

ТОМСКИЙ
ПОЛИТЕХНИЧЕСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ



На правах рукописи

Марьин Павел Владимирович
**РАЗРАБОТКА БИОДЕГРАДИРУЕМЫХ ПОЛИМЕРНЫХ
СКАФФОЛДОВ С МОДИФИЦИРОВАННОЙ ПОВЕРХНОСТЬЮ
ДЛЯ ВОССТАНОВЛЕНИЯ МЯГКИХ ТКАНЕЙ**

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата технических наук

1.3.8 – Физика конденсированного состояния,
2.2.12 – Приборы, системы и изделия медицинского назначения

Томск – 2023

Работа выполнена в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Национальный исследовательский Томский политехнический университет»

Научный руководитель:

Твердохлебов Сергей Иванович

кандидат физико-математических наук,
НОЦ Б.П. Вейнберга ИЯТШ ТПУ, доцент

Официальные оппоненты:

Звягин Андрей Васильевич

доктор физико-математических наук,
Институт биоорганической химии им.
академиков М.М. Шемякина и Ю.А.
Овчинникова РАН, главный научный
сотрудник Лаборатории
онконанотераностики

Курзина Ирина Александровна

доктор физико-математических наук,
доцент, Национальный исследовательский
Томский государственный университет,
заведующая кафедрой природных
соединений, фармацевтической и
медицинской химии

Защита состоится «4» октября 2023 г., в 17 часов 00 минут на заседании диссертационного совета МДС.ТПУ.10 на базе федерального государственного автономного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский Томский политехнический университет» (ФГАОУ ВПО НИ ТПУ) по адресу: 634050, Россия, г. Томск, пр. Ленина, 2а, строение 4, аудитория 245.



С диссертацией можно ознакомиться в научно-технической библиотеке Томского политехнического университета и на сайте dis.tpu.ru при помощи QR-кода.

Автореферат разослан «__» _____ 2023 года.

Ученый секретарь
диссертационного совета МДС.ТПУ.10
доктор технических наук

A stylized handwritten signature in blue ink, consisting of a large loop and a few strokes.

С.А. Гынгазов

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Повреждения мягких тканей, имеющих сложную структуру, нарушают условия поддержания гомеостаза в организме. Для сокращения сроков реабилитации пациентов с такими травмами современной регенеративной (восстановительной) медицине требуются тканеинженерные конструкции на основе новых медицинских материалов, являющиеся альтернативой трансплантатам. Потребность в таких материалах, восполняющих тканевый дефицит, стимулировала развитие технологий создания искусственных структур, называемых скаффолдами. Скаффолды для регенерации мягких тканей должны представлять собой пористые, трехмерные, волокнистые материалы, имитирующие внеклеточный матрикс (ВКМ) и обеспечивающие механический каркас для выращивания клеток. Их имплантация позволяет успешно замещать дефекты тканей и органов за счет клеточного материала самого пациента или донора и эффективно восстанавливать утраченные функции. Однако к скаффолдам предъявляются определенные медико-технические требования по механической прочности, биосовместимости, наличию гидрофильной поверхности, способствующей адгезии и пролиферации клеток. Для изготовления скаффолдов широко используются природные и синтетические полимеры, а также их композиции.

Одним из перспективных материалов для создания волокнистых скаффолдов является полимолочная кислота (ПМК) [1], используемая для изготовления резорбируемых стентов [2], искусственных сосудистых графтов [3], тканеинженерных конструкций [4]. Для переработки ПМК в нетканые скаффолды наиболее перспективным методом является электроформование (электроспиннинг) [5], для которого характерны относительно простая техническая реализация, возможность в широких пределах манипулировать составом и структурой формируемого материала, а также изготавливать изделия с различным формфактором [6].

Основным недостатком скаффолдов, изготовленных методом электроспиннинга из ПМК, является низкая скорость деградации, отсутствие на поверхности реакционноспособных групп и высокая гидрофобность [7], что в свою очередь снижает адгезию и пролиферацию клеток [8], ограничивая область применения ПМК-скаффолдов при восстановлении дефектов, терапии и реабилитации утраченных функций мягких тканей, внутренних органов и органов области головы и шеи.

Степень разработанности темы.

Известно, что нанесение тонких пленок на основе оксинитридов титана на поверхность металлических стентов позволяет изменять физико-химические свойства их поверхности, стимулируя процессы клеточной адгезии, пролиферации и

дифференцировки. Кроме того, покрытия на основе оксинитрида титана обладают бактерицидными свойствами, что позволяет снизить риск повторного тромбобразования [9]. Указанные обстоятельства позволяют предположить, что формирование таких покрытий на поверхности ПМК-скаффолдов позволит улучшить их биосовместимость и будет способствовать их клиническому применению в тканевой инженерии с целью терапии, реабилитации и восстановления утраченных функций мягких тканей.

Для формирования тонких пленок на основе оксинитридов титана в настоящее время широко применяются различные ионно-плазменные методы. Например, реактивное магнетронное напыление позволяет в широких пределах варьировать свойства получаемого покрытия, изменяя такие параметры процесса, как состав рабочего газа, материал распыляемой мишени, мощность разряда и т. д. [10]. Однако известно, что термическое и радиационное воздействие плазмы магнетронного разряда на полимерный материал сопровождается его деструкцией [11], что может отрицательно сказываться на биосовместимости [12].

В настоящее время как отечественными, так и зарубежными научными коллективами ведутся активные исследования и разработки нетканых скаффолдов на основе различных биорезорбируемых материалов. Существенный вклад в развитие данного научного направления внесли проф. Р. Морент из Гентского университета (Бельгия), Сяохуа Лю из Мичиганского университета (США). В Томском политехническом университете это направление развивается в Научно-образовательном центре Б. П. Вейнберга ИЯТШ. В Томском государственном университете под руководством д. ф.-м. н. И. А. Курзиной проводятся исследования свойств волокнистых и композитных материалов с модифицированной поверхностью. В Национальном исследовательском технологическом университете МИСиС под руководством д. ф.-м. н., профессора Д. В. Штанского и в Университете ИТМО под руководством д. т. н., профессора М. В. Успенской ведутся комплексные исследования физико-химических и медико-биологических свойств скаффолдов.

Обзор литературы демонстрирует малое количество исследований, направленных на изучение структуры и свойств тонких покрытий на основе оксинитридов титана, сформированных на поверхности ПМК-скаффолдов методом магнетронного напыления, а также влияния плазменной обработки на их структуру, физико-химические и биологические свойства.

Цель работы: разработка биodeградируемых полимерных скаффолдов с модифицированной поверхностью для восстановления утраченных функций мягких тканей.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

- 1) выбрать материалы для изготовления нетканых полимерных скаффолдов;
- 2) выбрать метод изготовления нетканых скаффолдов и метод модифицирования их поверхности с целью улучшения биосовместимости;
- 3) разработать медико-технические требования к нетканым биорезорбируемым скаффолдам с модифицированной поверхностью для регенеративной медицины мягких тканей;
- 4) разработать и отработать режимы модифицирования нетканых ПМК скаффолдов путем формирования покрытий методом реактивного магнетронного распыления титановой мишени в атмосфере азота;
- 5) исследовать физико-химические свойства ПМК-скаффолдов, не модифицированных и модифицированных методом реактивного магнетронного распыления титановой мишени в атмосфере азота;
- 6) установить влияние модифицирования нетканых ПМК-скаффолдов на их медико-биологические свойства в условиях *in vitro* и *in vivo*;
- 7) провести комплексный анализ полученных экспериментальных данных.

