

**Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования «Национальный исследовательский Томский
политехнический университет»**

На правах рукописи

Марьин Павел Владимирович

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

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

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени
кандидата технических наук

Научный руководитель:
кандидат физико-математических наук,
доцент НОЦ Б.П. Вейнберга
Твердохлебов С.И.

Томск – 2023

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	5
1. Биodeградируемые полимерные скаффолды с модифицированной поверхностью для восстановления мягких тканей	15
1.1. Дефекты мягких тканей	15
1.2. Тканеинженерный подход при лечении заболеваний мягких тканей .	17
1.3. Свойства полимолочной кислоты	18
1.4. Технологии изготовления полимерных скаффолдов	22
1.4.1. Мокрое прядение	23
1.4.2. Экструзия	24
1.4.3. Аэродинамическое формование.....	26
1.4.4. Электроспиннинг	28
1.5. Методы модифицирования поверхности полимерных медицинских изделий	31
1.5.1. Свойства и примеры применений пленок оксинитрида титана в области биомедицины.....	31
1.6. Обзор плазменных технологий получения оксинитридных покрытий.	34
1.6.1. Дуговое испарение	35
1.6.2. Испарение электронным пучком	37
1.6.3. Импульсное лазерное напыление.....	39
1.6.4. Методы магнетронного распыления	41
1.7. Постановка цели и задач исследования	45
2. Методология работы, материалы и методы исследований	47
2.1. Методология работы.....	47
2.2. Методика эксперимента	47
2.2.1. Формирование биodeградируемых скаффолдов	47
2.2.2. Термический отжиг.....	48
2.2.3. Модифицирование скаффолдов в плазме магнетронного разряда	50
2.3. Исследование физико-химических свойств полученных материалов	52
2.3.1. Оптический спектр плазмы	52
2.3.2. Сканирующая электронная микроскопия.....	53
2.3.3. Атомно-силовая микроскопия.....	54
2.3.4. Рентгено-флуоресцентный анализ	55
2.3.5. Рентгено-структурный анализ.....	56
2.3.6. ИК-Фурье спектроскопия	57

2.3.7. Смачиваемость	59
2.3.8. Исследование механических свойств скаффолдов	59
2.3.9. Рентгеновская фотоэлектронная спектроскопия.....	60
2.3.10. Теория функционала плотности.....	61
2.4. Исследование биологических свойств	62
2.4.1. Клеточные исследования.....	62
2.4.2. Исследование гистологических срезов.....	63
2.5. Статистическая обработка данных	65
3. Исследование структуры и свойств ПМК скаффолдов с Ti-O-N покрытиями	66
3.1. Подбор режимов.....	66
3.1.1. Подбор параметров мощности	66
3.1.2. Введение режима ионной очистки мишени	68
3.1.3. Исследование влияния среднего диаметра волокон	69
3.1.4. Выводы	73
3.2. Оптический спектр плазмы	74
3.3. Сканирующая электронная микроскопия.....	75
3.4. Исследование волокон ПМК скаффолдов и толщины покрытия на них методом АСМ.....	78
3.5. Энергодисперсионный анализ.....	81
3.6. Рентгено-флуоресцентный анализ	83
3.7. Рентгено-структурный анализ (РСА).....	84
3.7.1. Влияние термического отжига на кристаллическую структуру ПМК скаффолдов	86
3.8. ИК-фурье спектроскопия.....	87
3.9. Смачиваемость	89
3.10. Исследование механических свойств скаффолдов	91
3.11. Выводы по главе 3	93
4. Исследование механизмов формирования Ti-O-N покрытий на поверхности ПМК скаффолдов	95
4.1. Рентгеновская фотоэлектронная спектроскопия.....	95
4.2. Расчет деструкции полимерных цепей ПМК методом функционала плотности.....	99
4.3. Выводы по главе 4	104

5. Исследование биологических свойств ПМК скаффолдов с Ti-O-N покрытиями	105
5.1. Исследования <i>in vitro</i> на культуре эндотелиальных клеток пупочной вены человека	105
5.2. Исследования <i>in vivo</i> гистологических срезов	107
5.3. Использование биodeградируемых полимерных скаффолдов с модифицированной поверхностью для восстановления мягких тканей....	113
5.4. Выводы по главе 5	115
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	117
ПЕРЕЧЕНЬ ПРИНЯТЫХ СОКРАЩЕНИЙ	121
СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ.....	122
ПРИЛОЖЕНИЕ А АКТ ВНЕДРЕНИЯ В НАУЧНУЮ ДЕЯТЕЛЬНОСТЬ РЕЗУЛЬТАТОВ ДИССЕРТАЦИОННОЙ РАБОТЫ	149
ПРИЛОЖЕНИЕ Б АКТ ВНЕДРЕНИЯ В НАУЧНУЮ ДЕЯТЕЛЬНОСТЬ РЕЗУЛЬТАТОВ ДИССЕРТАЦИОННОЙ РАБОТЫ	150
ПРИЛОЖЕНИЕ В МЕДИКО-ТЕХНИЧЕСКИЕ ТРЕБОВАНИЯ НА РАЗРАБОТКУ НЕТКАНЫХ ПМК СКАФФОЛДОВ С МОДИФИЦИРОВАННОЙ ПОВЕРХНОСТЬЮ	151
ПРИЛОЖЕНИЕ Г РЕЗУЛЬТАТ ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ «КОММЕРЧЕСКАЯ ТАЙНА».....	152
ПРИЛОЖЕНИЕ Д АКТ ВНЕДРЕНИЯ В ОБРАЗОВАТЕЛЬНЫЙ ПРОЦЕСС РЕЗУЛЬТАТОВ ДИССЕРТАЦИОННОЙ РАБОТЫ	153

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность работы. 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, 2], используемая для изготовления резорбируемых стентов [3, 4], искусственных сосудистых графтов [5, 6], тканеинженерных конструкций [7]. Для переработки ПМК в нетканые скаффолды наиболее перспективным методом является электроформование (электроспиннинг) [8], для которого характерны относительно простая техническая реализация, возможность в широких пределах манипулировать составом и структурой формируемого материала, а также изготавливать изделия с различным формфактором [9–11].

Основным недостатком скаффолдов, изготовленных методом электроспиннинга из ПМК, является низкая скорость деградации, отсутствие на поверхности реакционноспособных групп и высокая гидрофобность [12], что в свою очередь снижает адгезию и пролиферацию клеток [13, 14], 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 оксинитрида титана обладают бактерицидными свойствами, что позволяет снизить риск повторного тромбобразования [15–17]. Указанные выше 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 распыление позволяет в широких пределах варьировать свойства получаемого покрытия, изменяя такие параметры процесса, как состав рабочего газа, материал распыляемой мишени, мощность разряда и т. д. [17, 18]. Однако известно, что термическое и радиационное воздействие плазмы магнетронного разряда на полимерный материал сопровождается его деструкцией [19], что может отрицательно сказываться на биосовместимости [20].

В настоящее время как отечественными, так и зарубежными научными коллективами ведутся активные исследования и разработка 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 развивает Научно-образовательный центр 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 С-О и О-С=О, 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. Биodeградируемые 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, четырех глав, заключения, списка литературы, включающего 213 источников. Полный объем работы – 153 страницы, в том числе 33 рисунка, 15 таблиц и 5 приложений.

1. Биodeградируемые полимерные скаффолды с модифицированной поверхностью для восстановления мягких тканей

1.1. Дефекты мягких тканей

Мягкие ткани составляют порядка 50% от всей массы организма человека и включают в себя: жировую ткань, кожу, сухожилия, мышцы, суставные хрящи, нервы и кровеносные сосуды [22]. Они обычно выполняют функции поддержки или соединения структур и органов тела. Повреждения мягких тканей, вызванные врожденными дефектами, заболеваниями, травмами и старением, часто приводят к серьезным последствиям и долгой реабилитации [23].

В настоящее время сердечно-сосудистые и цереброваскулярные заболевания уносят в мире по меньшей мере 17 миллионов человек каждый год [24], и ожидается, что к 2023 году это число может достигнуть 25 миллионов. Традиционные методы лечения таких сердечно-сосудистых заболеваний как атеросклероз, пороки разного генеза, последствия инфарктов и инсультов, а также стенокардия, представляют собой операционное вмешательство с использованием аутологичной вены и трансплантация молочной артерии, что является золотыми стандартами клинической терапии. Однако выбор сосудистых заменителей, которые могут быть использованы для таких трансплантаций, существенно ограничен [25]. Кроме того, существует ряд клинических проблем, которые не могут быть решены: тромбоз, неблагоприятный иммунный ответ, неоинтимальная гиперплазия, сохранение швов и плохие механические свойства материалов, особенно для сосудистых трансплантатов малого диаметра [26].

С другой стороны, кожа, как самый большой орган тела, в первую очередь, служит барьером, защищающим раны от инфекций и обезвоживания, и контролирует прохождение различных веществ внутрь и наружу. Дефекты кожи большой площади серьезно влияют на физическое здоровье и внешний вид, могут привести даже к смерти, а ограничения при их терапии, такие как гиперплазия, инфекция и рубцевание заставляют искать новые пути для замещения поврежденной кожной ткани [27].

В некоторой степени травмы носа объединяют в себе вышеуказанные патологии и чаще всего встречаются у мужчин в возрастной группе 15-25 лет, а у женщин в возрасте старше 60 лет [28]. Механизмы травмы могут быть разнообразными: автомобильные аварии, насилие, укус животных, промышленные аварии и боевые повреждения. Наиболее распространенным местом травмы являются кончик носа, дорум и корневая область носа [29]. Мягкие ткани носа схожи с другими тканями области лица, головы и шеи. Богатое кровоснабжение лица увеличивает потенциал для успешной интеграции аутологичной ткани, даже при серьезных дефектах. При этом, избыток шовного материала при использовании аутологичной ткани может привести к локальному воспалению и способствовать локальному некрозу [30].

Аутологичная имплантация является основным методом лечения описанных выше дефектов и заболеваний мягких тканей, однако ее главным недостатком является то, что аутологичная ткань легко рассасывается и быстро теряет форму и объем, поэтому только 40-60% клеток мягких тканей сохраняют способность к пролиферации и дифференцировке и имеют дальнейший регенеративный потенциал [31]. Кроме того, широкое применение аутологичной трансплантации ограничивается аллогенной реакцией на донорский клеточный материал и сопровождается частыми воспалительными реакциями [32]. Относительно новый и привлекательный подход – тканевая инженерия, который объединяет в себе самые современные разработки медицинской и материаловедческой наук с преодоления ограничений существующих клинических методов лечения при восстановлении и регенерации поврежденных или больных мягких тканей и органов [33].

1.2. Тканеинженерный подход при лечении заболеваний мягких тканей

Основой тканеинженерного подхода, применяемого при лечении поврежденных тканей и органов, является создание условий для регенерации и восстановления их функций путем имплантации клеточного материала, выращенного вне организма. Тканевая инженерия эволюционировала от использования биоматериалов для восстановления или замены больной, поврежденной ткани до использования трехмерных каркасов, называемых скаффолдами, на которых можно высаживать клетки, выращивая тем самым клеточный материал для имплантации из клеток самого пациента. Клинический успех скаффолдов во многом зависит от материалов, из которых они изготовлены. Основными материалами для изготовления скаффолдов являются различные полимеры, металлы, керамика или композиты. Требования, предъявляемые к таким материалам, довольно сложны: они должны быть биосовместимыми, обладать соответствующими механическими свойствами, иметь пористую и проницаемую структуру для обеспечения проникновения клеток и питательных веществ.

Ряд ограничений, связанных с биосовместимостью, химической и механической прочностью, привели к использованию синтетических альтернативных материалов, которые в начале 1960-х годов объединили в отдельную группу и назвали "Биоматериалы", для восстановления, замены и укрепления различных тканей. Первое поколение биоматериалов появилось в 1960-х годах. Их назначение состояло в том, чтобы добиться соответствия характеристик биоматериала заменяемой ткани с наименьшей токсической реакцией со стороны организма пациента. Они, как правило, обладали биоинертными свойствами и минимально взаимодействовали с окружающими тканями. Первое поколение биоматериалов включает: металлы (такие как титан или титановые сплавы), синтетические полимеры (такие как ПММА и ПЭЭК) и керамику (например, глинозем и диоксид циркония). Наиболее важной особенностью второго поколения является их

биоактивность, а некоторые из них могут быть биodeградируемыми *in vivo*. Они состоят из природных (например, коллагена) и синтетических (например, поликапролактон, полимолочная кислота) полимеров, фосфатов кальция и биоактивных стекол. Наиболее часто используемые биоразлагаемые синтетические полимеры представляют собой поли (лактид-со-гликолид) и их соответствующие гомополимеры. Поли (гликолид) и поли (лактид) использовались клинически в течение нескольких десятилетий в качестве шовных материалов. Это обусловлено тем, что продукты их биодеструкции хоть и являются кислотными, в значительной степени безвредны для организма. Скорость деградации и физическая структура скаффолдов влияют на воспалительный ответ, например, более высокие скорости деградации приводят к более высоким локальным концентрациям (потенциально) воспалительных молекул.

В настоящий момент активно ведутся исследования уже над третьим поколением биоматериалов, которые призваны решить недостатки, свойственные материалам второго поколения, связанные с их низкой смачиваемостью, не контролируемой биodeградацией, слабой механической прочностью. Решается это за счет процессов химического и физического модифицирования поверхностной и объемной структуры материала. До изучения процессов модифицирования полимерных биоматериалов необходимо рассмотреть историю, свойства и области применения одного из самых широко используемых синтетических биорезорбируемых полимерных материалов – полимолочной кислоты.

1.3. Свойства полимолочной кислоты

Полимолочная кислота или полилактид (ПМК) является одним из наиболее широко используемых синтетических полимеров в биомедицинской практике [34, 35]. Впервые ПМК с низкой молекулярной массой была синтезирована Каротерсом в 1932 году [36]. Химическая формула ПМК представлена на рис. 1.1.

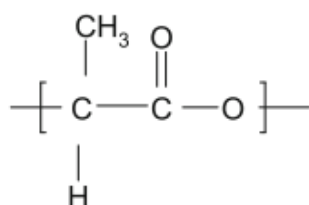


Рисунок 1.1 – Формула полимолочной кислоты

Позднее, в 1954 году, специалистами компании DuPont был разработан способ получения ПМК с более высокой молекулярной массой [37]. Для получения мономера молочной кислоты использовались два метода: химический синтез на основе нефтехимического сырья и ферментация углеводов (рис. 1.2).

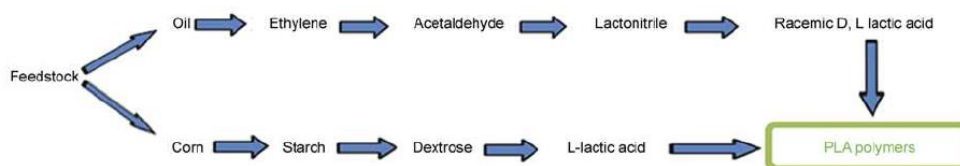


Рисунок 1.2 – Циклы синтеза полимолочной кислоты

Основным по настоящее время является второй способ, основанный на ферментации природных материалов, содержащих углеводы, таких как рис, кукуруза и т. д. Однако в 1992 году компанией Cargill (США) был запатентован еще один способ получения высокомолекулярной ПМК – кольцевая полимеризация [38].

Полимолочная кислота в зависимости от того, из какого энантиомера ее синтезировали, может существовать в трех изомерных формах (рис.1.3): D(-), L(+) и их рацемической смеси (D, L), которые и определяют многие свойства этого полимера, в частности кристалличность и условия растворения в органических растворителях.



Рисунок 1.3 – Структура изомеров полимолочной кислоты

Соотношение D- и L-изомеров, а также их распределение вдоль полимерной цепи влияет на молекулярную массу, кристалличность и температуру плавления конечного продукта, изготовленного из ПМК [39, 40]. Молекулярная масса ПМК может контролироваться в широких пределах за счет контроля чистоты лактида [41]. Высокая доля L-лактида может быть использована для получения кристаллических полимеров. Высококристаллические полимеры могут быть получены при содержании D-лактида в материалах менее 2% [42]. Кристалличность ПМК уменьшается с увеличением содержания D-изомера [43]. Аморфные полимеры могут быть получены при относительно высоком содержании D-лактида (более 15%) [41]. Кристалличность и температура плавления чистого поли-L-лактида составляют около 37% и 175-178°C, соответственно [44]. Например, ПМК, полученная из мезо-лактида, является аморфным полимером [45]. С другой стороны, поли(L-молочная кислота) (ПЛМК) – это частично кристаллический, относительно твердый материал с регулярной молекулярной структурой [46]. Правильный баланс жесткости, прочности, температуры плавления и степени кристалличности ПЛМК можно контролировать без нарушения кристалличности с помощью введения D-лактида [44]. D-форма обычно рассматривается как примесь в ферментированной молочной кислоте [47]. Кроме того, варьируя изомеры ПМК можно получить различные температуры плавления, варьирующиеся от 130°C до 220°C [41]. ПЛМК, содержащая только L-молочные изоформы,

имеет температуру плавления 180°C. Смесь поли(L-молочной кислоты) и поли(D-молочной кислоты) образует полимерный стереокомплекс с более высокой температурой плавления, чем L- или D-полимеры по отдельности, и с улучшенными механическими свойствами. Однако соотношение смешивания и молекулярная масса обоих полимеров влияют на образование стереокомплекса [48]. Температура плавления стереокомплекса может достигать 220°C, при этом конформация макромолекул такого комплекса еще слабо изучена [39].

Что касается биологической деградации (деструкции) ПМК, то она обусловлена двумя процессами: термической и гидролитической деградаций. Термическая стабильность биополиэфиров является не высокой, что существенно ограничивает область их применения. Температура термической деградации ПМК лежит в пределах от 230°C до 260°C. Гупта и Дешмух в своей работе [49] пришли к выводу, что расщепление карбонильной связи углерод-кислород является наиболее вероятным механизмом термической деструкции ПМК при изотермическом нагревании, о чем свидетельствует большее количество концевых групп карбоновых кислот по сравнению с концевыми группами гидроксидов. Реакции, участвующие в термической деструкции полимеров на основе молочной кислоты, могут протекать по различным механизмам [50], таким как термогидролиз, молниеподобная деполимеризация в присутствии остатков катализатора, термоокислительная деструкция [51] и реакции трансэстерификации катионов, которые дают одновременный разрыв и образование связей.

Процессы гидролитической деградации ПМК являются важным явлением, поскольку приводят к фрагментации основной полимерной цепи [52] и могут быть связаны с термической или биотической деградациями. На этот процесс могут влиять различные параметры, такие как структура ПМК, ее молекулярная масса, морфология, кристалличность, геометрическая форма образцов, наличие/отсутствие модифицирования и условия гидролиза.

Гидролиз алифатических полиэфиров начинается с фазы поглощения воды, за которой следует гидролитическое расщепление сложноэфирных связей в случайном порядке. Известно, что аморфные части полиэфиров подвергаются гидролизу раньше, чем их кристаллические части, из-за более высокой скорости поглощения воды. Поэтому начальная стадия происходит в аморфных областях, предоставляя оставшимся неразложившимся цепям больше пространства и подвижности, что приводит к их реорганизации и, следовательно, к увеличению кристалличности. На второй стадии гидролитическая деградация кристаллических областей полиэфиров приводит к увеличению скорости потери массы и, наконец, к полному расщеплению. По данным Ли с соавторами [53], деградация ПМК в водной среде протекает быстрее в центре образца. Объяснением такого специфического поведения является автокаталитический эффект, вызванный увеличением количества соединений, содержащих карбоксильные концевые группы. Эти соединения с низкой молярной массой не способны проникать через внешнюю оболочку. Вместо этого продукты деградации в поверхностном слое постоянно растворяются в окружающем буферном растворе [50].

