

# 紫外光照射纳米钛表面生物抗老化的体外研究

闵曦<sup>1,2</sup> 夏荣<sup>1</sup> 孙磊<sup>1</sup> 徐基亮<sup>1</sup> 孙子环<sup>1</sup>

**摘要** 目的 研究紫外光照射对老化 TiO<sub>2</sub> 纳米管表面理化性质和生物活性的影响。方法 两步阳极氧化后的钛片避光保存 8 周,使其充分老化,紫外光照射 48 h;利用场发射扫描电镜(FESEM)、X 射线光电子能谱(XPS)、接触角测量仪分析新鲜、老化及紫外光照射组钛片表面微观结构、化学元素和接触角变化;以小鼠骨髓未分化间充质干细胞(MSCs)为细胞株,检测各组钛表面对细胞黏附、增殖及分化的影响,评价各组间生物学差异。结果 FESEM 显示紫外光照射未改变钛表面 TiO<sub>2</sub> 纳米管形态,XPS 结果显示老化组表面 C 元素含量显著增高,经紫外光照射后恢复到新鲜组水平,接触角检测显示老化组表面呈疏水性,紫外光照射组表面成超亲水性。体外细胞学实验显示,紫外光照射后钛表面有利于细胞黏附、增殖和分化。结论 紫外光照射可去除钛表面碳氢化合物污染,提高表面亲水性,延缓时间因素造成的 TiO<sub>2</sub> 纳米管表面的生物活性降低。

**关键词** TiO<sub>2</sub> 纳米管;阳极氧化;紫外光催化;亲水性;骨髓基质干细胞

中图分类号 R 783.1

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2015)01-0037-05

钛及钛合金因具有良好的生物相容性被广泛运用于骨种植领域。围绕骨种植体表面的纳米化改性作为提高种植体骨整合能力的有效手段被广泛研究。研究<sup>[1]</sup>证实运用阳极氧化法在钛表面制备出三维有序的 TiO<sub>2</sub> 纳米管,提高了种植体表面生物学活性。钛表面随时间增加而出现生物活性降低的现象被称为钛老化<sup>[2]</sup>。紫外光照射可引发 TiO<sub>2</sub> 表面光催化反应,分解表面有机物,提高材料亲水性<sup>[3]</sup>。该研究对充分老化的 TiO<sub>2</sub> 纳米管表面进行紫外光照射,通过对表面元素含量及接触角的分析探讨照射前后材料表面理化性质的改变,并评价不同表面对小鼠骨髓未分化间充质干细胞(mouse bone mar-

row mesenchymal stem cells, MSCs) 黏附、增殖、分化的影响,为延缓并提高老化钛表面生物活性提供新的方法。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

**1.1.1 主要材料** 商业纯钛片直径为 12 mm,厚度为 0.25 mm,纯度 99.99%(北京中金研新材料科技有限公司);碳化硅金相砂纸(苏州百威抛光材料有限公司);丙酮(北京化学试剂厂);乙二醇(上海苏懿化学试剂有限公司);无水乙醇(国药集团化学试剂有限公司);氟化铵(国药集团化学试剂有限公司);MSCs(上海晶旷生物科技有限公司);DMEM 培养基(美国 Gibco 公司);CCK-8 细胞增殖-毒性检测试剂盒(日本同仁化学研究所);碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, AKP) 检测试剂盒(南京建成生物工程研究所);0.1% Triton X-100 细胞裂解液(上海君瑞生物技术有限公司)。

**1.1.2 主要仪器** 场发射扫描电镜(FESEM,美国 FEI 公司);X 射线光电子能谱(XPS,美国 Thermo 公司);SL200B 接触角检测仪(上海梭伦信息科技有限公司);KQ-400KDE 高功率数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);KD-BN 高精密度电子天平(福州科迪电子有限公司);生物安全柜(苏州金净化设备科技有限公司);二氧化碳孵育箱(美国 Thermo 公司);WD 72 倒置显微镜(日本 Olympus 公司);HDL-4 数显医用离心机(深圳瑞鑫达科教仪器有限公司);酶标仪(美国 BIO-TEK 公司)。15 W 紫外光灭菌灯(荷兰 Philips 公司)

