

## ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

УДК 57.043:576.32

**ОСОБЕННОСТИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ *IN VITRO*  
ОСТЕОБЛАСТОПОДОБНЫХ КЛЕТОК MG-63 С ПОВЕРХНОСТЬЮ  
СПЛАВОВ СИСТЕМЫ Ti-Zr-Nb, ОБЛАДАЮЩИХ ПАМЯТЬЮ ФОРМЫ**

А.С. Солдатенко<sup>1,\*</sup>, М.А. Карачевцева<sup>1</sup>, В.А. Шереметьев<sup>2</sup>, А.А. Кудряшова<sup>2</sup>, А.Ю. Архипова<sup>3,4</sup>,  
В.А. Андреев<sup>5</sup>, С.Д. Прокошкин<sup>2</sup>, В. Браиловский<sup>6</sup>, М.М. Мойсенович<sup>3,\*</sup>, К.В. Шайтан<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Кафедра биоинженерии и <sup>3</sup>лаборатория конфокальной микроскопии, биологический факультет, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119234, г. Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12;

<sup>2</sup>Национальный исследовательский технологический университет «МИСиС», Россия, 119049, г. Москва, Ленинский проспект, д. 4;

<sup>4</sup>Московский областной научный клинический институт имени М.Ф. Владимирского, Россия, 129110, г. Москва, ул. Щепкина, д. 61/2;

<sup>5</sup>Институт металлургии и материаловедения имени А.А. Байкова РАН, Россия, 119334, г. Москва, Ленинский проспект, д. 49;

<sup>6</sup>Ecole de Technologie superieure, Canada, 1100, Montreal, Rue Notre-Dame Ouest, QC H3C 1K3  
\*e-mail: an.soldatencko@yandex.ru

В работе изучено влияние поверхности сплавов Ti-Zr-Nb (TZN) с памятью формы на адгезию, пролиферацию, выживаемость и организацию актинового цитоскелета остеобластоподобных клеток MG-63. Исследуемые материалы обладают уникальным сочетанием механических свойств, определяющих их перспективность при создании костных имплантатов с высокой биомеханической совместимостью: низкое значение модуля Юнга и сверхупругое поведение, схожее с поведением костной ткани. В работе использовали тонкие пластины экспериментального сплава TZN и медицинского сплава системы Ti-Al-Nb (TAN) в качестве контрольного. Проведено исследование динамики роста культуры клеток MG-63 с использованием МТТ-теста и подсчета количества ядер на единицу площади. Обнаружено, что на 4-е и 7-е сут количество клеток на сплаве TZN выше, чем на сплаве TAN. Это может быть обусловлено влиянием качественного и количественного состава материалов на микроструктуру и химию поверхности. Доля живых клеток на протяжении времени культивирования на обоих сплавах была близка к 100%. Анализ изображений цитоскелета показал преобладание фибриллярного актина на образцах системы TZN, а также выявил организацию, или структуру, характерную для клеток фибробластоподобной полигональной формы.

**Ключевые слова:** остеобластоподобные клетки MG-63, титановые сплавы с памятью формы, поверхность сплавов, термомеханическая обработка, радиально-сдвиговая прокатка, ротационная ковка

За последнее десятилетие возросло количество работ, посвященных исследованию метастабильных безникелевых сплавов с памятью формы (СПФ) на основе системы Ti-Zr-Nb (TZN) [1]. Титан (Ti) не участвует в метаболических путях и, как следствие, не препятствует нормальному восстановлению поврежденной ткани. Ниобий (Nb) и цирконий (Zr) — безопасные для организма элементы, о чем свидетельствуют результаты исследования их цитотоксичности и аллергенности [2].

СПФ обладают низким значением модуля Юнга, характеризующего способность материала сопротивляться растяжению или сжатию при упругой деформации — примерно 40–60 ГПа, что близко к такой характеристике для кортикального слоя кости (до 30 ГПа) [3]. Кроме того, благодаря обратимому мартенситному превращению  $\beta \leftrightarrow \alpha''$ , эти сплавы проявляют сверхупругость, то есть способны после больших деформаций (2–6%) восстанавливать близкую к исходной форму (с малой остаточной деформацией) после

снятия нагрузки. Из-за уникальной комбинации свойств, а также отсутствия в составе токсичных компонентов (в частности, никеля [4]), сплавы титана с цирконием и ниобием рассматриваются как наиболее перспективные материалы для изготовления костных имплантатов, применяемых в ортопедии, в частности, балок для систем транспедикулярной фиксации позвоночника.

Эффективным инструментом для управления структурно-фазовым состоянием подобных сплавов является термомеханическая обработка [5]. Она позволяет получить требуемые заготовки для изготовления имплантатов и обеспечить наилучшее сочетание механических и функциональных свойств этих заготовок путем формирования структуры материала. Известно, что комбинированная высокотемпературная термомеханическая обработка, включающая сочетание радиально-сдвиговой прокатки [6] и ротационнойковки позволяет создать высококачественные длинномерные прутковые заготовки из СПФ TZN с однородной внутренней структурой [7].