1.4. Технологии изготовления полимерных скаффолдов

Вопрос о методе переработки полимерных материалов и получения изделий с заданным комплексом свойств решается путём одновременного выбора нужных компонентов и соответствующих технологий. Переработка полимерных материалов – это совокупность технологических процессов, обеспечивающих получение изделий с заданной формой, морфологией и медико-техническими свойствами: механическая прочность, химическая, термическая стойкость и т. п. Далее рассмотрены некоторые способы переработки ПМК в волокнистые скаффолды.

1.4.1. Мокрое прядение

При формировании волокнистых скаффолдов методом мокрого прядения используют сильно концентрированные полимерные растворы, высокую вязкость которых удаётся понизить повышением температуры прядения. Детально такой процесс показан на рисунке 1.4.

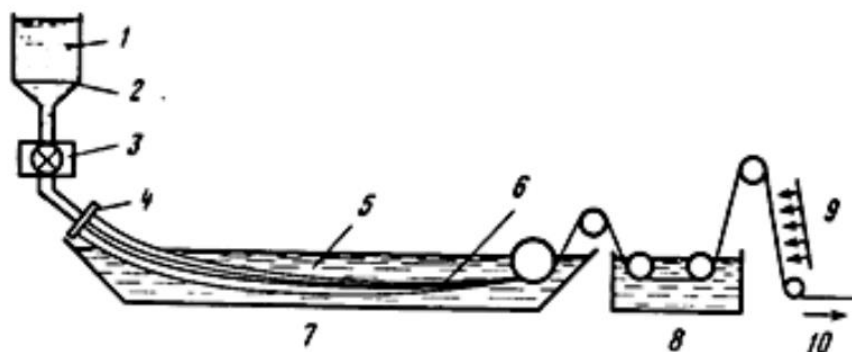


Рисунок 1.4 – Процесс формирования волокнистых скаффолдов методом мокрого прядения: 1 – раствор полимера; 2 – фильтр; 3 – дозирующий насос; 4 – многоканальный мундштук; 5 – осадитель; 6 – свежеспряденное волокно; 7 – ванна для коагуляции и осаждения; 8 – ванна для промывки; 9 – сушка; 10 – направление к сборочному коллектору [54]

Технология мокрого прядения основана на введении полимерного раствора в коагуляционную ванну (7), где происходит непрерывное формирование длинных волокон. Для эффективного формирования коагуляционная ванна заполняется либо “плохим растворителем” либо не растворителем по отношению к полимеру [55]. Иногда в процессе мокрого прядения вместо непрерывных нитей образуются комки, что происходит в результате обрыва вытекающей из фильеры струйки под действием сил поверхностного натяжения. Этого удаётся избежать при увеличении вязкости полимерного раствора. Технология мокрого формирования волокна является хорошо отработанной технологией, которая позволяет производить волокна с диаметром от 30 до 600 мкм [56].

Как правило, скаффолды, полученные способом мокрого прядения, характеризуются случайным расположением волокон [57], однако существует возможность их ориентирования [58]. Поскольку волокна, формируемые методом мокрого прядения, являются относительно толстыми, размер пор образованных скаффолдов является большим (250 – 500 мкм) при средней пористости более 80 %, что значительно больше, чем, например, пористость и размер пор скаффолдов, полученных методом электроспиннинга [59].

Регулирование диаметра волокон и пористости скаффолдов может быть осуществлено путем регулирования диаметра сопла, расхода раствора полимера, а также его вязкости [60]. Высокая пористость скаффолдов и большой размер пор не препятствует заселению клеточным материалом его внутреннего объема, способствует проникновению в скаффолды питательных веществ и удалению продуктов жизнедеятельности. Такие скаффолды были использованы для регенерации различных тканей: хрящевой [61], сухожилий и связок [62], нервной [63] и костной тканей [64]. Механическая прочность скаффолдов может быть увеличена на несколько порядков путем создания композитов с углеродными нанотрубками (УНТ) или оксидом графена [65]. Ограничением метода является относительно небольшой спектр полимерных материалов, пригодных для формирования. В основном скаффолды, изготовленные методом мокрого прядения, были изготовлены из биорезорбируемых полимеров: коллагена, поликапролактона и альгинатов.

1.4.2. Экструзия

Экструзия в настоящее время осуществляется в основном на шнековых экструдерах, оснащенных охлаждающими, тянущими, режущими и другими устройствами. Схематическое изображение наиболее распространенного экструдера – одношнекового приведена на (рис. 1.5).

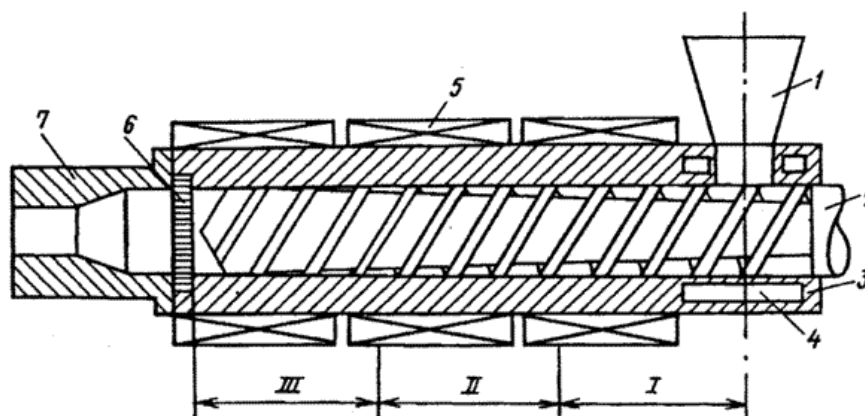


Рисунок 1.5 – Схематическое изображение одношнекового экструдера: 1 – бункер; 2 – шнек; 3 – цилиндр; 4 – полость для циркуляции воды; 5 – нагреватель; 6 – решетка с сетками; 7 – формирующая головка [66]

Переработка полимеров экструзией представляет собой процесс последовательного перемещения материала вращающимся шнеком через следующие зоны (см. рис. 1.5):

- питания (I) – происходит непосредственная загрузка шнека полимерным материалом и его подогрев, например, водой, циркулирующей в полостях цилиндра, а также за счет сил трения о стенки цилиндра и шнека;
- пластификации (II) – материал полностью расплавляется и за счет увеличения диаметра вала шнека уплотняется;
- дозирования расплава (III) – расплав материала подается непосредственно в формирующую головку порциями, за счет еще большего увеличения диаметра вала шнека в расплаве увеличивается давление, из-за чего материал через фильеру идет непрерывным потоком [67].

Зоны шнека определяются основной операцией, выполняемой на том или ином участке шнека. Такое разделение на зоны условно и зависит от природы перерабатываемого полимера, температурно-скоростного режима процесса и других факторов. Эти условные зоны могут смещаться вдоль шнека, переходя из одного участка шнека в другой.

Цилиндр также имеет определенные длины зон обогрева. Длина этих зон определяется расположением нагревателей на его поверхности и их

температурой. Границы зон шнека I – III и зон обогрева цилиндра могут не совпадать [68].

Метод используется для создания как биостабильных, так и биodeградируемых волокнистых скаффолдов из различных полимеров: полиэтилентерефталата [69], полимолочной кислоты [70], поликапролактона [71]. Процесс экструзии позволяет создавать скаффолды, состоящие из монофиламентов, мультифиламентов, полых волокон а также волокон, имеющих фрактальную структуру [72]. На основе волокон, изготовленных экструзией, методами вязания, ткачества или плетения изготавливаются скаффолды, имеющие высокие механические свойства: предел прочности при растяжении ~ 340 МПа, модуль упругости 7,1 ГПа [73]. Недостатками экструзии являются высокие температуры, необходимые для формирования волокна, что отрицательно сказывается на свойствах некоторых полимеров, а также сложность процесса и высокая стоимость оборудования.

1.4.3. Аэродинамическое формирование

Перспективной технологией создания скаффолдов является метод аэродинамического формирования (АФ) в газовом потоке, при котором для получения твердых трехмерных волокнистых структур из растворов полимеров используется энергия сжатого газа. Для формирования скаффолдов используют систему концентрических сопел, по внутреннему из которых пропускают раствор полимера, а по внешнему сжатый под высоким давлением газ. Таким образом, капля раствора полимера, сформированная на кончике внутреннего сопла, растягивается потоком сжатого газа высокого давления, протекающим вокруг капли через внешнее сопло, в результате чего капля вытягивается в конус. Когда давление воздуха превышает критическое, с вершины конуса срывается струя полимерного раствора, которая движется в направлении потока воздуха. В результате падения давления от сопла к коллектору происходит процесс вытягивания волокна и испарение растворителя. Метод был предложен 2009 г. в работах С. Медейроса как

альтернатива электроспиннингу [74]. Было показано что, управляя параметрами процесса формования (расходом раствора полимера, его вязкостью, давлением сжатого и расходом газа), возможно регулировать пористость и размер волокон формируемого материала [75].

Схема изготовления волокнистых скаффолдов методом аэродинамического формования представлена на рисунке 1.6.

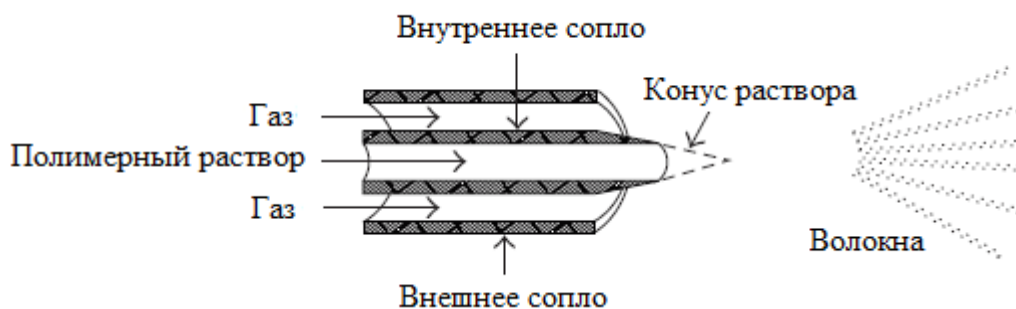


Рисунок 1.6 – Процесс аэродинамического формования

Методом аэродинамического формования скаффолды могут изготавливаться из различных полимерных материалов, которые характеризуются высокой пористостью, волокнистой структурой, имитирующей естественную организацию внеклеточного матрикса [76]. Кроме того, существует возможность формировать скаффолды непосредственно на живых тканях, что делает данную технологию перспективной для медицинских применений [77]. Метод отличается высокой производительностью и безопасностью, низкой стоимостью технологического оборудования, что делает его перспективным для таких приложений, как мембраны для биологических и химических датчиков, материалы для адресной доставки лекарственных средств, фильтрующие материалы и др. [78, 79].

В настоящее время работы по формированию и исследованию свойств скаффолдов, изготовленных методом АФ, активно ведутся в США, Европе, Китае, Бразилии, России. В основном работы в данной направлении посвящены исследованию влияния технологических параметров на

структурные особенности полимерных скаффолдов (пористость, размер пор, диаметр волокон), применению метода для создания супергидрофобных покрытий, изучению различных полимерных материалов, пригодных для формования скаффолдов [77, 80–83]. Несмотря на значительные успехи, достигнутые в последнее время, в технологии изготовления скаффолдов методом АФ остается не исследованным вопрос влияния технологических параметров на морфологию и кристаллическую структуру сформированных полимерных скаффолдов. Кристаллическая структура полимерного материала во многом определяет совокупность физико-химических свойств сформированных изделий [84], что особенно важно для скаффолдов, предназначенных для восстановления функции органов и тканей.

1.4.4. Электроспиннинг

Метод электроспиннинга (электроформования) был разработан в СССР в НИФХИ им. Л.Я. Карпова [85]. Суть метода электроспиннинга (ЭС) заключается в создании электрического поля высокой напряженности между тонким соплом (порядка 1 мм) и сборочным коллектором, на котором осуществляется формирование нетканого материала.

Метод электроспиннинга характеризуется универсальностью и простотой процесса. Волокна, полученные с использованием метода ЭС, могут иметь различную длину и в зависимости от физических свойств полимерного прядильного раствора (вязкости, электропроводности, поверхностного натяжения), рабочего напряжения, расстояния между соплом и сборочным коллектором, расхода раствора полимера могут быть различного диаметра от нескольких нанометров до нескольких десятков микрометров [86, 87].

Процесс формования волокнистых скаффолдов методом электроспиннинга можно условно разделить на 3 этапа (рис. 1.7).

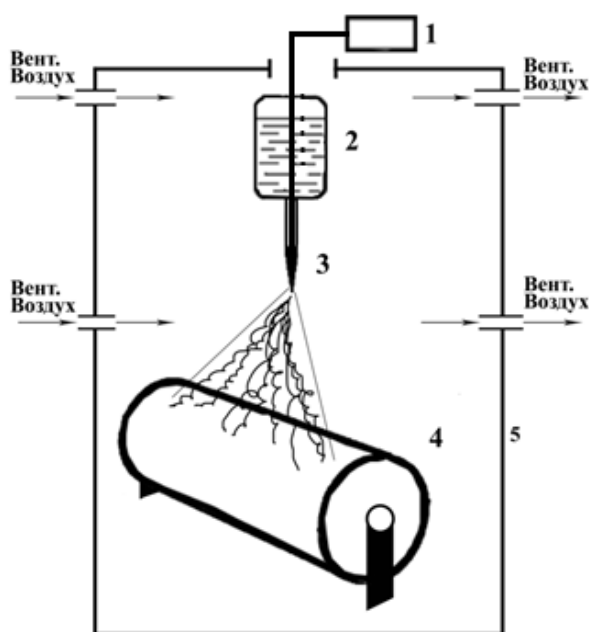


Рисунок 1.7 – Принципиальная схема установки электроспиннинга:

1 – источник питания, 2 – шприц, содержащий прядильный раствор, 3 – капиллярное сопло, 4 – сборочный коллектор, 5 – камера

Прядильный раствор находится в шприце 2, в который внедрен металлический электрод, соединенный с источником питания 1. Данный электрод находится под высоким отрицательным электрическим потенциалом. Полимерный раствор, как правило, под давлением поршня вытекает из шприца 2 через капиллярное сопло 3 с заданной скоростью. Под действием электрических сил образуется непрерывная струя прядильного раствора, которая направлена вдоль линий электрического поля.

На струе прядильного раствора действуют переменные силы электрического поля, вызванные изменением объемной плотности электрических зарядов, и гидродинамический момент сил, которые разворачивают струю поперек направления поля. Возрастающая сила сопротивления среды замедляет струю прядильного раствора, что приводит к образованию из неё облака в виде расширяющегося конуса, который ограничен на рисунке 1.7 штриховой линией. Параллельно данному процессу образования конуса резко ускоряется процесс испарения растворителя и

струи прядильного раствора затвердевают в виде волокон. Образовавшееся в результате затвердения волокна дрейфуют в электрическом поле и осаждаются на сборочном коллекторе 4. Так как происходит процесс интенсивного испарения растворителя, оборудование для электроформования размещают в хорошо вентилируемой камере 5.

К преимуществам данного метода можно отнести:

- 1) относительную простоту процесса;
- 2) эффективный контроль за ключевыми параметрами процесса: скоростью расхода полимера и напряженностью поля [88, 89];
- 3) скаффолды, сформированные методом электроспиннинга, имеют однородное (узкое) распределение волокон по диаметру, высокие прочностные свойства и хорошую биосовместимость [90, 91];
- 4) важным преимуществом метода является широкий спектр материалов, пригодных для формования скаффолдов. В литературе описаны биodeградируемые скаффолды, сформированные из поливинилпирролидона [92], полимолочной кислоты [93], поликапролактона [94], белков и т. д. [95].

Однако для применения в области тканевой инженерии метод имеет определенные ограничения, что сокращает сферу его применения, в частности:

- технологические трудности с изготовлением скаффолдов толщиной более 3 мм, которые необходимы для многих приложений ТИ [96];
- относительно низкая производительность метода;
- высокая плотность упаковки волокон, которую трудно контролировать, в результате чего сформированные скаффолды обладают небольшим размером пор порядка (10 – 15 мкм), что ограничивает инфильтрацию клеточного материала в их объем скаффолдов [97, 98].

Для улучшения свойств ЭС скаффолдов для биомедицинских применений используются химические, технологические и физические методы: выщелачивание растворимой примеси, например, соли или полимера

[99, 100], использование жидкого сборочного коллектора [101], плазменное модифицирование, УФ или лазерное облучение [102].

1.5. Методы модифицирования поверхности полимерных медицинских изделий

1.5.1. Свойства и примеры применений пленок оксинитрида титана в области биомедицины

Оксинитрид титана представляет собой химическое соединение титана, кислорода и азота. По своей твердости, биосовместимости и бактериальной адгезии покрытия из оксинитрида титана (TiN_xO_y) можно сравнить с нитридом титана (TiN). Тонкопленочные покрытия химического соединения TiN_xO_y находят широкое применение для изготовления солнечных фотоприемников, датчиков видимого и УФ излучения, газовых сенсоров, а также в качестве фотокатализаторов.

Кроме того, все больше работ [103, 104] свидетельствуют об успешном применении пленок оксинитрида титана для изготовления материалов и изделий, применяемых для биомедицины и тканевой инженерии. Данный факт связан с тем, что физико-химические свойства TiN_xO_y покрытий можно контролировать с помощью их собственной структуры и химического состава.

Особую роль в свойствах таких покрытий играет соотношение азот/кислород. Например, TiN_xO_y покрытия, в которых преобладает концентрация кислорода, широко применяются в производстве тонкопленочных резисторов [105]. Тогда как покрытия, в которых преобладает концентрация азота, используются в качестве антибликовых покрытий [106], а также при модифицировании биоматериалов [107]. Их биоинертность регулируется титаном и его оксидами, а молекулы оксида азота и/или их предшественников определяют их биоактивные свойства [108].

Высокую биосовместимость TiN_xO_y покрытий можно объяснить двумя взаимодополняющими обстоятельствами. Во-первых, они защищают

поверхность подложки от коррозии в биологической, а также сильно окисленной или восстановительной средах [109]. Это свойство обусловлено низкой растворимостью частиц оксида титана и их «повторной пассивацией» всякий раз, когда оксидная пленка нарушается. Во-вторых, оксид титана активно взаимодействует с молекулами окружающей среды, что приводит к его гидратации и более эффективному взаимодействию с рядом биологических молекул, например, белками. Данный факт связан с диэлектрической проницаемостью титана, близкой к диэлектрической постоянной воды, и отсутствием обширных поверхностных зарядов.

Помимо химических свойств поверхности важное значение для биосовместимости имплантата и его высокой остеоинтеграции имеет микроструктура. В работе [58] было показано, что шероховатость поверхности заметно увеличивает остеоинтеграцию, клеточную дифференцировку и их механическую фиксацию. Пескоструйная обработка в сочетании с кислотным травлением или методы анодного оксидирования являются стандартными для создания желательной шероховатости поверхности и увеличения биосовместимости. Однако данные методы затруднительно использовать для обработки полимерных материалов, в виду их сильного деструктивного влияния или невозможности применения. Поэтому нанесение TiN_xO_y покрытий на поверхность полимерных скаффолдов является наиболее приемлемым методом для улучшения их биосовместимости. Так, авторы работы [110] отмечали, что по сравнению с поверхностью, обработанной кислотным травлением или пескоструйной обработкой, покрытия TiN_xO_y ускоряют остеоинтеграцию примерно на 50% в течение первого месяца заживления как *in vitro*, так и *in vivo*. Также перспективность применения покрытий оксинитридов титана для биомедицинских материалов связана с их высокой химической стойкостью, что позволяет наносить TiN_xO_y покрытия тонким слоем (100–200 нм), который не влияет на микрошероховатость подложки [111].

Интересным эффектом также является то, что свойства данного покрытия не зависят от подложки, на которую они наносятся [112], что в свою очередь позволяет наносить такие покрытия, как на металлические, так и полимерные изделия. Кроме того, в работах [107, 113] авторы утверждают, что такие покрытия затрудняют тромбоз и отложение фибриногена на поверхности имплантатов для сердечно-сосудистой хирургии. По-видимому, покрытия TiN_xO_y влияют на ранние стадии адгезии клеток, выступая в качестве катализатора для их прикрепления и распространения.