### 1.2 方法

**1.2.1 钛片抛光及 TiO<sub>2</sub> 纳米管的制备** 钛试件经 800#~7000#碳化硅金相砂纸逐级打磨抛光至镜面效果。丙酮、无水乙醇、去离子水依次超声清洗 15 min。取 1.5 g 氟化铵、450 ml 乙二醇、50 ml 去离子水配置电解液。采用自制电解槽,以石墨为阴极,实验钛片为阳极,调整电压为 60 V,阳极氧化 2.5 h。取出钛试件,去离子水超声振荡 15 min,去除表面氧化膜。再次以 12 V 电压阳极氧化 40 min,去离子水清洗,干燥备用。

2014-09-23 接收

基金项目:安徽省科技厅年度重点科研资助项目(编号:12070403070);安徽省学术和技术带头人科研活动经费资助(编号:2014H030)

作者单位:<sup>1</sup>安徽医科大学第二附属医院口腔科,合肥 230601

<sup>2</sup>安徽医学高等专科学校口腔系,合肥 230601

作者简介:闵曦,男,讲师,主治医师,硕士研究生;

夏荣,男,主任医师,硕士生导师,责任作者, E-mail: xiarongqh@aliyun.com

**1.2.2 试件保存、紫外光照射及实验分组** 将两步阳极氧化后的钛试件置于暗盒内,自然环境下避光保存 8 周。取出部分钛片暗室内以 15 W 紫外线灭菌灯(ultraviolet,UV)照射 48 h,照射距离 15 cm。将阳极氧化后直接用于后续实验的钛片设为新鲜组,避光保存 8 周后的钛片设为老化组,老化组钛片经紫外光照射后设为 UV 组。

**1.2.3 表面形貌及元素分析** 新鲜组、老化组和 UV 组每组各选取 3 枚试件在 FESEM 下观察表面微观形貌;采用 XPS 分析各组试件表面的化学元素组成。

**1.2.4 亲水性检测** 每组各选取 3 枚钛片,每个钛片随机选取 3 个测试点,以 1 μl 去离子水滴于试件表面,待水滴完全铺展后利用接触角测量仪成像系统及软件测量表面接触角,结果取平均数。

**1.2.5 细胞培养及试件灭菌** 37 °C 水浴复苏第 6 代 MSCs,配置完全培养基。37 °C、5% CO<sub>2</sub> 条件下孵育细胞,定期更换培养液。倒置显微镜下观察细胞生长情况,待细胞铺展到 80% 时传代。用于细胞培养的钛试件经环氧乙烷灭菌后备用。

**1.2.6 细胞黏附观察** 将灭菌后的钛片置于 24 孔板内,取培养瓶内对数生长期的细胞用 0.25% 胰酶消化后重悬,细胞计数板计数,调整细胞浓度至 6 × 10<sup>4</sup>/ml,500 μl/孔接种于各试件表面。常规培养 24 h 后吸除原培养液,磷酸盐缓冲液(PBS)反复清洗 3 次,2.5% 戊二醛固定,干燥后喷金。FESEM 下观察细胞黏附状况。

**1.2.7 细胞增殖情况检测** 同 1.2.6 方法将细胞悬液注入置有钛片(每组 3 片)的 24 孔板内,细胞培养。分别于第 1、3、5、7 天终止培养,吸去原有培养液,PBS 冲洗 3 次,每孔加入 200 μl 完全培养基、20 μl CCK-8,37 °C 孵育 4 h 至培养基变色,吸取每孔 110 μl 液体转移至 96 孔培养板,酶标仪测定 450 nm 波长处各孔吸光度(OD<sub>450</sub>)值。