Научная новизна:

1. Разработаны режимы модифицирования поверхности ПМК-скаффолдов методом реактивного магнетронного распыления титановой мишени в атмосфере азота, достоверно не изменяющие их линейные размеры, средний размер кристаллитов и механические свойства.
2. Показано, что воздействие плазмы магнетронного разряда, возникающей при распылении титановой мишени в атмосфере азота при выбранных режимах, приводит к гидрофилизации поверхности биodeградируемых ПМК-скаффолдов, что способствует улучшению их биосовместимости.
3. Предложен механизм формирования на поверхности ПМК-скаффолдов покрытий, которые имеют переменный химический состав, включающий соединения оксидов (Ti_xO_y) и оксинитридов (TiO_xN_y) титана, что обусловлено процессами взаимодействия адсорбированной воды и полимерных радикалов, возникающих при разрушении связей C-O и O-C=O, с материалом распыляемой мишени, молекулами и атомами рабочего газа.
4. Показано, что модифицированные ПМК-скаффолды обладают большим на 45 % показателем адгезии культуры эндотелиальных клеток пупочной вены человека, клетки приобретают вытянутую форму и располагаются вдоль поверхности волокон, что способствует их заселению в скаффолды.

5. Медицинскими исследованиями подтверждено, что при *in vivo* подкожной имплантации модифицированных ПМК-скаффолдов в мягких тканях наблюдаются невысокая активность воспалительных процессов, замещение скаффолдов соединительной тканью и образование в прилегающих тканях множества кровеносных сосудов. С увеличением времени модифицирования скаффолдов ускоряется их биологическая деградация и увеличивается степень биоинтеграции с живыми тканями.

Теоретическая значимость. Результаты диссертационной работы расширяют представления о взаимодействии плазмы магнетронного разряда, возникающего при распылении титановой мишени в атмосфере азота, с поверхностью биорезорбируемых ПМК-скаффолдов, а предложенный на их основе механизм формирования тонкопленочного покрытия на полимерных ПМК-скаффолдах вносит вклад в фундаментальную теорию о взаимодействии полимерных материалов с ионизирующим излучением.

Установлена зависимость между временем плазменного модифицирования и скоростью деградации скаффолда *in vivo*.

Практическая значимость работы. Установленные закономерности влияния плазмы DC магнетронного разряда, возникающего при распылении титановой мишени в атмосфере азота, на структурно-морфологические и физико-химические свойства биорезорбируемых ПМК-скаффолдов позволяют эффективно модифицировать такие материалы с целью получения высокой гидрофильности поверхности и контролируемых параметров деградации *in vivo*. Изготовленные методом электроформования ПМК-скаффолды, модифицированные в плазме DC магнетронного разряда, возникающего при распылении титановой мишени в атмосфере азота, могут быть использованы в качестве материалов тканеинженерных конструкций и систем для терапии, реабилитации и восстановления утраченных функций при восстановлении мягких тканей, внутренних органов и органов области головы и шеи. Модифицирование скаффолдов способствует их заселению клетками, замещению соединительной тканью и образованию в прилегающих тканях множества кровеносных сосудов, что приводит к сокращению сроков реабилитации.

По результатам работы разработан РИД – секрет производства (ноу-хау).

Объект исследования. ПМК-скаффолды, изготовленные методом электроспиннинга, с поверхностью, модифицированной методом реактивного магнетронного распыления титановой мишени на постоянном токе (DC-режим) в атмосфере азота, используемые в качестве тканеинженерных конструкций при терапии,

реабилитации и восстановлении утраченных функций мягких тканей, внутренних органов и органов области головы и шеи.

Предмет исследования. Физико-химические и медико-биологические свойства ПМК-скаффолдов, изготовленных методом электроспиннинга, с тонкими покрытиями на основе оксинитридов титана, сформированными на их поверхности методом реактивного магнетронного распыления, для применения в тканевой инженерии при терапии, реабилитации и восстановлении утраченных функций мягких тканей, внутренних органов и органов области головы и шеи.

Методы исследования и методология работы. Для изучения морфологии, структуры и элементного состава исследуемых материалов в диссертационной работе применялись следующие методы исследований: сканирующая электронная микроскопия, рентгенофлуоресцентный и рентгеноструктурный анализы, ИК-Фурье спектроскопия, оптическая гониометрия. Кроме того, были проведены исследования механических характеристик (относительное удлинение, модуль Юнга, прочность). Для изучения химического состава покрытий использовалась рентгеновская фотоэлектронная спектроскопия, для объяснения механизмов формирования тонкопленочных покрытий на полимерных скаффолдах – моделирование методом функционала плотности. Медико-биологические исследования скаффолдов с тонкими покрытиями на основе оксинитридов титана были проведены с использованием метода *in vitro* на клеточной культуре эндотелиальных клеток пупочной вены человека и в экспериментах *in vivo* с использованием лабораторных мышей. Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием программного пакета Statistica 7.0.

Положения, выносимые на защиту:

1. Технологические режимы модифицирования поверхности ПМК-скаффолдов путем магнетронного распыления титановой мишени в атмосфере азота, включающие в себя удельную мощность разряда $0,4 \text{ Вт/см}^2$ и длительность модифицирования до 8 минут, позволяют достоверно сохранить их геометрические размеры и механические свойства.
2. Биодegradируемые ПМК-скаффолды с модифицированной поверхностью при выбранных режимах характеризуются средним диаметром волокон $2,2 \pm 0,3 \text{ мкм}$, низким краевым углом смачивания $46 \pm 10^\circ$ и средним размером кристаллитов $16 \pm 1 \text{ нм}$.
3. Механизм формирования на поверхности нетканых ПМК-скаффолдов однородных покрытий из плазмы магнетронного разряда, возникающего при распылении титановой мишени в атмосфере азота, основан на взаимодействии

адсорбированной воды и полимерных радикалов, образующихся при разрушении связей С-О и О-С=О, с материалом распыляемой мишени, молекулами и атомами рабочего газа.

4. Модифицирование ПМК-скаффолдов приводит к заселению клеток в их объем, увеличению показателя адгезии культуры эндотелиальных клеток пупочной вены человека на их поверхности на 45 %, замещению их соединительной тканью с образованием множества кровеносных сосудов. При этом с увеличением времени модифицирования скаффолдов ускоряется их биологическая деградация и увеличивается степень биоинтеграции с живыми тканями.

Реализация результатов работы. Полученные результаты использовались при проведении медицинских исследований: в доклинических экспериментах *in vitro* в ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России, экспериментах *in vivo* в ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», в НОЦ Б.П. Вейнберга ТПУ при выполнении научных проектов, а также при изучении раздела «Физические принципы модифицирования материалов биомедицинского назначения. Свойства, приобретаемые материалами в процессе модифицирования» в рамках дисциплины «Плазменные технологии в биологии и медицине» при подготовке магистров по специальности 14.03.02 «Ядерная физика и технологии».

Достоверность и обоснованность результатов диссертационной работы обусловлены применением современных высокоточных и высокотехнологичных приборов и методов исследований, сопоставлением полученных результатов с уже опубликованными результатами в релевантных научных литературных источниках.

Личный вклад автора. Автор диссертационной работы принимал непосредственное участие в планировании и проведении экспериментальных работ, в получении и обработке экспериментальных результатов, которые представлены в качестве тезисов докладов на всероссийских и международных конференциях, статей в российских и зарубежных журналах. Постановка задач, обсуждение результатов исследований, а также формулирование научных положений, выносимых на защиту, осуществлялись совместно с научным руководителем канд. ф.-м. наук, доцентом С. И. Твердохлебовым. Работы по формированию ПМК-скаффолдов методом электроспиннинга проводились совместно с канд. техн. наук Е. Н. Больбасовым. Соавторы, проводившие медико-биологические исследования, указаны в списке основных публикаций по теме диссертации.