Процесс взаимодействия имплантатов с биологическими средами организма представляет собой сложный механизм, включающий ряд биохимических процессов: адсорбцию белков, хемоатракцию (адгезию клеток к поверхности хемоатрактантов) агрегированными тромбоцитами и межклеточные взаимодействия типа остеобласты-остеобласты, остеобласты-эндотелиальные клетки и другие. Когда кровь вступает в контакт с поверхностью имплантата [114] происходит адсорбция белка на его поверхность, что приводит к иммобилизации эритроцитов и тромбоцитов. Адгезия, активация и агрегация тромбоцитов являются ключевыми стадиями во взаимодействии имплантата с биологической средой организма. При активации тромбоциты дегранулируют, высвобождая некоторые факторы роста, такие как PDGF или ряд факторов семейства TGF- β [115]. Таким образом, во время процесса остеоинтеграции клетки не прилипают непосредственно к поверхности покрытия, а фиксируются к адсорбированному слою макромолекул (главным образом, коллагенов и фибронектина), которые образуют предварительный внеклеточный матрикс. На более поздних стадиях взаимодействия имплантата с биологическим окружением организма внеклеточный матрикс реконструируется клетками [116]. Клеточная адгезия к лигандам внеклеточного матрикса в основном опосредуется интегринами (ITG) α_1 , α_2 и β_1 [117]. Помимо адгезии остеобластов к поверхности имплантата, остеоинтеграция также зависит от неоваскуляризации для обеспечения питательными веществами и факторами

роста. Во время остеогенеза происходят коммуникационные процессы между эндотелиальными клетками и остеобластами. Например, эндотелиальные клетки могут стимулировать пролиферацию и дифференцировку остеобластов посредством секреции BMP2, эндотелина-1 или фактора роста инсулина [118]. И наоборот, остеобласты способны синтезировать VEGF – известный активатор пролиферации и дифференцировки эндотелиальных клеток [119, 120].

Однако свойства TiN_xO_y покрытий существенно зависят от метода их формирования. Далее рассмотрен ряд методов плазменного модифицирования поверхности как металлических, так и полимерных материалов, позволяющих формировать такие покрытия.

1.6. Обзор плазменных технологий получения оксинитридных покрытий

Одним из перспективных способов улучшения свойств синтетических волокнистых материалов, к которым относятся полимерные скаффолды, является их объемное и поверхностное модифицирование. Выбор метода модифицирования зависит от строения полимера, а также экономических и прикладных факторов [63]. Все методы модифицирования можно подразделить на три большие группы:

- методы химического модифицирования;
- физические (структурные) методы модифицирования;
- методы химического и физического поверхностного модифицирования [64].

Химическое модифицирование направлено на изменение химического состава полимеров путем сополимеризации при получении исходного полимера или путем введения в него новых функциональных групп, как правило, на стадии синтеза. Физическое модифицирование синтетических волокнистых материалов заключается в направленном изменении

надмолекулярного строения, формы и внешней поверхности волокон, без изменения химического состава.

В качестве альтернативного метода модифицирования свойств волокнистых материалов особую значимость приобретают плазменные методы [65] при воздействии различных типов разрядов: тлеющего, барьерного, коронного, искрового, дугового, высокочастотного и сверхвысокочастотного. Они позволяют направленно изменять структуру и поверхностные свойства полимерного материала с целью изменения физико-механических, поверхностных и эксплуатационных свойств, при сохранении комплекса остальных характеристик.

Большинство методов химического и физического поверхностного модифицирования оказывают воздействие на структуру как натуральных, так и синтетических волокнистых материалов, и при улучшении одних характеристик (капиллярности, смачиваемости) нередко следует ухудшение других (прочности, истирания). Поэтому выбор метода модифицирования поверхности полимерного волокнистого материала играет важную роль для его дальнейшего биомедицинского применения.

1.6.1. Дуговое испарение

Вакуумно-дуговое нанесение покрытий (катодно-дуговое осаждение) – это физический способ нанесения покрытий в вакууме, путём конденсации на подложку материала из плазменных потоков, генерируемых на катоде-мишени в катодном пятне вакуумной дуги сильноточного низковольтного разряда, развивающегося исключительно в парах материала электрода (рис. 1.8).

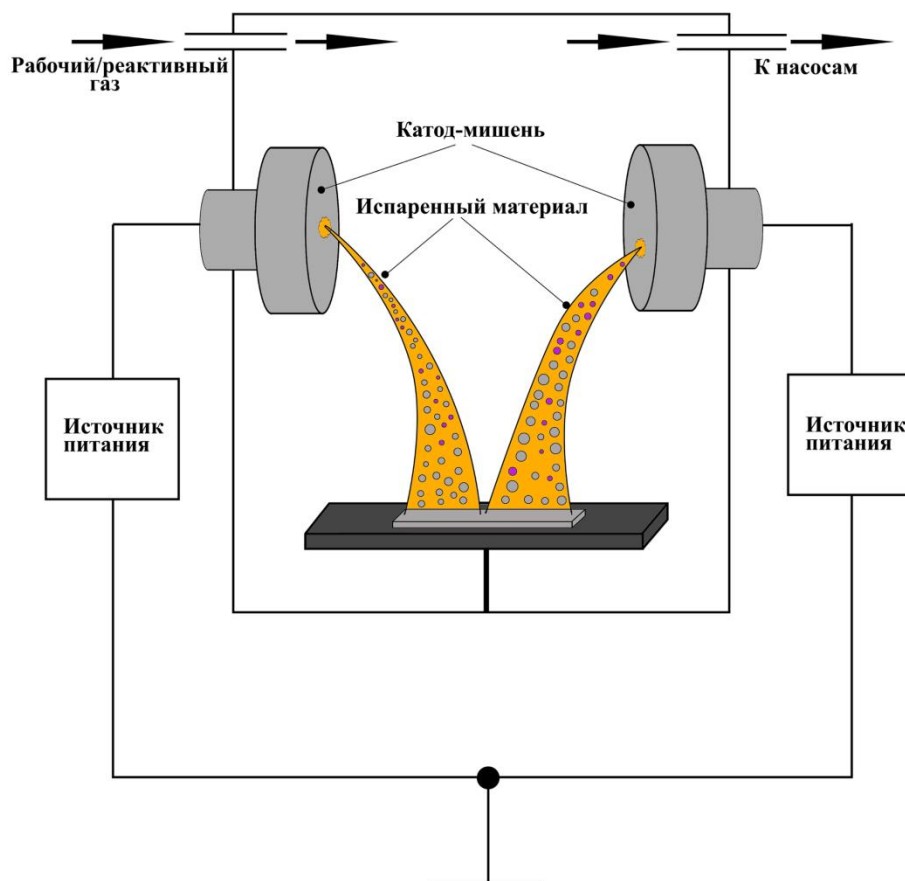


Рисунок 1.8 – Принципиальная схема дугового испарителя

Метод вакуумного дугового испарения обладает рядом преимуществ:

- широкий диапазон рабочего давления (10^{-2} - 10^{-5} Па);
- высокая степень ионизации (20-100 %);
- возможность использования в качестве катода практически всех металлов, сплавов и композитов;
- высокая скорость роста покрытий ($\sim 0,17$ мкм/мин) [70];
- низкое рабочее напряжение – 20-40 В;
- простота конструкции и лёгкость управления дуговыми источниками;
- точное воспроизведение в покрытии состава испаряемого металла или сплава [121].

Ограничения в применении этого метода связаны с тем, что в случае, когда катодное пятно остаётся слишком долго в точке испарения, то из

катода испаряется большое количество макрочастиц или капельной фазы. Эти макровключения снижают характеристики покрытий, поскольку имеют плохую адгезию к подложке, по размерам могут превосходить толщину покрытия и проступать сквозь покрытие.

В случае, если материал катода-мишени имеет низкую температуру плавления (например, алюминий), то может происходить сквозное проплавление катода, приводящее к испарению опорного держателя катода, его прогоранию, попаданию охлаждающей жидкости в вакуумную камеру и возникновению аварийной ситуации.

Следует отметить, что наличие капельной фазы негативно сказывается на качество многокомпонентных покрытий, например, TiN – уменьшается их стойкость к коррозии, не получается стехиометрический состав.

Для решения этих проблем различными способами производят непрерывное перемещение катодного пятна по поверхности массивного катода с большими линейными размерами. Как правило, для управляемого перемещения катодного пятна используются магнитные поля [122].

1.6.2. Испарение электронным пучком

Электронно-лучевое испарение веществ является разновидностью способа термического испарения с использованием электронно-лучевых испарителей, позволяющих концентрировать энергию нагрева на небольшой поверхности испаряемого вещества. На рисунке 1.9 представлен принцип электронно-лучевого испарения. Испаряемое вещество нагревается и испаряется в результате воздействия на него сфокусированного пучка ускоренных электронов, эмитированных нагретым катодом. Затем происходит транспортировка физического пара от мишени до поверхности подложки, на которой растёт плёнка. Вакуум, необходимый для электронно-лучевого испарения, $10^{-4} - 10^{-3}$ Па.

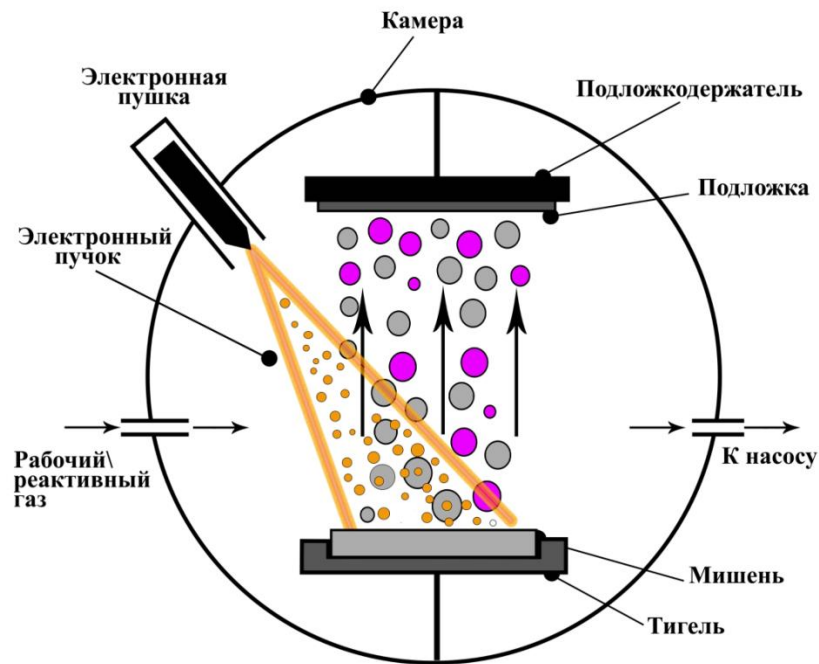


Рисунок 1.9 – Принципиальная схема электронно-лучевого испарителя

Преимущества электронно-лучевого испарения перед другими методами испарения состоят в следующем:

- высокая скорость осаждения 6-60 мкм/мин;
- возможность получения толстых покрытий (до 200 мкм);
- при электронно-лучевом нагреве высокую температуру имеет только поверхность испаряемого вещества;
- позволяет получать материалы высокой чистоты;
- имеется возможность управлять электронным пучком во времени и в пространстве, что позволяет регулировать поток энергии и скорость испарения;
- позволяет формировать покрытия с достаточно высокой производительностью и управлять их составом и свойствами.

Основной недостаток этого метода заключается в сравнительно низком проценте ионизированных частиц в общем потоке испаряемого материала, что влияет на прочность адгезионной связи осаждаемых покрытий. А также недостаток этого метода состоит в том, что трудно обеспечить

равномерность толщины и стехиометрии на изделиях сложной конфигурации.

1.6.3. Импульсное лазерное напыление

В импульсных лазерных испарителях (ИЛИ) нагрев испаряемого вещества, помещенного в вакуум, осуществляется при помощи фокусированного излучения оптического квантового генератора, находящегося вне вакуумной камеры (рис.1.10). Нанесение пленок с помощью лазера возможно благодаря следующим свойствам луча: точной фокусировке излучения и дозировке его энергии, высокой плотности потока энергии ($10^8 - 10^{10}$ Дж/см²).

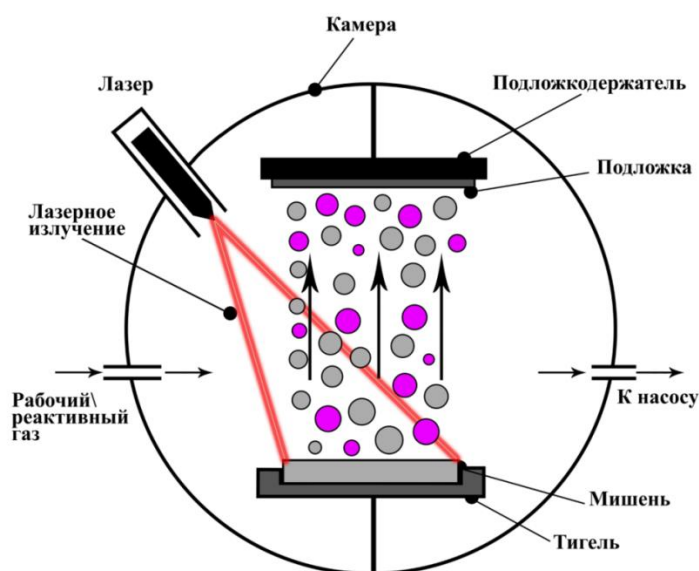


Рисунок 1.10 – Принципиальная схема импульсного лазерного испарителя

В настоящее время для ИЛИ применяются мощные газовые лазеры на CO_2 ($\lambda = 10,6$ мкм), твердотельные рубиновые ($\lambda = 0,6943$ мкм) и неодимовые ($\lambda = 1,06$ мкм) лазеры. Для испарения диэлектриков рекомендуется применять CO_2 -лазеры, поскольку диэлектрики лучше поглощают длинноволновое излучение. Наилучшие результаты по нанесению тонких и ультратонких пленок, особенно пленок соединений сложного состава, достигнуты с помощью неодимовых лазеров. Для улучшения однородности и

воспроизводимости пленочных образцов и структур применяется, как правило, сканирование лазерного луча по неподвижной мишени.

При ИЛН необходимо учитывать экранирование испаренным материалом лазерного излучения, что приводит к уменьшению поглощённой энергии поверхностью мишени и её переизлучению. Вторичное излучение может взаимодействовать с мишенью, приводить к ее испарению и влиять на эффективности испарения. На величину эффективности испарения также могут влиять уменьшение теплопроводности и увеличения поглощения, которые существенны при использовании порошковых мишеней.

Основными достоинствами метода импульсного лазерного напыления (ИЛН) являются:

- максимально чистые условия формирования покрытия, поскольку источник энергии испарения находится за пределами вакуумной камеры, испарение материала происходит из собственного тигля;
- высокая плотность потока энергии лазерного излучения и его малая длительность позволяют достичь высоких температур (~ 10000 °C), что позволяет наносить пленки тугоплавких материалов и сохранять стехиометрический состав многокомпонентных соединений;
- высокая скорость напыления (10^3 – 10^5 нм/с) и реализуемый беззародышевый механизм роста пленки (как результат – высокая однородность пленки);
- высокая производительность и технологичность.

Высокая скоростью поступления испаряемого вещества на подложку и беззародышевый механизм роста покрытий при ИЛН позволяет формировать сплошные сверхтонкие пленки, что дает возможность применять этот метод для модифицирования различных материалов, в частности полимерных биорезорбируемых скаффолдов. Поскольку ИЛН, как метод получения бездефектных тонких, особенно ультратонких пленок и сверхрешеток, получил развитие лишь в последние годы и пока реализован только в некоторых исследовательских установках.

1.6.4. Методы магнетронного распыления

DC магнетронное распыление

Метод основан (рис. 1.11) на использовании двух скрещенных полей – электрического и магнитного, обеспечивающих многократные столкновения электронов с молекулами газа (чаще всего аргона) и образование над поверхностью катода высокоионизированной плазмы.

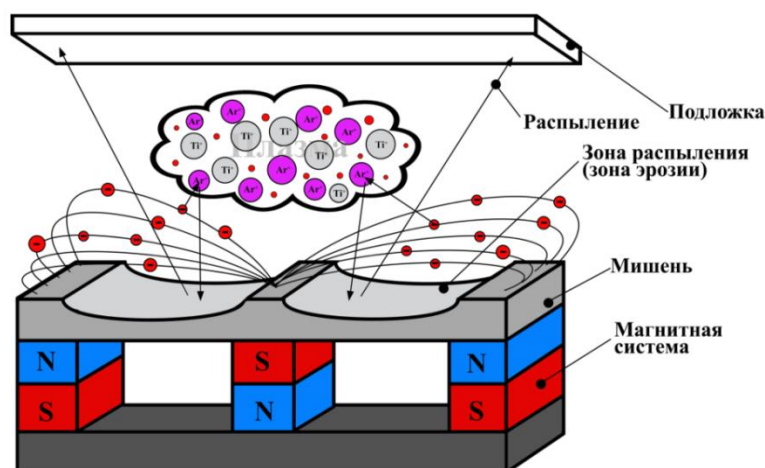


Рисунок 1.11 – Принципиальная схема магнетронной распылительной системы:

Ионы газа создаются в плазме магнетронного разряда с помощью электронов, эмитируемых с катода, а также присутствующих в остаточной атмосфере камеры. Характерной особенностью магнетронной распылительной системы (МРС) является то, что электроны, удерживаемые магнитным полем МРС, не могут долететь до анода. Электроны начинают двигаться по циклоиде и скапливаться в области вблизи катода. Электроны описывают циклоиду вокруг поверхности катода до тех пор, пока не произойдут ионизирующие столкновения с атомами рабочего газа, и электроны не потеряют часть своей энергии. В результате возле поверхности катода образуется плотная плазма из положительно заряженных ионов рабочего газа и электронов. Данные ионы начинают разгоняться в электрическом поле, созданном между катодом и анодом. Частицы начинают двигаться к катоду, далее они выбивают атомы с поверхности катода, тем

самым распыляя его материал. Выбитые атомы мишени движутся в сторону подложки и начинают осаждаться на неё, образуя покрытие [123].

Известен ряд работ [124–127], в которых модифицирование различных типов полимерных скаффолдов плазмой DC магнетронного разряда, возникающего в атмосфере аргона, приводило к увеличению гидрофильных свойств, при этом изменения морфологических характеристик не происходили. Также использование различных металлических мишеней, например, из серебра (Ag) позволяет придать поверхности полимерного изделия антибактериальные свойства [128]. При распылении различных металлических мишеней существует возможность использовать не только рабочий газ, но и реактивный, например, азот или кислород, что позволяет формировать на поверхности подложки нитридные и оксидные соединения металлов соответственно.

Реактивное магнетронное распыление

Реактивное распыление – это ионное распыление однокомпонентной (например, металлической) мишени в среде, содержащей газы, которые вступают в реакцию с ионами, выбитыми из мишени, образуя на подложке химические соединения [129]. Соответственно, при реактивном распылении в газоразрядную камеру наряду с рабочим газом (обычно аргоном) добавляется небольшое количество реакционно-активного газа (кислорода, азота и др.), в результате чего на подложке образуется пленка из химических соединений, образованных атомами мишени и активного газа. Если мишень изготовлена из титана, а в качестве реактивного газа используется азот, то на подложке получается пленка из нитрида титана, если же в камеру добавляется кислород, то получится пленка из оксида титана.

В процессе реактивного распыления существует проблема, связанная с образованием на поверхности мишени химических соединений, которые обычно имеют значительно меньший коэффициент распыления, чем материал мишени. Поэтому при постоянной мощности разряда по мере

добавления реактивного газа в камеру мишень покрывается слоем химических соединений, уменьшающих скорость распыления. Отношение скоростей распыления чистой поверхности мишени и поверхности, полностью покрытой слоем химических соединений, зависит от материала мишени и рабочих газов.