**1.2.8 细胞分化检测** 同 1.2.6 方法常规细胞培养。分别于第 3、5、7、11 天终止培养,吸去原培养液,PBS 反复清洗 3 次,每孔加入 300 μl 0.1% Triton X-100 裂解液,裂解细胞 30 min 后,取 50 μl 细胞裂解液置于新 24 孔板内。按 AKP 检测试剂盒操作说明,分别加入 500 μl 基质液、500 μl 缓冲液混匀,37 °C 水浴 15 min 后,加入 1.5 ml 显色液摇匀,测定 450 nm 各孔的 OD<sub>450</sub> 值。

**1.3 统计学处理** 采用 SPSS 16.0 统计软件进行分析,对接触角、不同时间点细胞的增殖分化进行单因

素方差分析,组间比较采用 SNK 检验,检验水准双侧 α = 0.01。

**2 结果**

**2.1 表面形貌分析** FESEM 下观察两步阳极氧化后钛表面 TiO<sub>2</sub> 纳米管形态,呈内外管相套的蜂窝状排列,阵列排列有序,外管直径为 160 nm,内管直径为 20 nm,见图 1。新鲜组、UV 组钛表面纳米管形态无明显改变。老化组纳米管边界模糊,部分管径变窄。

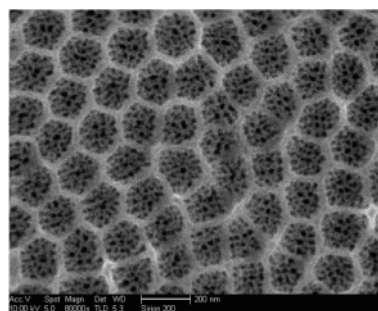


图 1 FESEM 下表面形貌观察 ×80 000

**2.2 表面化学元素分析** XPS 结果显示 3 组钛表面元素成分均包含 Ti、C、O、N 和 F。老化组表面 C 元素含量显著增高,可能来自于环境中的碳氢化合物污染。UV 组 C 元素含量显著降低,接近新鲜组水平。见图 2。

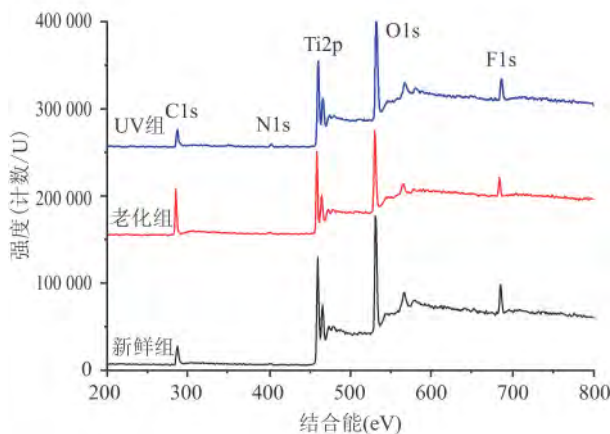


图 2 XPS 下表面元素分析

**2.3 表面接触角分析** 3 组表面静态接触角检测结果:新鲜组(22.956 00 ± 4.202 62)°,呈亲水性;老化组(116.630 00 ± 11.615 00)°,呈疏水性;UV 组(3.798 00 ± 1.087 45)°,呈超亲水性,见图 3。各

组间接触角数据差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。

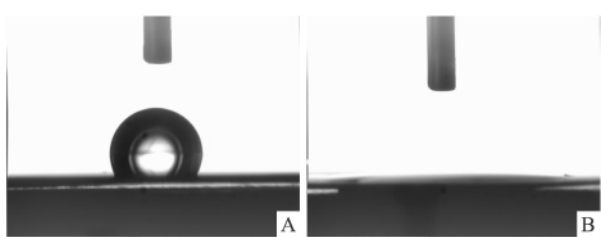


图3 表面静态接触角分析

A: 老化组; B: UV 组

**2.4 细胞黏附** 3组钛片 MSCs 培养 24 h 后, FESEM 下观察均有细胞黏附, 新鲜组细胞铺展较开, 密度较高, 形态大部分呈梭形, 有伪足伸出。老化组细胞密度明显低于新鲜组, 大部分细胞呈圆团形。UV 组细胞密度较老化组明显提高, 铺展良好, 细胞间接触多于新鲜组。见图 4。