Диссертационная работа выполнена в рамках следующих проектов и договоров: ФЦП, Соглашение № 14.578.21.0031 от 05.06.2014, «Разработка композитных

имплантатов для реконструктивно-восстановительной хирургии черепно-лицевой области у больных травматологического и онкологического профиля»; ФЦП, Соглашение № 14.575.21.0140 от 26.09.2017, «Разработка остеостимулирующих имплантатов на основе гибридных технологий модифицирования их поверхности и компьютерного моделирования выхода лекарственных препаратов для персонализированной медицины при политравме и онкологии»; ВИУ-НОЦ Б.П. Вейнберга-196/2020 «Разработка прототипов медицинских изделий на основе гибридных и композиционных материалов с терапевтическим эффектом для лечения различных нозологий»; РФФИ 20-32-90133 «Аспиранты» «Исследование влияния плазмы DC магнетронного разряда на физико-химические свойства биорезорбируемых скаффолдов для регенеративной медицины»; Контракт № 18.08-152/2018К с LLC «Koatum» (Латвия) «Разработка технологических режимов нанесения гибридных покрытий на экспериментальные имплантаты с шероховатыми и полированными поверхностями».

Апробация. Основные результаты работы докладывались и обсуждались на конференциях: The 7th and 8th International Congress on Energy Fluxes and Radiation Effects (Томск, Россия, 2020, 2022), 21st International Conference on Surface Modification of Materials by Ion Beams (Томск, Россия, 2021), XIX Международная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых «Перспективы развития фундаментальных наук» (Томск, Россия, 2021), Международная научно-практическая конференция «Разработка лекарственных средств – традиции и перспективы» (Томск, Россия, 2021).

Структура и объем диссертационной работы. Диссертационная работа состоит из введения, пяти глав, заключения, списка литературы, включающего 213 источников. Полный объем работы – 153 страниц, в том числе 33 рисунка, 15 таблиц и 5 приложений.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении обоснована актуальность диссертационной работы, сформулированы цель и задачи, положения, выносимые на защиту, определены научная новизна, теоретическая и практическая значимость.

В первой главе приведен литературный обзор, посвященный наиболее распространенным травмам и дефектам мягких тканей. Кроме того, рассмотрены основы тканеинженерного подхода к лечению таких заболеваний, а также физические и химические свойства биорезорбируемых скаффолдов, изготовленных из полимолочной кислоты. Приведён литературный обзор известных способов формирования и модифицирования полимерных скаффолдов, указаны их достоинства и недостатки. Поставлена цель работы, обосновано применение метода электроспиннинга для формирования скаффолдов из полимолочной кислоты и DC реактивного магнетронного распыления титановой мишени для модифицирования их поверхности.

Во второй главе описаны технологии формирования и модифицирования биорезорбируемых скаффолдов, представлены методики экспериментальных исследований, а также обоснованы технологические режимы и результаты их апробации.

Биорезорбируемые скаффолды были изготовлены с использованием установки электроспиннинга NANON-01A (MECC Co., Япония) из прядильного раствора поли-L-молочной кислоты (ПМК) марки PL-38 (Puras, Нидерланды). Для изготовления прядильного раствора использовали 9 мас. % ПМК в трихлорметане (CHCl_3) (ЭКРОС, Россия). Формирование ПМК-скаффолдов осуществлялось на поверхности сборочного коллектора диаметром 100 мм и длиной 210 мм, при постоянной скорости его вращения 50 об/мин. Расстояние между иглой и сборочным коллектором составляло 150 мм, скорость подачи прядильного раствора – 6 мл/час, а рабочее напряжение – 27 кВ. С целью удаления остаточных паров трихлорметана (CHCl_3) перед процессом плазменного модифицирования сформированные ПМК-скаффолды вакуумировались в вакуумной печи СНВЭ–1,7.3.1 при остаточном давлении 10^{-2} Па и температуре 100 °С в течение 10 часов.

Модифицирование ПМК-скаффолдов проводилось методом DC реактивного магнетронного распыления с использованием универсальной магнетронной установки Катод-1М. Тонкие покрытия на основе оксинитридов титана формировались из плазмы магнетронного разряда, возникающего при распылении твердотельной титановой (Ti) мишени (чистота 99,99 %) площадью 224 см² в атмосфере азота (N_2 , чистота 99,999 %). Для уменьшения деструктивного влияния плазменного модифицирования на поверхность ПМК-скаффолдов процесс проводился в циклическом режиме: 1 минута модифицирования с перерывом 3 минуты. При формировании покрытий использовались

следующие технологические параметры: расстояние между мишенью и образцом – 33 мм; предварительное давление в камере – 3×10^{-3} Па; рабочее давление в камере – 0,4 Па; рабочий газ – азот N_2 . Плазменное модифицирование проводилось в течение 2, 4, 6 и 8 минут при фиксированной мощности магнетронного разряда, равной 88 Вт. Для удаления с поверхности мишени оксидных и нитридных соединений в промежутках между циклами модифицирования осуществлялась её ионная очистка при следующих параметрах: напряжение источника питания – 220 В; выходной ток – 0,6 А; газ – аргон; длительность – 1 минута.

Химический состав плазмы в процессе формирования покрытий исследовался методом оптической спектроскопии с использованием спектрометра OCEAN OPTICS HR 2000+ (Ocean Optics, Dunedin, FL, США). Полученные данные обрабатывались с помощью пакета программ SpectraSuite (Ocean Optics, Dunedin, FL, США). Идентификация спектральных линий осуществлялась с использованием базы данных NIST Atomic Spectra Database Lines Form.

Морфология ПМК-скаффолдов до и после плазменного модифицирования изучалась с помощью сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) (Quanta 200 3D, FEI, США).

Химический состав скаффолдов исследовался методом рентгенофлуоресцентного анализа (РФА) (Shimadzu XRF 1800, Япония).

Изучение кристаллической структуры ПМК-скаффолда проводилось методом рентгеноструктурного анализа (Shimadzu XRD 6000, Япония). Средние размеры кристаллов (l_c) исследуемых образцов рассчитывались с использованием уравнения Дебая – Шеррера:

$$l_c = \frac{k\lambda}{\cos\theta\beta}, \quad (1)$$

где λ – длина волны падающего излучения (Cu K-alpha, $\lambda = 1,54056 \text{ \AA}$); β – FWHM; θ – угол дифракции; $k = 0,9$. Оценка параметра FWHM проводилась путем интерполяции рентгеновского спектра с использованием функции Лоренца – Гаусса (Origin 9, Origin Lab, США).

Объемная химическая структура и конформации макромолекул ПМК исследовались методом инфракрасной спектроскопии с преобразованием Фурье в геометрии нарушенного полного внутреннего отражения (НПВО). Для исследований использовался ИК-спектрометр Tensor 27 (Bruker, США), оснащённый приставкой НПВО PIKE MIRacle (Bruker, США) с кристаллом ZnSe.

Исследование смачиваемости ПМК-скаффолдов проводилось методом «сидящей капли» на установке «Easy Drop» (Krüss, Германия). В качестве смачивающих жидкостей использовались дистиллированная вода и глицерин.

Прочность на разрыв и относительное удлинение образцов исследовались методом одноосного растяжения в соответствии с рекомендациями ISO 9073.3:1989 на разрывной машине Instron 33-43 (Instron, Англия).

Химические связи ПМК-скаффолдов до и после плазменного модифицирования исследовались методом рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии (РФЭС, XPS) на установке Escalab 250Xi (Thermo Fisher Scientific Inc., Великобритания), оснащенной монохроматическим источником излучения AlK α .