По мере добавления реактивного газа в камеру получаемая в реактивном процессе пленка растет медленнее и поглощает уже значительно меньше реактивного газа, его давление в камере возрастает, и это ускоряет образование соединения на поверхности мишени. В результате при некоторой критической постоянной величине потока реактивного газа имеет место резкий переход от почти чистой поверхности мишени к поверхности, полностью покрытой химическими соединениями. Это сопровождается таким же резким изменением остальных параметров процесса распыления и может привести к следующим явлениям: «исчезновение» анода, появление электрических пробоев на поверхности мишени и гистерезис. Вопрос гистерезиса более подробно рассмотрен ниже.

Несмотря на эти проблемы, в работах [127, 130, 131] проводилось успешное модифицирование полимерных скаффолдов в плазме различных реактивных газов. Модифицирование приводило к химической активации поверхности полимерного материала, вследствие чего увеличивалась гидрофильность, при этом изменения морфологических свойств не наблюдались.

Используя данный тип плазменной обработки, можно, применяя различные плазмообразующие газы и материалы мишени, придавать скаффолдам биосовместимость, улучшать их смачиваемость [132–134] и антибактериальную активность [135–137].

По сравнению с другими методами нанесения тонкопленочных покрытий реактивное магнетронное распыление обладает рядом преимуществ:

- широкое разнообразие составов осаждаемого материала;

- хорошая адгезия плёнки к подложке;
- малая степень загрязнения плёнок;
- возможность получения равномерных по толщине плёнок.

К недостаткам реактивных МРС относят:

- нестабильность реактивных процессов при нанесении оксидов, нитридов и карбидов металлов (так называемый, гистерезис) и, как следствие, необходимость применения сложных систем контроля и управления разрядом [138].

Однако для устранения этой проблемы используется ряд методов, позволяющих существенно снизить влияние реактивного газа на отравление мишени:

- *увеличение скорости откачки* вакуумными насосами до значений, превышающих скорость поглощения реактивного газа растущей пленкой. Однако, у такого метода есть существенный недостаток – дороговизна высокоскоростных насосов, особенно в случае высокопроизводительных промышленных напылительных установок;
- *изменение расстояния между подложкой и мишенью* – чем больше расстояние от мишени до подложки, тем ниже степень ее отравления. Данный эффект был экспериментально исследован в работе [139], однако не нашел широкого практического применения, поскольку требует наличия габаритных вакуумных камер и, следовательно, более высоких финансовых затрат;
- *уменьшение скорости напыления* – чем меньше скорость роста плёнки и, соответственно, скорость поглощения ею реактивного газа, тем меньше парциальное давление реактивного газа зависит от скорости роста плёнки и состояния поверхности мишени, а определяется, как и в случае увеличения скорости откачки, его потоком в камеру и скоростью откачки камеры вакуумным насосом. Поэтому устраняется обратная связь между парциальным давлением реактивного газа и состоянием поверхности мишени, и явление гистерезиса исчезает. Но

очевидным недостатком этого способа является получение плёнки только сверхстехиометрического состава при низких скоростях нанесения;

- *уменьшение площади мишени* – чем больше поток реактивного газа в камеру, тем больше степень покрытия химическим соединением поверхности мишени. В работе [78] показано, чем меньше площадь мишени, тем меньше её степень отравления.

Одним из способов увеличения скорости распыления металлических мишеней в среде реактивных газов является их ионная очистка.

1.7. Постановка цели и задач исследования

На основе проведенного анализа литературы можно сделать заключение, что полимолочная кислота в L-изоформе обладает оптимальной кристалличностью и механическими свойствами. Кроме того, данный тип полимерного материала имеет физико-химические характеристики, аналогичные полиэтилену и пропилену [140] и легко перерабатывается в скаффолды с использованием таких методов как аэродинамическое формование и электроспиннинг.

Однако из множества методов переработки полимолочной кислоты в скаффолды (мокрое прядение, экструзия, аэродинамическое формование) перспективным является электроспиннинг, поскольку он позволяет контролировать структуру и свойства получаемых изделий. Также метод отличается относительно простой аппаратной реализацией, что позволяет в широких пределах манипулировать составами и структурой скаффолдов, изготавливать их различной формы и размеров.

Основным недостатком изделий из ПМК для регенерации мягких тканей является низкая скорость деградации, отсутствие на поверхности реакционно способных групп и высокая гидрофобность. Это снижает значения показателей адгезия и пролиферация клеток, скорости эндотелизации, тромборезистентности.

Литературные данные о структуре и свойствах покрытий оксинитрида титана, нанесенные методом реактивного магнетронного напыления на поверхности металлических медицинских изделий, позволяют предположить, что с их помощью можно увеличить биосовместимость полимерных нетканых биорезорбируемых скаффолдов.

Поэтому целью настоящей работы являлось разработка биodeградируемых полимерных скаффолдов с модифицированной поверхностью для восстановления утраченных функций мягких тканей.

Для достижения поставленной цели решались следующие задачи:

1. Выбор материалов для изготовления нетканых полимерных скаффолдов.
2. Выбор метода изготовления нетканых скаффолдов и метода модифицирования их поверхности с целью улучшения биосовместимости.
3. Разработка медико-технических требований к нетканым биорезорбируемым скаффолдом 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. Провести сравнительные исследования физико-химических свойств не модифицированных и модифицированных методом реактивного магнетронного распыления титановой мишени в атмосфере азота ПМК скаффолдов.
6. Провести медико-биологические исследования *in vitro* и *in vivo* не модифицированных и модифицированных нетканых ПМК скаффолдов.

2. Методология работы, материалы и методы исследований

2.1. Методология работы

Методологической основой настоящей работы являлось предположение, что нанесение тонких азотосодержащих пленок титана методом DC реактивного магнетронного напыления на поверхность биорезорбируемых ПМК скаффолдов позволяет изменять физико-химические свойства их поверхности, нивелируя недостатки, связанные с ее гидрофобностью, стимулируя тем самым процессы клеточной адгезии, пролиферации и дифференцировки. Кроме того, покрытия оксинитридов титана обладают бактерицидными свойствами, что позволяет снизить риск повторного хирургического вмешательства [103].

Ограничения, связанные с использованием реактивного DC магнетронного распыления для модифицирования поверхности биodeградируемых полимерных материалов, обусловлены термическим и радиационным воздействием плазмы на их поверхность и объемную структуру, решаются подбором «мягких» технологических режимов модифицирования. Для оценки возможности модифицирования поверхности биорезорбируемых ПМК скаффолдов методом электроспиннинга в различных технологических режимах были сформированы модельные образцы скаффолдов и исследованы их свойства.

Для оценки эффективности разработанных скаффолдов с покрытиями оксинитридов титана были проведены системные сравнительные исследования, как материаловедческого, так и медико-биологического характера.

2.2. Методика эксперимента

2.2.1. Формирование биodeградируемых скаффолдов

Биорезорбируемые скаффолды были изготовлены на установке электроспиннинга NANON-01A (MECC Co., Япония), представленной на рисунке 2.1 (технические параметры установки приведены в таблице 2.1) с использованием прядильного раствора поли-L-молочной кислоты (ПМК)

марки PL-38 (Purac, Нидерланды). Для изготовления прядильного раствора использовали 5 масс.% ПМК в трихлорметане (CHCl_3) (ЭКРОС, Россия). Формование ПМК скаффолдов осуществлялось на поверхности цилиндрического 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.



Рисунок 2.1 – Общий вид установки NANON-01A

Таблица 2.1 – Технические параметры установки NANON-01A

Параметр	Программируемое значение	
	Минимальное	Максимальное
Напряжение, кВ	0,5	30
Объем раствора, мл	0,1	10
Скорость подачи, мл/ч	0,1	99,9
Диаметр шприца, мм	5	30
Скорость вращения (коллектор цилиндрический), об/мин	0	2500

2.2.2. Термический отжиг

С целью удаления остаточных паров трихлорметана (CHCl_3) перед процессом плазменного модифицирования сформированные ПМК скаффолды подвергались вакуумированию в вакуумной печи СНВЭ – 1,7.3.1 при остаточном давлении 10^{-2} Па и температуре 100°C в течение 10 часов.

Общий вид и технические характеристики установки приведены на рисунке 2.2 и в таблице 2.2 соответственно.



Рисунок 2.2 – Общий вид вакуумной печи СНВЭ – 1,7.3.1

Таблица 2.2 – Технические данные и характеристики вакуумной печи СНВЭ – 1,7.3.1

Параметры	Значение
Мощность установленная, кВт	40
Мощность электронагревателей печи, кВт	35
Максимальная температура в рабочем пространстве, °С	2000
Максимальная скорость подъёма температуры, °С/мин	20
Номинальное напряжение питающей сети, В	380/220
Наибольшее рабочее давление в нагревательной камере при холодной печи, Па (мм рт. ст.)	$6,5 \times 10^{-3}$ ($6,5 \times 10^{-5}$)
Расход воды на охлаждение, м ³ /ч	1,5

2.2.3. Модифицирование скаффолдов в плазме магнетронного разряда

Модифицирование ПМК скаффолдов проводилось с использованием универсальной магнетронной установки Катод-1М, которая содержит следующие узлы: вакуумная камера, система откачки, шкаф управления, магнетронная распылительная система с титановой мишенью. Внешний вид и принципиальная схема установки изображены на рисунках 2.3 и 2.4 соответственно. Основные технические параметры данной установки приведены в таблице 2.3.

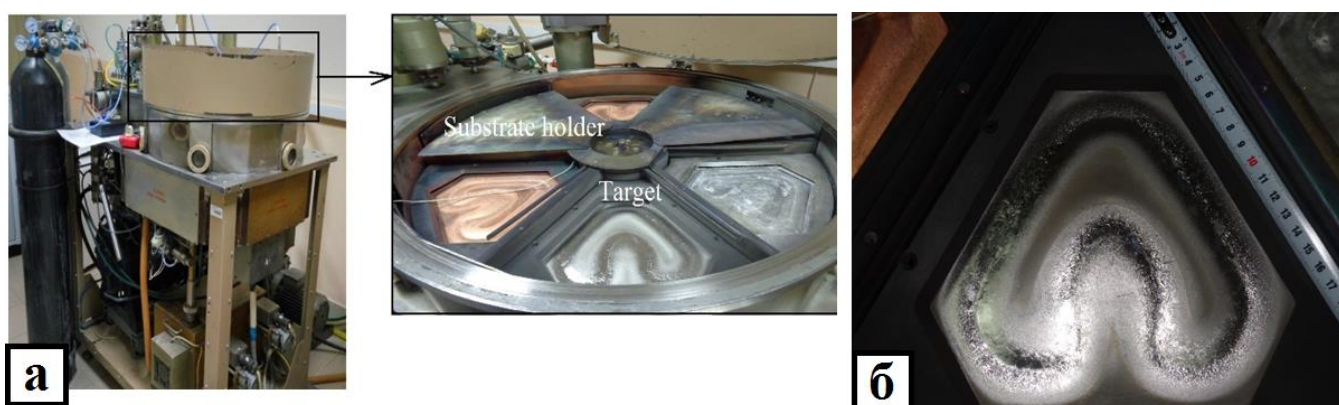


Рисунок 2.3 – Общий вид универсальной магнетронной распылительной установки Катод-1М (а) и фотография титановой мишени, используемой для модифицирования (б)

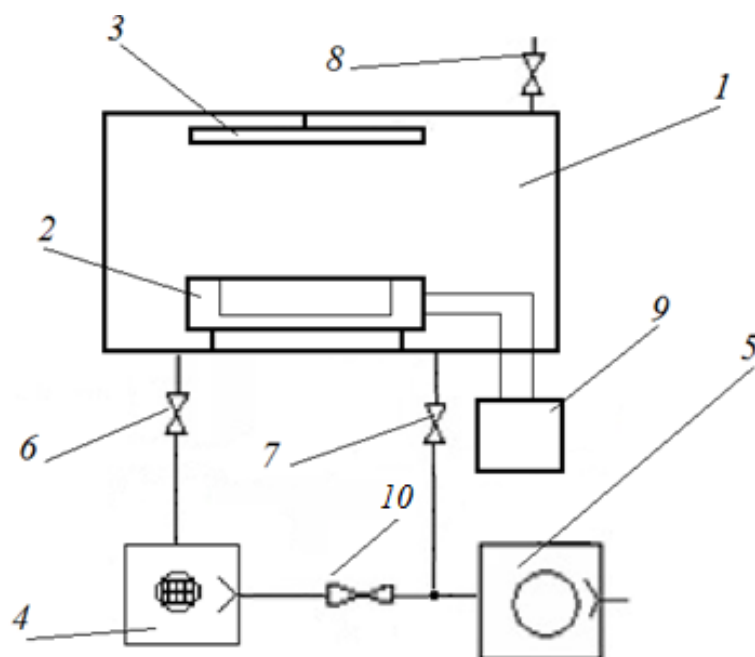


Рисунок 2.4 – Принципиальная схема универсальной магнетронной распылительной установки Катод-1М: 1 – вакуумная камера; 2 – магнетронная распылительная система; 3 – подложка; 4 – турбомолекулярный насос; 5 – форвакуумный насос; 6 – затвор; 7, 10 – клапаны; 8 – натекагель; 9 – DC блок питания

Таблица 2.3 – Параметры универсальной магнетронной установки Катод-1М

Параметр	Значение
Электропитание, В	380
Потребляемая мощность, не более кВт	20
Напряжение на выходе высоковольтного выпрямителя, кВ	$1 \pm 0,3$
Максимальный ток тлеющего разряда, А	$3 \pm 0,3$
Габаритные размеры, не более, мм	$70 \times 170 \times 200$
Масса прибора, не более, кг	500

Модифицирование ПМК скаффолдов проводилось методом реактивного магнетронного распыления на постоянном токе (DC режим). Титановые оксинитридные покрытия формировались из плазмы магнетронного разряда, возникающего при распылении твердотельной титановой (*Ti*) мишени (чистота 99,99 %), площадью 224 см^2 , 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 последующим перерывом 3 минуты. При формировании титановых оксинитридных 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 . Длительность плазменного модифицирования составляло 2, 4, 6 и 8 минут при фиксированном значении мощности магнетрона, равном 88 Вт. Во время перерывов между циклами модифицирования с целью удаления оксидных и нитридных соединений с поверхности мишени проводилась её

ионная очистка при следующих параметрах: ток на источнике питания 0,6 А, рабочий газ аргон, длительность ионной очистки 1 минута.

2.3. Исследование физико-химических свойств полученных материалов

2.3.1. Оптический спектр плазмы

Для диагностики и оптимизации процессов напыления тонких пленок применяется метод оптической эмиссионной спектроскопии плазмы магнетронного разряда, который дает информацию о температуре и концентрации электронов, а также о её качественном составе.

При магнетронном распылении электроны сталкиваются с атомами плазмообразующего газа, частицами распыляемой мишени, вследствие чего их электроны возбуждаются и переходят на более высокие энергетические уровни. Последующая релаксация возбужденных электронов на низкие энергетические состояния приводит к испусканию фотонов.

Спектр излучения химического элемента или химического соединения представляет собой спектр частот электромагнитного излучения, излучаемого атомом или молекулой, которые переходят из состояния с высокой энергией в состояние с более низкой энергией. Энергия испущенного фотона равна разнице энергии между этими двумя состояниями. Для каждого атома существует много возможных электронных переходов, при этом каждый переход имеет определенную разность энергий. Этот набор различных переходов, ведущих к различным длинам излучаемых волн, составляет спектр излучения. Спектр излучения каждого элемента уникален. Следовательно, оптическая спектроскопия может быть использована для идентификации элементов в веществе неизвестного состава. Аналогичным образом спектры излучения молекул могут быть использованы при химическом анализе веществ.

Химический состав плазмы в процессе формирования покрытий исследовали методом оптической спектроскопии с использованием спектрометра OCEAN OPTICS HR 2000+ (Ocean Optics, Dunedin, FL, США).

Полученные данные обрабатывали с помощью пакета программ SpectraSuite (Ocean Optics, Dunedin, FL, США). Идентификацию спектральных линий осуществляли с использованием базы данных NIST Atomic Spectra Database Lines Form.

2.3.2. Сканирующая электронная микроскопия

Известно, что такие характеристики биоматериалов, как смачивание физиологическими жидкостями, сорбирующая способность и способность к интеграции с окружающими тканями во многом определяются их морфологическими особенностями: формой и размером пор, средним диаметром волокон и т. д. Таким образом, изучение морфологии биоматериалов является одним из важных этапов материаловедческих исследований, с помощью которых могут быть спрогнозированы биологические свойства сформированных биоматериалов.

Одним из наиболее эффективных методов исследования морфологии поверхности биорезорбируемых ПМК скаффолдов является сканирующая электронная микроскопия (СЭМ, SEM) – тип микроскопии, в которой создание изображения образца происходит путем сканирования поверхности сфокусированным электронным пучком. Пучок электронов с высокой энергией сканирует поверхность образца, обычно покрытую тонкой пленкой золота или платины для улучшения контраста и отношения сигнал / шум. Когда луч сканирует поверхность образца, взаимодействие между образцом и электронным пучком приводит к тому, что электронные отклики разных типов возникают на поверхности образца или вблизи неё. Эти электронные сигналы собираются, обрабатываются и, в конечном итоге, транслируются в виде пикселей на мониторе и формируют трехмерное изображение рельефа поверхности образца. Низкоэнергетические вторичные электроны, возбуждаемые на поверхности образца, дают наиболее распространенные сигналы, по которым строится изображение. Высокоэнергетические обратно

рассеянные электроны и рентгеновские лучи испускаются более глубокими слоями образца, предоставляя информацию о его составе.

Морфология ПМК скаффолдов до и после плазменного модифицирования изучалась с помощью сканирующего электронного микроскопа Quanta 200 3D (FEI, США). Все изображения обрабатывались с использованием программного комплекса ImageJ 1.38 (Национальные институты здоровья, США). В каждой исследуемой группе скаффолдов для оценки среднего диаметра волокон их размеры измерялись не менее 80 раз, при этом было использовано не менее пяти изображений, полученных с разных участков скаффолда.

2.3.3. Атомно-силовая микроскопия

Атомно-силовая микроскопия (АСМ) – это разновидность сканирующей зондовой микроскопии высокого разрешения, в которой для сканирования поверхности образца используется зонд в виде кантилевера с острым наконечником. Когда зонд сканирует поверхность образца, притягивающие или отталкивающие силы между наконечником и образцом, обычно силы Ван Дер Ваальса (или, например, такие как электростатические или гидрофобные/гидрофильные), вызывают отклонение кантилевера от его начального положения. Отклонение измеряется лазером, луч которого отражается от кантилевера и попадает на фотодиоды. Когда один из фотодиодов собирает больше света, он создает выходной сигнал, который обрабатывается и дает информацию о вертикальном изгибе кантилевера. Эти данные затем отправляются на сканер, который контролирует высоту зонда при его перемещении по поверхности. Изменения высоты, детектируемые сканером, используются для создания трехмерного топографического изображения образца.

В современной науке АСМ стал фундаментальным инструментом для детального исследования морфологии и структурных свойств поверхности в микро- и субмикрометрическом масштабе, которые позволяют оценивать, кроме всего прочего, связь между физико-химическими свойствами

материалов и рядом биологических свойств, таких как клеточная адгезия, их пролиферация и пр.

Среднеквадратичная шероховатость скаффолдов измерялась с помощью атомно-силового микроскопа AFM-Raman с наконечником NSG01 (NT-MDT, Зеленоград, Москва, Российская Федерация) в полуконтактном режиме при постоянной силе в диапазоне 1,45 - 15,1 Н/м. Результаты, полученные в ходе АСМ измерений, обрабатывались в программе Gwyddion 2.61 (gwyddion.net, Брно, Чешская Республика).

2.3.4. Рентгено-флуоресцентный анализ

Рентгено-флуоресценция спектроскопия (XRF, РФА) – это неразрушающий аналитический метод, используемый для определения элементного состава материалов. С помощью этого метода определяют химический состав материалов путем измерения флуоресцентного (или вторичного) рентгеновского излучения, испускаемого образцом при его возбуждении первичным источником рентгеновского излучения.