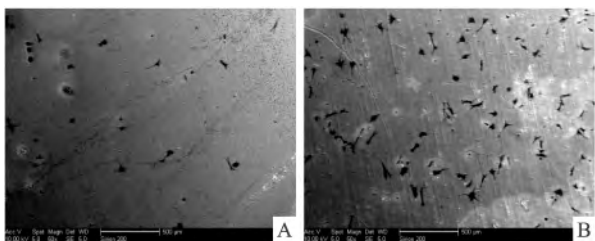


图4 MSCs 培养 24 h 后 FESEM 下的细胞密度及形态观察 ×50

A: 老化组; B: UV 组

**2.5 细胞增殖** 试件接种后第 1、3、5、7 天增殖活性均呈现增长趋势, UV 组增殖活性更加明显。总体比较第 1 天差异无统计学意义, 接种第 3、5、7 天后 3 组总体差异有统计学意义( $P < 0.01$ ); SNK 法比较显示, 在同时间点, 除第 1 天组间差异无统计学意义外, 其余各组间差异均有统计学意义( $P <$

$0.01$ ) , 见表 1。

**2.6 细胞分化** 3 组在不同时点 AKP 活力均有增加的趋势, 同时点上总体差异有统计学意义( $P < 0.01$ ); SNK 法两两比较显示, 各组间差异均有统计学意义( $P < 0.01$ ) , 见表 2。

### 3 讨论

种植体的表面形貌是影响其植入后骨整合的速度和程度的重要因素之一。具有纳米级表面形貌的种植体被认为更具有仿生效果<sup>[4]</sup>, 可促进与成骨细胞间的相互作用, 有利于成骨。常见的种植体表面纳米改性包括纳米颗粒、纳米管、纳米涂层等<sup>[5-6]</sup>。TiO<sub>2</sub> 纳米管与钛表面结合强度高, 阵列有序且具有较高的表面积和吸附能力。阳极氧化法是制备钛基表面 TiO<sub>2</sub> 纳米管的有效方法之一, 通过调整电解液成分、电压和时间等参数可获得不同管径和结构的 TiO<sub>2</sub> 纳米管形态<sup>[7]</sup>。本研究采用的两步阳极氧化法获得双层蜂窝状 TiO<sub>2</sub> 纳米管矩阵, 排列均匀, 结构稳固, 可避免纳米管面积过大造成的崩塌。

钛种植体从生产加工到植入患者体内有较长的时间间隔, 因为存放环境和时间的不同可造成种植体表面理化性质及生物相容性变化, 直接影响植入后的骨整合能力。研究<sup>[8]</sup>表明, 时间因素会导致钛表面的老化, 其原因可能为钛表面受到来自环境中的不可避免的碳氢化合物污染。

亲水性作为材料表面能的重要表征之一, 影响材料表面的生物活性。研究<sup>[9]</sup>显示材料表面接触角  $> 65^\circ$  为疏水性,  $< 65^\circ$  为亲水性,  $< 5^\circ$  则为超亲水性表面, 表明亲水性高的材料表面有利于体液中蛋白质的吸附, 进而影响细胞的行为和功能。TiO<sub>2</sub> 的光催化作用被广泛研究, 用于水质净化、大气治污、材料表面自洁等领域。Wang et al<sup>[10]</sup> 证实用波长  $>$

表 1 3 组间不同时点细胞增殖活性比较( $n = 36, \bar{x} \pm s$ )