Теоретические расчеты нейтральных радикалов ПМК выполнялись с использованием теории функционала плотности Кона-Шама (DFT).

Для изучения взаимодействия скаффолдов с клеточным окружением организма использовались эндотелиальные клетки пупочной вены человека (ЭКПВЧ). Количество клеток на 1 мм² поверхности ПМК-скаффолдов, цитоплазматический индекс (ЦПИ) и коэффициент формы клеток определялись с помощью программного обеспечения Image J. Исследование проводилось в соответствии с Хельсинкской декларацией с одобрения местного комитета по этике ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России.

Исследования местного воздействия на окружающие ткани при имплантации скаффолдов проводились на самцах крыс линии Wistar весом 80–100 г, для каждой из экспериментальных групп использовались 6 лабораторных животных. Исследования проводились с разрешения локального этического комитета в ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» г. Кемерово (Соглашение № 948 от 09.02.2009 г.) с соблюдением принципов гуманного обращения с лабораторными животными.

Статистическая обработка полученных результатов проводилась с использованием программного пакета Statistica 7.0 (StatSoft, США). Данные представлялись в виде среднее $\pm$ стандартное отклонение. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$. Значимость этих различий определяли с помощью одностороннего теста ANOVA.

В третьей главе представлены результаты работ по выбору оптимального среднего диаметра волокон скаффолдов и по отработке режимов модифицирования их поверхности, а также приведены результаты исследований физико-химических свойств биорезорбируемых ПМК-скаффолдов с покрытиями на основе оксинитридов титана, сформированными DC магнетронным распылением титановой мишени в атмосфере азота.

Для отработки технологических режимов модифицирования ПМК-скаффолдов и получения покрытий на основе оксинитридов титана на их поверхности проводилась серия предварительных экспериментов, по результатам которых можно сделать следующие выводы:

- для исключения деструктивного влияния плазмы на поверхностную и объемную структуру ПМК-скаффолдов модифицирование следует проводить при низкой мощности разряда (~ 88 Вт) в циклическом режиме: 1 минута модифицирования с перерывом 3 минуты;
- применение промежуточной ионной очистки мишени, проводимой между циклами модифицирования скаффолдов, позволяет увеличить концентрацию титана на их поверхности до $2,03 \pm 0,07$ ат. % по сравнению с $1,50 \pm 0,02$ ат. % без промежуточной ионной очистки мишени, что является эффективным способом увеличения скорости напыления;
- средний диаметр волокон ПМК-скаффолдов, формируемых методом электроспиннинга, зависит от вязкости прядильного полимерного раствора: при 5 % концентрации ПМК в трихлорметане средний диаметр волокон скаффолда находится в пределах $1,1 \pm 0,5$ мкм, при 9 % – $1,9 \pm 0,3$ мкм, а при 14 % концентрации ПМК эта характеристика составляет $5,6 \pm 1,6$ мкм.

На рис. 1 представлены изображения ПМК-скаффолдов (при различных увеличениях) в зависимости от времени модифицирования в плазме DC магнетронного разряда.

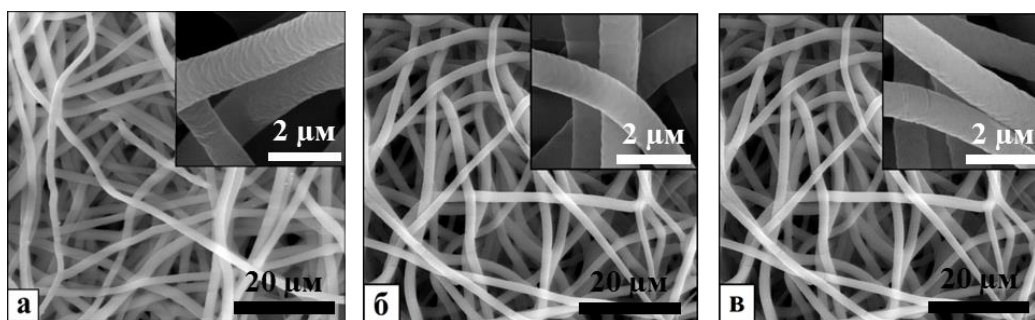


Рисунок 1 – СЭМ-изображения ПМК-скаффолдов при различном увеличении: немодифицированные (а) и модифицированные в плазме в течение 4 мин (б) и 8 мин (в)

Поверхность ПМК-скаффолдов представляет собой совокупность хаотично переплетенных волокон правильной цилиндрической формы, имеющих средний диаметр $1,9 \pm 0,3$ мкм. С увеличением длительности плазменного модифицирования при выбранных режимах на поверхности ПМК-скаффолдов не наблюдаются оплавления, прожоги, капли и прочие дефекты, средний диаметр волокон достоверно не изменяется

(рис. 1, а–в). При увеличении изображения удастся обнаружить, что на поверхности полимерных волокон присутствуют многочисленные неровности (рис. 1, а). При плазменном модифицировании скаффолдов в течение 4 минут эти неровности сглаживаются, поверхность волокон становится гладкой, без дефектов. В интервале плазменного модифицирования от 4 до 8 минут на поверхности волокон отмечается образование поперечных трещин, размер и количество которых увеличивается с увеличением времени модифицирования.

По результатам исследований элементного, химического и фазового составов покрытий, сформированных ДС магнетронным напылением при различных длительностях модифицирования, сделаны выводы. При увеличении времени плазменного модифицирования ПМК-скаффолдов концентрация титана и азота на их поверхности увеличивается (рис. 2).

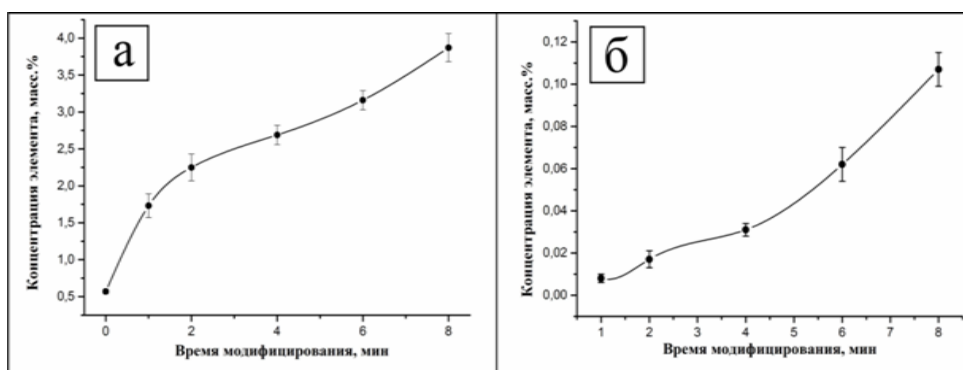


Рисунок 2 – Концентрация титана (а) и азота (б) в зависимости от длительности плазменного модифицирования

С увеличением длительности плазменного модифицирования размеры полимерных кристаллитов и кристаллическая структура волокон ПМК достоверно не изменяется, о чем свидетельствует сохранение интенсивности и положения характерных рефлексов рентгеновской дифракции (рис. 3, табл. 1).