Рентгеновское излучение, создаваемое рентгеновской трубкой, воздействует на электроны на внутренних оболочках атомов образца. Затем рентгеновский пучок взаимодействует с атомами в образце, «вытесняя» электроны из внутренних орбитальных оболочек атома. Это смещение происходит в результате разницы энергий первичного рентгеновского пучка и энергий связи, которая удерживает электроны на их собственных орбитах.

Электроны фиксируются при определенных энергиях в своих положениях в атоме, и это определяет их орбиты. Кроме того, расстояние между орбитальными оболочками атома является уникальным для атомов каждого элемента, поэтому атом калия (K) имеет разное расстояние между электронными оболочками, чем атом золота (Au) или серебра (Ag), и т. п.

Когда электроны выбиваются с их орбиты, они оставляют вакансии, делая атом нестабильным. Атом должен немедленно исправить нестабильность, заполняя вакансии, оставленные смещенными электронами. Эти вакансии могут быть заполнены с более высоких орбит, которые

перемещаются вниз на более низкую орбиту, где есть вакансия. Например, если электрон вытесняется из внутренней оболочки атома (ближайшей к ядру), электрон из следующей оболочки может сдвинуться вниз, чтобы заполнить вакансию. Электроны имеют более высокие энергии связи, чем дальше они находятся от ядра атома. Следовательно, электрон теряет некоторую энергию при переходе с более высокой электронной оболочки на электронную оболочку, расположенную ближе к ядру. Количество потерянной энергии равно разнице энергий между двумя электронными оболочками, которая определяется расстоянием между ними. Измеренная разница энергий может быть использована для идентификации элемента, потому что количество энергии, потерянной в процессе флуоресценции, уникально для каждого элемента. Количественное соотношение элементов в образце может быть рассчитано с помощью специализированных программ.

Изучение элементного состава ПМК скаффолдов проводили методом рентгенофлуорисцентного анализа с использованием спектрометра Shimadzu XRF 1800 (Япония) при следующих параметрах: ускоряющее напряжение 40 кВ, скорость сканирования 8 град./мин., шаг сканирования 0,1°. Исследования проводили по каналам титана (Ti), азота (N), кислорода (O) и углерода (C).

2.3.5. Рентгено-структурный анализ

Как правило, полимерные молекулы, а соответственно и материалы, состоящие из них, представляют собой аморфные структуры, в которых отсутствует определенная упорядоченность, свойственная кристаллам (в частности металлам). Однако полимерные молекулы способны минимизировать полную свободную энергию, что представляется возможным за счет создания порядка укладкой молекулы в форму петли. Но полимерные молекулы не могут изгибаться настолько, что в свою очередь обусловлено гибридизацией атомов углерода в С-С связях. Поэтому создаются напряжения, затраты энергии на преодоление которых будут выше экономии энергии за счет упорядочивания системы. Чтобы преодолеть это

напряжение молекула делает некоторое количество «петель» под углом, приемлемым для данной гибридизации, а затем упорядочивается в уже начавшийся формироваться кристалл. Таким образом, создается баланс, между энергиями и система приходит к наиболее энергетически выгодному состоянию. Отношение объема кристаллической структуры к объему, занимаемому всей полимерной молекулой и есть степень кристалличности полимера. Этот параметр оказывает очень большое влияние на такие свойства полимеров, как плотность, модуль Юнга, твердость, проницаемость и теплоемкость. В частично кристаллическом полимере его аморфные и кристаллические области будут иметь различные свойства, несмотря на их одинаковую химическую природу. Именно поэтому важно исследовать кристалличность полимерных ПМК скаффолдов.

Изучение кристаллической структуры ПМК скаффолда проводили методом рентгеноструктурного анализа (РСА, XRD) на приборе Shimadzu XRD 6000 (Япония).

Средние размеры кристаллов (l_c) исследуемых образцов рассчитывали, используя уравнение Дебая – Шеррера (2.1):

$$l_c = \frac{k\lambda}{\cos\theta\beta}, \quad (2.1)$$

где λ – длина волны падающего излучения (Cu K-alpha, $\lambda=1,54056 \text{ \AA}$), β – FWHM, θ – угол дифракции, $k = 0,9$.

Оценку параметра «полная ширина на уровне половины высоты» (FWHM) проводили путем интерполяции рентгеновского спектра, с использованием функции Лоренца-Гаусса (Origin 9, Origin Lab, США).

2.3.6. ИК-Фурье спектроскопия

Поглощение в инфракрасной области спектра вещества обусловлено колебаниями атомов, связанными с изменением межатомных расстояний (валентные колебания) и углов между связями (деформационные колебания). Инфракрасная спектроскопия с Фурье-преобразованием (FTIR, ИКФС) – это

метод, используемый для получения инфракрасного спектра поглощения или излучения твердого тела, жидкости или газа. С использованием данного метода могут быть идентифицированы молекулы по их характерному спектру поглощения, поскольку каждая молекула поглощает инфракрасное излучение на своих характерных частотах. Каждая молекулярная структура имеет уникальную комбинацию атомов и, следовательно, создает уникальный спектр при воздействии с инфракрасным излучением. Даже молекулы с одинаковым числом атомов в разных положениях можно различить. Единственным исключением являются двухатомные элементы, такие как O_2 и благородные газы, которые не поглощают излучение в инфракрасном диапазоне. Получаемый инфракрасный спектр представляет собой график величин, связанных с инфракрасным излучением, в зависимости от длины волны или волнового числа. Согласно закону Бера сила поглощения (высота пика) прямо пропорциональна концентрации соединений, и таким образом ИК-спектр может использоваться для определения концентрации той или иной химической связи (соединения) в исследуемом образце.

Кроме того, метод ИК спектроскопии может быть использован для определения конформации макромолекул. Характерные полосы поглощения для кристаллической и аморфной компонент могут быть использованы для их идентификации. Поскольку инфракрасный спектр является тонкой характеристикой вещества, то он несет информацию о химическом составе, наличии пластификаторов и остаточных органических растворителей в полимерных и композиционных материалах.

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

кристаллом ZnSe. Исследования проводились в спектральном интервале от 500 до 2000 см^{-1} с разрешением 4 см^{-1}

2.3.7. Смачиваемость

Важными характеристиками биомедицинских изделий является их гидрофильность/гидрофобность, то есть способность их поверхности смачиваться водой и телесными жидкостями. Это свойство определяет форму биологических клеток и их частей, находящихся на поверхности имплантата, его способность интегрироваться с окружающими тканями. Изменение сил поверхностного натяжения влияет на фагоцитоз (захват клетками соседних частиц), пиноцитоз (захват клеточной поверхностью жидкости с содержащимися в ней веществами) и на процессы альвеолярного дыхания. Обычно гидрофильность/гидрофобность определяется путем измерения контактного угла, образованного каплей жидкости на исследуемой поверхности. Для исследования этого свойства используется метод оптической гониометрии, который позволяет измерить контактные углы смачивания.

Исследование смачиваемости ПМК скаффолдов проводилось методом "сидящей капли" на установке «Easy Drop» (Krüss, Германия). В качестве смачивающих жидкостей использовались дистиллированная вода и глицерин [141]. Объем помещенной на исследуемую поверхность жидкости составлял 6 мкл, контактный угол измерялся через 1 мин после того, как капля жидкости была помещена на образец. Каждая группа состояла из четырех образцов размером 5 × 30 мм.

2.3.8. Исследование механических свойств скаффолдов

Разработка эффективных биорезорбируемых нетканых скаффолдов для приложений тканевой инженерии невозможна без исследования их механических свойств, в частности, относительное удлинение, модуль Юнга

и прочность на разрыв. Это связано с тем, что данные параметры определяют адекватное функционирование и долговечность скаффолдов.

Прочность на разрыв и относительное удлинение ПМК скаффолдов исследовали методом одноосного растяжения в соответствии с рекомендациями ISO 9073.3:1989 на разрывной машине Instron 33-43 (Instron, Англия). Предварительно для каждого из образцов измеряли толщину с помощью микрометра МКЦ-25. Далее образец размерами 10×60 мм закреплялись в зажимах машины таким образом, чтобы рабочая часть образца составляла 40 мм. Каждая группа состояла из 10 образцов.

2.3.9. Рентгеновская фотоэлектронная спектроскопия

По мере того, как возрастает потребность в высокоэффективных материалах биомедицинского назначения, возрастает и важность исследования свойств их поверхности, которая взаимодействует с живыми тканями. Поэтому многие ограничения, связанные с применением полимерных и композитных материалов в медицине, могут быть устранены путем изучения физических и химических процессов, которые происходят на поверхности или на границах слоев материала. Свойства поверхности влияют на такие факторы, как скорость коррозии, каталитическая активность, адгезионные свойства, смачиваемость и механизмы разрушения.

Типичный спектр рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии (РФЭС, XPS) представляет собой график зависимости числа обнаруженных электронов (иногда за единицу времени) (ось Y, ордината) от их энергии связи (ось X, абсцисса). Каждый элемент создает характеристический набор пиков РФЭС при характерных значениях энергии связи, которые непосредственно идентифицируют каждый элемент, который существует на поверхности анализируемого материала. Эти характерные спектральные пики соответствуют электронной конфигурации электронов в атомах, например, 1s, 2s, 2p, 3s и т. д. Количество обнаруженных электронов в каждом из характеристических пиков напрямую связано с количеством того

или иного элемента или соединения на поверхности. Для подсчета количества электронов во время «набора» спектра с максимальной точностью детекторы РФЭС должны работать в условиях сверхвысокого вакуума (СВВ).

Модифицирование поверхности может быть использовано для улучшения функциональных свойств материалов медицинского назначения, поэтому анализ поверхности используется для понимания химического состава различных поверхностей и исследования эффективности их обработки. РФЭС является одним из наиболее точных инструментов для определения характеристик поверхности: от антипригарных покрытий для посуды до тонкопленочных электронных компонентов и биоактивных покрытий.

Химические связи на поверхности ПМК скаффолдов до и после плазменного модифицирования были исследованы методом рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии на установке Escalab 250Xi (Thermo Fisher Scientific Inc., Великобритания), оснащенной монохроматическим источником излучения AlK α . Спектры были получены в режиме постоянного пропускания энергии при 100 эВ для обзорного спектра и 50 эВ для спектров по энергетическим уровням электронов. Размер пятна рентгеновского пучка 650 мкм и общим энергетическим разрешением приблизительно 0,55 эВ. Деконволюция спектров N1s, C1s, O1s и Ti2p проводилась с помощью функции Войта в программе Origin 9.0. Расшифровку спектров осуществляли с помощью базы данных NIST [142].

2.3.10. Теория функционала плотности

Теория функционала плотности (англ. density functional theory, DFT) – метод расчёта электронной структуры систем многих частиц в квантовой физике и квантовой химии. В частности применяется для расчёта электронной структуры молекул и конденсированного вещества. Является одним из наиболее широко используемых и универсальных методов в

теоретической физике и вычислительной химии. Твёрдое тело рассматривается как система, состоящая из большого числа одинаково взаимодействующих между собой электронов, удерживаемых вместе решёткой из атомных ядер. Основная идея метода заключается в использовании понятия электронной плотности в основном состоянии, её распределение описывается одномерным стационарным уравнением Шрёдингера.

Теоретические расчеты нейтральных радикалов ПМК были выполнены с использованием теории функционала плотности (ТФП) Кон-Шама. Для исследования модельные изотактические цепи ПМК, содержащие пять мономеров, были построены с помощью программы PolymerBuilder в пакете Materials Science Suite 2018-1 (Schrödinger, LLC, New York, NY). Затем исследуемые структуры были полностью оптимизированы на теоретическом уровне B3LYP/6-311G** с использованием Jaguar. Стационарные точки подтверждены расчетами гармонических частот.

2.4. Исследование биологических свойств

2.4.1. Клеточные исследования

Согласно ГОСТ Р ИСО 10993-1-2009 «Изделия медицинские. Оценка биологического действия медицинских изделий» оценку биосовместимости новых биоматериалов требуется начинать с экспериментов *in vitro*. Соответственно, тестирование ПМК скаффолдов на клеточных культурах рассматривается как первый этап медико-биологических исследований. Одним из основных методов исследований является определение проницаемости клеток для витальных красителей после прямого контакта с изделием и/или воздействия его вытяжек.

Для изучения взаимодействия скаффолдов с клеточным окружением организма использовались эндотелиальные клетки пупочной вены человека (ЭКПВЧ, HUVEC). Иммунофенотипирование клеток проводили на проточном цитометром GuavaEasyCyte8 (Millipore, США) с использованием

моноклональных антител CD105 (R&D), CD90, CD45, CD146 и CD166 (Beckman Coulter, США). HUVEC инкубировали в среде клеточной культуры для эндотелиальных клеток, дополненной факторами роста (BD Biosciences, США) в соответствии со стандартным протоколом [143]. На поверхность скаффолдов, размещенных в лунках 24-х луночного планшета, помещали 5×10^4 клеток и выдерживали в среде в течение 72 ч в CO₂-инкубаторе (5% CO₂) при 37 °С. Для анализа клеточной адгезии использовали окраску инкулин. После 72 ч инкубации клеток на поверхности скаффолдов образцы выводили из среды, промывали в PBS и обрабатывали параформальдегидом 4% в течение 20 мин для фиксации клеток. Затем клетки пропитывали тритоном X-100 и промывали его в PBS, блокировали 10% козьей сывороткой в PBS в течение 30 минут при комнатной температуре и инкубировали антиинкулиновым антителом (Thermo Scientific, США) 1:200 разведения в течение 2 часов. Образцы трижды промывали в PBS (5 мин каждый) и окрашивали 4,6-димидино-2-фенилиндолом (DAPI) для ядерной визуализации. Затем образцы промывали и анализировали с помощью флуоресцентного микроскопа Axio Observer (Carl Zeiss, Германия). Количество клеток на мм² поверхности скаффолдов, ядерно-цитоплазматический индекс (ЯЦИ) и коэффициент формы клеток определяли с помощью программного обеспечения Image J по протоколу, описанному в приложении [144]. Исследование проводили в соответствии с Хельсинкской декларацией и было одобрено местными комитетами по этике в ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России, г. Санкт-Петербург. Письменное информированное согласие было получено от всех пациентов до проведения биопсии тканей и клеток.

2.4.2. Исследование гистологических срезов

Гистология – это изучение микроскопической структуры биологического материала и способов структурного и функционального взаимодействия отдельных компонентов. Метод занимает центральное место

в биологической и медицинской науке, поскольку он стоит на стыке биохимии, молекулярной биологии и физиологии, с одной стороны, и здравоохранения – с другой. Образцы биологического материала для исследований могут быть получены из многих областей организма быстрыми и безопасными методами. Для распознавания аномальных больных структур и причин перехода аномальных биохимических и физиологических процессов к болезни важно знать нормальные гистологические проявления.

Исследования местного воздействия на окружающие ткани при имплантации скаффолдов проводили на самцах крыс линии Wistar весом 80–100 г. Для этого образцы скаффолдов размером 7×7 мм имплантировали в подкожный жировой карман на сроки 1 и 3 месяца. После окончания эксперимента образцы матриц биоптировали вместе с окружающими тканями, фиксировали в 4% растворе нейтрального формалина, обезвоживали в спиртах восходящей концентрации с последующим заключением в парафин. Срезы тканей изготавливали с использованием ротационного микротомы ACCU-CUT SRM 200 (SAKURA, Япония). Затем проводили окрашивание полученных образцов по Ван-Гизон. Гистологическую картину полученных образцов исследовали методом оптической микроскопии (DM-1802, Motic inc, PRC) при увеличении 100 и 400 с последующей обработкой полученных изображений (Motic Image Life plus, Motic inc, PRC). Расчеты соотношения соединительной ткани к площади скаффолда и площади области деградации проводили с помощью программы Image J 1.38 (National Institutes of Health, США). В исследованиях использовали 6 животных для каждой из исследуемых групп образцов. Исследования проводили с разрешения локального этического комитета в ФГБНУ "Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний", г. Кемерово, (Соглашение № 948 от 09.02.2009) с соблюдением принципов гуманного обращения с лабораторными животными [145].

2.5. Статистическая обработка данных

Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью пакета программ Statistica 6.0. Нормальность распределения оценивали при помощи критерия Колмогорова-Смирнова. В случае нормального распределения для оценки статистической значимости использовали t-критерий Стьюдента. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Данные представлены в виде среднее значение \pm стандартное отклонение для данных, имеющих нормальное распределение.

3. Исследование структуры и свойств ПМК скаффолдов с Ti-O-N покрытиями

3.1. Подбор режимов

Основное преимущество плазменной обработки по сравнению с другими традиционными методами модифицирования поверхности – способность изменять только поверхностные свойства, не влияя на объемные характеристики материалов. Кроме того, кратковременное плазменное воздействие не приводит к термической деструкции полимерных материалов. Поэтому низкотемпературное кратковременное воздействие плазмой, к которому относится и магнетронное напыление, является предпочтительным для модифицирования поверхности нетканых биорезорбируемых полимерных скаффолдов. Критические технологические режимы плазменной обработки полимерных материалов определяются типом и мощностью разряда, давлением в камере (если используется рабочая камера), длительностью обработки, составом газовой атмосферы и скоростью её подачи. Следовательно, подбор режимов «мягкой» обработки является важным шагом для изготовления полимерных скаффолдов с модифицированной поверхностью.

3.1.1. Подбор параметров мощности

При плазменном модифицировании поверхность скаффолда подвергается воздействию потоков заряженных частиц, квантов УФ-излучения, свободных атомов и радикалов, а также возбужденных частиц. Кроме того, возможен и термический нагрев, роль которого минимальна ввиду сравнительно невысокой температуры в рабочей камере. Влияние температуры проявляется, прежде всего, в кинетике процессов, инициируемых плазмой. На данные процессы существенно влияет мощность магнетронного разряда. Поэтому для снижения деструктивного влияния плазмы на поверхность скаффолдов был проведен эксперимент, направленный на подбор технологических режимов модифицирования.

В ходе экспериментов были выбраны следующие параметры работы магнетронной распылительной системы:

- предварительное давление – $P_{\text{предв}} = 3 \times 10^{-3}$ Па;
- расстояние от магнетрона до подложки 33 мм;
- рабочее давление – $P_{\text{раб}} = 0,4$ Па;
- реактивный и рабочий газ – азот;
- значение тока разряда варьировалось от 0,2 до 1 А с шагом 0,2 А;
- значение напряжения разряда оставалось неизменным – 220 В;
- длительность цикла модифицирования – 1 минута;
- режим модифицирования – циклический.

На рисунке 3.1 представлены образцы биорезорбируемых ПМК скаффолдов до и после модифицирования, для удобства восприятия данных рассчитана мощность разряда.

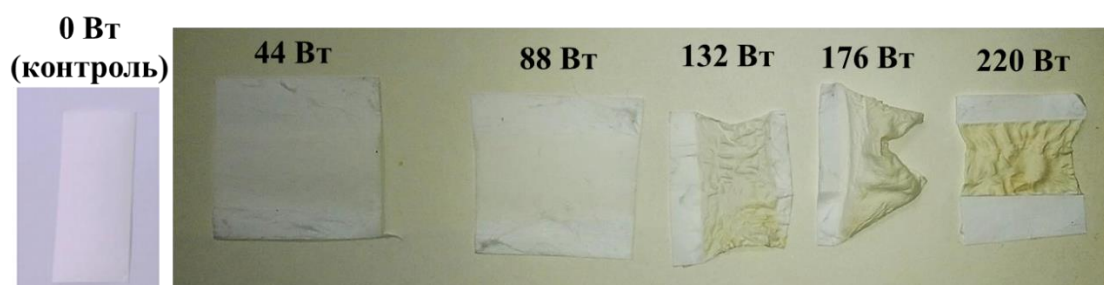


Рисунок 3.1 – Фото биорезорбируемых ПМК скаффолдов, модифицированных при различной мощности разряда: 44Вт (а), 88Вт (б), 132Вт (в), 176Вт (г), 220Вт (д). Белый цвет скаффолда соответствует областям зажимов

Было отмечено, что плазменная обработка приводит к изменению цвета скаффолдов от белого (до модифицирования) до светло желтого (88Вт) и темно желтого (220Вт). Как видно из представленного рисунка, при значениях мощности разряда, превышающих 88Вт, в области модифицирования происходит деформация скаффолдов – уменьшение их линейных размеров, что свидетельствует о термической и радиационной

деструкции полимерного образца. Деформация увеличивается с ростом мощности разряда. Поскольку сохранение геометрических размеров скаффолдов в процессе плазменного модифицирования является одним из основных требований, для дальнейших исследований было выбрано значение мощности разряда 88Вт. Для снижения деструктивного влияния плазмы на поверхность скаффолдов было предложено модифицирование производить в циклическом режиме: 1 минута модифицирование, 3 минуты перерыв. Таким образом, было сформировано 5 исследуемых групп скаффолдов со временами модифицирования в плазме 2, 4, 6 и 8 минут. Контрольной группой служили не модифицированные образцы.