组别	第 1 天	第 3 天	第 5 天	第 7 天
新鲜	0.279 5 ± 0.049 56	0.415 7 ± 0.025 59	0.488 8 ± 0.006 11	0.951 8 ± 0.036 33
老化	0.259 3 ± 0.047 53	0.382 3 ± 0.019 27**	0.428 3 ± 0.004 32**	0.858 0 ± 0.022 60**
UV	0.253 8 ± 0.006 71	0.543 7 ± 0.007 50***	0.789 0 ± 0.004 05***	1.320 7 ± 0.107 25***

与新鲜组比较: \*\*  $P < 0.01$ ; 与老化组比较: \*\*\*  $P < 0.01$

表 2 3 组间不同时点细胞分化比较( $n = 36, \bar{x} \pm s$ )

组别	第 3 天	第 5 天	第 7 天	第 11 天
新鲜	0.164 0 ± 0.003 03	0.185 5 ± 0.002 35	0.229 3 ± 0.001 51	0.242 7 ± 0.002 34
老化	0.147 3 ± 0.005 16**	0.175 2 ± 0.003 76**	0.215 0 ± 0.003 41**	0.233 3 ± 0.001 37**
UV	0.241 8 ± 0.005 53***	0.264 2 ± 0.002 48***	0.282 7 ± 0.001 51***	0.328 2 ± 0.002 64***

与新鲜组比较: \*\*  $P < 0.01$ ; 与老化组比较: \*\*\*  $P < 0.01$

387.5 nm 的紫外光照射 TiO<sub>2</sub> 表面可产生超亲水性。TiO<sub>2</sub> 光催化作用的实质是光诱导的氧化还原反应,作为半导体材料,当光能量 >3.2 eV 时, TiO<sub>2</sub> 表面会产生光催化作用,使价带上的电子跃迁到导带上形成具有强的氧化能力的羟基、氧自由基等活性基团,使 TiO<sub>2</sub> 表面的碳氢化合物分解成 CO<sub>2</sub> 和 H<sub>2</sub>O<sup>[11]</sup>。TiO<sub>2</sub> 光催化作用受 TiO<sub>2</sub> 晶体结构、管径大小、紫外光的波长及照射时间等诸多因素影响<sup>[12]</sup>。TiO<sub>2</sub> 管径越小、紫外光波长越短、照射时间越长光催化效果越好。本实验采用的双层 TiO<sub>2</sub> 纳米管结构,内管直径约 20 nm; 15 W 紫外线灭菌灯波长在 200 ~ 275 nm,属于短波紫外光波段;照射 48 h 后, XPS 结果显示老化组钛表面 C 元素含量由 39% 降至 19%,与新鲜组持平,表明紫外光催化可有效分解钛表面的碳氢化合物污染。平均接触角显示紫外光照射后的钛表面呈超亲水性。体外细胞学实验证实经紫外光催化后的钛表面细胞的黏附、铺展、增殖、分化等指标均优于老化组和新鲜组。证实了紫外光催化作用有助于提高纳米 TiO<sub>2</sub> 表面的生物活性。