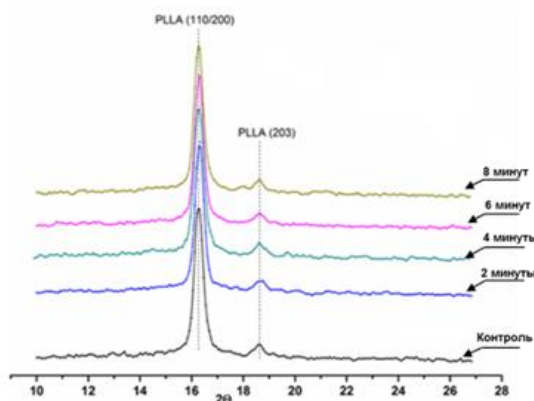


Рисунок 3 – Рентгенограмма ПМК скаффолдов в зависимости от длительности плазменного модифицирования

Таблица 1 – Средний размер кристаллитов в зависимости от длительности модифицирования

Длительность модифицирования, мин	Средний размер кристаллитов (l_c), нм	
	(200)/(110)	(203)
0	$18,1 \pm 0,4$	$14,6 \pm 0,5$
2	$18,4 \pm 0,7$	$14,6 \pm 0,5$
4	$17,6 \pm 0,2$	$14,9 \pm 0,4$
6	$17,9 \pm 0,7$	$15,2 \pm 0,5$
8	$18,2 \pm 0,1$	$14,6 \pm 0,6$

*($p < 0,05$) в сравнении с контрольным образцом

В полимерных волокнах кристаллическая фаза ПМК представлена преимущественно α -формой, при этом присутствуют молекулы, находящиеся в полукристаллической и аморфной фазе (рис. 4).

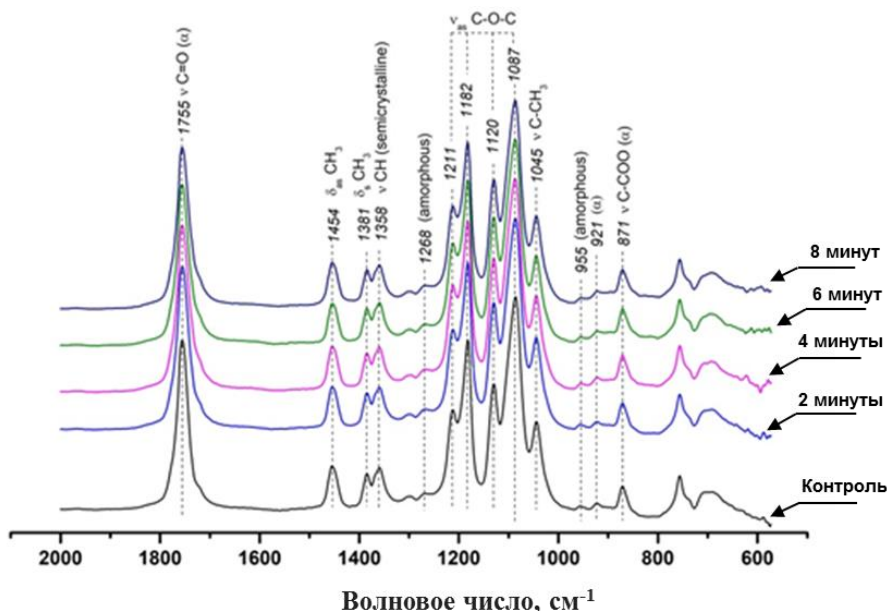


Рисунок 4 – ИК-Фурье спектры ПМК-скаффолдов в зависимости от длительности плазменного модифицирования

Отсутствие сдвигов основных полос пропускания ИК-спектров свидетельствует о том, что конформация макромолекул материала сохраняется с увеличением длительности плазменного модифицирования.

Результаты исследований смачиваемости ПМК-скаффолдов в зависимости от длительности плазменного модифицирования представлены на рис. 5. Исходные контрольные образцы ПМК-скаффолдов характеризовались краевым углом смачиваемости $129^\circ \pm 2^\circ$, однако при плазменном модифицировании в течение 2 минут его значение снижалось до $46^\circ \pm 6^\circ$.

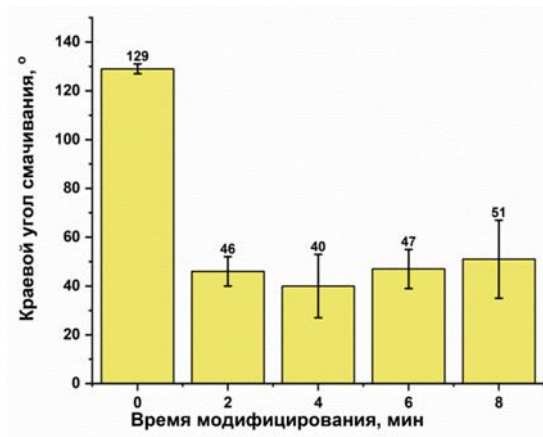


Рисунок 5 – Гистограмма краевого угла смачивания зависимости от длительности модифицирования

золотых покрытий.

При исследовании механических свойств ПМК-скаффолдов было установлено (табл. 2), что значения предела прочности и относительного удлинения в результате плазменного модифицирования при выбранных режимах достоверно не изменяются.

Четвертая глава диссертации посвящена исследованию механизмов формирования Ti-O-N-покрытий на поверхности ПМК-скаффолдов с использованием методов рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии и теории функционала плотности. Результаты исследований химического состава скаффолдов методом рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии представлены на рис. 6.

В спектре 2p-электронов атома Ti для немодифицированных образцов ПМК-скаффолдов отсутствуют рефлексы соединений титана (рис. 6, а). После двух минут плазменного модифицирования наблюдается дублет на уровне 458,5 и 464,2 эВ, что соответствует электронным состояниям Ti2p3/2 и Ti2p1/2, и сателлит на уровне 471,6 эВ. Наличие наблюдаемых рефлексов характеризует степень окисления титана Ti⁴⁺ в составе пленки TiO₂. Увеличение ширины рефлексов на уровне 458,5 и 464,2 эВ связано с наличием в покрытии фаз оксинитрида титана (TiO_xN_y) и нитрида титана (TiN) (рис. 6, а) [14].

Значительное уменьшение краевого угла смачиваемости поверхности ПМК-скаффолдов при малом времени плазменного модифицирования обусловлено насыщением поверхности волокон ПМК азотом. При этом увеличение длительности модифицирования и, следовательно, толщины покрытия сопровождается увеличением краевого угла смачиваемости, что ранее наблюдали авторы работы [13] при формировании методом DC магнетронного напыления тонких серебряных и

Таблица 2 – Механические свойства ПМК-скаффолдов в зависимости от длительности плазменного модифицирования

Длительность модифицирования, мин	Предел прочности, МПа	Относительное удлинение, %
0	1,91 ± 0,06	67,6 ± 5,2
2	1,95 ± 0,17	71,9 ± 11,7
4	2,04 ± 0,07	73,8 ± 8,6
6	1,95 ± 0,05	66,3 ± 5,9
8	1,91 ± 0,06	69,7 ± 5,1

