu, rentgenstaru difraktometru (10. attēls (a)), Furjē transformāciju infrasarkano (10. attēls (b)) un *Raman* spektroskopu. No iegūtajiem rezultātiem var secināt, ka uz paraugu virsmas izveidojies slānis ir ar karbonāta joniem aizvietots nanokristālisks hidroksilapatīts jeb biomimētisks apatīts, kas pēc sastāva līdzīgs kaulos esošajam dabīgajam apatītam.

Baktēriju adhēzija un kolonizācija. Infekcijas, ko izraisa baktēriju adhēziju un kolonizāciju uz biomateriālu virsmas pēc to ieoperēšanas organismā, ir ļoti aktuāla problēma. Darbā salīdzināts, kā presētas $nTiO_2$ keramikas paraugi pēc termiskās apstrādes gaisa vidē 700 °C un 1000 °C, pēc papildu vakuuma termiskās apstrādes un apstarojot ar UV gaismu, ietekmē baktēriju *Staphylococcus epidermidis* un *Pseudomonas aeruginosa* adhēziju (pēc 2 h) un kolonizāciju (pēc 24 h) uz biokeramikas virsmas. Abām baktēriju grupām nav konstatēta adhēzija pret keramisko paraugu virsmu neatkarīgi no termiskās apstrādes temperatūras vai apstrādes apstākļiem, kā arī kolonizācijas intensitāte ir salīdzinoši zema. Iegūtie rezultāti liecina, ka TiO_2 keramika neveicina baktēriju piesaisti pie virsmas.

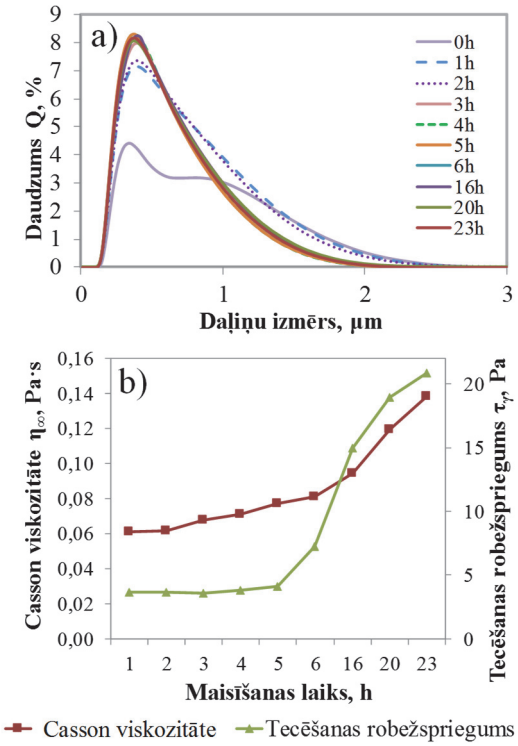
2. Porainas TiO_2 keramikas iegūšana un raksturošana

Porainu TiO_2 keramisko pamatņu iegūšanai izmantota polimēra replikas metode. Darbā analizēta šlikera tehnoloģisko parametru, termiskās apstrādes un atkārtotas pārklāšanas ietekme uz iegūto pamatņu porainību, poru izmēru un mehānisko izturību spiedē.

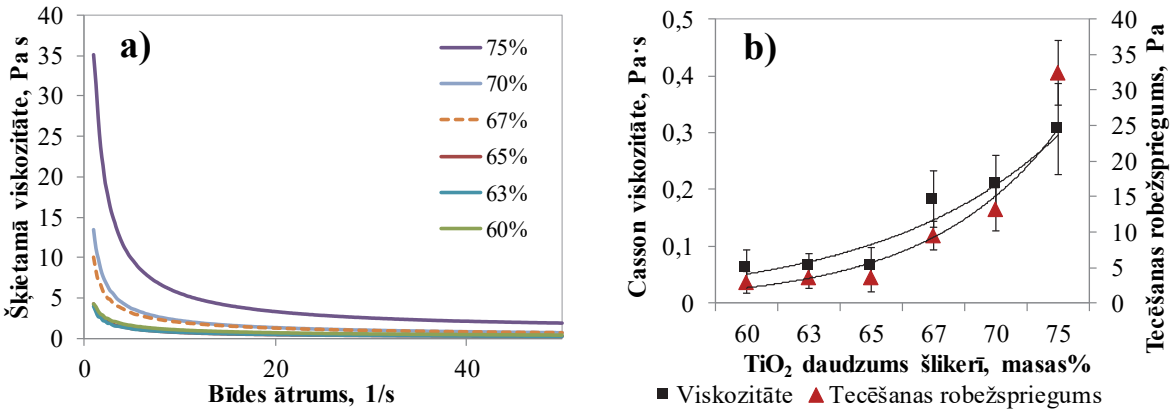
Šlikera pagatavošanas tehnoloģija

Kā izejvielas šlikera pagatavošanai izmantots $mTiO_2$ pulveris, 5 masas % polivinilspirta šķīdums (4 masas %), etilēnglikols (6 masas %) un dejonizēts H_2O. Šlikeris homogenizēts augstas jaudas maisītājā 1h pie 1000 apgr. pH uzturēts 10, izmantojot 25 % NH_3 šķīdumu. Termiskā apstrāde veikta 1500 °C 30 h. Analizēta maisīšanas laika un TiO_2 daudzuma ietekme uz šlikera reoloģiskajiem īpašībām un iegūtās keramikas fizikālajām īpašībām.

Jau pēc vienas stundas maisīšanas notiek TiO_2 daļiņu deaglomerācija, šlikera masā dominē daļiņas ar vidējo izmēru mazāku par 1 µm. Palielinot maisīšanas laiku līdz 23 stundām, daļiņu sadalījums pēc lieluma būtiski nemainās, novērojamas vienmērīgs vides viskozitātes un tecēšanas robežspriegums pieaugums, kas varētu būt saistīts ar daļēju ūdens iztvaikošanu un kondensēšanos uz trauka sienām (11. attēls). Ņemot vērā aprakstītās parādības, par optimālo maisīšanas laiku izvēlētas 3 h.



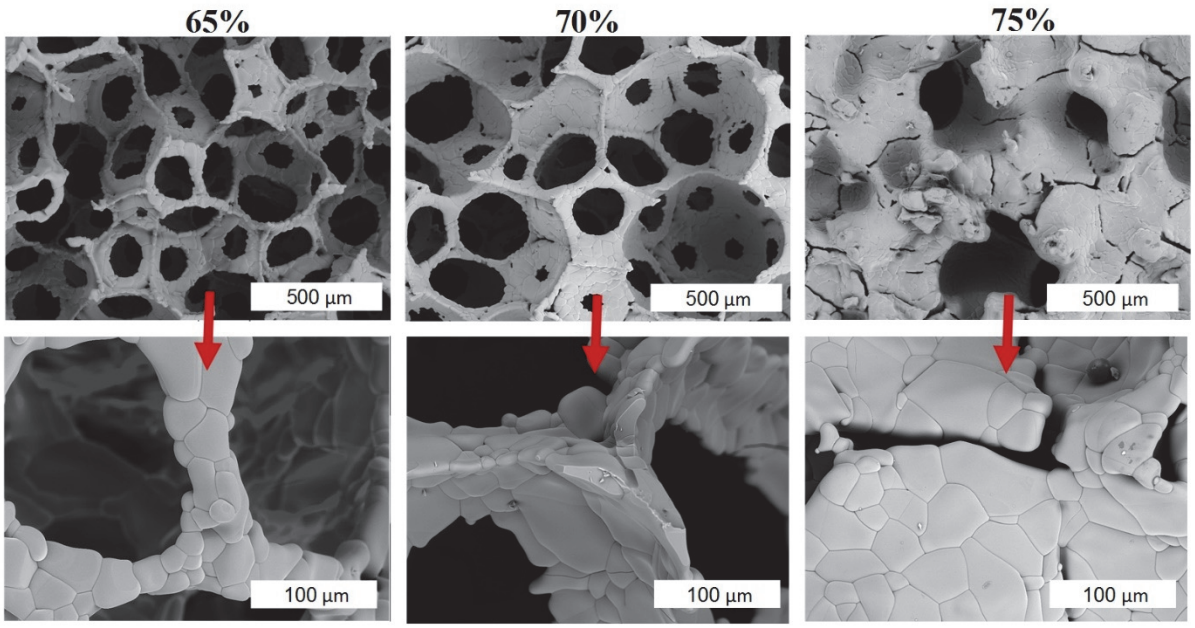
11. attēls. Šlikera (a) daļiņu izmēra sadalījums un (b) *Casson* viskozitāte un tecēšanas robežspriegums atkarībā no maisīšanas laika.



12. attēls. TiO_2 šlikera (a) viskozitātes η izmaiņas atkarībā no bīdes ātruma γ dažādiem šlikera sastāviem un (b) *Cassson* viskozitātes η_∞ atkarība no šlikera sastāva.

Viens no būtiskākajiem parametriem, kas ietekmē šlikera reoloģiskās īpašības un līdz ar to arī iegūtā materiāla īpašības, ir TiO_2 daudzums šlikerī. 12. (a) attēlā redzams, ka šlikera šķietamā viskozitāte η visos gadījumos, palielinoties bīdes ātrumam γ, samazinās. Novērotā parādība ir raksturīga pseidoplastiskām sistēmām. Augsti pildītas suspensijas, pie kurām var pieskaitīt arī TiO_2 šlikeri, var uzskatīt par strukturētām dispersām sistēmām. Pieaugot bīdes ātrumam γ, notiek pakāpeniska izejas struktūras sagrūšana, un līdz ar to samazinās viskozitāte. Savukārt, pieaugot dispersās fāzes koncentrācijai, pieaug struktūras sakārtotības pakāpe, kas izraisa viskozitātes pieaugumu. Apstrādājot eksperimentālos datus pēc *Casson* modeļa, ieguva *Casson* viskozitātes η_∞ un tecēšanas robežspriegums τ_γ vērtības šlikeriem ar dažādu TiO_2 koncentrāciju. *Casson* viskozitātes η_∞ pieaugums, palielinot šlikera koncentrāciju, redzams 12. (b) attēlā. Palielinot TiO_2 koncentrāciju šlikerī no 60–75 masas %, *Casson* viskozitāte pieaug vairāk nekā četras reizes.

Šlikera reoloģiskie rādītāji būtiski ietekmē arī iegūto keramisko pamatņu struktūru un īpašības. Iegūto TiO_2 keramisko pamatņu raksturīgā makrostruktūra atkarībā no TiO_2 daudzuma šlikerī redzama 13. attēlā. Būtiskas atšķirības, mainot TiO_2 daudzumu



13. attēls. TiO_2 pamatņu makrostruktūra atkarībā no TiO_2 daudzuma šlikerī.

robežās no 60–70 %, pamatņu makrostruktūrā nav novērojamas. 2. tabulā redzams, ka, palielinot TiO_2 daudzumu, nedaudz palielinās vidējais keramisko balstu jeb sieniņu biezums, bet porainība un poru izmērs saglabājas līdzīgs, t. i., virs 94 % un 50–400 μm.