Восстановление костной ткани вокруг имплантата включает два процесса: дистантный остеогенез, при котором кость формируется со

гового перепада с расходуемым электродом. Полученный слиток подвергали горячему изостатическому прессованию при температуре 900 °С и давлении 100 МПа в течение 2 ч. После обточке слиток диаметром 55 мм подвергли радиально-сдвиговой прокатке до прутка диаметром 12 мм при температуре 900 °С, которую осуществляли в условиях научно-производственного центра кафедры обработки металлов давлением национального исследовательского технологического университета «МИСиС» на мини-станах «14-40» и «10-30». Далее полученные прутки на базе промышленного центра «МАТЭК-СПФ» ковали на ротационно-ковочной машине РКМ-2 до диаметра 6,5 мм таким образом, что основная часть деформации производилась при температуре 600 °С, а заключительные 30% относительной деформации осуществляли при комнатной температуре. Завершающими операциями по подготовке прутка были правка и шлифовка до требуемого диаметра 6 мм. Для формирования полигонизованной субструктуры  $\beta$ -фазы с размером субзерен в нано- и субмикродиапазоне проводили последеформационный отжиг при 550 °С в течение 30 мин с последующим охлаждением в воде [10, 11]. В качестве материала для сравнения был вы-

Таблица

Химический состав исследуемых материалов системы Ti-Zr-Nb (TZN) и Ti-Al-Nb (TAN)

| Сплав | Содержание элементов в массовых процентах |      |      |     |      |      |       |       |
|-------|-------------------------------------------|------|------|-----|------|------|-------|-------|
|       | Ti                                        | Zr   | Nb   | Al  | O    | C    | N     | H     |
| TZN   | 51,22                                     | 28,0 | 20,7 | —   | 0,05 | 0,01 | <0,01 | <0,01 |
| TAN   | 86,89                                     | —    | 7,1  | 5,8 | 0,18 | 0,01 | <0,01 | <0,01 |

стороны здоровой ткани, и контактный, происходящий *de novo* на поверхности конструкции. Для последнего типа очень важны структурные и физико-химические свойства поверхности имплантата, которые влияют на адгезию, пролиферацию, выживаемость и дифференцировку клеток [8].

Целью данной работы стало изучение биосовместимости и свойств поверхности, сформированной на сплаве системы TZN, в экспериментах *in vitro* с остеобластоподобными клетками MG-63. Были исследованы адгезия, пролиферация, выживаемость и морфология цитоскелета клеток, культивируемых на образцах в виде пластин из материала системы TZN и медицинского титанового сплава TAN (Ti-Al-Nb) в качестве контроля.

### Материалы и методы

**Получение образцов титанового сплава.** Слиток сплава TZN получали методом вакуумно-ду-

бран сплав TAN в виде прутков диаметром 5,5 мм медицинского назначения в соответствии с ASTM (American Society for Testing and Materials) F-1295-11. Химический состав изучаемых материалов представлен в таблице. Для исследований из прутков нарезали образцы в виде таблеток толщиной 1,5 мм. Поверхность полученных образцов подвергали механической шлифовке на абразивной бумаге с величиной зернистости от 320 до 1200. Финишную подготовку поверхности производили с помощью шлифовальных галтовочных абразивных материалов (RFS 03/03 DZ) на центробежной роторной машине ОТЕС в компании «КОНМЕТ» (Россия), производящей медицинские изделия из сплавов титана. Оценку морфологии поверхности сплавов проводили методами оптической микроскопии и измерения шероховатости (параметр  $R_a$ ) с применением контактного профилометра. Полученные результаты свидетельствуют о том, что образцы имеют одинаковый микрорельеф и шероховатость

( $R_a=0,19-0,21$  мкм).