**(p < 0,05) в сравнении с контрольным образцом*

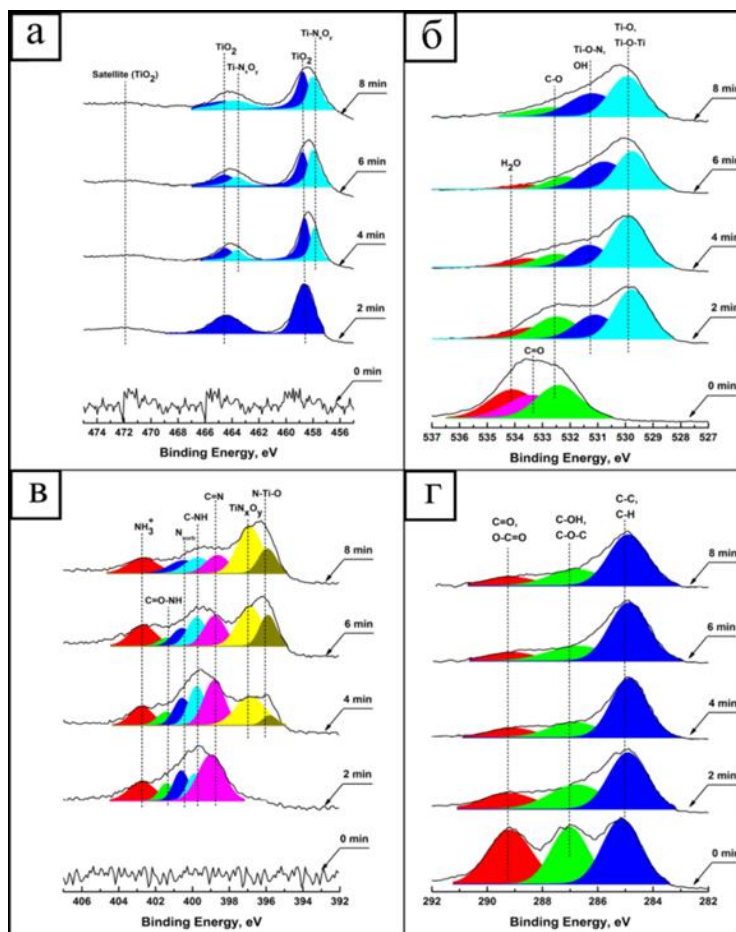


Рисунок 6 – XPS спектры ПМК-скаффолдов в зависимости от длительности плазменного модифицирования: а – спектр 2р-электронов атома Ti; б – спектр 1s-электронов атома O; в – спектр 1s-электронов атома N; г – спектр 1s-электронов атома C

В спектре 1s-электронов атома O для необработанных образцов ПМК-скаффолдов наблюдаются два рефлекса на уровне 532,2 и 531,1 эВ, что соответствует связям C=O и C–O в ПМК (рис. 6, б). При модифицировании в течение 4 минут в спектре 1s-электронов атома O наблюдается интенсивный рефлекс в области 530,0 эВ, который соответствует химическим связям Ti–O и Ti–O–Ti. В области 530,5–534,5 эВ наблюдается широкое плечо с рефлексом при значении энергии связи 531,5 эВ, что соответствует OH-группам. У немодифицированных скаффолдов в области 530,5–534,5 эВ наблюдаются рефлексы на уровне 532,2 и 531,1 эВ, соответствующие органическим загрязнениям, интенсивность которых после плазменной обработки уменьшается.

В спектре 1s-электронов атома N немодифицированного скаффолда отсутствуют рефлексы, характерные для соединений азота (рис. 6, в). После модифицирования в спектре наблюдается широкий рефлекс с максимумом в области 399,6 эВ, что характеризует наличие в покрытии связей C=N, C–NH и C=O–NH. Рефлекс в области 400,2 эВ свидетельствует о наличии в покрытии сорбированного азота. В спектральном интервале 396–398 эВ отмечается увеличение интенсивности рефлексов, характерных для

связей N–Ti–O [15], что характеризует формирование оксинитридов титана переменного химического состава от $\text{TiN}_{0.63}\text{O}_{0.08}$ до $\text{TiN}_{0.09}\text{O}_{0.74}$.

В 1s-спектре атома углерода (рис. 6, г) для немодифицированных скаффолдов наблюдается три основных рефлекса в областях 284,8 эВ (C–H/C–C), 286,8 эВ (C–OH/C–O–C) и 289,2 эВ (C=O/O–C=O), характеризующие основные химические связи в ПМК. После модифицирования интенсивность рефлексов в области от 286,8 до 289,2 эВ существенно снижается, что является косвенным свидетельством формирования на поверхности ПМК-скаффолдов связей типа C–NH, C=N, N–C=N и HN–C=O. Процессы разрыва химических связей в ПМК обусловлены стабильностью образующихся радикалов. Для оценки наиболее вероятных путей деградации ПМК в процессе плазменного модифицирования была исследована термодинамика реакций деструкции методом функционала плотности. Согласно полученным результатам наиболее термодинамически выгодным процессом деградации поверхности ПМК-волокон является разрушение эфирной связи, приводящее к удалению кислородсодержащих молекул CO_2 и CO с поверхности. Это согласуется с результатами рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии, демонстрирующей уменьшение интенсивности компонент C–O–C и C=O в спектре C1s поверхности ПМК с увеличением длительности плазменного модифицирования [16].

В пятой главе представлены результаты исследований биологических свойств ПМК-скаффолдов с Ti–O–N-покрытиями с применением клеточной культуры ЭКПВЧ и гистологических исследований с использованием лабораторных животных.

Среднее количество адгезированных клеток на поверхности немодифицированных ПМК-скаффолдов составляло 167 ± 37 клеток/ мм^2 . Клетки имели округлую форму (фактор формы $0,80 \pm 0,14$), располагались преимущественно обособленно, характеризовались незначительным количеством точек фокальной адгезии к субстрату при значении цитоплазматического индекса (ЦПИ) адгезированных клеток $0,6 \pm 0,2$ (рис. 7, а; табл. 3).

Исследования *in vitro* на клеточной культуре ЭКПВЧ показывают, что после плазменного модифицирования в течение двух минут количество адгезированных клеток на поверхности ПМК-скаффолдов увеличивается более чем на 45 % по сравнению с немодифицированными образцами.

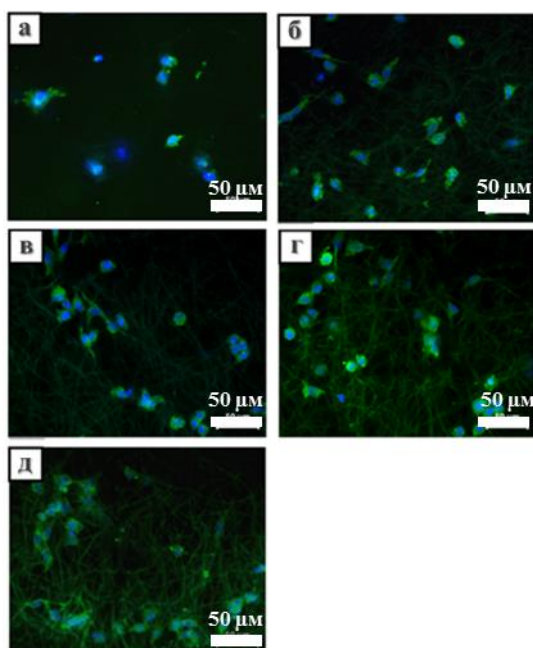


Рисунок 7 – Клетки ЭКПВЧ на поверхности ПМК-скафолдов в зависимости от длительности плазменного модифицирования: а – контроль, б – 2 мин, в – 4 мин, г – 6 мин, д – 8 мин

При увеличении длительности плазменного модифицирования до 4 минут происходит уменьшение на ~ 30 % количества адгезируемых клеток. Это связано с тем, что диоксид титана является эффективным фотокаталитическим материалом, способным эффективно редуцировать углекислый газ (CO_2) при наличии воды (H_2O), что в свою очередь приводит к образованию метилового спирта, уксусной кислоты, оксида углерода и др. Продукты редукции CO_2 способны эффективно сорбироваться на поверхности ПМК-волокон, а затем экстрагироваться в культуральную среду при культивировании клеток, стимулируя их гибель.