### 参考文献

- [1] Sun S J, Yu W Q, Zhang Y L, et al. Effects of TiO<sub>2</sub> nanotube layers on RAW 264.7 macrophage behaviour and bone morphogenetic protein-2 expression [J]. *Cell Prolif*, 2013, 46(6): 685 - 94.
- [2] Att W, Hori N, Takeuchi M, et al. Time-dependent degradation of titanium osteoconductivity: an implication of biological aging of implant materials [J]. *Biomaterials*, 2009, 30(29): 5352 - 63.
- [3] Suzuki T, Hori N, Att W, et al. Ultraviolet treatment overcomes time-related degrading bioactivity of titanium [J]. *Tissue Eng Part A* 2009, 15(12): 3679 - 88.
- [4] 左杨, 夏荣, 屠姗姗, 等. 纯钛种植体表面的纳米改性研究 [J]. *安徽医科大学学报*, 2013, 48(10): 1214 - 7.
- [5] Brie I C, Soritau O, Dirzu N, et al. Comparative *in vitro* study regarding the biocompatibility of titanium-base composites infiltrated with hydroxyapatite or silicitanate [J]. *J Biol Eng*, 2014, 8: 14.
- [6] Ryu J J, Park K, Kim H S, et al. Effects of anodized titanium with Arg-Gly-Asp (RGD) peptide immobilized *via* chemical grafting or physical adsorption on bone cell adhesion and differentiation [J]. *Int J Oral Maxillofac Implants*, 2013, 28(4): 963 - 72.
- [7] 顾迎新. 钛基种植体表面纳米管改性的研究进展 [J]. *口腔材料器械杂志*, 2012, 21(3): 145 - 7.
- [8] Aita H, Hori N, Takeuchi M, et al. The effect of ultraviolet functionalization of titanium on integration with bone [J]. *Biomaterials*, 2009, 30(6): 1015 - 25.
- [9] Vogler E A. Structure and reactivity of water at biomaterial surfaces [J]. *Adv Colloid Interface Sci*, 1998, 74: 69 - 117.
- [10] Wang R, Hashimoto K, Fujishima A. Light-induced amphiphilic surface [J]. *Nature*, 1997, 388(6641): 431 - 2.
- [11] Morra M, Cassinelli C, Bruzzone G, et al. Surface chemistry effects of topographic modification of titanium dental implant surfaces: 1. Surface analysis [J]. *The International journal of oral & maxillofacial implants*, 2003, 18(1): 40 - 5.
- [12] Ogawa T. Ultraviolet photofunctionalization of titanium implants [J]. *Inter J Oral Maxillofac Implants*, 2014, 29(1): e95 - 102.

## The study of biological aging resistance of nano titanium surface treated with UV irradiation *in vitro*

Min Xi<sup>1,2</sup>, Xia Rong<sup>1</sup>, Sun Lei<sup>1</sup>, et al

(<sup>1</sup>Dept of Stomatology, The Second Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230601;

<sup>2</sup>Dept of Stomatology, Anhui Medical College, Hefei 230601)

**Abstract Objective** To study the impact of UV radiation on the physicochemical properties and biological activity of aging TiO<sub>2</sub> nanotube surface. **Methods** Titanium plates treated by two-step anodization were stored in dark for eight weeks, sufficient to aging, and irradiated by UV for 48 h. Field emission scanning electron microscopy (FESEM), X-ray photoelectron spectroscopy (XPS) and contact angle measurement were used to analyze the microstructure, chemical elements and the contact angle of the surface of the fresh, aging, UV irradiation groups, respectively. Mouse bone marrow mesenchymal stem cells (MSCs) as cell lines were cultured on the treated titanium plates to determine the effect of modified titanium surface on the cell adhesion, proliferation and differentiation, further to evaluate biological differences among the three groups. **Results** FESEM displayed UV irradiation did not change the morphology of TiO<sub>2</sub> nanotubes on the titanium surface. XPS showed that C elements on the surface of aging group significantly increased after UV irradiation but restored to the level of fresh group by UV irradiation. The

# 白藜芦醇诱导佐剂性关节炎大鼠滑膜细胞凋亡

杨 珺<sup>1,2</sup> 张俊强<sup>1</sup> 赵 欢<sup>1</sup> 安 梅<sup>3</sup> 孙和炎<sup>4</sup> 陈晓宇<sup>1</sup>

**摘要** 目的 探讨白藜芦醇对佐剂性关节炎(AA)大鼠滑膜细胞增殖和凋亡的影响。方法 0.1 ml 弗氏完全佐剂注射SD大鼠左后足跖皮内复制AA模型28 d后,采用组织块培养法分离、培养大鼠踝关节滑膜细胞,CCK-8法检测白藜芦醇对滑膜细胞增殖的影响;Hoechst 33258 荧光染色、琼脂糖凝胶电泳观察滑膜细胞凋亡情况。结果 CCK-8法表明白藜芦醇可以抑制滑膜细胞增殖,并且呈剂量依赖性趋势;高浓度白藜芦醇(20、50  $\mu\text{mol/L}$ )能诱导滑膜细胞凋亡,Hoechst 33258 染色观察到细胞核出现凋亡小体,电泳呈现出阶梯状条带。结论 白藜芦醇可能会通过抑制AA大鼠滑膜细胞的增生,促进滑膜细胞的凋亡而达到治疗类风湿性关节炎的作用。