2. tabula

TiO_2 pamatņu raksturlielumi atkarībā no TiO_2 daudzuma šlikerī

	Poru izmēri (μm)	**Sieniņu biezumi (μm)**	**Porainība (%)**	**Mehāniskā izturība (MPa)**
60%	80–302	50 ± 33	97± 0,4	0,26 ± 0,07
63%	63–330	53 ± 19	97 ± 0,4	0,30 ± 0,05
65%	78–324	57 ± 27	96 ± 1	0,41 ± 0,15
67%	82–377	65 ± 31	94 ± 0,4	0,47 ± 0,10
70%	78–367	79 ± 42	94 ± 0,6	0,47 ± 0,11
75%	–	–	71 ± 8	1,78 ± 0,83

Pamatnēm raksturīga atvērta un savstarpēji savienota poru struktūra, kas ir būtiska, lai tās izmantotu kaulaudu reģenerācijā. Savukārt 75 % šlikera gadījumā PU putu struktūra nav saglabājusies (13. attēls), un materiāla poras ir aizsprostotas, kā arī porainība sasniedz tikai (71 ± 8) %. Protams, samazinoties porainībai, būtiski pieaug mehāniskā izturība spiedē un sasniedz vērtību (1,78 ± 0,83) MPa, kas ir 3,8 reizes lielākā nekā 70 % šlikera gadījumā. Tomēr šāda materiāla izmantošana kaulaudu inženierijā ir limitēta, jo tā apgrūtinās asinsvadu ieaugšanu un šūnu migrēšanu caur pamatnes tilpumu, jo, kā zināms, vēlama ir atvērtā porainība. Salīdzinot mehānisko izturību spiedē TiO_2 pamatnēm iegūtām no šlikera ar TiO_2 daudzumu no 60–70 masas %, secināts, ka tā pieaug no (0,26 ± 0,07) MPa līdz (0,47 ± 0,11) MPa, pieaugot TiO_2 daudzumam šlikerī.

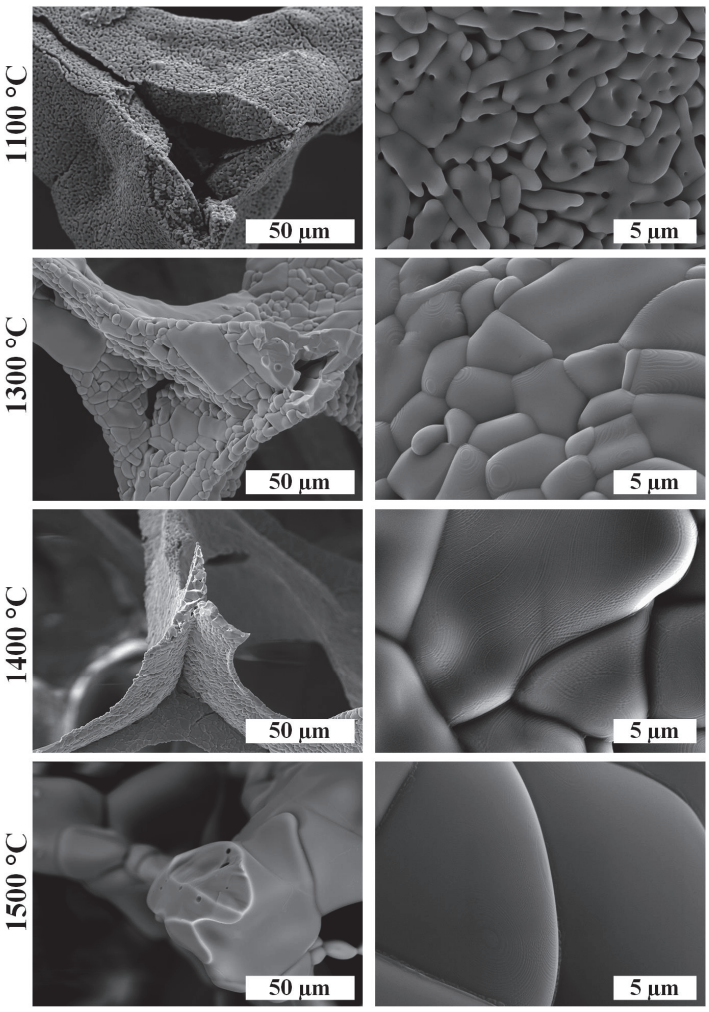
Pamatojoties uz reoloģiskajiem pētījumiem, iegūto pamatņu mikrostruktūras un mehāniskās izturības spiedē vērtībām, izvēlējāmies optimālo TiO_2 koncentrāciju šlikerī 65 masas %.

Termiskās apstrādes ietekme

Viens no polimēra replikas metodes trūkumiem ir tukšumu veidošanās porainās keramikas balstos polimēra pirolīzes procesa laikā, tādēļ nepieciešams optimizēt termiskās apstrādes parametrus, lai iegūt pēc iespējas mehāniski izturīgu keramiku.

Termiskās apstrādes laikā novērojams ievērojams paraugu lineāro izmēru samazināšanās jeb sarukums attiecībā pret neapstrādātu PU paraugiem, kas 1100 ºC sastāda ~30 % tilpuma sarukuma, 1200 °C – 50 %, bet 1300 °C un augstāk tas paliek relatīvi nemainīgs – ~60 %.

Termiskās apstrādes temperatūras ietekme uz poraino pamatņu mikrostruktūru redzama 14. attēlā. Paraugi, kas termiski apstrādāti 1100 °C temperatūrā, atrodas saķepšanas procesa sākuma stadijā – keramiskie graudi sāk augt, ir novērojamas plaisas un trīsstūrveida tukšumi keramiskajos balstos, kas radušies PU putu pirolīzes procesā. Šāda veida plaisas un tukšumi būtiski samazina mehānisko izturību. Palielinot termiskās apstrādes temperatūru, keramikas saķepšanas process intensificējas, mikroplaisas un trīsstūrveida tukšumi porainās struktūras balstos pakāpeniski izzūd. Apkopojot saķepšanas temperatūras un izturēšanas laika ietekmi uz porainību, poru izmēru, sieniņu biezumu un mehāniskās izturības spiedē vērtībām porainai TiO_2 keramikai, var secināt, ka porainība un poru izmērs visiem paraugiem praktiski nemainās un ir robežās attiecīgi – 94–97 % un 60–400 μm.



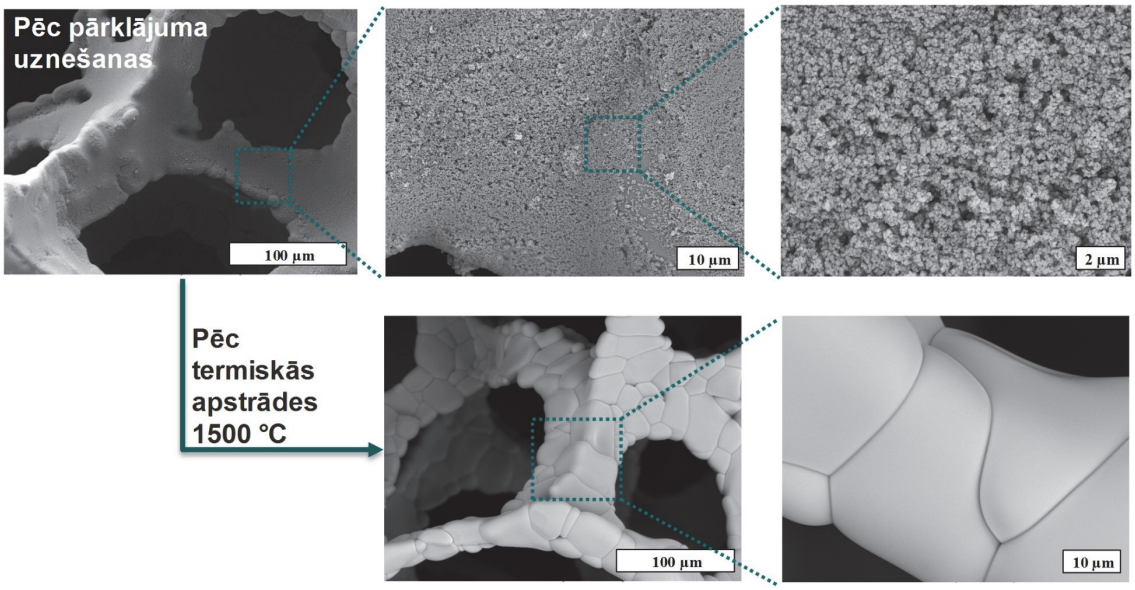
14. attēls. TiO_2 pamatņu mikrostruktūra atkarībā no termiskās apstrādes temperatūras.

Palielinot termiskās apstrādes temperatūru no 1200 °C līdz 1600 °C, pamatņu mehāniskā izturība spiedē pieaug no (0,05 ± 0,02) MPa līdz (0,42 ± 0,13) MPa jeb astoņas reizes. Mehāniskās izturības vērtības tieši korelē ar mikrostruktūras pētījumiem, un var secināt, ka trīsstūrveida tukšumi būtiski ietekmē keramikas mehānisko izturību. Palielinot izturēšanas laiku attiecīgā temperatūrā (1500 °C) no 10 h līdz 30 h, pieaug mehāniskā izturība spiedē no (0,24 ± 0,04) MPa līdz (0,41 ± 0,15) MPa, izturot 40 h, ir novērojama atsevišķu keramisko graudu plaisāšana, kas var samazināt mehānisko izturību. Analizējot termiskās apstrādes ietekmi uz TiO_2 pamatņu īpašībām, var secināt, ka termisko apstrādi nepieciešams realizēt augstās temperatūrās, un šajā gadījumā par optimālu termisko apstrādi var uzskatīt 1500 °C ar izturēšanas laiku 30 h vai 1600 °C, izturot 10 h.

Atkārtota TiO_2 pamatņu pārklāšana ar $mTiO_2$ suspensiju

Lai palielinātu mehānisko izturību, porainās pamatnes atkārtoti pārklātas ar zemākas viskozitātes suspensiju ($mTiO_2$ daudzums suspensijā – 30 masas %), izmantojot vakuuma infiltrēšanas metodi. Tādējādi tiek pārklātas poraino pamatņu sieniņas ar plānu $mTiO_2$ kārtiņu un saglabājas materiāla atvērtā un savstarpēji savienotā poru struktūru, kā redzams SEM mikrofotogrāfijās (15. attēlā).

Pēc katras atkārtotās pārklāšanas un žāvēšanas pamatnes termiski apstrādātas 1500 °C temperatūrā 30 h, pēc kuras netiek novērots papildus TiO_2 pamatņu sarukums. Atkārtoti pārklājot pamatnes 1–4 reizes, porainība un poru izmērs būtiski nemainās, bet nedaudz palielinās vidējais balstu jeb sieniņu biezums no (47 ± 13) µm līdz (73 ± 33) µm (3. tabula). Atkārtoti pārklājot pamatnes, defekti un mikroplaisas keramiskajos balstos tiek aizpildītas, un līdz ar to balstu izturība uzlabojas. Pārklājot pamatnes četras reizes un termiski apstrādājot 1500 °C temperatūrā 30 stundas, iespējams iegūt mehāniskās izturības spiedē vērtību (1,75 ± 0,45) MPa pie (92 ± 2) % porainības, kas sasniedz poraina kaula mehānisko izturību.