Таблица 3 – Основные параметры, характеризующие взаимодействие ПМК-скафолдов с клеточной культурой ЭКПВЧ, в зависимости от длительности модифицирования

Параметры	Длительность модифицирования				
	Контроль	2 мин	4 мин	6 мин	8 мин
Количество адгезированных клеток, клеток на мм^2	167 ± 37	$247 \pm 43^*$	$298 \pm 71^*$	$210 \pm 76^*$	$235 \pm 78^*$
Соотношение Я/Ц	$0,6 \pm 0,2$	$0,4 \pm 0,2$	$0,4 \pm 0,2$	$0,5 \pm 0,2$	$0,4 \pm 0,1^*$
Фактор формы	$0,8 \pm 0,1$	$0,7 \pm 0,5$	$0,5 \pm 0,2$	$0,7 \pm 0,2$	$0,6 \pm 0,2$

* $p < 0,05$ относительно контрольного образца.

При дальнейшем увеличении длительности плазменного модифицирования до 6 и 8 минут сохраняется высокий уровень взаимодействия «клетка – клетка» и «клетка – поверхность».

При макроскопических исследованиях ПМК-скафолдов до и после модифицирования на гистологических срезах вокруг образцов наблюдалась тонкая капсула без признаков воспаления (рис. 8). Капсула была плотно спаяна с окружающими тканями, репозиция образцов не обнаруживалась. Кроме того, происходило замещение исходного скафолда соединительной тканью, в прилегающих к нему тканях

наблюдалось множество сосудов (рис. 8). Также с увеличением длительности модифицирования наблюдалось увеличение степени истончения ПМК-скаффолдов в центральной части с замещением собственными тканями (рис. 8, в–е), что может быть следствием ряда процессов. Плазменная обработка значительно улучшает смачиваемость поверхности ПМК-скаффолдов, облегчая диффузию биологических жидкостей в центральную часть скаффолдов. Это приводит к сольватации макромолекул ПМК и последующей их десорбции в растворе, что стимулирует процесс гидролитической деградации ПМК. С другой стороны, первичными

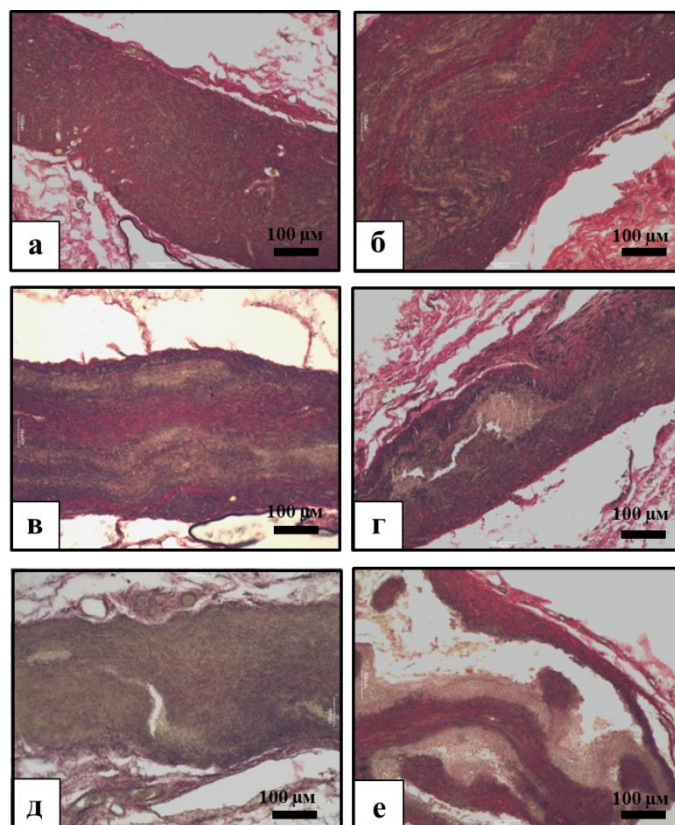


Рисунок 8 – Гистологические срезы, полученные в течение 1 месяца (левая колонка) и 3 месяцев (правая колонка) имплантации: немодифицированные скаффолды (а) и (б); модифицированные в течение 4 мин (в) и (г); 8 мин (д) и (е)

клеточными элементами, участвующими в деградации скаффолдов, являются гигантские клетки инородных тел и макрофаги (рис. 8). Учитывая, что макрофаги выделяют реактивные формы кислорода, такие как NO, более заметная деградация ПМК-скаффолдов с увеличением длительности плазменного модифицирования может объясняться способностью сформированного покрытия адсорбировать эти соединения, что способствует деградации полимерной цепи.

При микроскопических исследованиях ПМК-скаффолдов через три месяца имплантации не наблюдалась их полная резорбция. При увеличении длительности плазменного модифицирования имплантированные ПМК-скаффолды обрастали рыхлой соединительной тканью, в капсуле и прилегающих тканях наблюдались кровеносные сосуды. Кроме того, скаффолды сильно васкуолизировались, соединительная ткань в них диффузно прорастала, сохранялось слабое хроническое воспаление. Замещение исходного образца соединительной тканью происходило с краев соединительно-тканной матрицы. Таким образом, плазменное модифицирование скаффолдов способствует их заселению клетками, замещению соединительной тканью и образованию в прилегающих тканях

множества кровеносных сосудов, что приводит к сокращению сроков реабилитации при восстановлении дефектов, терапии и реабилитации утраченных функций мягких тканей.

ОСНОВНЫЕ ВЫВОДЫ

1. Показано, что средний диаметр волокон ПМК-скаффолдов, сформированных методом электроспиннинга, зависит от вязкости прядильного полимерного раствора: при 5%-й концентрации ПМК в трихлорметане средний диаметр волокон скаффолда составляет $1,4 \pm 0,5$ мкм, а при 14%-м – $5,6 \pm 1,6$ мкм.

2. Выбраны и обоснованы технологические режимы модифицирования поверхности ПМК-скаффолдов путем магнетронного распыления титановой мишени в атмосфере азота, включающие в себя удельную мощность разряда $0,4 \text{ Вт/см}^2$ и длительность модифицирования до 8 минут.

3. Доказано, что цикл промежуточной ионной очистки мишени позволяет увеличить концентрацию титана на поверхности ПМК-скаффолдов до $2,0 \pm 0,07$ ат. % по сравнению с $1,5 \pm 0,02$ ат. % без промежуточной ионной очистки мишени.

4. Показано, что ПМК-скаффолды сформированы хаотично переплетающимися между собой волокнами правильной цилиндрической формы со средним диаметром $2,2 \pm 0,3$ мкм, а плазменное модифицирование не приводит к образованию дефектов в виде оплавлений, прожогов, капель и т. п.

5. Установлено, что с увеличением длительности модифицирования ПМК-скаффолдов в плазме магнетронного разряда, возникающего при распылении титановой мишени в атмосфере азота, концентрация титана и азота на их поверхности достоверно увеличивается.

6. Показано, что при длительности плазменного модифицирования до 8 минут относительная интенсивность и положение характерных пиков на рентгенограммах ПМК-скаффолдов сохраняется, а средний размер кристаллитов достоверно не изменяется.

7. Методом оптической гониометрии показано, что модифицирование в плазме магнетронного разряда, возникающего при распылении титановой мишени в атмосфере азота, приводит к уменьшению краевого угла смачивания с $129^\circ \pm 8^\circ$ до $46^\circ \pm 5^\circ$.

8. При исследовании механических свойств ПМК-скаффолдов установлено, что значения предела прочности и относительного удлинения при выбранных технологических режимах модифицирования достоверно не изменяются. Однако при 6 и 8 минутах модифицирования значение величины модуля Юнга достоверно увеличивается, что обусловлено образованием на поверхности волокон тонких пленок оксинитридов титана.

9. Установлено, что состав тонкопленочного покрытия на поверхности волокон ПМК-скаффолдов зависит от длительности модифицирования и изменяется от соединений диоксида титана, насыщенных связями типа $C-NH$, $C=N$, $N-C=N$ и $HN-C=O$, до сложных соединений оксидов (Ti_xO_y) и оксинитридов титана (TiO_xN_y).