3.1.2. Введение режима ионной очистки мишени

В процессе DC реактивного магнетронного распыления существует проблема, связанная с тем, что химическое соединение, образующееся на поверхности мишени, обычно имеет значительно меньший коэффициент распыления, чем у исходного материала мишени. Поэтому при постоянной мощности разряда по мере добавления реактивного газа в камеру мишень покрывается слоем диэлектрического соединения, и скорость распыления мишени падает. Одним из основных способов, позволяющих решить эту проблему, является использование перед каждым циклом модифицирования ионной очистки мишени, в процессе которой происходит удаление с её поверхности соединений, снижающих скорость распыления. Оценку эффективности циклического режима модифицирования проводили по результатам энергодисперсионной спектроскопии (ЭДС, EDAX) поверхности скаффолдов путем оценки концентрации титана. Изменения концентраций титана в зависимости от длительности модифицирования по результатам ЭДС представлены на рисунке 3.2.

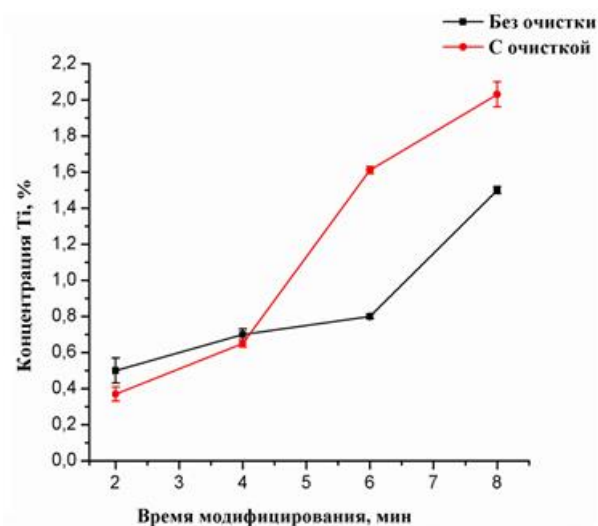


Рисунок 3.2 – Зависимость концентрации титана на поверхности ПМК скаффолдов от длительности модифицирования в режимах с очисткой и без очистки мишени

Из графика видно, что при увеличении времени модифицирования ПМК скаффолдов концентрация титана увеличивается в обоих режимах. Концентрация титана в режиме с очисткой мишени становится больше по сравнению с режимом без очистки после 4 минут модифицирования, что связано с удалением с поверхности мишени оксидных и нитридных соединений, снижающих скорость её распыления. Кроме того, авторы работы [71] отмечали, что при увеличении слоя нитридного соединения происходит уменьшение шероховатости мишени. Однако ионная очистка мишени позволяет увеличить шероховатость мишени, тем самым позволяя стравить нитридные соединения, снижающие скорость распыления. В данном эксперименте это подтверждается увеличением концентрации титана на поверхности мишени в режиме с промежуточной ионной очисткой мишени.

3.1.3. Исследование влияния среднего диаметра волокон

Известно, что процесс электроспиннинга позволяет формировать ПМК скаффолды со средним диаметром волокон в диапазоне от 50 нм до 5 мкм путём замены растворителя и изменения концентрации прядильного

раствора, скорости вращения коллектора и напряжения на источнике питания [146]. В свою очередь, средний диаметр волокон скаффолдов является важным параметром для создания тканеинженерных конструкций, так как играет ключевую роль в адгезии и пролиферации клеток: чем тоньше волокна, образующие нетканый материал, тем больше площадь доступной поверхности для его взаимодействия с клетками. В то же время, ряд авторов [147] отмечают, что тонкие наноразмерные полимерные волокна могут препятствовать инфильтрации материала клетками, поскольку образуют слишком мелкие поры [148]. Вероятно, что наиболее предпочтительными будут скаффолды, состоящие из волокон микронного размера, так как клеткам необходимо иметь возможность ориентироваться вокруг волокон и прикрепляться к ним, а размер большинства человеческих клеток лежит в диапазоне 2–120 мкм. Кроме того, средний диаметр волокон влияет не только на ориентацию, пролиферацию и дифференциацию клеток, но и на глубину проникновения атомов распыляемой мишени в объем скаффолдов. Для исследования влияния среднего диаметра волокон на глубину проникновения атомов распыляемой мишени, а также смачиваемость скаффолдов они формировались из 5, 9 и 14 (масс.%) растворов поли-L-молочной кислоты (ПМК) (PL38, Purac, Нидерланды) в трихлорметане (CHCl_3) (ЭКРОС, Россия). Соответственно, экспериментальные группы образцов обозначены: ПМК 5%, ПМК 9% и ПМК 14%. Результаты этих исследований приведены на рисунке 3.3 и в таблице 3.1.

Таблица 3.1 – Значение среднего диаметра волокон скаффолдов при различной концентрации полимера в прядильном растворе и при различных длительностях модифицирования

Длительность модифицирования, мин	Концентрация ПМК, %		
	5%	9%	14%
	Средний диаметр волокон, мкм		
0	1,1 ± 0,5	2,2 ± 0,5	4,9 ± 1,4
2	1,5 ± 0,5	2,3 ± 0,3	5,6 ± 1,6

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

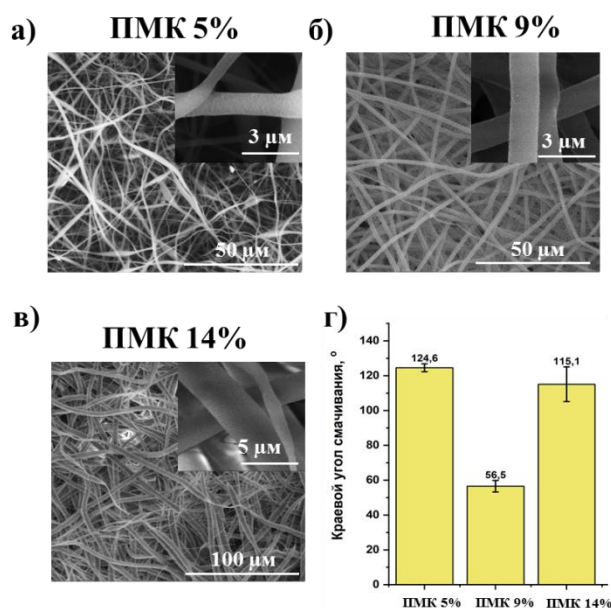


Рисунок 3.3 СЭМ изображения скаффолдов, изготовленных из растворов ПМК с массовыми концентрациями: а) 5%, б) 9%, в) 14%, при различных увеличениях, после модифицирования в течение 2 минут; г) гистограмма смачиваемости в зависимости от среднего диаметра волокон

Увеличение концентрации полимера в прядильном растворе с 5% до 14% (масс.) приводит к значительному увеличению среднего диаметра волокон (табл. 3.1). Скаффолды, независимо от концентрации раствора полимера, были образованы волокнами цилиндрической формы, беспорядочно переплетающимися друг с другом, имели неправильную форму, средний диаметр волокон представлен в таблице 3.1. Наблюдалось

увеличение полидисперсности среднего диаметра волокон, о чем свидетельствовало увеличение стандартного отклонения (рис. 3.3, табл. 3.1).

Поперечные сечения ПМК 5%, ПМК 9% и ПМК 14% скаффолдов (рис. 3.4) демонстрируют, что распределение титана по глубине образца имело неоднородный профиль.

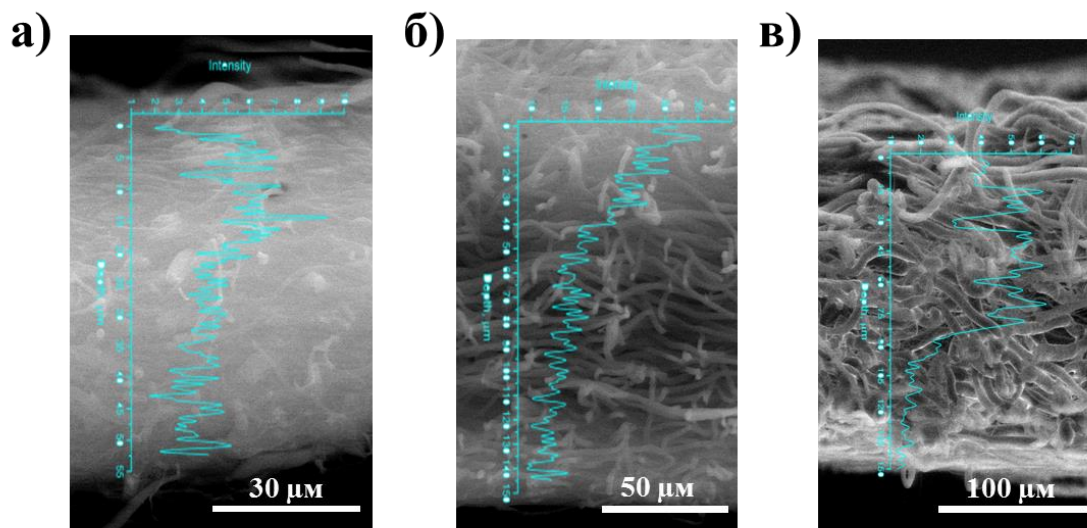


Рисунок 3.4 – Распределение титана (поперечное сечение) по глубине ПМК скаффолда при 2 минутах плазменного модифицирования в зависимости от среднего диаметра волокон: а) ПМК 5%, б) ПМК 9%, в) ПМК 14%

Для ПМК 5% скаффолдов максимальная глубина проникновения Ti в объем материала составляет ~20 мкм, что соответствует данным, приведенным в [124]. Однако для образцов ПМК 9% максимальная глубина проникновения увеличивается до ~40 мкм, и общая концентрация атомов Ti в объем материала также возрастает. Увеличение концентрации полимера в растворе до 14% (образец ПМК 14%) также приводит к увеличению глубины проникновения Ti в объем материала (~100 мкм) и росту общей его концентрации. В соответствии с [149] этот результат можно объяснить теневым эффектом.

Результаты измерений краевого угла смачивания скаффолдов при различных значениях среднего диаметра волокон приведены в таблице 3.2.

Как видно из рисунка 3.3г и таблицы 3.2 процесс плазменного модифицирования по-разному влияет на смачиваемость ПМК-скаффолдов с различным диаметром волокон.

Таблица 3.2 – Краевой угол смачивания скаффолдов при различном значении среднего диаметра волокон

Время модифицирования, мин	Концентрация ПМК, %		
	5%	9%	14%
	Краевой угол смачивания, град		
0	131 ± 5	$138,4 \pm 0,4$	$107,3 \pm 1,7$
2	125 ± 2	$57 \pm 3^*$	115 ± 10

Так, для ПМК 5% характерно незначительное уменьшение контактного угла смачивания от $131 \pm 5^\circ$ до $125 \pm 2^\circ$ после 2 минут плазменного модифицирования (табл. 3.2). Аналогичный эффект наблюдали авторы работы [150], осаждая тонкие покрытия при напылении титановой мишени на полимерные подложки. Для ПМК 9% контактный угол смачивания уменьшается после 2 минут воздействия плазмы с $138,4 \pm 0,4^\circ$ до $57 \pm 3^\circ$. Значительное уменьшение контактного угла поверхности ПМК 9% скаффолдов при коротком времени воздействия связано с насыщением поверхности волокон азотом [151]. Можно отметить, что скаффолды с максимальным диаметром волокон (ПМК 14%) характеризуются минимальным углом смачивания. Не было обнаружено существенных различий в контактном угле между контрольными и модифицированными в течение 2 минут образцами.

3.1.4. Выводы

На основании полученных результатов можно сделать следующие выводы:

- для исключения деструктивного влияния плазмы на поверхностную и объемную структуру ПМК скаффолда модифицирование следует проводить при низкой мощности источника питания ~ 88 Вт и 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 $2,03 \pm 0,07$ атом. % по сравнению с $1,50 \pm 0,02$ атом. % 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 лежит в пределах $1,4 \pm 0,5$ мкм, а при 14% концентрации ПМК эта характеристика составляет $5,6 \pm 1,6$ мкм.

Было установлено, что глубина проникновения титана в объем скаффолдов и их смачиваемость зависят от среднего диаметра волокон ПМК скаффолдов, а наиболее предпочтительными для применений в тканевой инженерии являются нетканые материалы, сформированные при 9% концентрации ПМК в прядильном растворе. Выбранная мощность магнетронного разряда позволяют избежать плазменной деструкции ПМК скаффолдов. Поэтому было сформировано 5 исследуемых групп скаффолдов, сформированных из 9% раствора полимолочной кислоты, модифицирование которых проводили при мощности источника питания ~ 88 Вт, а длительность плазменного модифицирования в циклическом режиме составляла 2, 4, 6 и 8 минут.

3.2. Оптический спектр плазмы

Оптические спектры плазмы DC магнетронного разряда, полученные при распылении титановой мишени в атмосфере азота, представлены на рисунке 3.5.

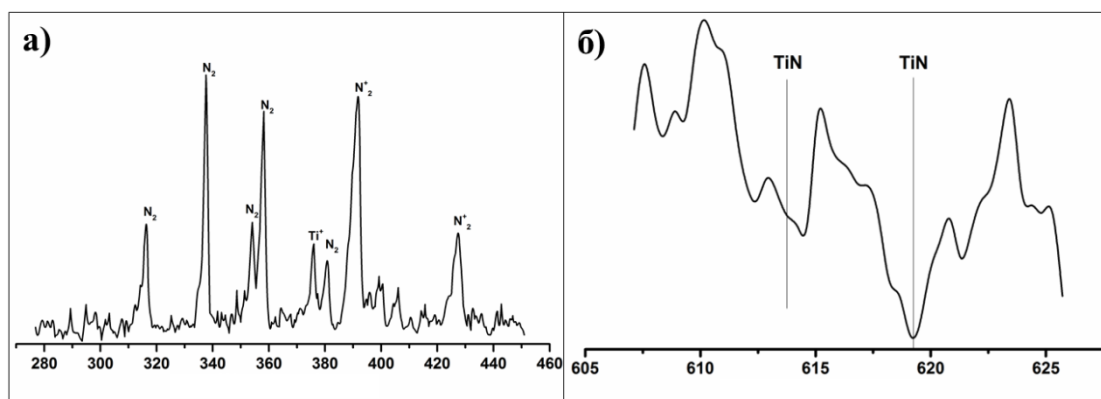
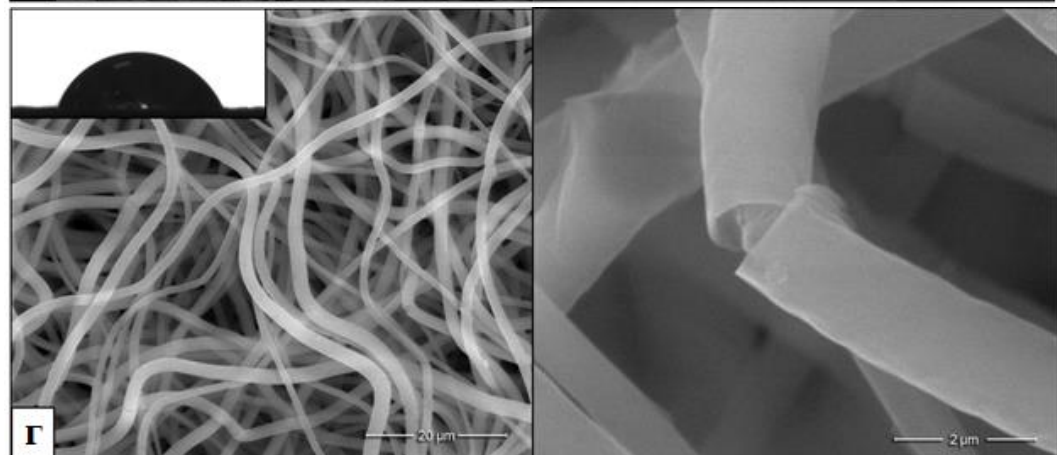
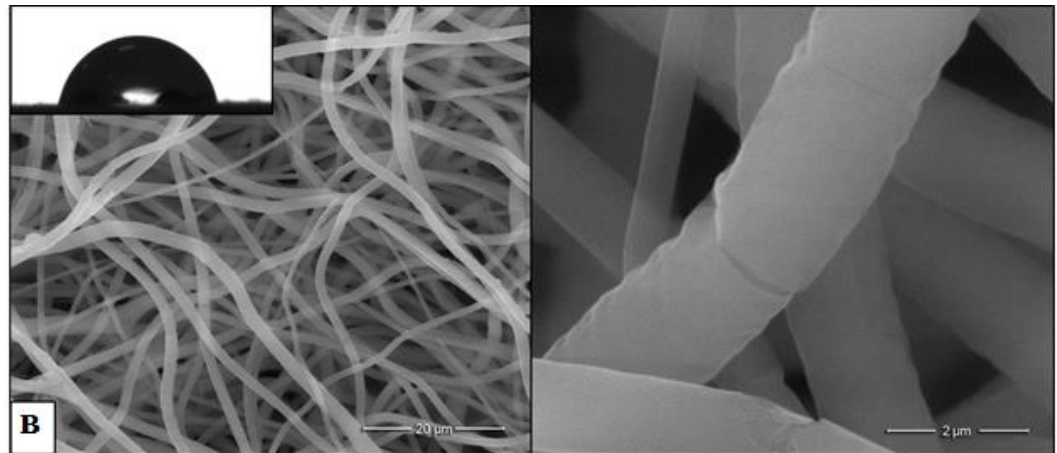
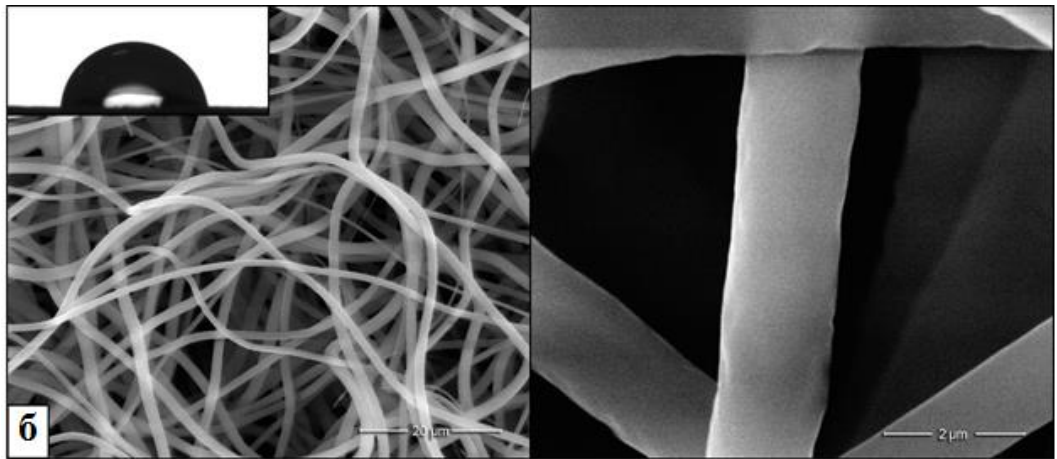
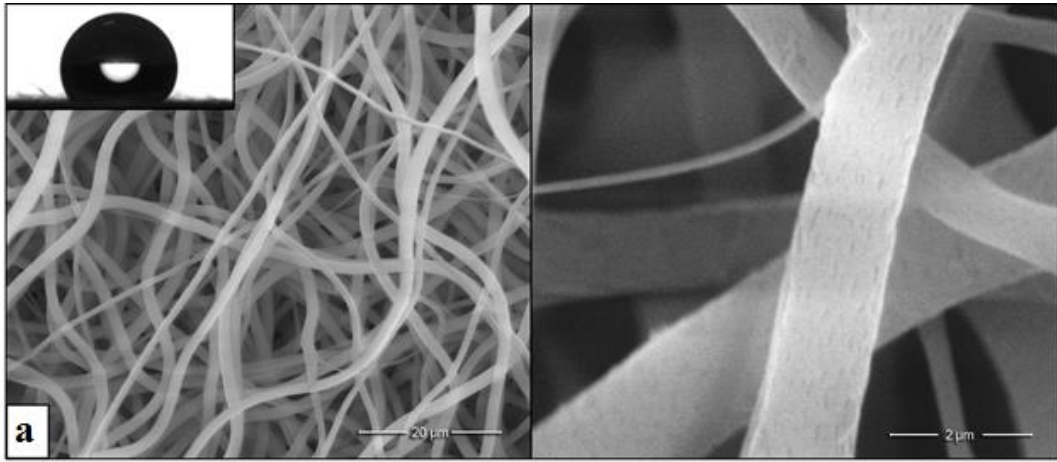


Рисунок 3.5 – Оптический эмиссионный спектр плазмы в диапазоне длины волны а) 280-460 нм и б) 605-625 нм

В оптическом спектре плазмы наблюдались линии рабочего газа: молекулярного азота (N_2) на длинах волн 316,1 нм, 337,2 нм, 353,8 нм и 357,9 нм, ионизированного азота (N_2^+) на длинах волн 391,4 нм и 427,8 нм и атомарного азота (N^+) на длине волны 404,1 нм [72]. Спектральная линия ионов распыленной мишени (Ti^+) – на 376,1 нм [152]. Кроме этого в оптическом эмиссионном спектре присутствует линия H_δ на длине волны 410,2 нм [153]. Линии в диапазоне от 308-313 нм и 280-282 нм соответствуют ОН группам [72]. Линия на длине волны 441,5 нм соответствует иону O^+ . Эмиссионные спектральные линии при 613,8 нм и 619,9 нм, соответствующие TiN , не были обнаружены (рис. 3.5б), что согласуется с результатами, полученными ранее М. Neuhäuser et al. [72]. Отсутствие в оптическом спектре линий, характерных для TiN , обусловлено тем, что максимальное значение соотношения TiN/Ti при распылении титановой мишени в атмосфере азота составляет $\sim 0,04$ [154]. При этих условиях формирование TiN соединений происходит преимущественно на поверхности ПМК волокон.