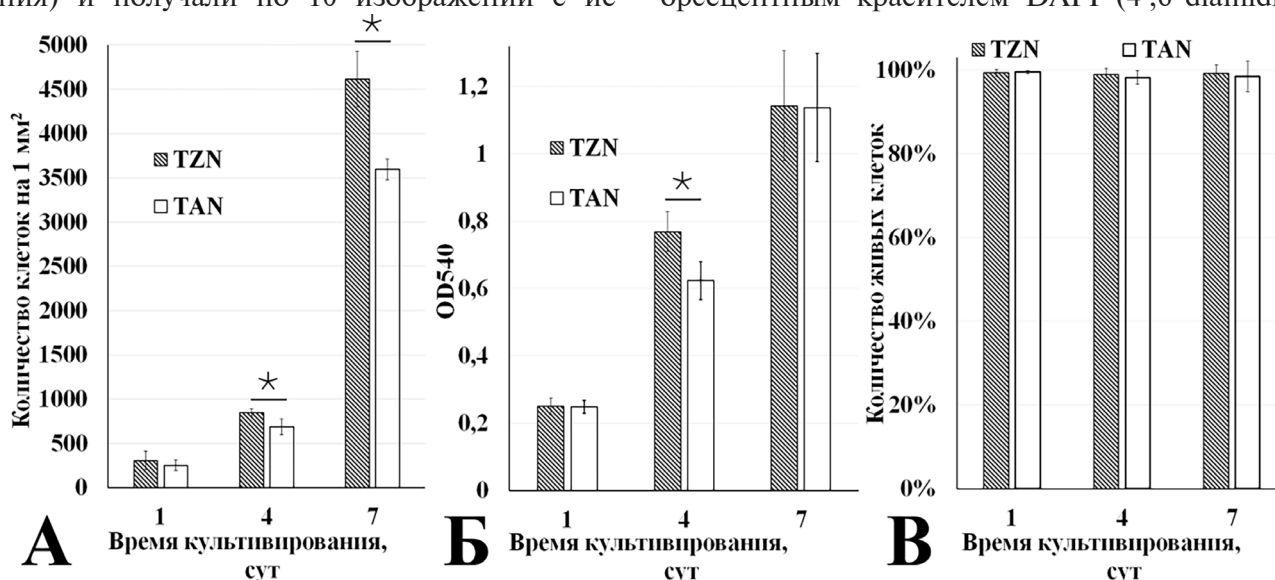
**Культирование остеобластоподобных клеток MG-63 и исследование их взаимодействия с поверхностью пластин из титановых сплавов.** В эксперименте использовали непрерывную клеточную линию MG-63 (ATCC® CRL1427™). Клетки получены из остеосаркомы человека и в ответ на внешние сигналы способны к остеогенной дифференцировке.

Образцы из титановых сплавов стерилизовали в течение 10 ч в 70%-ном этиловом спирте, после чего переносили их в лунки 48-луночного планшета со средой EMEM (Eagles Minimum Essential Medium; Lonza, Бельгия) и инкубировали 30 мин. По завершении инкубации заменяли среду в лунках с пластинами на свежую. Процедуру повторяли три раза. Затем помещали образцы в среду EMEM, содержащую 10% эмбриональной телячьей сыворотки (HyClone, США) и 1% добавки NEAA (Non-Essential Amino Acids; Lonza, Бельгия) и инкубировали в течение 1 ч. После этого среду из лунок удаляли, вносили по 700 мкл суспензии MG-63 в среде EMEM с 10% эмбриональной телячьей сыворотки и 1% NEAA, содержащей 15 000 клеток/мл, и культивировали клетки на поверхности пластин. Инкубацию и культивирование клеток проводили при 37 °C в атмосфере с 5% CO<sub>2</sub>.

Для исследования динамики роста клеток на 1-е, 4-е и 7-е сут часть образцов фиксировали 4%-ным параформальдегидом (Sigma-Aldrich, Германия) и изучали методом сканирующей микроскопии: выявляли ядра клеток флуоресцентным красителем DAPI (Sigma-Aldrich, Германия) и получали по 10 изображений с ис-

пользованием инвертированного микроскопа Eclipse Ti-E с конфокальным модулем A1 (Nikon Corporation, Япония). Подсчет количества ядер производили в приложении NIS-Elements Nikon. Часть образцов использовали для проведения МТТ-теста. Для этого на 1-е, 4-е и 7-е сут вносили в лунки с образцами, содержащие 700 мкл полной культуральной среды, по 70 мкл раствора МТТ (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) в фосфатно-солевом буфере (5 мг/мл) и инкубировали в течение 4 ч. После этого образцы переносили в ДМСО (диметилсульфоксид; Sigma-Aldrich, Германия) объемом 300 мкл, при аккуратном суспендировании растворяли кристаллы образовавшегося формазана, отбирали супернатант и проводили колориметрические измерения при длине волны 540 нм. Для оценки жизнеспособности использовали метод сканирующей микроскопии. Живые клетки выявляли Syto 9 (Invitrogen, США), инкубируя образцы в 5 мкМ растворе красителя в среде EMEM без сыворотки в течение 1 ч; для возбуждения флуоресценции использовали лазер с длиной волны 488 нм, регистрировали ее в интервале 500–550 нм. Мертвые клетки выявляли по окрашиванию ядер йодидом пропидия (Sigma-Aldrich, Германия): образцы инкубировали 15 мин в среде EMEM без сыворотки с 4 мкМ пропидия йодида; для возбуждения флуоресценции использовали лазер с длиной волны 532 нм, регистрировали ее в интервале 570–620 нм.