15. attēls. TiO_2 pamatņu mikrostruktūra pēc atkārtotas pārklāšanas ar $mTiO_2$ suspensiju.

3. tabula

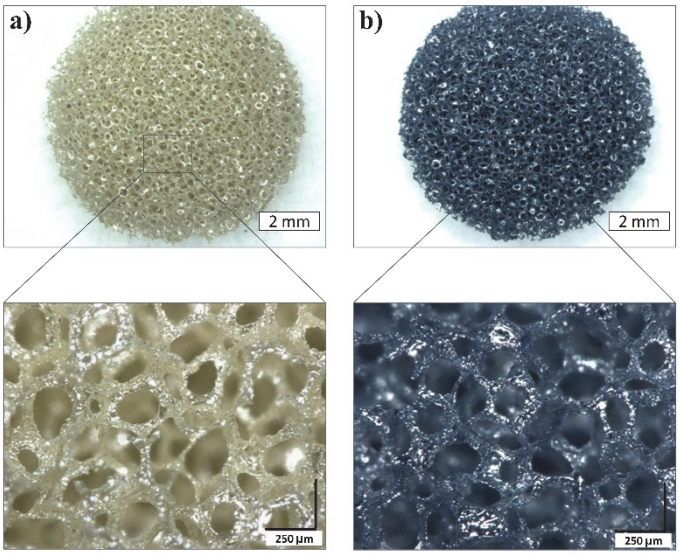
TiO_2 pamatņu raksturlielumi atkarībā no pārklājumu skaita

Pārklājumu skaits	Sieniņu biezumi, µm	Mehāniskā izturība, MPa
1. pārklājums	47 ± 13	0,62 ± 0,17
2. pārklājums	56 ± 25	1,25 ± 0,19
3. pārklājums	66 ± 36	1,47 ± 0,33
4. pārklājums	73 ± 33	1,75 ± 0,45

Elektrovadošas TiO_{2-x} pamatnes

Pēdējo gadu laikā pieaug interese par elektrovadošām pamatnēm, kas varētu nodrošināt elektrisko stimulāciju kaulu defektu vietā un veicināt kaulaudu reģenerāciju [12]. Tomēr līdz šim literatūrā nav atrodama informācija par augsti porainu, elektrovadošu keramisko pamatņu iegūšanu un to izmantošanu elektriskā stimulācijā.

TiO_2 keramikas termiskā apstrāde augstvakuuma apstākļos būtiski samazina elektrisko pretestību, un iespējams iegūt elektrovadošu materiālu. Darbā iegūtas augsti porainas, elektrovadošas TiO_{2-x} keramiskās pamatnes. Termiskās apstrādes laikā vakuuma apstākļos, notiek TiO_2 pamatņu krāsas maiņa no dzeltenas uz pelēki zilu (16. attēls), kas norāda uz krāsu centru esamību materiāla struktūrā un liecina par



16. attēls. Digitālās mikroskopijas attēli (a) pēc termiskās apstrādes gaisa vidē un (b) ar sekojošu termisko apstrādi augsta vakuuma apstākļos.

skābekļa vakanču un Ti^{3+} starpmezglu pozīcijās novietojušos jonu rašanos, kas savukārt palielina materiāla elektrisko vadītspēju.

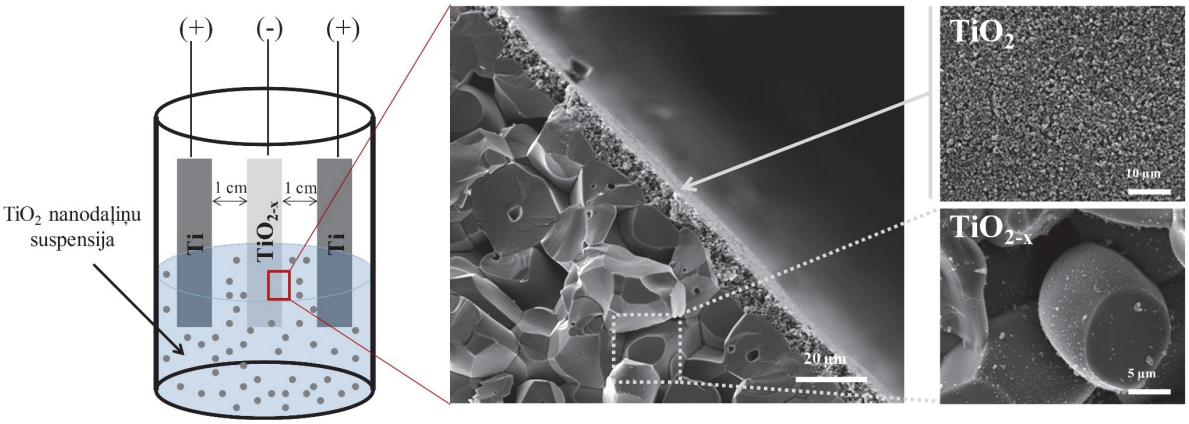
TiO_2 pamatņu vadītspēja pirms vakuuma termiskās apstrādes ir 10^{-8}–10^{-9} mS/m. Termiski apstrādājot porainās pamatnes augstvakuuma apstākļos, to elektriskā vadītspēja būtiski pieaug un sasniedz vērtības līdz 44–90 mS/m, kas raksturīga pusvadītāju materiāliem. Literatūrā atrodami maz pētījumu šajā jomā, līdz ar to secināms, ka iegūtām elektrovadošām un 3D augsti porainām TiO_{2-x} keramiskajām pamatnēm ir liels potenciāls kaulaudu reģenerācijā.

3. Poraino pamatņu pārklājumi

Lai uzlabotu pamatņu īpašības (mehānisko izturību, virsmas īpašības, bioaktivitāti, antibakteriālās īpašības, degradāciju utt.), porainu pamatņu izstrādē tiek izmantotas dažādas metodes, piemēram, pārklāšana ar dažādiem neorganiskiem savienojumiem, polimēriem vai to kompozītmateriāliem. Darbā veikta poraino pamatņu modificēšana, pārklājot ar nanoizmēra TiO_2, polimēru (Ch, PLA, PVS) vai HAp/PVS kompozītu, lai uzlabotu tādus implantu raksturlielumus kā mehāniskās īpašības un *in vitro* bioaktivitāti.

Nanoizmēra TiO_2 pārklājumi uz porainām pamatnēm

Darbā konstatēts, ka TiO_2 keramikas *in vitro* bioaktivitāti ietekmē termiskās apstrādes apstākļi. Lai iegūtu mehāniski izturīgas porainās pamatnes, tās jāapstrādā augstās temperatūrās (1500 °C). Termiskā apstrāde augstās temperatūrās neveicina apatīta veidošanos uz materiāla virsmas, kas ir būtiski jaunu kaulaudu veidošanās procesā. Varētu sagaidīt, ka, modificējot mehāniski pietiekami izturīgas porainās pamatnes ar nanoizmēra TiO_2, to biokativitāte būtiski uzlabosies. Darbā TiO_2 pamatnes pārklātas ar nanoizmēra TiO_2, izmantojot vakuuma infiltrēšanas un elektroforētiskās izgulsnēšanas metodi (EPD), un termiski apstrādātas 700 °C temperatūrā. Lai gan vakuuma infiltrēšanas metode ir salīdzinoši vienkārša, tā ir grūti atkārtojama, un pārklājuma biezums var mainīties. Līdz ar to kā metode pārklājuma uznešanai izvēlēta EPD, ko izmantojot iespējams viegli variēt ar iegūtā pārklājuma biezumu un mikrostruktūru [13]. Darbā aprakstīts, kā iespējams iegūt elektrovadošu TiO_{2-x} keramiku, un to var izmantot kā substrātu jeb elektrodu TiO_2 nanodaļiņu pārklājumu uznešanai uz to virsmas. Shematisks attēlojums EPD procesam redzams 17. attēlā. Būtiskākie faktori, kas ietekmē elektroforēzes procesus, ir izmantotās suspensijas stabilitāte, procesa laiks un elektroforēzes šūnai pieliktais spriegums [13].

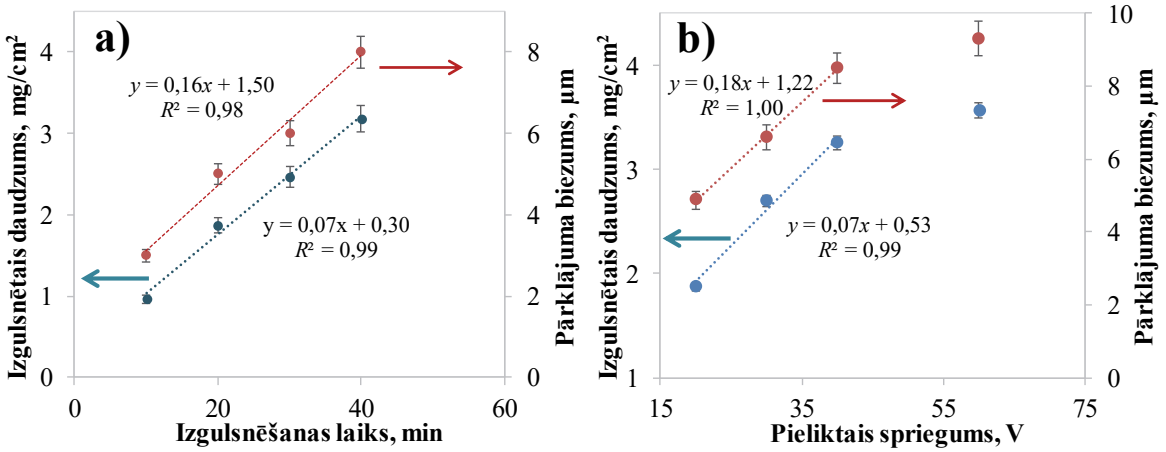


17. attēls. Elektroforētiskās izgulsnēšanas shēma, kā substrātu izmantojot blīvu TiO_{2-x} keramiku.

Suspensijas pagatavošana būtiski ietekmē iegūtā pārklājuma kvalitāti. Suspensija pagatavota, izmantojot 0,2 g TiO_2, 100 ml izopropanola un pievienojot kā dispersantu trietalonamīnu (TEA) dažādās koncentrācijās (0–40 ml/L). Suspensija maisīta 1 h, tad ultrasonificēta 5 min. Suspensijas stabilitāte noteikta, izmantojot sedimentācijas testu. Nepievienojot suspensijai dispersantu TEA (0 ml/l), novērojami galvenokārt TiO_2 nanodaļiņu aglomerāti vairāku µm lielumā, un līdz ar to var spriest, ka daļiņas nav pietiekami labi disperģētas. Pie TEA koncentrācijas 10 ml/l lielākā daļa TiO_2 nanodaļiņu aglomerāti tiek sašķelti, un līdz ar to paaugstinās suspensijas stabilitāte, un šī tiek uzskatīta par optimālo dispersanta koncentrāciju konkrētajai sistēmai, kas izmantota tālākajos EPD eksperimentos.