3.3. Сканирующая электронная микроскопия

На рисунке 3.6 представлены изображения ПМК скаффолдов (при различных увеличениях) и капли глицерина на их поверхности в зависимости от времени плазменной обработки.



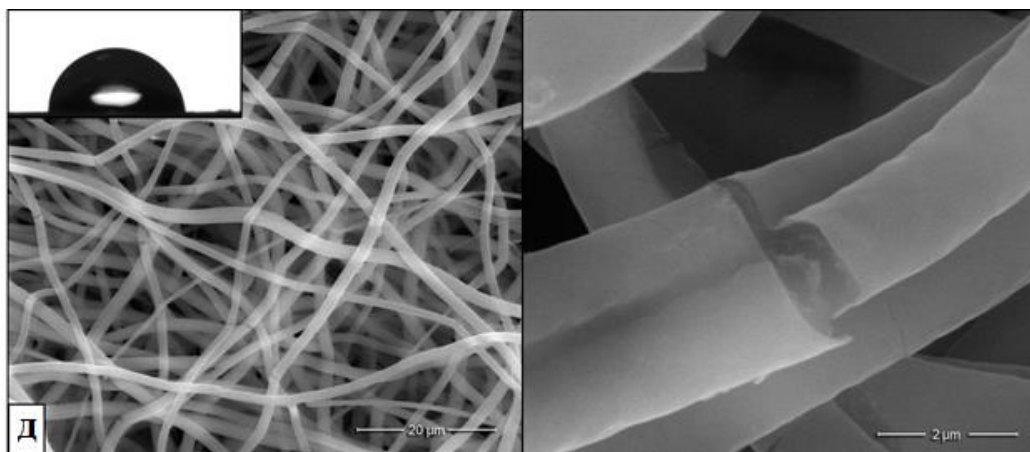


Рисунок 3.6 – СЭМ изображения при различных увеличениях ПМК скаффолдов, изготовленных из 9 (масс.%) растворов ПМК, и капли глицерина на поверхности ПМК скаффолдов в зависимости от времени плазменного модифицирования на вставках: а – контроль; б – 2 минуты; в – 4 минуты; г – 6 минут; д – 8 минут

Как видно из представленных рисунков, ПМК скаффолды сформированы хаотично переплетающимися между собой волокнами правильной цилиндрической формы со средним диаметром волокон $1,9 \pm 0,3$ мкм (рис. 3.6 а – д). Известно, что средний диаметр волокон является важным параметром в создании конструкций для тканевой инженерии, так как играет ключевую роль в адгезии и пролиферации клеток. Так скаффолды, сформированные из волокон с диаметром порядка 100 – 500 нм, препятствуют инфильтрации клеток в скаффолд, поскольку образуют слишком мелкие поры [148, 155], при этом с уменьшением диаметра волокон существенно увеличивается их жесткость [11], что затрудняет их применение в качестве внеклеточного матрикса. Считается, что оптимальными для адгезии клеток являются ПМК скаффолды, сформированные из волокон микронного размера, так как позволяют клеткам ориентироваться вокруг волокон и прикрепляться к ним, при этом обладают необходимой

пористостью, что обеспечивает необходимые условия для транспорта питательных веществ и удаления продуктов жизнедеятельности [156].

С увеличением времени плазменной обработки на поверхности ПМК скаффолдов не обнаруживались дефекты в виде оплавлений, прожогов, капель и т. п, средний диаметр волокон достоверно не изменялся (рис. 3.6 а – д).

При значительных увеличениях было обнаружено, что на поверхности полимерных волокон присутствуют многочисленные неровности (рис. 3.6а). С увеличением времени плазменной обработки наблюдалось изменение поверхности полимерного волокна (рис. 3.6 б – д). При обработке в плазме в течение 2 минут поверхность волокон становилась более гладкой, дефекты после плазменного модифицирования не наблюдались. В интервале 4 – 8 минут на поверхности волокон с покрытием отмечалось образование поперечных трещин, размер и количество которых, увеличивалось с увеличением времени модифицирования. Вероятно, образование трещин на поверхности волокон связано с различием в эластичности полимерной основы и формирующегося покрытия, толщина которого увеличивается с увеличением времени плазменного модифицирования.

3.4. Исследование волокон ПМК скаффолдов и толщины покрытия на них методом АСМ

На рисунке 3.7 представлены АСМ изображения профиля отдельного волокна и структуры сформированного на нем покрытия.

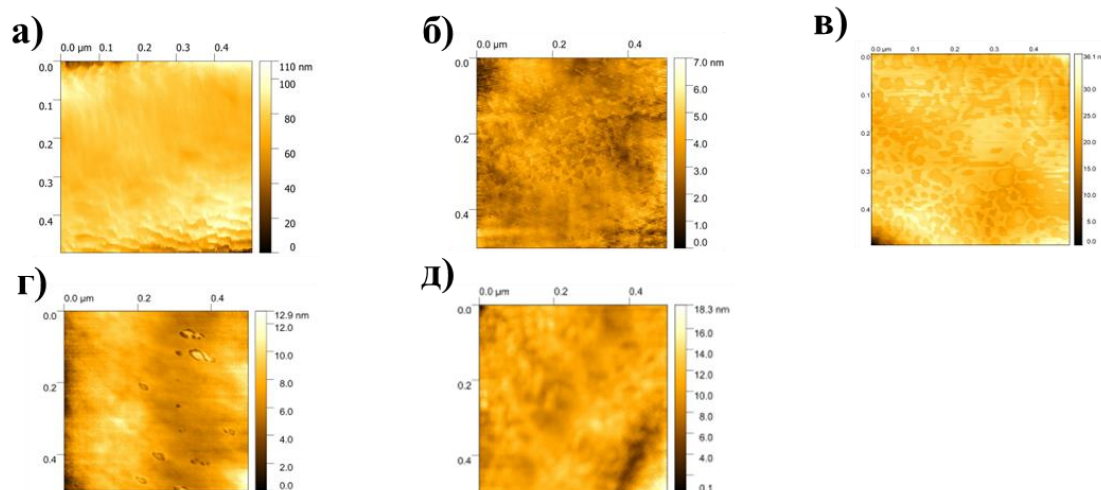


Рисунок 3.7 – АСМ изображения поверхности отдельных волокон ПМК скаффолдов, в зависимости от времени плазменного модифицирования: а – контроль; б – 2 минуты; в – 4 минуты; г – 6 минут; д – 8 минут

Для поверхности волокон скаффолда, необработанного в плазме, характерно наличие собственного рельефа (рис. 3.7), обусловленного особенностями его формирования методом электроспиннинга [157]. После плазменного модифицирования на поверхности волокон наблюдается значительное изменение собственного рельефа, связанное с формированием на их поверхности тонкого азотосодержащего титанового покрытия. Наиболее универсальной характеристикой, описывающей изменение профиля поверхности, является шероховатость, которая представляет собой совокупность неровностей, образующих ее рельеф. Для наиболее точного описания шероховатости отдельного волокна скаффолда была выбрана среднеквадратичная шероховатость, поскольку дает наиболее полную характеристику с учетом всех точек профиля, изображенных на АСМ изображениях. В таблице 3.3 приведены значения измеренной на них среднеквадратичной шероховатости и толщины покрытия

Таблица 3.3 – Среднеквадратичная шероховатость и толщина покрытия на поверхности волокон ПМК скаффолда, рассчитанная с помощью АСМ изображений, в зависимости от времени плазменного модифицирования

Время модифицирования	Контроль	2 минуты	4 минуты	6 минут	8 минут
RMS на поверхности отдельного волокна, нм	$15,2 \pm 2,6$	$8,3 \pm 1,1$	$5,1 \pm 0,6$	$2,6 \pm 0,8$	$1,4 \pm 0,2$
Толщина покрытия, нм	-	$2,5 \pm 0,3$	$4,9 \pm 0,4$	$7,3 \pm 0,2$	$9,6 \pm 0,4$

Так, среднеквадратичная шероховатость (RMS) для немодифицированного ПМК-скаффолда составляет $15,2 \pm 2,6$ нм. Для ПМК скаффолда модифицированного в течение 2 минут RMS уменьшается до $8,3 \pm 0,3$ нм и в дальнейшем демонстрирует снижение с увеличением времени модифицирования. Так, при 8 минутах значение RMS снижается до $1,4 \pm 0,2$ нм. Уменьшение значения RMS с увеличением длительности плазменного модифицирования обусловлено температурным и радиационным воздействием (например, плазменным травлением) со стороны плазмы магнетронного разряда [158]. При этом, наиболее эффективное плазменное травление будет происходить в местах наиболее выраженного рельефа поверхности (выпуклости, выступающие волокна). Процесс травления обусловлен высоким процентом отраженных от мишени высокоэнергетичных ионизированных молекул N_2^+ , которые производят процесс плазменного травления поверхности ПМК скаффолда [159].

Данный факт также согласуется с результатами измерения толщины покрытия, сформированного на поверхности волокон ПМК, которая увеличивается с увеличением длительности плазменного модифицирования (табл. 3.3). Наибольшее значение толщины покрытий наблюдается для ПМК

скаффолдов, модифицированных в течение 8 минут (9,6 нм), что приблизительно в 4 раза выше, чем для скаффолдов, модифицированных в течение 2 минут (2,5 нм). Данный факт согласуется с общепринятой теорией магнетронного распыления и результатами работ [160].

3.5. Энергодисперсионный анализ

Изменение концентрации углерода, кислорода и титана на поверхности скаффолда в зависимости от времени и режима обработки по результатам ЭДС анализа представлены в таблице 3.4.

Таблица 3.4 – Концентрация титана, кислорода и углерода на поверхности скаффолда в зависимости от времени модифицирования

Время модифицирования, мин	Элемент, ат. %		
	C	O	Ti
0	72 ± 0,24	28 ± 0,25	-
2	72,5 ± 0,05	27,2 ± 0,09	0,37 ± 0,04
4	71,8 ± 0,12	27,5 ± 0,11	0,65 ± 0,02*
6	71,2 ± 0,56	27,2 ± 0,34	1,61 ± 0,23*
8	71,2 ± 0,71	26,8 ± 0,77	2,03 ± 0,07*

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

Химический состав контрольных образцов ПМК скаффолдов представлен углеродом и кислородом – основными элементами полимерной цепи полимолочной кислоты. С увеличением времени плазменного модифицирования концентрация титана на поверхности ПМК скаффолда увеличивается. При этом концентрация углерода и кислорода достоверно не изменяется, что свидетельствует о стабильности объемной химической структуры ПМК скаффолдов. Кроме того, стоит отметить отсутствие

рефлексов, соответствующих азоту. Это связано с тем, что его концентрация находится ниже предела чувствительности прибора, при этом происходит параллельное перекрытие его линии более интенсивными линиями углерода и кислорода.

Также методом ЭДС была исследована глубина проникновения титана в объем ПМК скаффолда в зависимости от времени плазменного модифицирования.

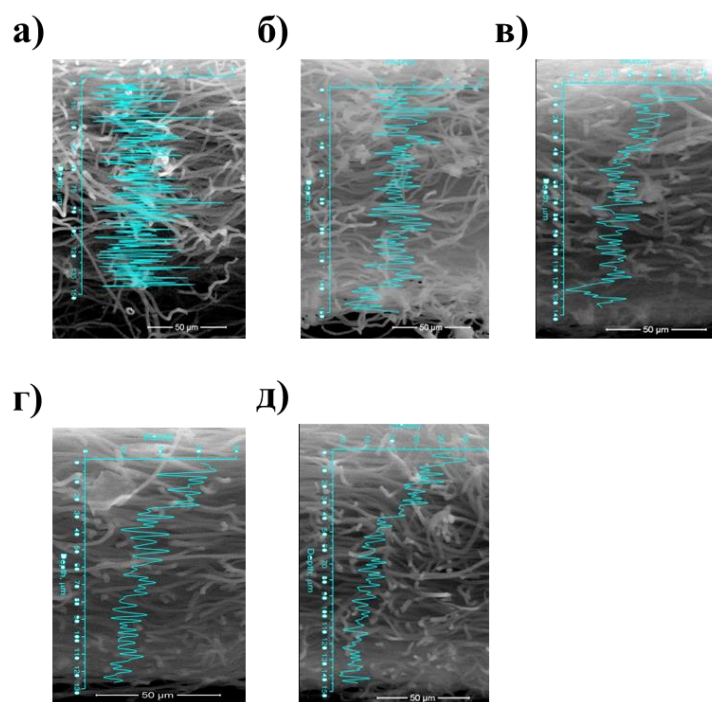


Рисунок 3.8 – Распределение титана (поперечное сечение) по глубине ПМК скаффолда в зависимости от времени плазменного модифицирования

Исследование поперечного сечения ПМК скаффолдов показывает, что распределение концентрации титана (Ti) по их объему не является постоянным и зависит от времени модифицирования. Наибольшая концентрация Ti наблюдается в тонком приповерхностном слое скаффолдов ~ 10 μm. Об этом свидетельствует профиль интенсивности линии Ti K в направлении от поверхности к внутреннему объему ПМК скаффолда. Также следует отметить что, несмотря на увеличение времени модифицирования от 2 до 8 минут, наибольшая концентрация Ti наблюдается преимущественно в

приповерхностном слое ПМК скаффолда, равном $\sim 10\mu\text{м}$. Данные результаты можно объяснить известными механизмами формирования покрытий при магнетронном распылении твердотельных мишеней [161, 162]. Согласно данным работам, наибольшая скорость роста покрытия будет наблюдаться на поверхности тех волокон, которые наиболее выгодно обращены к поверхности мишени. Противоположная поверхность волокон, а также поверхность волокон, закрытая другими волокнами, находится в теневой зоне, которая характеризуется меньшей плотностью потока налетающих частиц и, следовательно, меньшей скоростью формирования покрытия. Таким образом, формируется покрытие с неоднородной толщиной, максимальное значение которой будет наблюдаться на поверхности тех волокон, у которых отсутствует теневой эффект.

Ограничения по глубине проникновения T_i в объем ПМК скаффолдов также может быть объяснен наличием теневого эффекта. Покрытие в теневой зоне формируется в основном за счет перераспыления ионов из покрытия внешней поверхности волокна. Глубина проникновения ионов в объем скаффолда, а также эффективность перераспыления прямопропорциональны энергии частиц, налетающих на поверхность мишени. Таким образом, проникновение T_i в объем скаффолда определяется плотностью мощности разряда и средним диаметров волокон (как было показано выше). Учитывая тот факт, что параметры разряда и средний диаметр волокон не изменялись в ходе эксперимента, глубина проникновения T_i в объем скаффолда также не изменялась. Подобные результаты наблюдали авторы работы [163], модифицируя поверхность скаффолдов, изготовленных методом электроспиннинга, из сополимера PCL/PHBV, распылением титановой мишени в атмосфере аргона.

3.6. Рентгено-флуоресцентный анализ

Изменения концентрации титана и азота в зависимости от времени модифицирования по результатам XRF анализа представлены на рисунке 3.7.

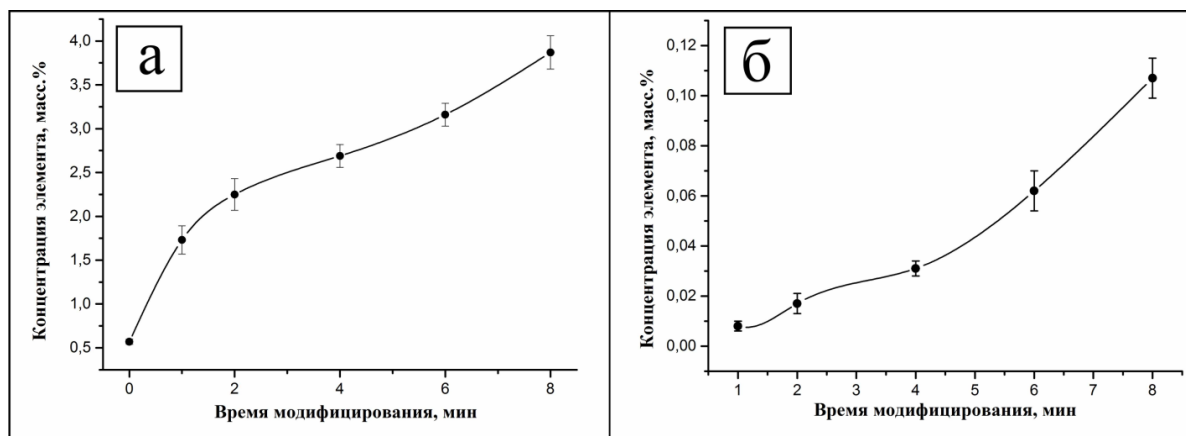


Рисунок 3.9 – Концентрация титана (а) и азота (б) на поверхности ПМК скаффолдов в зависимости от времени плазменного модифицирования

Из представленных зависимостей видно, что при увеличении времени модифицирования ПМК скаффолдов в плазме концентрация титана и азота на их поверхности увеличивается. Таким образом, результаты XRF анализа согласуются с результатами оптической спектроскопии магнетронной плазмы и свидетельствуют о том, что на образцах происходит формирование тонких пленок оксинитридов титана.