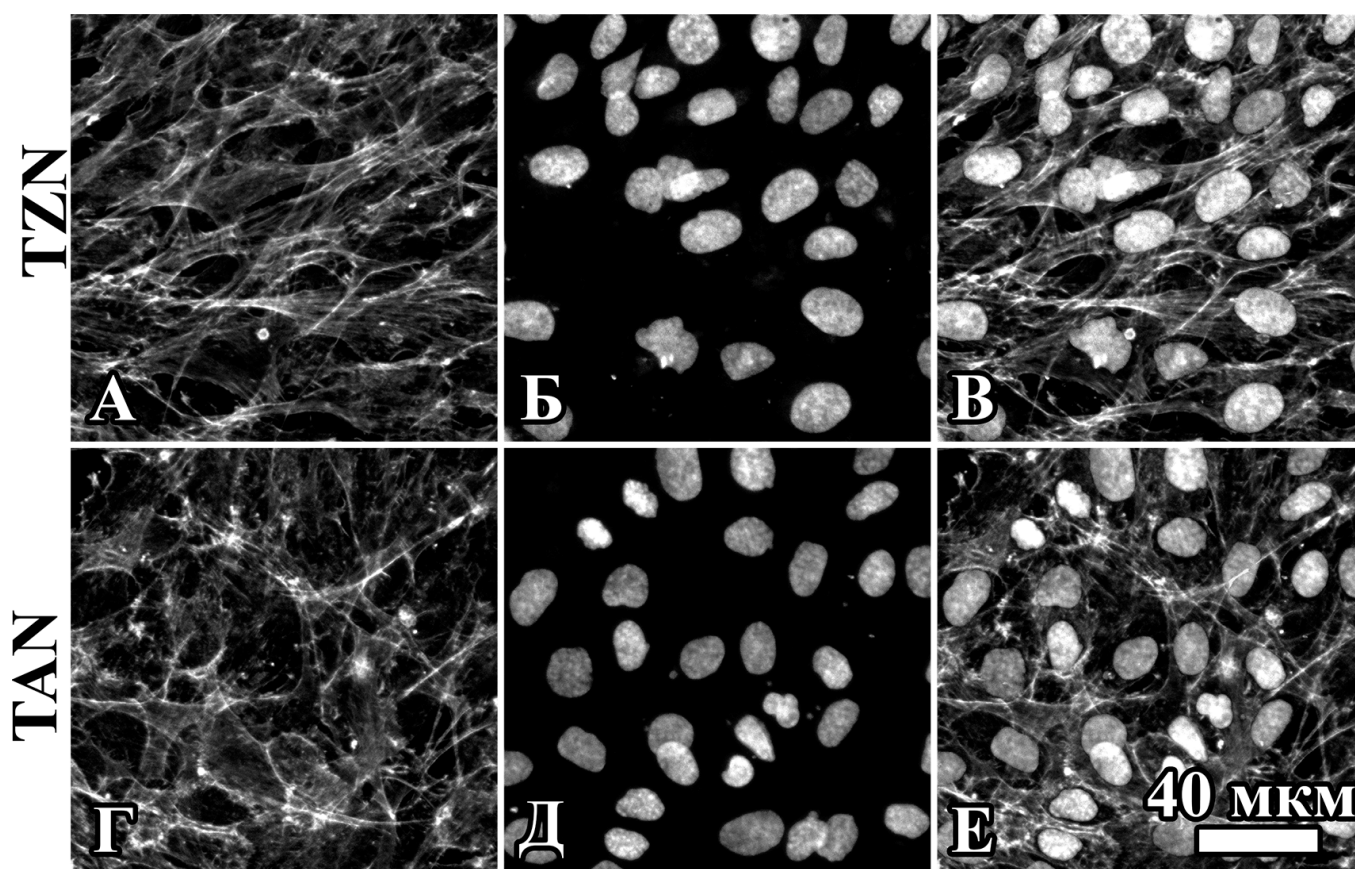
На 4-е сут образцы фиксировали 4%-ным параформальдегидом и изучали организацию цитоскелета клеток: выявляли ядра клеток флуоресцентным красителем DAPI (4',6-diamidino-



**Рис. 1.** Взаимодействие остеобластоподобных клеток MG-63 с поверхностью сплавов системы Ti-Zr-Nb (TZN) и Ti-Al-Nb (TAN). А и Б – динамика роста и метаболической активности клеток MG-63 на поверхности образцов: А – результаты количественного подсчета ядер с применением метода сканирующей микроскопии, Б – результаты МТТ-теста. В – Доля живых клеток MG-63 на поверхности экспериментальных образцов (% от общего количества). \* –  $p < 0,05$

2-phenylindole), инкубируя образцы в течение 5 мин в 300 нМ растворе красителя в фосфатно-солевом буфере; для возбуждения флуоресценции использовали лазер с длиной волны 408

могут отрицательно повлиять на остеоинтеграцию биомедицинской конструкции [12]. Варьирование качественного и количественного состава сплавов на основе титана позволяет создать



**Рис. 2.** Изображения остеобластоподобных клеток MG-63, культивируемых на поверхности сплавов системы Ti-Zr-Nb (TZN) и Ti-Al-Nb (TAN), полученные методом сканирующей микроскопии. Верхний ряд – изображения культуры на поверхности сплава TZN, нижний – на поверхности сплава TAN. А и Г – актиновый цитоскелет, выявленный флуоресцентным красителем фаллоидин-Alexa488; Б и Д – ядра, выявленные флуоресцентным красителем DAPI; В и Е – наложение каналов.