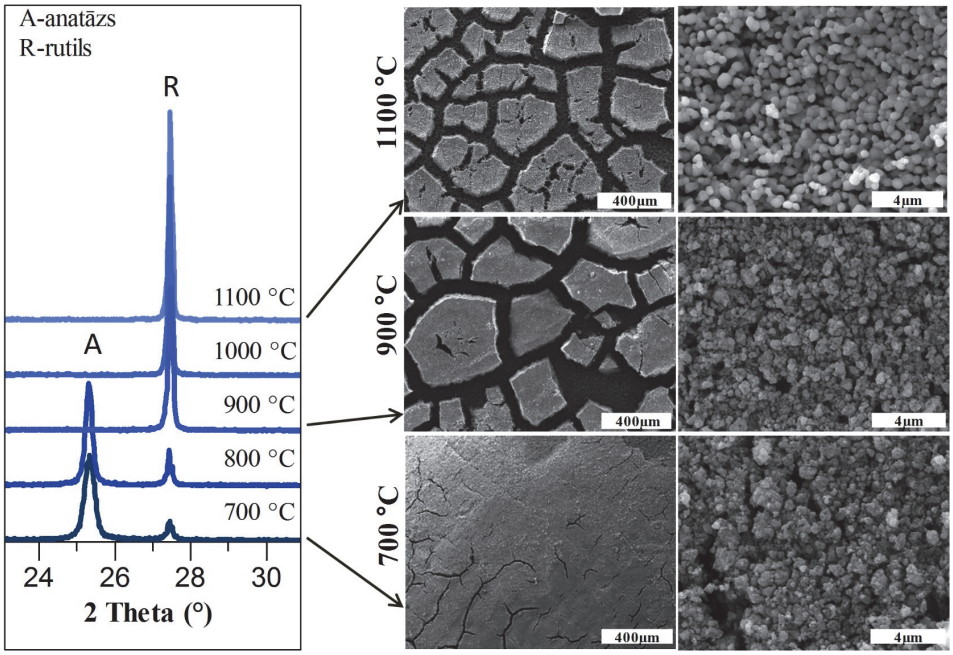
Darbā novērtēta EPD tehnoloģisko parametru ietekme uz pārklājuma uznešanu, izmantojot blīvus TiO_{2-x} elektrodus, kā redzams 17. attēlā. TiO_{2-x} keramika un titāna plāksnes tika izmantoti kā elektrodi līdzstrāvas EPD. Attālums starp substrātu un Ti elektrodu bija 1 cm. EPD eksperimenti realizēti, mainot pielikto spriegumu un izgulsnēšanas laiku. Izgulsnētais daudzums aprēķināts atkarībā no izgulsnētās masas un pārklātā virsmas laukuma. Pēc EPD paraugi žāvēti un termiski apstrādāti temperatūru intervālā no 700 °C līdz 1100 °C.

Pie nemainīga pieliktā sprieguma (20 V) izgulsnētais daudzums un pārklājuma biezums pieaug lineāri, palielinoties izgulsnēšanas laikam (18. attēls (a)). Pie nemainīga izgulsnēšanas laika (20 min.) izgulsnētais daudzums un pārklājuma biezums arī pieaug lineāri pie relatīvi zemām sprieguma vērtībām (līdz 40 V), taču pie lielākām sprieguma vērtībām līknes raksturs mainās (virs 40 V) (18. attēls (b)). Līknes rakstura maiņu varētu skaidrot ar izgulsnētā pārklājuma biezuma palielināšanos, kas veido tādu kā izolējošu slāni uz elektroda virsmas un kavē nanodaļiņu izgulsnēšanos.



18. attēls. EPD izgulsnēšanas laika (U=20 V) (a) un pieliktā sprieguma (t=20 min) (b) ietekme uz $nTiO_2$ pārklājuma izgulsnēto daudzumu un slāņa biezumu.

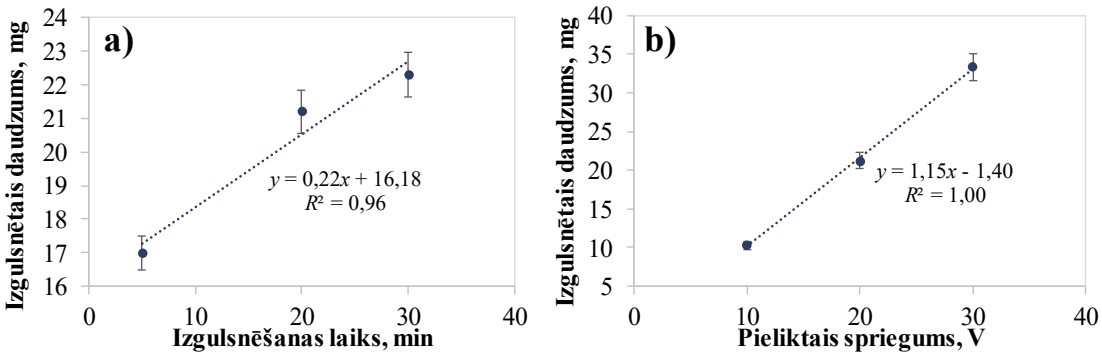
Lai paaugstinātu izgulsnētā pārklājuma sasaiti ar substrātu, veikta termiskā apstrāde temperatūru intervālā no 700 °C līdz 1100 °C. Dominējošā pārklājuma fāze līdz 800 °C temperatūrai ir anatāza polimorfā modifikācija. Virs 800 °C temperatūras notiek strauja anatāza – rutila fāžu pāreja. Vienlaikus termiskā apstrāde virs 700 °C izsauc būtisku $nTiO_2$ pārklājuma plaisāšanu (19. attēls). Iegūtie rezultāti norāda, ka termisko apstrādi būtu jāveic 700 °C temperatūrā, tādējādi nodrošinot TEA sadalīšanos, anatāza fāzi un nanostrukturētus graudus, kas nepieciešams, lai iegūtu biokatīvu un biosaderīgu pārklājumu.



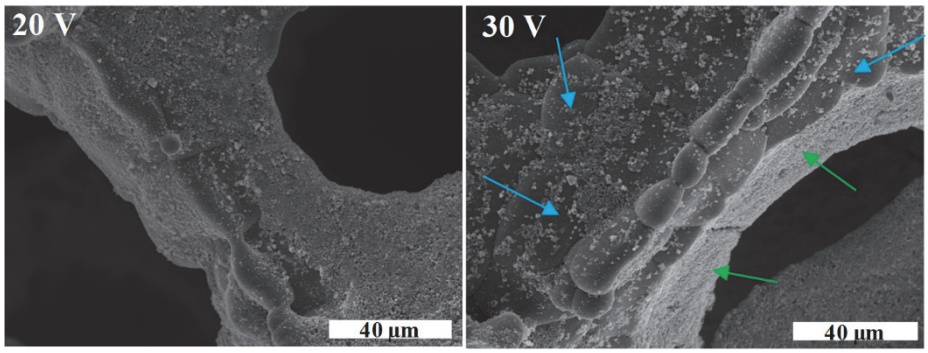
19. attēls. Termiskās apstrādes ietekme uz blīviem elektrodiem izgulsnēta $nTiO_2$ pārklājuma fāžu sastāvu un mikrostruktūru.

Uz porainiem TiO_{2-x} keramiskiem elektrodiem izgulsnēts $nTiO_2$ pārklājums, mainot elektroforētiskās izgulsnēšanas laiku no 5 līdz 30 min. un spriegumu no 10 līdz 30 V. 20. attēlā redzama lineāra sakarība starp izgulsnēšanas laiku vai pielikto spriegumu un izgulsnēto daudzumu, kā tas tika novērots arī blīvu elektrodu gadījumā.

Veicot elektroforētisko izgulsnēšanu uz porainiem TiO_{2-x} elektrodiem, tiek saglabāta pamatņu atvērtā un caurejošā poru struktūra, nanodaļiņu izgulsnēšana notiek tikai uz keramisko balstu virsmas. Pie īsa elektroforētiskās izgulsnēšanas laika (zem 10 min.) novērojams, ka keramisko balstu sieniņas nav pilnībā pārklātas ar TiO_2 nanodaļiņām. Palielinot izgulsnēšanas laiku, uz pamatnēm veidojas salīdzinoši vienmērīgs pārklājums. Līdzīgi kā mainot izgulsnēšanas laiku, arī pie pārāk zema pieliktā sprieguma (zem 10 V) keramiskie balsti netiek vienmērīgi pārklāti, un pārklājas tikai balstu viena puse. Pie pārāk liela sprieguma (30 V) daļiņas izgulsnējas uz pirmās virsmas, kas atrodas to migrācijas ceļā, veidojot biezu slāni balstu vienā pusē un otru pārklājot minimāli. Iegūto pārklājumu mikrostruktūra redzama 21. attēlā. Par optimālākiem izgulsnēšanas parametriem porainas keramikas pārklāšanai izvēlētas 20 min. pie 20 V sprieguma.

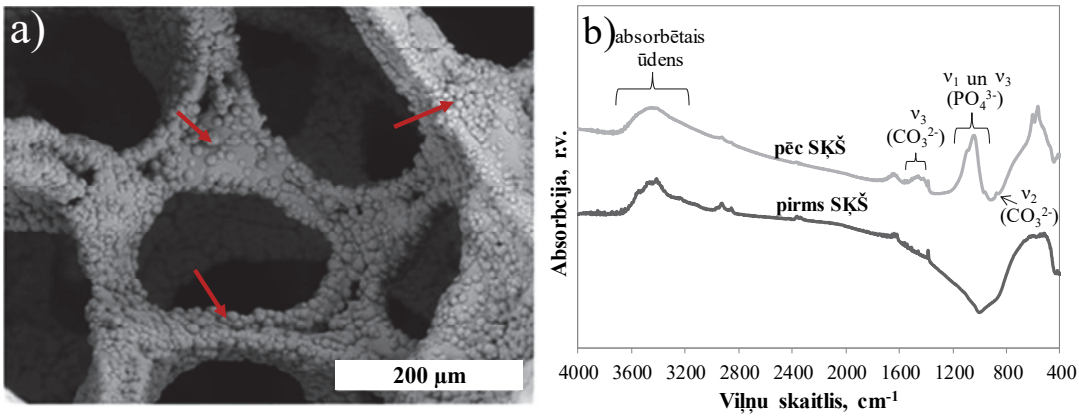


20. attēls. Izgulsnētā $nTiO_2$ daudzuma atkarība no izgulsnēšanas laika uz porainiem TiO_{2-x} elektrodiem pie nemainīga pieliktā sprieguma, U=20 V (a) un pieliktā sprieguma pie nemainīga izgulsnēšanas laika t=20 min (b).