10. Предложен механизм формирования на поверхности нетканых ПМК-скаффолдов однородных покрытий из плазмы магнетронного разряда, возникающего при распылении титановой мишени в атмосфере азота, основанный на взаимодействии адсорбированной воды и полимерных радикалов, возникающих при разрушении связей $C-O$ и $O-C=O$, с материалом распыляемой мишени, молекулами и атомами рабочего газа. Механизм согласуется с теоретическими данными, полученными методом функционала плотности.

11. Показано, что модифицированные ПМК-скаффолды обладают большим (на 45 %) показателем адгезии культуры эндотелиальных клеток пупочной вены человека, клетки приобретают вытянутую форму и располагаются вдоль поверхности волокон, что способствует их заселению в скаффолды.

12. В медицинских исследованиях *in vivo* с использованием лабораторных животных доказано, что при подкожной имплантации модифицированных ПМК-скаффолдов в мягкие ткани наблюдаются невысокая активность воспалительных процессов, замещение скаффолдов соединительной тканью и образование в прилегающих тканях множества кровеносных сосудов. С увеличением времени модифицирования скаффолдов ускоряется их биологическая деградация и увеличивается степень биоинтеграции с живыми тканями.

13. Характеристики разработанных ПМК-скаффолдов удовлетворяют медико-техническим требованиям к нетканым биорезорбируемым скаффолдам с модифицированной поверхностью для регенеративной медицины мягких тканей.

ОСНОВНЫЕ ПУБЛИКАЦИИ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. **Maryin P. V.**, Fedotkin A. Y., Bolbasov E. N., Kozelskaya A. I., Buldakov M. A., Evtina A. A., Tverdokhlebov S. I. Surface modification of PLLA scaffolds via reactive magnetron sputtering in mixtures of nitrogen with noble gases for higher cell adhesion and proliferation // *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. – 2022. – Т. 649. – С. 129464.
2. Bolbasov E. N., **Maryin P. V.**, Stankevich K. S., Kozelskaya A. I., Shesterikov E. V., Khodyrevskaya Y. I., Tverdokhlebov S. I. Surface modification of electrospun poly-(L-

- lactic) acid scaffolds by reactive magnetron sputtering // *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. – 2018. – Т. 162. – С. 43-51.
3. Bolbasov E. N., **Maryin P. V.**, Stankevich K. S., Goreninskii S. I., Kudryavtseva V. L., Mishanin A. I., Tverdokhlebov S. I. Nitrogen-doped titanium dioxide thin films formation on the surface of PLLA electrospun microfibers scaffold by reactive magnetron sputtering method // *Plasma Chemistry and Plasma Processing*. – 2019. – Т. 39. – С. 503-517.
 4. **Maryin P. V.**, Bolbasov E. N., Tverdokhlebov S. I. The physico-chemical properties of electrospun vascular PLLA scaffolds modified by the DC magnetron sputtering of a titanium target // *Journal of Physics: Conference Series*. – IOP Publishing, 2018. – Т. 1115, №. 3. – С. 032076.
 5. **Марьин П. В.**, Иванова Н. М., Шестериков Е. В., Больбасов Е. Н., Твердохлебов С. И. Влияние промежуточной ионной очистки титановой мишени на структуру биорезорбируемых полимерных скаффолдов из полимолочной кислоты при формировании покрытий методом DC реактивного магнетронного распыления // *Физика и химия обработки материалов*. – 2019. – № 4. – С. 36–45.
 6. **Maryin P. V.**, Ivanova N. M., Shesterikov E. V., Bolbasov E. N., Tverdokhlebov S. I. Effect of Intermediate Ion Cleaning of the Titanium Target on the Structure of Bioresorbable PLLA Scaffolds under Coating Deposition by DC Reactive Magnetron Sputtering // *Inorganic Materials: Applied Research*. – 2020. – Т. 11. – С. 646-652.
 7. Lipovka A. A., Rodriguez R., Bolbasov E. N., **Maryin P. V.**, Tverdokhlebov S. I., Sheremet E. S. Time-stable wetting effect of plasma-treated biodegradable scaffolds functionalized with graphene oxide // *Surface and Coatings Technology*. – 2020. – Т. 388. – С. 125560.

СПИСОК ЦИТИРУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Alfonso M. et al. Elastic mismatch between ePTFE and PLLA vascular grafts in relation to femoral and carotid arteries in humans: in vivo, in vitro and in silico assessment // *Health Technol. (Berl)*. – 2016. – Т. 6, № 3. – С. 181–187.
2. Bhardwaj N., Kundu S. C. Electrospinning: a fascinating fiber fabrication technique // *Biotechnol. Adv.* – 2010. – Т. 28, № 3. – С. 325–347.
3. Desmet T. et al. Nonthermal plasma technology as a versatile strategy for polymeric biomaterials surface modification: a review // *Biomacromolecules*. – 2009. – Т. 10. – №. 9. – С. 2351-2378.
4. Göpferich A. Mechanisms of polymer degradation and erosion // *Biomater. silver Jubil. Compend.* - 1996. - С. 117–128.

5. Goreninskii S. I. et al. Biological effect of the surface modification of the fibrous poly (L-lactic acid) scaffolds by radio frequency magnetron sputtering of different calcium-phosphate targets // *Bionanoscience*. – 2017. – T. 7, № 1. – C. 50–57.
6. Jiang T. et al. Electrospinning of polymer nanofibers for tissue regeneration // *Prog. Polym. Sci.* - 2015. - T. 46. - C. 1–24.
7. Lim L. T., Auras R., Rubino M. Processing technologies for poly (lactic acid) // *Progress in polymer science*. – 2008. – T. 33, № 8. – C. 820–852.
8. Nampoothiri K. M., Nair N. R., John R. P. An overview of the recent developments in polylactide (PLA) research // *Bioresource technology*. – 2010. – T. 101, № 22. – C. 8493–8501.
9. Rasal R. M., Janorkar A. V., Hirt D. E. Poly (lactic acid) modifications // *Progress in polymer science*. – 2010. – T. 35, № 3. – C. 338–356.
10. Santoro M. et al. Poly (lactic acid) nanofibrous scaffolds for tissue engineering // *Adv. Drug Deliv. Rev.* – 2016. – T. 107. – C. 206–212.
11. Sarapirom S. et al. Effect of surface modification of poly (lactic acid) by low-pressure ammonia plasma on adsorption of human serum albumin // *Applied surface science*. – 2014. – T. 310. – C. 42–50.
12. Shehzad N. et al. A critical review on TiO₂ based photocatalytic CO₂ reduction system: Strategies to improve efficiency // *J. CO₂ Util.* – 2018. – T. 26. – C. 98–122.
13. Slepíčka P. et al. Antibacterial properties of modified biodegradable PHB non-woven fabric // *Mater. Sci. Eng. C*. – 2016. – T. 65. – C. 364–368.
14. Tamai H. et al. Initial and 6-month results of biodegradable poly-l-lactic acid coronary stents in humans // *Circulation*. – 2000. – T. 102, № 4. – C. 399–404.
15. Teo W. E., Ramakrishna S. A review on electrospinning design and nanofibre assemblies // *Nanotechnology*. – 2006. – T. 17, № 14. – C. R89.
16. Tian H., Tang Z. Zhuang. X.; Chen, X.; Jing, X // *Biodegrad. Synth. Polym. Prep. Funct. Biomed. Appl. Prog. Polym. Sci.* – 2012. – T. 37. – C. 237–280.