нм, регистрировали ее в интервале 425–457 нм. Актиновый цитоскелет выявляли флуоресцентным красителем фаллоидин-Alexa488 (Invitrogen, США), инкубируя образцы 20 мин в 300 нМ растворе красителя в фосфатно-солевом буфере; для возбуждения флуоресценции использовали лазер с длиной волны 488 нм, регистрировали ее в интервале 500–550 нм. Получали по 10 изображений с использованием инвертированного микроскопа Eclipse Ti-E с конфокальным модулем A1 (Nikon Corporation, Япония). Анализ полученных изображений производили в приложении NIS-Elements Nikon.

### Результаты и обсуждение

Последние 40 лет титан остается эталонным материалом для изготовления костных имплантатов. Он практически не вредит организму, однако его физико-химические характеристики

материал, обеспечивающий наилучшее взаимодействие имплантата с клетками и тканями, что повышает эффективность его использования в остеопластике.

Оценку динамики роста остеобластоподобных клеток MG-63 на поверхности образцов титановых сплавов проводили на 1-е, 4-е и 7-е сут культивирования. Применяли два метода: МТТ-тест, данные которого отражают суммарную активность оксидоредуктаз, а также подсчет количества ядер на единицу площади поверхности (рис. 1). На образцах не выявлены признаки клеточной гибели (рис. 2). В противном случае следовало бы говорить о нарушениях адгезии остеобластоподобных клеток на подложке. Аномальная морфология ядра в сочетании с нехарактерной для культуры морфологией цитоскелета и «вспениванием» краев клетки свидетельствуют о прохождении аноиксиса – частного случая апоптоза,

вызванного неправильной адгезией, в том числе к неподходящему субстрату [13].

Анализ данных подсчета ядер показал увеличение их количества на 4-е и 7-е сут для обоих сплавов (рис. 1, А). Достоверное отличие численности клеток на 1-е сут не обнаружено, однако при дальнейшем культивировании количество ядер на единицу площади для образца TZN оказалось больше, чем на контрольном образце TAN. На жизнедеятельность клетки влияет участие элементов сплава в метаболизме [14], его механические свойства [15] и наличие оксидных пленок [16]. Различие используемых в работе материалов состоит в легирующих компонентах. Так, примесные элементы в составе сплава TZN относятся к бета-стабилизаторам, обеспечивающим устойчивость фазы с кубической кристаллической решеткой. В состав сплава TAN примерно в одинаковых количествах входят как бета-стабилизатор ниобий, так и альфа-стабилизатор алюминий, из-за чего микроструктура материала включает в себя кластеры с кубической бета- и гексагональной альфа-структурой и становится более неоднородной [17]. Таким образом, при шлифовке участки поверхности TAN будут отличаться по своим физическим свойствам. В ходе комбинированной термомеханической обработки, включающей радиально-сдвиговую прокатку и ротационную ковку, происходит измельчение и выравнивание по сечению заготовки ее кристаллической структуры [7], а последующий последеформационный отжиг способствует формированию субзерен размером 50–200 нм [4]. Это может быть причиной различия в численности клеток, культивируемых на поверхности исследуемых сплавов. Показано, что остеобласты и остеобластоподобные клетки чувствительны к нанорельефу подложки и лучше пролиферируют на гладкой поверхности [18]. Также возможно отрицательное воздействие алюминия в сплаве TAN. Несмотря на образование защитной оксидной пленки некоторое количество ионов металла выходит с поверхности материала, что может угнетать рост клеток [18]. Это обусловлено способностью алюминия образовывать комплексные соединения с белками и снижать их активность. Другой фактор — антагонизм этого металла по отношению к кальцию, фосфору, магнию и другим элементам, играющим важную роль в физиологии клеток кости. Кроме того, алюминий нарушает процессы фосфорилирования, что негативно сказывается на метаболизме [19]. Полученные результаты подтверждаются данными МТТ-теста (рис. 1, Б): на 4-е сут сигнал для сплава TZN выше, чем для контрольного TAN. Тест LIVE/DEAD показал,

что на протяжении всех 7 сут культивирования доля живых клеток MG-63 близка к 100% (рис. 1, В).