21. attēls. SEM mikrofotogrāfijas porainu TiO_{2-x} elektrodu pārklāšanai, izmantojot dažādus pieliktos spriegumus pie t=20 min.

Nanoizmēra TiO_2 pārklātām pamatnēm veikts *in vitro* bioativitātes novērtējums, izturot SĶŠ līdz 21 dienai. Kā redzams 22. attēlā (a), uz nanoizmēra TiO_2 pārklātām pamatnēm, kas termiski apstrādātas 700 °C, novērojama sfērisku daļiņu veidošanās, kas laika gaitā pārklāj visu keramisko balstu sieniņas. Rentgenogrammā, kas uzņemta ar nanoizmēra pārklātai TiO_2 pamatnei pēc izturēšanas SĶŠ 21 dienu, novērojama papildu plata josla pie 2θ 33º, kas norāda uz nanokristāliska apatīta klātbūtni. Uzņemot FT-IR spektrus pirms un pēc pamatņu izturēšanas SĶŠ, spektrā novērojami papildu maksimumi (PO_4^{3-} un CO_3^{2-}), kas liecina par karbonāta joniem aizvietota apatīta klātbūtni (22. attēls (b)). Iegūtie rezultāti apstiprina apatīta mikrosfēru rašanos uz $nTiO_2$ pārklātu pamatņu virsmas. Līdz ar to var secināt, ka iegūtas bioaktīvas un augsti porainas 3D pamatnes uz TiO_2 keramikas bāzes, kas varētu veicināt jaunu kaulaudu augšanu.



22. attēls. Ar $nTiO_2$ pārklāto pamatņu (a) SEM mikrofotogrāfija un (b) FT-IR spektrs pēc izturēšanas SĶŠ.

Polimēru pārklājumi uz porainām TiO_2 pamatnēm

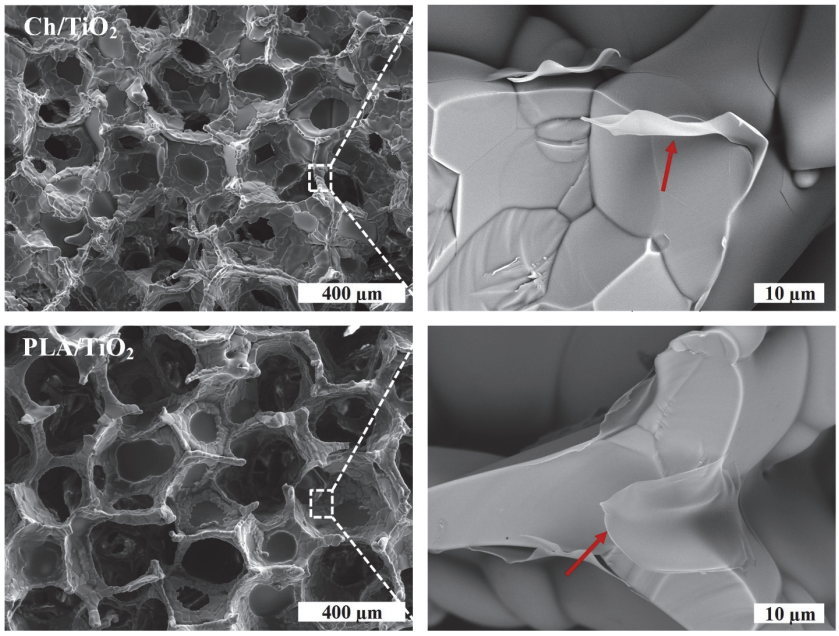
Lai uzlabotu pamatņu mehānisko izturību, tās pārklātas ar dažādiem polimēriem. Kā dabīgais biodegradablais polimērs ar antibakteriālām īpašībām izvēlēts hitozāns (Ch) un divi biosaderīgi sintētiski polimēri – PVS un PLA. Pagatavoti attiecīgo polimēru šķīdumi – 5 % PLA dihlormetānā, 5 % PVS ūdenī un 2,5 % Ch 1 % etiķskābes šķīdumā. Pamatnes pārklātas, izmantojot vakuuma infiltrēšanas metodi ar sekojošu izpūšanu ar saspiestu gaisu.

Pārklājot augsti porainās TiO_2 keramiskās pamatnes ar Ch vai PLA, iegūst dažu mikrometru biezu pārklājumu (23. attēls). Uznesot polimēra pārklājumu, tiek saglabāta pamatņu atvērtā un savstarpēji savienotā poru struktūra, tomēr dažas poras ir pārklātas ar polimēra plēvīti, kā rezultātā arī nedaudz samazinās kompozītmateriāla porainība no

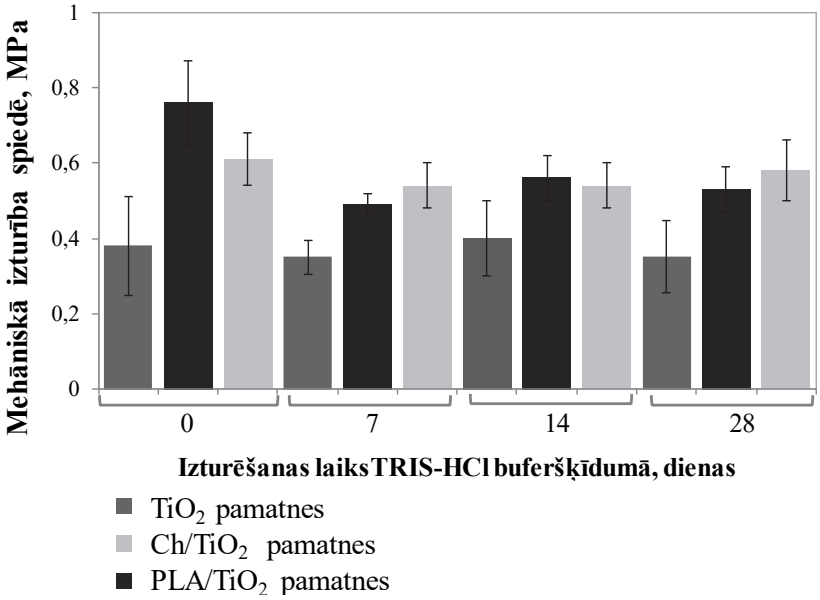
94 % līdz 88 %, tomēr tā ir pietiekami augsta, lai pamatnes izmantotu kaulaudu inženierijā. Vienlaikus novērots, ka, pārklājot porainās TiO_2 keramiskās pamatnes ar PLA un Ch polimēra pārklājumu, būtiski palielinās paraugu spiedes izturība, kas Ch gadījumā sastāda gandrīz 50 % (24. attēls).

Viens no svarīgiem parametriem, ko vēlams noteikt kaulaudu reģenerācijā izmantojamām pamatnēm, ir to degradācija. TiO_2 pamatnēm pārklātām ar Ch un PLA netika novērotas būtiskas masas izmaiņas pēc izņemšanas no Tris-HCl buferšķīduma, kā arī netika novērotas būtiskas mikrostruktūras izmaiņas, t. i., TiO_2 pamatņu virsma joprojām bija pārklāta ar polimēra slāni. Ar polimēru pārklātu pamatņu mehāniskā izturība spiedē pēc *in vitro* degradācijas pētījumiem nedaudz samazinājās, bet joprojām bija augstāka par nepārklātu TiO_2 pamatņu mehānisko izturību (24. attēls).

In vitro bioaktivitātes tests norādīja, ka uz TiO_2 pamatņu virsmas, kas pārklātas ar Ch vai PLA, neveidojas biomimētiskā apatīta slānis, izturot kompozītmateriālus SĶŠ līdz 28 dienām.



23. attēls. Ch un PLA pārklājums uz porainām TiO_2 keramiskām pamatnēm.



24. att. Ar Ch un PLA pārklātu TiO_2 pamatņu *in vitro* degradācija.

Hidroksilapatīta/polivinilspirta pārklājums uz porainām TiO_2 pamatnēm

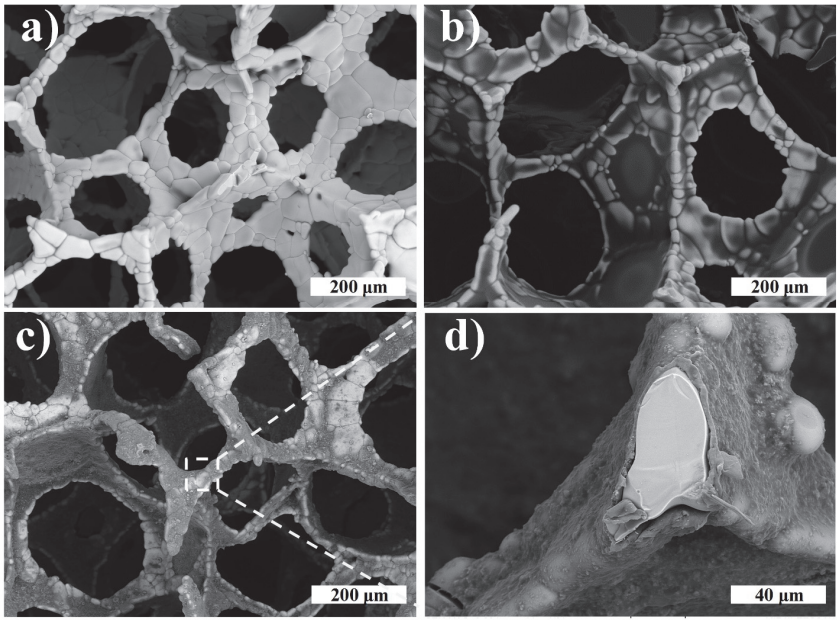
Lai uzlabotu ar polimēriem pārklātu pamatņu bioaktivitāti, kā viens no veidiem ir izveidot kompozītmateriāla pārklājumu no polimēra un HAp. Darbā izstrādāts pārklājums uz HAp/PVS bāzes, veicot HAp sintēzi *in situ* PVS vidē un pārklājot TiO_2 pamatnes ar vakuuma infiltrēšanas metodi ar sekojošu izpūšanu ar saspiestu gaisu.

HAp, kur Ca/P molārā attiecībā 1,67, sintezēts *in situ* 20 % PVS ūdens šķīduma vidē, izmantojot ķīmisko suspensijas nogulsnēšanas metodi. HAp/PVS attiecība suspensijā ir 30/70. HAp sintēzei izmantots $Ca(OH)_2$ un H_3PO_4, veicot reakciju 45 °C. Iegūtās nogulsnes nobriedina ~20 h. Rezultāti liecina, ka, sintezējot HAp *in situ* PVS vidē, veidojas ūdeņraža vai/un hidroksilgrupu-Ca jonu-hidroksilgrupu ([HO-]-Ca^{2+}-[-OH]) saites, kas veicina vienmērīgu HAp disperģēšanu PVS matricā.