**关键词** 白藜芦醇; 佐剂性关节炎; 滑膜细胞; 细胞凋亡; 大鼠

中图分类号 R 322.72

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2015)01-0041-04

类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)是一种以关节滑膜炎为特征的慢性自身免疫性疾病<sup>[1]</sup>。其病理特征主要表现为滑膜细胞类肿瘤样增生,引起软骨及骨的破坏,最终导致骨关节强直及功能障碍。佐剂性关节炎(adjutant arthritis, AA)是目前研

究RA的主要动物模型之一。白藜芦醇是一种主要存在于虎杖、葡萄等植物中的天然活性多酚化合物,其抗增殖和调节免疫的功效为RA等疾病的治疗提供了新的思路<sup>[2]</sup>。目前研究<sup>[3]</sup>认为,RA患者关节滑膜组织增生,关节滑膜细胞原位增殖过剩,且滑膜细胞凋亡障碍。为进一步揭示白藜芦醇对RA患者治疗的可能机制,该研究以AA大鼠的踝关节滑膜为实验样本,采用组织块培养法分离、培养大鼠踝关节滑膜细胞,从细胞凋亡的角度观察白藜芦醇对AA大鼠的踝关节滑膜细胞形态学改变,旨在探讨白藜芦醇对AA大鼠的治疗作用。

## 1 材料与方法

**1.1 主要仪器与试剂** IX70-SIF2型倒置显微镜购于日本Olympus公司;全自动多功能型酶标仪购于美国BIO-RAD公司;DMEM培养基、胎牛血清、胰酶购于美国Gibco公司;白藜芦醇购于美国Sigma公司,纯度 $\geq 99.9\%$ ;兔抗鼠血管细胞黏附分子-1(vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1)、Hoechst 33258、CCK-8购于美国Santa Cruz Biotechnology公司。

## 1.2 细胞培养

**1.2.1 AA模型大鼠建模** 普通级SD雄性大鼠20只,180~200 g,购于安徽医科大学实验动物中心,大鼠左后足跖皮内注射0.1 ml 弗氏完全佐剂(卡介苗80  $^{\circ}\text{C}$ 灭活1 h,与高压灭菌的液体石蜡充分碾磨混匀,配成10 g/L乳剂)致炎。

**1.2.2 大鼠踝关节滑膜细胞培养与鉴定** 24 d后,AA模型大鼠建模成功,处死大鼠,参照先前实验方法<sup>[4]</sup>,AA模型大鼠置0.1%新洁尔灭液中15 min

2014-09-10 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:81373421);国家级大学生创新创业训练计划项目(编号:201310366007)

作者单位:<sup>1</sup>安徽医科大学组织胚胎学教研室,合肥 230032

安徽医学高等专科学校<sup>2</sup>病理学教研室、<sup>3</sup>解剖与组胚学教研室,合肥 230601

<sup>4</sup>安徽医科大学第一附属医院骨科,合肥 230022

作者简介:杨 珺,女,实验师,硕士研究生;

陈晓宇,男,副教授,硕士生导师,责任作者,E-mail: cxyayd@163.com

contact angle analysis showed that the surface of age group was hydrophobic while the surface of UV irradiated group was superhydrophilic. *In vitro* cell culture showed that UV irradiation was conducive to cell adhesion, proliferation and differentiation. **Conclusion** UV radiation can remove hydrocarbon contamination on surface of titanium, improve the surface hydrophilicity, and delay the bioactive decrease of titanium-based  $\text{TiO}_2$  nanotube surface by time factors.

**Key words**  $\text{TiO}_2$  nanotubes; anodization; ultraviolet catalysis; hydrophilicity; bone marrow stromal cells