На 4-е сут культивирования было проведено исследование морфологии цитоскелета (рис. 2), по которой можно судить о влиянии механики подложки на живую систему [20], а также предполагать наличие ее остеоиндуктивных свойств [21]. Актиновый цитоскелет клеток на сплаве TZN представлен ярко выраженными фибриллами, пересекающими клетку в различных направлениях (рис. 2, А). Также есть области цитоплазмы, содержащие глобулярный белок. При долговременном культивировании оценить форму и площадь клеток оказалось невозможно, однако организация цитоскелета характерна для мигрирующих клеток полигональной формы ч [21]. На образце TAN выявлены значительное количество глобулярного актина и слабо выраженные фибриллы по краям клетки (рис. 2, Г). Для культуры, претерпевающей остеогенную дифференцировку, характерна полигональная фибробластоподобная форма клеток, а также хорошо различимые длинные стресс-фибриллы продольного направления [23]. Важную роль в физиологии клетки играют процессы образования прочных контактов с субстратом и следующие за ними метаболические изменения — явление механотрансдукции. Так, взаимодействие с поверхностью сплава TZN вызывает перестройки актинового цитоскелета, косвенно указывающие на остеоиндуктивность материала. Это может объясняться повышенным (примерно в три раза) содержанием ниобия. Показано, что этот металл способствует дифференцировке клеток в остеогенном направлении, причем с увеличением его концентрации эффект усиливается [24]. Подобными свойствами обладает и оксид циркония, содержащийся в сплаве TZN [25]. Еще одним объяснением может являться разная концентрация в сплавах легирующих компонентов: в образце TZN их содержание по массе практически равно содержанию титана; в случае TAN основной металл составляет более 80%. С ростом доли примесей механические характеристики титановых сплавов для биомедицинских конструкций улучшаются, в частности, уменьшается величина модуля Юнга, что способствует лучшей адгезии клеток [12].

Таким образом, полученные данные показывают, что свойства поверхности сплава TZN обеспечивают нормальную жизнедеятельность культуры MG-63 и вызывают перестройку актинового цитоскелета по типу мигрирующих фибробластов. Сравнительное исследование показало перспективность новой системы для из-

готовления костных имплантатов для ортопедии.

Настоящая работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации: Соглашение о предоставлении субсидии №14.575.21.0158 от 26 сентября 2017 г. (уникальный идентификатор RFMEFI57517X0158).

Работа выполнена с использованием оборудования, приобретенного за счет средств Программы развития Московского университета и

на оборудовании центра коллективного пользования Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ.

Исследования выполнены без использования животных и без привлечения людей в качестве испытуемых. Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Kim H.Y., Fu J., Tobe H., Kim J.I., Miyazaki S. Shape memory and superelasticity // *Shape Mem. Superelasticity*. 2015. Vol. 1. N 2. P. 107–116.
2. Niinomi M., Boehlert C.J. *Advances in metallic biomaterials*. Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2015. 348 pp.
3. Rho J.Y., Ashman R.B., Turner C.H. Young's modulus of trabecular and cortical bone material: ultrasonic and microtensile measurements // *J. Biomech.* 1993. Vol. 26. N 2. P. 111–119.
4. Magaye R., Zhao J., Bowman L., Ding M. Genotoxicity and carcinogenicity of cobalt-, nickel- and copper-based nanoparticles // *Exp. Ther. Med.* 2012. Vol. 4. N 4. P. 551–561.
5. Prokoshkin S., Brailovski V., Dubinskiy S., Zhukova Y., Sheremetyev V., Konopatsky A., Inaekyan K. Manufacturing, structure control, and functional testing of Ti–Nb-based SMA for medical application // *Shape Mem. Superelasticity*. 2016. Vol. 2. N 2. P. 130–144.
6. Galkin S.P. Trajectory of deformed metal as basis for controlling radially shifted and screw rolling // *Steel Transl.* 2004. Vol. 7. P. 63–67.
7. Sheremetyev V., Kudryashova A., Cheverikin V., Korotitskiy A., Galkin S., Prokoshkin S., Brailovski V. Hot radial shear rolling and rotary forging of metastable beta Ti-18Zr-14Nb (at.%) alloy for bone implants: microstructure, texture and functional properties // *J. Alloys Compd.* 2019. Vol. 800. P. 320–326.
8. Novaes Jr. A.B., de Souza S.L.S., de Barros R.R.M., Pereira K.K.Y., Iezzi G., Piattelli A. Influence of implant surfaces on osseointegration // *Braz. Dent. J.* 2010. Vol. 21. N 6. P. 471–481.
9. Cvijovic-Alagic I., Cvijovic Z., Bajat J., Rakin M. Composition and processing effects on the electrochemical characteristics of biomedical titanium alloys // *Corros. Sci.* 2014. Vol. 83. P. 245–254.
10. Sheremetyev V., Brailovski V., Prokoshkin S., Inaekyan K., Dubinskiy S. Functional fatigue behavior of superelastic beta Ti-22Nb-6Zr (at%) alloy for load-bearing biomedical applications // *Mater. Sci. Eng. C*. 2016. Vol. 58. P. 935–944.
11. Sheremetyev V., Kudryashova A., Dubinskiy S., Galkin S., Prokoshkin S., Brailovski V. Structure and functional properties of metastable beta Ti-18Zr-14Nb (at.%) alloy for biomedical applications subjected to radial shear rolling and thermomechanical treatment // *J. Alloys Compd.* 2018. Vol. 737. P. 678–683.
12. Chen S., Guo Y., Liu R., Wu S., Fang J., Huang B., Li Z., Chen Zh., Chen Z. Tuning surface properties of bone biomaterials to manipulate osteoblastic cell adhesion and the signaling pathways for the enhancement of early osseointegration // *Colloid Surface B*. 2018. Vol. 164. P. 58–69.
13. Nabavi N., Khandani A., Camirand A., Harrison R.E. Effects of microgravity on osteoclast bone resorption and osteoblast cytoskeletal organization and adhesion // *Bone*. 2011. Vol. 49. N. 5. P. 965–974.
14. Hentze M.W., Muckenthaler M.U., Galy B., Camaschella C. Two to tango: regulation of mammalian iron metabolism // *Cell*. 2010. Vol. 142. N. 1. P. 24–38.
15. Györgyey Á., Ungvári K., Kecskeméti G., Kopniczky J., Hopp B., Oszkó A., Pelsöczy I., Rakonczay Z., Nagy K., Turzó K. Attachment and proliferation of human osteoblast-like cells (MG-63) on laser-ablated titanium implant material // *Mater. Sci. Eng. C*. 2013. Vol. 33. N. 7. P. 4251–4259.
16. Al-Mobarak N.A., Al-Swayih A.A., Al-Rashoud F.A. Corrosion behavior of Ti-6Al-7Nb alloy in biological solution for dentistry applications // *Int. J. Electrochem. Sci.* 2011. Vol. 6. N 6. P. 2031–2042.
17. Mouseev B.H. Бета-титановые сплавы и перспективы их развития // *МиТОМ*. 1998. Т. 1. № 12. P. 11–14.
18. Anselme K., Linez P., Bigerelle M., Le Maguer D., Le Maguer A., Hardouin P., Hildebrand H.F., Iost A., Leroy J.M. The relative influence of the topography and chemistry of TiAl6V4 surfaces on osteoblastic cell behaviour // *Biomaterials*. 2000.