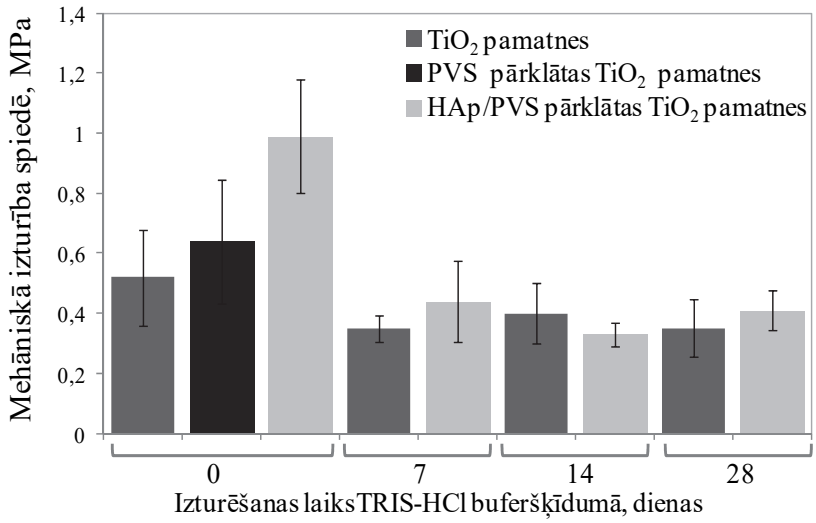
Kā redzams 25. attēlā, pamatnes saglabā TiO_2 poraino pamatņu atvērto un savstarpēji savienoto poru tīklojumu, tomēr nedaudz samazinās pārklāto pamatņu porainība, sasniedzot vērtību (81 ± 2) %.Vidējais pamatņu poru izmērs ir robežās no 100 µm līdz 500 µm. Pārklājot ar PVS vai HAp/PVS kompozītmateriālu, tiek aizpildītas arī poras un tukšumi, kas veidojas TiO_2 keramiskajos balstos. HAp/PVS pārklājuma biezums ir aptuveni no 1 µm līdz 4 µm. Pārklājot ar PVS, TiO_2 poraino pamatņu mehāniskā izturība spiedē sasniedz (0,64 ± 0,21) MPa, bet ar HAp/PVS – (0,99 ± 0,19) MPa.

In vitro degradācijas testa rezultāti liecina, ka notiek kompozītmateriāla daļēja degradācija jau pēc vienas dienas. HAp/PVS pārklājums izdala konstantu daudzumu Ca^{2+} jonus (~ 10 ppm) TRIS-HCl buferšķīdumā laika periodā no 1 līdz 28 dienām. Iespējams, to var skaidrot ar ķīmiskās saites sabrukšanu starp HAp un PVS, līdz ar ko PVS matricai piesaistītie Ca^{2+} joni tiek izdalīti pirmie. Tomēr masas zudumu pieaugums laika gaitā liecina par pakāpenisku kompozītmateriāla degradāciju. PVS pārklājums nošķīst jau pirmajās piecās stundās, tomēr HAp/PVS pārklājums uz TiO_2 pamatnēm novērojams arī pēc 28 dienām TRIS-HCl buferšķīdumā.

Notiekot pārklājuma degradācijai Tris-HCl buferšķīdumā, vienlaikus samazinās pamatņu mehāniskā izturība



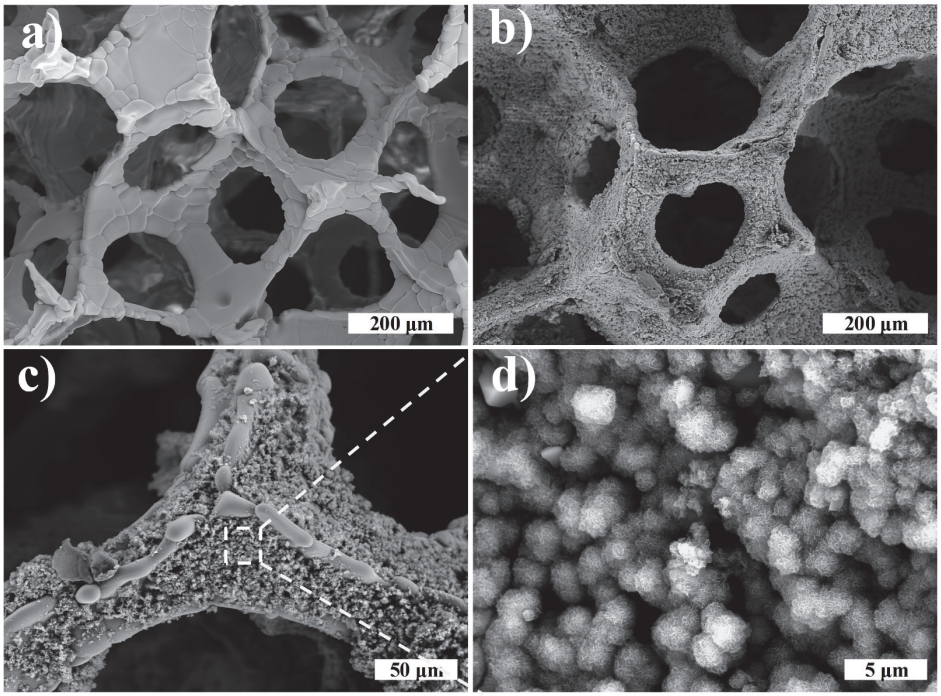
25. attēls. SEM mikrofotogrāfijas: (a) TiO_2 pamatne; (b) PVS pārklāta TiO_2 pamatne; (c) HAp/PVS pārklāta TiO_2 pamatne un (d) šķērsgriezuma laukums HAp/PVS pārklāta TiO_2 pamatnei.



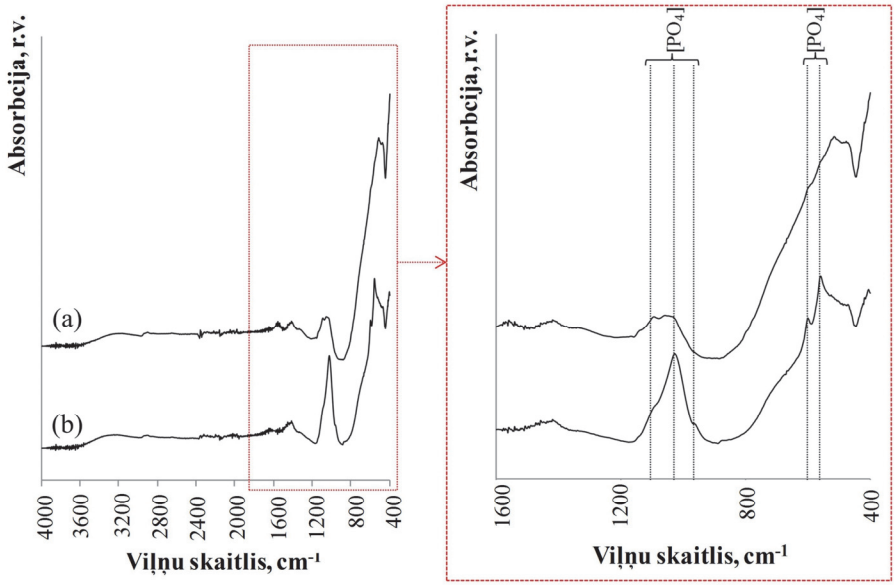
26. attēls. Mehāniskā izturība spiedē TiO_2 un HAp/PVS pamatnēm pēc *in vitro* degradācijas testa.

(26. attēls), jau pēc septiņām dienām HAp/PVS pārklāto TiO_2 pamatņu mehāniskā izturība spiedē samazinās un sasniedz nepārklātu TiO_2 pamatņu spiedes izturības vērtības.

HAp/PVS pārklātām TiO_2 pamatnēm tika veikts *in vitro* bioaktivitātes tests, izturot tās SĶŠ septiņas dienas. SEM mikrofotogrāfijās (27. attēls) redzams, ka uz to virsmas veidojas sfēriskas daļiņas, un FT-IR spektros novēroja HAp raksturīgo $[PO_4]$ absorbcijas joslu intensitātes pieaugumu (28. attēls). Līdz ar to var secināt, ka tās ir apatīta daļiņas un materiāls uzrāda *in vitro* bioaktivitāti.



27. attēls. SEM mikrofotogrāfijas: (a) TiO_2 pamatne un HAp/PVS pārklāta TiO_2 pamatne pie dažādiem palielinājumiem (b) 350x, (c) 1kx un (d) 10 kx pēc izturēšanas SĶŠ septiņas dienas.

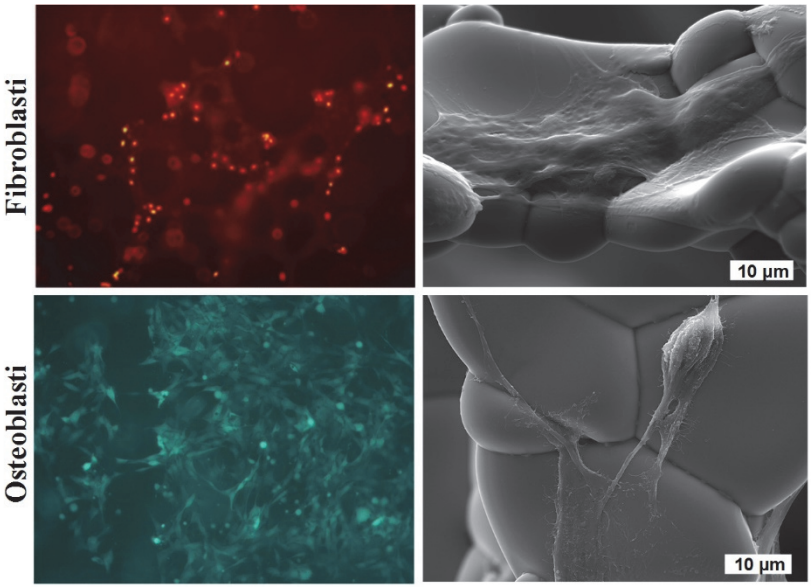


28. attēls. FT-IR spektri HAp/PVS pārklātām TiO_2 pamatnēm (a) pirms un (b) pēc izturēšanas SĶŠ septiņas dienas.

4. *In vitro* šūnu pētījumi

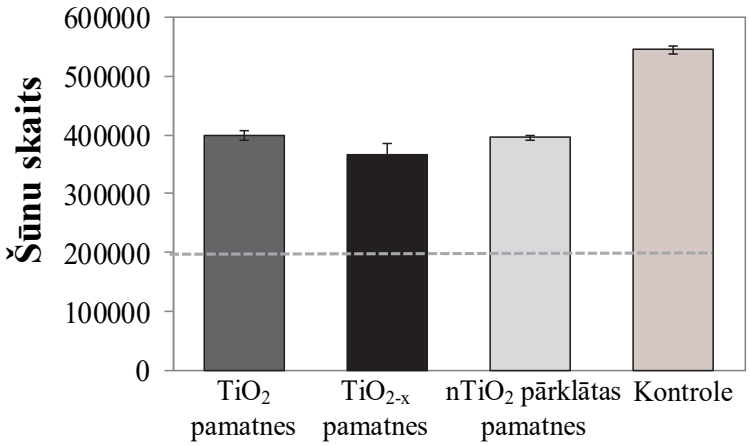
Citosaderības novērtējums ir ļoti būtisks, izstrādājot materiālus kaulaudu reģenerācijai, jo tas parāda šūnu un materiāla mijiedarbību. Darbā izvērtēta poraino pamatņu ietekme uz dermālo fibroblastu un osteoblastu MG63-GFP šūnu piesaistīšanos un proliferāciju uz izstrādāto materiālu virsmas.