Vol. 21. N 15. P. 1567–1577.

19. Шугалей И.В., Гарабаджиу А.В., Илюшин М.А., Сударигов А.М. Некоторые аспекты влияния алюминия и его соединений на живые организмы // Экол. хим. 2012. Т. 21. № 3. С. 168–172.

20. Bonartsev A., Zharkova I., Yakovlev S., et al. 3D-scaffolds from poly(3-hydroxybutyrate) poly(ethylene glycol) copolymer for tissue engineering // J. Biomater. Tissue Eng. 2016. Vol. 6. N 1. P. 42–52.

21. Ozdemir T., Higgins A.M., Brown J.L. Osteoinductive biomaterial geometries for bone regenerative engineering // Curr. Pharm. Des. 2013. Vol. 19. N. 19. P. 3446–3455.

22. Goncharenko A., Malyuchenko N., Moisenovich A., Kotlyarova M., Arkhipova A., Kon'kov A., Agapov I., Molochkov A., Moisenovich M., Kirpichnikov M. Changes in morphology of actin filaments and

expression of alkaline phosphatase at 3D cultivation of MG-63 osteoblast-like cells on mineralized fibroin scaffolds // Dokl. Biochem. Biophys. 2016. Vol. 470. N 1. P. 368–370.

23. Rottmar M., Lischer S., Pleskova M., Bruinink A., Maniura-Weber K. Correlating cell architecture with osteogenesis: first steps towards live single cell monitoring // Eur. Cells Mater. 2009. Vol. 18. N 18. P. 59–62.

24. Maya A.E.A., Grana D.R., Hazarabedian A., Kokubu G.A., Luppo M.I., Vigna G. Zr-Ti-Nb porous alloys for biomedical application // Mater. Sci. Eng. C. 2012. Vol. 32. N 2. P. 321–329.

25. Sollazzo V., Palmieri A., Pezzetti F., Bignozzi C.A., Argazzi R., Massari L., Brunelli G., Carinci F. Genetic effect of zirconium oxide coating on osteoblast-like cells // J. Biomed. Mater. Res. – Part B Appl. Biomater. 2008. Vol. 84. N 2. P. 550–558.

Поступила в редакцию 08.07.2019 г.

После доработки 10.09.2019 г.

Принята в печать 17.09.2019 г.

## RESEARCH ARTICLE

### THE INTERACTION PECULIARITIES IN VITRO OF OSTEOBLAST-LIKE CELLS MG-63 WITH SURFACE OF Ti-Zr-Nb SHAPE MEMORY ALLOY

A.S. Soldatenko<sup>1,\*</sup>, M.A. Karachevtseva<sup>1</sup>, V.A. Sheremetyev<sup>2</sup>, A.A. Kudryashova<sup>2</sup>, A.Yu. Arkhipova<sup>3,4</sup>, V.A. Andreev<sup>5</sup>, S.D. Prokoshkin<sup>2</sup>, V. Brailovski<sup>6</sup>, M.M. Moisenovich<sup>3,\*</sup>, K.V. Shaitan<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Bioengineering and <sup>3</sup>Laboratory of Confocal Microscopy, Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University, Leninskiye Gory, Moscow, 119234, Russia;

<sup>2</sup>National Research Technological University «MISiS», Leninsky Prospekt 4, Moscow, 119049, Russia;

<sup>4</sup>M.F. Vladimirsky Moscow Regional Research and Clinical Institute «MONIKI», Schepkina ul. 61/2, Moscow, 129110, Russia;

<sup>5</sup>A.A. Baikov Institute of Metallurgy and Materials Science, Russian Academy of Sciences, Leninsky Prospekt 49, Moscow, 119334, Russia;

<sup>6</sup>Ecole de Technologie Supérieure, 1100 Rue Notre-Dame Ouest, Montréal, QC H3C 1K3, Canada  
\*e-mail: an.soldatencko@yandex.ru

The paper studies the influence of the Ti-Zr-Nb (TZN) shape memory alloys surface on adhesion, proliferation, viability and actin cytoskeleton organization of osteoblast-like cells MG-63. The studied materials have a unique combination of mechanical properties that determine their prospects for creating bone implants with high biomechanical compatibility: low value of the Young's modulus and superelastic behavior, similar to the behavior of bone tissue. We used thin plates of the experimental alloy TZN and the Ti-Al-Nb medical alloy (TAN) as a control material. A study of the growth dynamics of the MG-63 cell culture was made using the MTT test and counting the number of nuclei per unit area using scanning microscopy. It was found that on 4 and 7 days the number of cells on the TZN alloy is higher than on the TAN alloy. This may be due to the influence of the qualitative and quantitative composition of materials on the surface microstructure and chemistry. The viability over the

cultivation time was close to 100% on both alloys. The analysis of cytoskeleton images showed the predominance of fibrillary actin on samples of the TZN system, as well as the organization characteristic of fibroblast-like polygonal cells.

**Keywords:** *costeoblast-like cells MG-63, titanium shape memory alloys, alloys surface, thermomechanical treatment, radial shear rolling, rotary forging*

#### **Сведения об авторах**

*Солдатенко Анна Сергеевна* — студент кафедры биоинженерии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-13-65; e-mail: [an.soldatencko@yandex.ru](mailto:an.soldatencko@yandex.ru)

*Карачевцева Маргарита Алексеевна* — студент кафедры биоинженерии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-13-65; e-mail: [margarita.karachevtseva@gmail.com](mailto:margarita.karachevtseva@gmail.com)

*Шереметьев Вадим Алексеевич* — канд. тех. наук, ст. науч. сотр., доцент кафедры обработки металлов давлением НИТУ «МИСиС». Тел.: 8-495-638-44-05; e-mail: [sheremetyev@misis.ru](mailto:sheremetyev@misis.ru)

*Кудряшова Анастасия Александровна* — аспирант НИТУ «МИСиС», инженер Научно-образовательного Центра «Наноматериалов и нанотехнологий» НИТУ «МИСиС». Тел.: 8-495-955-00-32; e-mail: [kudryashova@misis.ru](mailto:kudryashova@misis.ru)

*Архипова Анастасия Юрьевна* — канд. биол. наук, вед. науч. сотр. лаборатории конфокальной микроскопии биологического факультета МГУ, ст. науч. сотр. научно-исследовательской лаборатории ГБУЗ МО «МОНИКИ имени М.Ф. Владимирского». Тел.: 8-495-939-13-65; e-mail: [anastasia-yu-arkhipova@yandex.ru](mailto:anastasia-yu-arkhipova@yandex.ru)

*Андреев Владимир Александрович* — канд. техн. наук, ст. науч. сотр. лаборатории пластической деформации металлических материалов ИМЕТ РАН. Тел.: 8-499-135-86-51; e-mail: [andreev.icmateks@gmail.com](mailto:andreev.icmateks@gmail.com)

*Прокошкин Сергей Дмитриевич* — докт. физ.-мат. наук, проф., гл. науч. сотр. кафедры обработки металлов давлением НИТУ «МИСиС». Тел.: 8-495-638-44-05; e-mail: [prokoshkin@tmo.misis.ru](mailto:prokoshkin@tmo.misis.ru)

*Браиловский Владимир* — канд. техн. наук, проф. Высшей технологической школы. Тел.: +1-514-396-85-94; e-mail: [vbrailovski@mec.etsmtl.ca](mailto:vbrailovski@mec.etsmtl.ca)

*Мойсенович Михаил Михайлович* — канд. биол. наук, зав. лабораторией конфокальной микроскопии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-13-65; e-mail: [mtoisenovich@mail.ru](mailto:mtoisenovich@mail.ru)

*Шайтан Константин Вольдемарович* — докт. физ.-мат. наук, проф. кафедры биоинженерии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-23-74; e-mail: [shaytan49@yandex.ru](mailto:shaytan49@yandex.ru)