Novērots, ka TiO_2 poraino pamatņu, termiski apstrādātām gaisā 1500 °C 30 h un pēc papildu termiskās apstrādes augstvakuuma apstākļos, kā arī pārklājot ar nanoizmēra TiO_2, mijiedarbība ar cilvēka dermālo fibroblastu šūnām pēc 10 dienu kultivēšanas ir līdzīga – šūnas ir piesaistījušās pie TiO_2 keramiskajiem balstiem dažādos līmeņos (28. attēls). Fibroblasti uzrādīja to tipisko morfoloģiju, t. i., izstieptu (vārpstveida) struktūru (28. attēls).



28. attēls. Fluorescentās mikroskopijas un SEM attēli osteoblastu un fibroblastu šūnu piesaistei uz TiO_2 pamatnēm.

Uz visām trīs veidu pamatnēm novēroja līdzīgu osteoblastu MG63-GFP šūnu augšanu, kas bija nedaudz zemāka nekā uz kontroles (29. attēls). Acīmredzot, poraino TiO_2 keramisko pamatņu īpašību modifikācija (elektrovadoša TiO_{2-x} keramika un papildus pārklāšana ar nanoizmēra TiO_2 daļiņām) būtiski neietekmē pētīto šūnu adhēziju un augšanu. Kultivējot šūnas trīs dienas, to skaits pieaug divas reizes. Līdz ar to var secināt, ka paraugi nav citotoksiski. Osteoblastu MG63-GFP šūnas piesaistījās pie materiāla virsmas un uzrādīja izstieptu (vārpstveida) struktūru (28. attēls). Līdzīgi kā fibroblastu gadījumā, osteoblastu šūnas novērojamas dažādos pamatņu dziļumos, pārklājot to virsmu. Pie tam vietām osteoblastu šūnas starp pamatņu porām veido klāsterus. Tas liecina, ka pamatnes uzrāda labvēlīgu mikrovidi šūnu adhēzijai un augšanai. Iegūtie eksperimentālie rezultāti ļauj secināt, ka porainās TiO_2 pamatnes var izmantot kaulaudu atjaunošanas procesā.



29. attēls. Osteoblastu MG63-GFP proliferācija uz pamatnēm pēc trīs dienu izturēšanas šūnu vidē.

SECINĀJUMI

1. Izmantotā TiO_2 pulvera daļiņu izmērs (15 vai 180 nm) ietekmē iegūtās keramikas fāžu pāreju, saķepšanas procesu, blīvumu, graudu izmēru un virsmas īpašības. Samazinoties pulvera daļiņu izmēram, fāžu pāreja notiek zemākās temperatūrās (180 nm TiO_2 pulvera gadījumā temperatūru intervālā no 900–1100 °C, 15 nm – 600–900 °C), kā rezultātā var iegūt augstāka blīvuma keramiku ar mazākiem graudu izmēriem, kurai raksturīga augstāka virsmas enerģija.
2. Darbā ir konstatēts, ka biomimētiska apatīta veidošanās uz TiO_2 keramikas virsmas ir atkarīga galvenokārt no virsmas mikrostruktūras. Keramiskās pamatnes, kas raksturojas ar nanoizmēra graudiem (< 50 nm) un lielāku īpatnējo virsmas laukumu (> 30 m^2/g) veicina paātrinātu apatīta veidošanos uz tām. Iegūtās keramiskās pamatnes neveicina baktēriju *Stafilococus epidermidis* un *Pseudomonas aeruginosa* adhēziju un kolonizāciju uz materiāla virsmas.
3. Augsti porainas TiO_2 keramikas, kas iegūta ar PU replikas metodi, fizikāli mehāniskās īpašības ietekmē šlikera sastāvs un iegūšanas tehnoloģija. Noteikti optimālie šlikera iegūšanas apstākļi, kas ļauj iegūt 3D augsti porainas TiO_2 keramiskās pamatnes ar atvērtu un savstarpēji savienotu poru struktūru, porainību virs 90 % un mehānisko izturību spiedē līdz 1,8 MPa.
4. Poraino TiO_2 pamatņu mehānisko stiprību spiedē, praktiski nesamazinot struktūras porainību, var palielināt, atkārtoti tās pārklājot ar mazāk koncentrētu TiO_2 suspensiju (30 masas %) vai arī dažādiem biosaderīgiem polimēriem (Ch, PLA, PVS), kā rezultātā to mehāniskā izturība spiedē pieaug līdz 2–3 reizēm.
5. TiO_2 poraino pamatņu termiskā apstrāde augsta vakuuma apstākļos izsauc nestehiometriskas TiO_{2-x} keramikas rašanos, kas ietekmē materiāla elektriskās īpašības. Darbā pirmo reizi iegūtas 3D augsti porainas TiO_{2-x} keramiskās pamatnes. Iegūtās porainās keramikas īpatnējā elektrovadītspēja sasniedz vērtības > 40 mS/m, kas pielīdzināmas pusvadītājiem. Tas potenciāli paver iespējas elektrovadošās pamatnes izmantot elektriskā stimula nodrošināšanai kaulaudu reģenerācijā, paātrinot jauna kaula ieaugšanas procesu.
6. Darbā pirmo reizi, izmantojot līdzstrāvas elektroforētiskās izgulsnēšanas metodi, uz elektrovadošām porainām TiO_{2-x} pamatnēm iegūts nanoizmēra TiO_2 daļiņu pārklājums. Ar nanoizmēra TiO_2 pārklātās pamatnes uzrāda *in vitro* bioaktivitāti.
7. Darbā pirmo reizi iegūtas augsti porainas TiO_2 keramiskās pamatnes, pārklātas ar HAp/PVS kompozītmateriālu. Pārklājot porainās pamatnes ar HAp/PVS, iespējams palielināt to mehānisko stiprību spiedē no (0,53 ± 0,16) MPa līdz (0,99 ± 0,19) MPa un vienlaikus uzlabot arī *in vitro* bioaktiviāti. HAp daļiņas kalpo kā aktīvie centri biomimētiska apatīta veidošanai uz TiO_2 keramikas virsmas. Pateicoties PVS ātrai degradācijai, šādu kompozītmateriālu potenciāli var izmantot arī lokālai zāļu, piemēram, antibiotiku, piegādei.
8. Veicot *in vitro* šūnu eksperimentus, novērots, ka fibroblastu un osteoblastu MG 63-GFP šūnu kultūru gadījumā tām ir laba adhēzija uz iegūto keramisko pamatņu virsmas, notiek normāla šūnu augšana, kas liecina par iegūtā materiāla citosaderību.

LITERATŪRAS SARAKSTS

[1] J. Fisher and A. Reddi, *Topics in Tissue Engineering*, Vol 1. 2003.

[2] F. J. O'Brien, «Biomaterials & scaffolds for tissue engineering,» *Mater. Today*, vol. 14, pp. 88–95, 2011.

[3] Q. L. Loh and C. Choong, «Three-dimensional scaffolds for tissue engineering applications: role of porosity and pore size.,» *Tissue Eng. Part B. Rev.*, vol. 19, pp. 485–502, 2013.

[4] J. Henkel, M. a. Woodruff, D. R. Epari, R. Steck, V. Glatt, I. C. Dickinson, P. F. M. Choong, M. a. Schuetz, and D. W. Hutmacher, «Bone Regeneration Based on Tissue Engineering Conceptions – A 21st Century Perspective,» *Bone Res.*, vol. 1, pp. 216–248, 2013.

[5] V. Karageorgiou and D. Kaplan, «Porosity of 3D biomaterial scaffolds and osteogenesis,» *Biomaterials*, vol. 26, pp. 5474–5491, 2005.

[6] J. M. Kanczler and R. O. C. Oreffo, «Osteogenesis and angiogenesis: The potential for engineering bone,» *Eur. Cells Mater.*, vol. 15, pp. 100–114, 2008.

[7] E. Jabbarzadeh, J. Blanchette, T. Shazly, A. Khademhosseini, G. Camci-Unal, and C. Laurencin, «Vascularization of Biomaterials for Bone Tissue Engineering: Current Approaches and Major Challenges,» *Curr. Angiogenesise*, vol. 1, pp. 180–191, 2012.

[8] M. Vallet-Regí and E. Ruiz-Hernández, «Bioceramics: From bone regeneration to cancer nanomedicine,» *Adv. Mater.*, vol. 23, pp. 5177–5218, 2011.

[9] A. R. Studart, U. T. Gonzenbach, E. Tervoort, and L. J. Gauckler, «Processing routes to macroporous ceramics: A review,» *J. Am. Ceram. Soc.*, vol. 89, pp. 1771–1789, 2006.

[10] K. Wang, C. Zhou, Y. Hong, and X. Zhang, «A review of protein adsorption on bioceramics,» *Interface Focus*, vol. 2, pp. 259–277, 2012.

[11] X. Liu, X. Zhao, R. K. Y. Fu, J. P. Y. Ho, C. Ding, and P. K. Chu, «Plasma-treated nanostructured TiO_2 surface supporting biomimetic growth of apatite,» *Biomaterials*, vol. 26, pp. 6143–6150, 2005.

[12] R. Balint, N. J. Cassidy, and S. H. Cartmell, «Electrical Stimulation: A Novel Tool for Tissue Engineering,» *Tissue Eng. Part B Rev.*, vol. 19, pp. 1–10, 2012.

[13] A. R. Boccaccini, S. Keim, R. Ma, Y. Li, and I. Zhitomirsky, «Electrophoretic deposition of biomaterials,» *J. R. Soc. Interface*, vol. 7, pp. S581–S613, 2010.

DARBA APROBĀCIJA

Promocijas darba rezultāti publicēti 12 zinātniskajos žurnālos (10 SCI publikācijās) un prezentēti 21 starptautiskā konferencē.

Publikācijas zinātniskos žurnālos

1. I. Narkevica, L. Stipniece, E. Jakobsons A. Caksa-Lapsina, J. Ozolins. **Electrically active and 3D porous TiO_{2-x} ceramic scaffolds for bone tissue regeneration**. *Journal of the European Ceramic Society,* 2017, 37, pp. 833–840, DOI 10.1016/j.jeurceramsoc.2016.09.032 (SCOPUS).
2. I. Narkevica, L. Stradina, L. Stipniece, J. Ozolins. **Electrophoretic deposition of TiO_2 nanoparticles on dense TiO_{2-x} ceramic electrodes**. *Key Engineering Materials* 2016, 721, pp. 177–181, DOI 10.4028/www.scientific.net/KEM.721.177 (SCOPUS).
3. L. Stipniece, K. Salma-Ancane, V. Rjabovs, I. Juhnevica, M. Turks, I. Narkevica, L. Berzina-Cimdina. **Development of functionalized hydroxyapatite/poly(vinyl alcohol) composites.** *Journal of Crystal Growth*, 2016, 44, pp. 14-20, ISSN 0022-0248, DOI 10.1016/j.jcrysgro.2016.03.029 (SCOPUS).
4. L. Stipniece, I. Narkevica, M. Sokolova, J. Locs, J. Ozolins. **Novel scaffolds based on hydroxyapatite/poly(vinyl alcohol) nanocomposite coated porous TiO_2 ceramics for bone tissue engineering**. *Cermics International*, 2016, 42, pp. 1530–1537, ISSN 0272-8842, DOI 10.1016/j.ceramint.2015.09.101 (SCOPUS).
5. D. Loca, I. Narkevica, J. Ozolins, L. Berzina-Cimdina. **The effect of TiO_2 nanopowder coating on *in vitro* bioactivity of porous TiO_2 scaffolds**. *Materials Letters*, 2015, 159, pp. 309–312, ISSN 0167-577X, DOI 10.1016/j.matlet.2015.07.017 (SCOPUS).
6. I. Narkevica, A. Reinis, L. Bugovecka, I. Skadins, E. Sansonetti, J. Kroica, J. Ozolins. ***In vitro* Bioactivity and Bacteriostasis Effect of Thermally Treated and UV-light Irradiated TiO_2 Ceramics**. *Key Engineering Materials*, 2016, 674, pp. 121–126, ISSN 1662-9795, DOI 10.4028/www.scientific.net/KEM.674.121 (SCOPUS).
7. I. Narkevica, L. Stradina, V. Yakushin, J. Ozolins. **Preparation and characterization of porous titania ceramic scaffolds.** *RTU Material Science and Applied Chemistry*, 2015/31, pp. 5–9, ISSN 2255-8713, DOI 10.7250/msac.2015.001.
8. J. Locs, I. Narkevica, L. Bugovecka, J. Ozolins, L. Berzina-Cimdina. **Apatite-forming ability of thermally treated titania with various phase compositions**. *Materials Letters*, 2015, 146, 99.69–72, ISSN 0167-577X, DOI 10.1016/j.matlet.2015.01.129 (SCOPUS).
9. I. Narkevica, J. Ozolins, K. Rubenis, J. Kleperis, J. Locs, L. Berzina-Cimdina. **The influence of thermal treatment conditions on the properties of TiO_2 ceramics.** *World Journal of Engineering*, 2014, 2, pp. 131–138, ISSN 1708-5284, DOI 10.1260/1708-5284.11.2.131 (SCOPUS).
10. I. Narkevica, M. Reimanis, J. Ozoliņš, J. Kleperis, L. Bērziņa-Cimdiņa. **Electrochemical Studies of Nonstoichiometric TiO_{2-x} Ceramic.** *Key Engineering Materials*, 2014, 604, pp. 254–257, ISSN 1662-9795, DOI 10.4028/www.scientific.net/KEM.604.254 (SCOPUS).

11. I. Narkevica, J. Ozoliņš, L. Bērziņa-Cimdiņa. Effects of Surface Modification of Titania on In Vitro Apatite-Forming Ability. *Key Engineering Materials*, 2014, 604, pp. 196–199, ISSN 1662-9795, DOI 10.4028/www.scientific.net/KEM.604.196 (SCOPUS).
12. K. Rubenis, J. Ozoliņš, A. Pūra, J. Ločs, M. Reimanis, I. Narkevica, L. Bēziņa-Cimdiņa. **Impact of thermal treatment on the properties of TiO_2 ceramic obtained by extrusion**. *RTU Material Science and Applied Chemistry*, 2012/25, Riga, pp. 71–75, ISSN 1407-7353.

Dalība starptautiskās zinātniskās konferencēs

1. I. Narkevica, L. Stipniece, J. Ozolins. Design and characterization of hydroxyapatite/poly(vinyl alcohol) nanocomposite coated titania scaffolds for bone repair. *YUCOMAT 2016*, Herceg Novi, Montenegro, September 4–10, 2016.
2. I. Narkevica, J. Ozolins, I. Cakstina, I. Skadins. Fabrication and characterization of modified titanium dioxide scaffolds for bone tissue engineering. *9th annual meeting of the Scandinavian Society for Biomaterials*. Reykjavik, Iceland, June 1–3, 2016.
3. I. Narkevica, L. Bugovecka, L. Stradina, J. Ozolins, L. Berzina-Cimdina. Porous Titanium Dioxide Ceramic Scaffolds for Bone Tissue Regeneration. *LU Cietvielu fizikas institūta 32. zinātniskā konference*, Riga, Latvia, March 17–19, 2016.
4. I. Narkevica, L. Stipniece, J. Ozolins. Hydroxyapatite/poly(vinyl alcohol) nanocomposite coated TiO_2 scaffolds for bone tissue engineering. *40th International Conference and Exposition on Advanced Ceramics and Composites, ICACC 2016*, Daytona Beach, USA, January 25–29, 2016.
5. I. Narkevica, A. Reinis, L. Bugovecka, E. Sansonetti, J. Kroica, J. Ozolins. *In vitro* Bioactivity and Bacteriostasis Effect of Thermally Treated and UV-light Irradiated TiO_2 Ceramics. *24th International Baltic Conference ENGINEERING MATERIALS & TRIBOLOGY BALTMATTRIB*, Tallin, Estonia, November 5–6, 2015.
6. I. Narkevica, L. Stradina, L. Liepkaula, J. Ozolins. Development of innovative 3D porous TiO_2 ceramic scaffolds for orthopaedic applications. *The Eleventh Conference for Young Scientists in Ceramics*, Novi Sad, Serbia, October 21–24. 2015.
7. I. Narkevica, L. Stradina, L. Liepkaula, J. Ozolins. Preparation of Electroconductive Titania Scaffolds for Bone Tissue Regeneration. *27th European Conference on Biomaterials* Krakow, Poland, August 30–September 3, 2015.
8. V. Rjabovs, L. Stipniece, I. Juhnevica, I. Narkevica, K. Salma-Ancane, L. Berzina-Cimdina, M. Turks. Microstructured Polymer/Hydroxyapatite Composite Materials. *19th European Symposium of Organic Chemistry, ESOC 2015*, Lisbon, Protugal, July 12–16, 2015.
9. I. Narkevica, L. Bugovecka, J. Ozolins. *In vitro* bioactivity studies of thermally treated titanium dioxide ceramics. *Scandinavian Society for Biomaterials 8th Conference «Design of Biomaterials»*, Sigulda, Latvia, May 6–8, 2015.
10. I. Narkevica, J. Ozolins, L. Berzina-Cimdina. 3D porous titania ceramic scaffolds for bone tissue regeneration. Unified scientific approaches towards regenerative orthopaedics and dentistry (REDEOR), Venice, Italy, March 25–27, 2015.
11. I. Narkevica, L. Stradina, L. Bugovecka, J. Locs, J. Ozolins, L. Berzina-Cimdina. Enhanced in vitro apatite-forming ability of porous TiO_2 scaffolds. *26th Symposium and Annual Meeting of the International Society for Ceramics in Medicine (BIOCERAMICS 26)*, Barcelona, Spain, November 6–9, 2014.

12. L. Bugovecka, I. Narkevica, J. Ozoliņš, L. Bērziņa-Cimdiņa. Biomimētiska apatīta veidošanās uz titāna dioksīda virsmas simulētajā ķermeņa šķidrumā. *Cietvielu Fizikas institūta 30. zinātniskā konference*, Rīga, Latvija, 2014. gada 19–21. februāris.
13. I. Narkevica, L. Stradina, J. Ozolins, L. Berzina-Cimdina. Preparation and Characterization of Porous Titania Scaffolds for Bone Defect Regeneration. *Riga Technical University 55th International Scientific Conference*, Riga, Latvia, October 14–17, 2014.
14. I. Narkevica, J. Ozoliņš, L. Bērziņa-Cimdiņa. Effects of Surface Modification of Titania on In Vitro Apatite-Forming Ability; I. Narkevica, M. Reimanis, J. Ozoliņš, J. Kleperis, L. Bērziņa-Cimdiņa. Electrochemical Studies of Nonstoichiometric TiO_{2-x} Ceramic; N. Borodajenko, K. Rubenis, A. Pūra, I. Narkevica, E. Tamanis, Ņ. Mironova-Ulmane, J. Ozoliņš, L. Bērziņa-Cimdiņa Studies of TiO_2 Ceramics Structure after Thermal Treatment at Different Conditions. *BALTMATTRIB 2013: 22nd International Baltic Conference of Engineering Materials & Tribology,* Riga, Latvia, November 14–15, 2012.
15. I. Narkevica, J. Ozoliņš, D. Jakovļevs, L. Bērziņa-Cimdiņa. Sintering of Titania Ceramic and Bioactivity Assessment. *Riga Technical University 54th International Scientific Conference,* Riga, Latvia, October 14–16, 2013.
16. I. Narkevica, J. Ozoliņš, D. Jakovļevs, L. Bērziņa-Cimdiņa. Influence of Anatase Powder Particle Size on the Properties of Sintered TiO_2 Ceramics un L. Bērziņa-Cimdiņa, I. Narkevica, J. Ozoliņš, J. Kleperis, E. Sansonetti. Bulk and Surface Properties of Nonstoichiometric TiO_{2-x} Ceramic. *21th Annual International Conference on Composites/Nanoengineering (ICCE-21)*, Tenerife, Spain, July 21–27, 2013.
17. I. Narkevica, J. Ozolins, A. Pura, J. Kleperis, L. Berzina-Cimdina. Influence of Oxygen Nonstoichiometry (x) on Properties of TiO_{2-x} Ceramics. *13th International Conference of the European Ceramic Society,* Limoges, France, June 23–27, 2013.
18. A. Pūra, K. Rubenis, I. Narkevica, J. Ozoliņš, J. Ločs. Extrusion and Thermal Treatment of TiO_2 Ceramic for Various Applications. *Symposium «Bioceramics and Cells for Reinforcements of Bone»*, Riga, Latvia, October 18–20, 2012.
19. I. Narkevica, K. Rubenis, J. Ozolins, J. Locs, J. Kleperis. Investigations of electrical properties of titania ceramic. *Riga Technical University 53rd International Scientific Conference*, Riga, Latvia, October 10–12, 2012.
20. I. Narkevica, K. Rubenis, N. Borodajenko, J. Ozoliņš, L. Bērziņa-Cimdiņa, D. Jakovļevs, N. Mironova-Ulmane, I. Sildos. Structural studies of titanium oxide after thermal treatment. *International conference «Functional Materials and Nanotechnologies»*, Riga, Latvia, April 17–20, 2012.
21. I. Narkevica, K. Rubenis, J. Ozoliņš. Titāna oksīdus saturošas keramikas struktūras un īpašību pētījumi. *RTU 53. Studentu Zinātniskā un Tehniskā Konference,* Rīga, Latvija, 2012. gada 23–24. aprīlis.