3.7. Рентгено-структурный анализ (РСА)

Результаты рентгено-структурного анализа ПМК скаффолдов приведены на рисунке 3.8.

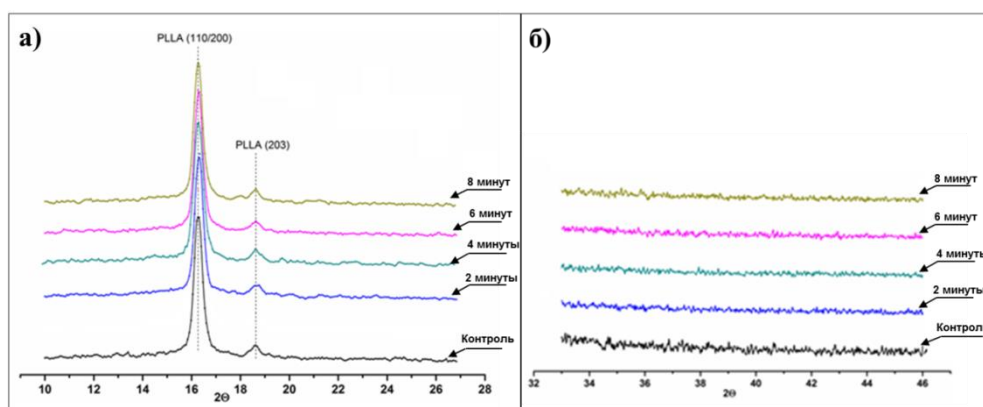


Рисунок 3.8 – Рентгенограмма ПМК скаффолдов в зависимости от времени плазменного модифицирования

С увеличением времени плазменного модифицирования кристаллическая структура волокон ПМК скаффолдов не изменялась, о чем свидетельствует сохранение интенсивности и положения характерных полос (табл. 3.5, рис. 3.8) в спектрах до и после модифицирования. Сохранение молекулами ПМК в волокне кристаллической структуры в процессе модифицирования подтверждается результатами XRD анализа (рис. 3.7, табл. 3.5).

На рентгенограмме исходного ПМК скаффолда можно выделить два рефлекса в области $16,5^\circ$ и $18,6^\circ$, которые соответствуют отражению от кристаллографических плоскостей (200/110) и (203) в α – форме [164]. Обработка ПМК скаффолдов в плазме магнетронного разряда не вызывала достоверных изменений в размере полимерных кристаллитов в кристаллографических направлениях (200/110) и (203) (табл. 3.5).

Таблица 3.5 – Размер кристаллитов ПМК до и после модифицирования

Время модифицирования, мин	Средний размер кристаллитов (I_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

Отсутствие достоверных изменений в размере кристаллитов свидетельствует о сохранении в объёме волокна исходной кристаллической структуры полимолочной кислоты.

3.7.1. Влияние термического отжига на кристаллическую структуру ПМК скаффолдов

Как показано в главе 1.1., скаффолды, изготовленные из L-изоформы полимолочной кислоты, имеют способность к кристаллизации под воздействием температуры. Кристаллизация полимеров представляет собой процесс, обусловленный частичным выравниванием их молекулярных цепей. Цепи, складываясь вместе, образуют упорядоченные области, называемые ламелями, которые образуют более крупные сфероидальные структуры, называемые сферулитами [165]. Полимеры могут кристаллизоваться при охлаждении/нагревании, механическом растяжении/сжатии или испарении растворителя. При этом у одного и того же полимерного материала в кристаллической и аморфной форме могут существенно отличаться оптические, механические, и химические свойства. На рисунке 3.9 показано влияние термического отжига ПМК скаффолдов на их кристаллические свойства.

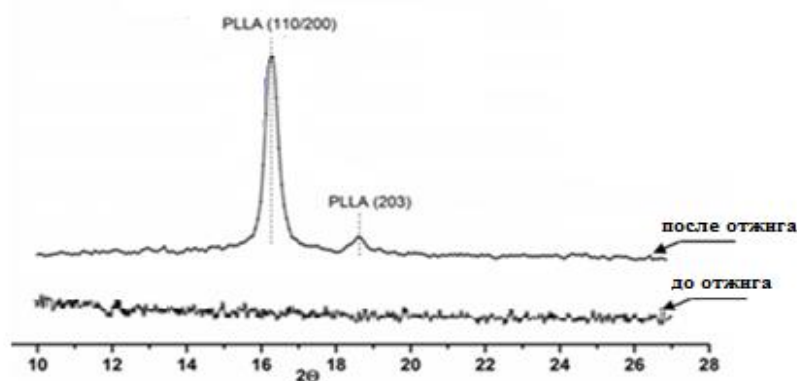


Рисунок 3.9 – Влияние термического отжига на кристаллическую структуру скаффолдов ПМК 9%

Как видно из рисунка 3.9, до термического отжига структура скаффолдов является аморфной. После термического отжига на рисунке наблюдается два рефлекса в области $16,5^\circ$ и $18,6^\circ$, более подробно охарактеризованных в главе 3.7 данной работы. При этом, процесс кристаллизации можно описать следующим образом. Рост кристаллических

областей происходит в направлении наибольшего градиента температуры. В случае сильного градиента температуры рост имеет однонаправленный характер [166]. Однако, если распределение температуры изотропно и статично, кристаллизация происходит радиально, с образованием крупных кристаллитов, размером от 1 до 100 микрометров [167].

При этом связь кристалличности и механических свойств ПМК скаффолдов можно охарактеризовать следующим образом. При температуре, ниже температуры стеклования, полимерные скаффолды, имеющие. Повышение температуры, до температуры стеклования и выше, вызывает молекулярное движение, что приводит к вязкоупругой деформации, т.е. полимер начинает ползти [168]. Модуль упругости и относительное удлинение, при этом, существенно изменяются только при высокой температуре, выше температуры плавления [169]. При этом, наблюдается зависимость: более высокая кристалличность приводит к получению более твердого и термически стабильного, но и более хрупкого материала, потому что аморфные области обеспечивают определенную эластичность [170]. Другой характерной особенностью полукристаллических полимеров является сильная анизотропия их механических свойств вдоль направления выравнивания молекул.

3.8. ИК-фурье спектроскопия

ИК спектры исследуемых образцов представлены на рисунке 3.10.

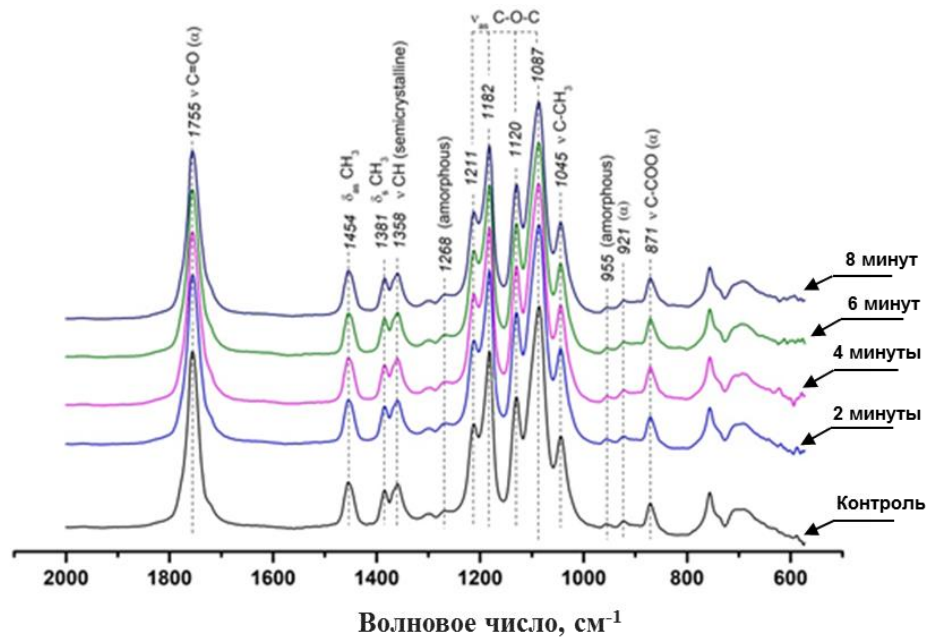


Рисунок 3.10 – ИК-Фурье спектры ПМК скаффолдов в зависимости от времени плазменного модифицирования

Исследования методом ИК спектроскопии кристаллизации ПМК скаффолдов позволили выявить в спектрах полосы, чувствительные к изменениям кристаллической структуры макромолекул ПМК (табл. 3.6). Таким образом, инфракрасные спектры могут быть использованы для оценки изменений кристаллической структуры ПМК.

Таблица 3.6 – ИК спектры, связанные с различными кристаллическими фазами ПМК.

Волновое число (см^{-1})	Кристаллическая форма	Ссылка
871	α	[171]
908	β	[172]
921	α	[173]
955	Аморфный	[174]
1268	Аморфный	[175]
1358	Полукристаллический	[172]
1749	α	[171]

В спектре контрольных образцов ПМК скаффолда наблюдались следующие основные полосы: валентные колебания (C=O) в области 1755 см^{-1} , деформационные асимметричные колебания фрагмента (CH₃), в области 1454 см^{-1} , деформационные симметричные колебания (CH₃) в области 1381 см^{-1} , валентные колебания фрагмента (CH) в области 1359 см^{-1} в диапазоне $1087 - 1182\text{ см}^{-1}$, а так же в области 1211 см^{-1} наблюдались валентные асимметричные колебания фрагмента (C–O–C), валентные колебания фрагмента (C–CH₃) в области 1045 см^{-1} , валентные колебания в группе (C–COO) в области 871 см^{-1} . Следует отметить отсутствие полосы в области 908 см^{-1} , характерной для ПМК в β кристаллической форме. Полученные результаты свидетельствуют о том, что в полимерных волокнах кристаллическая фаза ПМК представлена преимущественно α – формой, при этом присутствуют молекулы, находящиеся в полукристаллической и аморфной фазе. Образование кристаллической α – формы ПМК обусловлено процессами кристаллизации скаффолда под воздействием температуры в технологическом цикле отгонки остаточных органических растворителей.

3.9. Смачиваемость

Результаты исследования смачивания ПМК скаффолдов в зависимости от времени плазменного модифицирования представлены в таблице 3.7 и на врезках рисунка 3.6

Таблица 3.7 – Значение краевого угла смачивания ПМК скаффолдов в зависимости от времени плазменного модифицирования

Длительность модифицирования, мин	Краевой угол смачивания, град
0	129 ± 2
2	$46 \pm 6^*$
4	$40 \pm 13^*$
6	$47 \pm 8^*$
8	$51 \pm 16^*$

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

Как видно из представленной таблицы, исходный контрольный образец имел краевой угол смачивания равный $129^\circ \pm 2^\circ$, что говорит об его гидрофобности. Однако при плазменном модифицировании в течение 1 минуты данное значение снижается до $20^\circ \pm 4^\circ$ (табл. 3.7). С увеличением времени модифицирования наблюдалось некоторое увеличение краевого угла смачивания до $46^\circ \pm 6^\circ$. Полученная закономерность может быть объяснена тем, что плазма магнетронного разряда при распылении титановой мишени в атмосфере азота содержит два типа активных частиц: первый тип – это фотоны, электроны, а также нейтральные ионы, атомы и молекулы; второй – химически активные частицы, такие как ионы и атомы Ti, N, а так же их соединения $Ti_x N_y$. При малом времени модифицирования большая часть химически активных частиц, присутствующих в плазме, представляют собой радикал N, который эффективно образуется на поверхности ПМК скаффолдов ионами N_2^+ , которые рекомбинируют с электронами на поверхности образца. Данную реакцию можно представить следующим образом:



Кроме этого химически активные частицы первого типа, взаимодействуя с поверхностью ПМК скаффолда, разрушают С-С и С-Н связи, что приводит к образованию полимерных радикалов. В результате N-радикалы и созданные полимерные радикалы могут взаимодействовать друг с другом, что приводит к образованию функциональных групп, содержащих азот на поверхностях ПМК [176]. Также важно отметить, что полимерные радикалы на поверхности ПМК будут в основном реагировать с N радикалами, а не друг с другом, создавая поверхность с большим количеством атомов азота, но с низкой степенью сшивания. Полимерные радикалы вступают в химическую реакцию с N, что приводит к обогащению поверхности ионами азота. Таким образом, значительное уменьшение краевого угла смачивания поверхности ПМК скаффолда при малом времени плазменного модифицирования обусловлено насыщением поверхности ПМК

волокон азотом. Ранее уменьшение краевого угла смачивания при обработке поверхности ПМК различными типами плазменных разрядов в атмосфере азота наблюдали авторы работ [151, 177, 178].

Известно, что воздействие плазмы сопровождается деградацией полимерного материала в результате процессов термической и фотохимической деструкции, ионного травления, при этом аморфные области полимера менее устойчивыми к деструкции по сравнению с кристаллическими [179, 180]. Находясь в высоком кристаллическом состоянии молекулы ПМК способны эффективно противостоять деградации, что в свою очередь стимулирует формирование покрытия из плазмы магнетронного разряда. При этом увеличение толщины покрытия сопровождается увеличением краевого угла смачивания, что ранее наблюдали авторы работы [12] при формировании тонких серебряных и золотых покрытий методом ДС магнетронного напыления.

3.10. Исследование механических свойств скаффолдов

Результаты исследований механических свойств ПМК скаффолдов представлены в таблице 3.8.

Таблица 3.8 – Механические свойства ПМК скаффолдов в зависимости от длительности плазменного модифицирования

Длительности модифицирования, мин	Предел прочности, МПа	Относительное удлинение, %	Модуль Юнга, МПа
0	1,91 ± 0,06	67,6 ± 5,2	7,0 ± 0,5
2	1,95 ± 0,17	71,9 ± 11,7	7,0 ± 0,3
4	2,04 ± 0,07	73,8 ± 8,6	7,3 ± 0,2
6	1,95 ± 0,05	66,3 ± 5,9	7,8 ± 0,4*
8	1,91 ± 0,06	69,7 ± 5.1	8,0 ± 0,3*

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

Как видно из представленных результатов, значения прочности и относительного удлинения биорезорбируемых ПМК скаффолдов в результате плазменного модифицирования достоверно не изменялось, что свидетельствует об их высокой устойчивости термическому и фотохимическому воздействию плазмы.

Кроме того, важной характеристикой для материала, имплантируемого в организм, является его упругость, то есть способность возвращать прежнюю форму после деформации [181]. Упругость материала характеризуется модулем Юнга. При 6 и 8 минутах модифицирования наблюдалось достоверное увеличение значения величины модуля Юнга по сравнению с контрольным образцом (без плазменного модифицирования). Известно, что полимерные материалы в кристаллическом состоянии обладают наиболее высокими показателям твердости, модуля упругости и прочности [182]. Однако в частично кристаллическом материале, какими и является большинство полимеров, кристаллические и аморфные области обладают различными механическими характеристиками, поскольку плотность кристаллических областей выше, чем аморфных [183].

Поэтому с учетом результатов, полученных методами ИКФС и РСА, можно констатировать, что в результате плазменного модифицирования при выбранных режимах сохранялась структура ПМК в объёме волокна, при этом увеличение модуля Юнга при 6 и 8 минутах модифицирования связано с образованием на поверхности волокон тонкого покрытия, что подтверждают результаты СЭМ.

Кроме того известно, что механические свойства имплантируемого медицинского изделия должны иметь схожие значения механическим характеристикам ткани, куда осуществляется имплантация [184]. В таблице 3.9 приведены предел прочности и относительное удлинение некоторых тканей человеческого организма.

Таблица 3.9 – Механические свойства некоторых тканей человеческого организма

Тип ткани	Предел прочности, МПа	Относительное удлинение, %	Ссылки на литературу
Стенка аорты	2 ± 1	89 ± 36	[185]
Легочная стенка	2 ± 1	93 ± 23	
Легочная артерия	2 ± 1	33 ± 14	
Сухожилия	75 ± 25	13 ± 3	[186]
Связки	75 ± 25	13 ± 3	
Кожа	17 ± 9	49 ± 21	[187]
Суставные хрящи	29 ± 11	89 ± 31	

Согласно приведённым в таблице данным, наиболее подходящими по механическими характеристикам тканями, предполагаемыми для восстановления с использования ПМК скаффолдов, являются стенка аорты, легочная стенка, легочная артерия, а также сходные по механическим характеристикам мягкие ткани области головы и шеи.

3.11. Выводы по главе 3

1. С помощью оптической эмиссионной спектроскопии установлено, что в состав плазмы входят молекулы рабочего газа – азота, как в ионизированном, так и стационарном состояниях, ионы распыляемой титановой мишени, а также частицы, характерные для диссоциации воды под воздействием плазмы (H, OH).

2. Установлено, что ПМК скаффолды сформированы хаотично переплетающимися между собой волокнами правильной цилиндрической формы, со средним диаметром волокон $1,6 \pm 0,4$ мкм. Увеличение времени плазменного модифицирования не влияло на морфологию поверхности

материала, что обусловлено отсутствием дефектов в виде оплавления, прожогов, капель и т. п, средний диаметр волокон достоверно не изменялся.

3. Показано, что шероховатость поверхности отдельного волокна снижается с увеличением времени плазменного модифицирования, при этом, толщина, напротив, линейно увеличивается.

4. Установлено, что при увеличении времени модифицирования ПМК скаффолдов в плазме магнетронного разряда, возникающей при распылении титановой мишени в атмосфере азота, концентрация титана и азота на их поверхности увеличивалась.

5. Показано, что с увеличением времени плазменного модифицирования в выбранных режимах кристаллическая структура волокон ПМК не изменялась, о чем свидетельствует сохранение интенсивности и положения характерных пиков рентгено-структурных спектров. Кроме того, модифицирование ПМК скаффолда в плазме магнетронного разряда не вызывало достоверных изменений в размере полимерных кристаллитов.

6. Установлено, что в полимерных волокнах кристаллическая фаза ПМК представлена преимущественно α – формой, при этом присутствуют молекулы, находящиеся в полукристаллической и аморфной фазе. Отсутствие сдвигов основных полос пропускания ИК спектров свидетельствует о том, что конформация макромолекул материала сохранялась с увеличением времени модифицирования.

7. Исследования смачиваемости показывают, что наименьшие значения показателя краевого угла, $20^\circ \pm 4^\circ$, достигались при времени модифицирования, равном одной минуте. С увеличением времени плазменного модифицирования наблюдалось увеличение значения краевого угла смачивания до $51^\circ \pm 16^\circ$.

8. При исследовании механических свойств ПМК скаффолдов было установлено, что значения предела прочности и относительного удлинения в результате модифицирования при выбранных режимах достоверно не изменялось. Однако при 6 и 8 минутах модифицирования значения величины

модуля Юнга достоверно увеличивалось, что обусловлено образованием на поверхности волокон тонких пленок оксинитридов титана.

4. Исследование механизмов формирования Ti-O-N покрытий на поверхности ПМК скаффолдов

4.1. Рентгеновская фотоэлектронная спектроскопия

Результаты исследования химического состава скаффолдов методом рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии представлены на рисунке 4.1.

В спектре 2p-электронов атома Ti для контрольных образцов ПМК скаффолдов отсутствовали рефлексы соединений титана. После двух минут модифицирования наблюдался дублет на уровне 458,5 эВ и 464,2 эВ, что соответствует Ti 2p_{3/2} и Ti 2p_{1/2} электронным состояниям и сателлит на уровне 471,6 эВ. Наличие наблюдаемых рефлексов характеризуют степень окисления титана Ti⁴⁺ в составе TiO₂. С увеличением времени модифицирования в спектре 2p-электронов атома Ti (рис. 4.1a) наблюдалось увеличение ширины рефлексов на уровне 458,5 эВ и 464,2 эВ, смещение максимума рефлексов на уровне 458,5 эВ в сторону низких значений энергии на ~ 0,3 эВ. Увеличение ширины рефлексов на уровне 458,5 эВ и 464,2 эВ связано с наличием в покрытии фаз оксинитрида титана (TiO_xN_y) и нитрида титана (TiN) (рис. 4.1a) [188, 189].

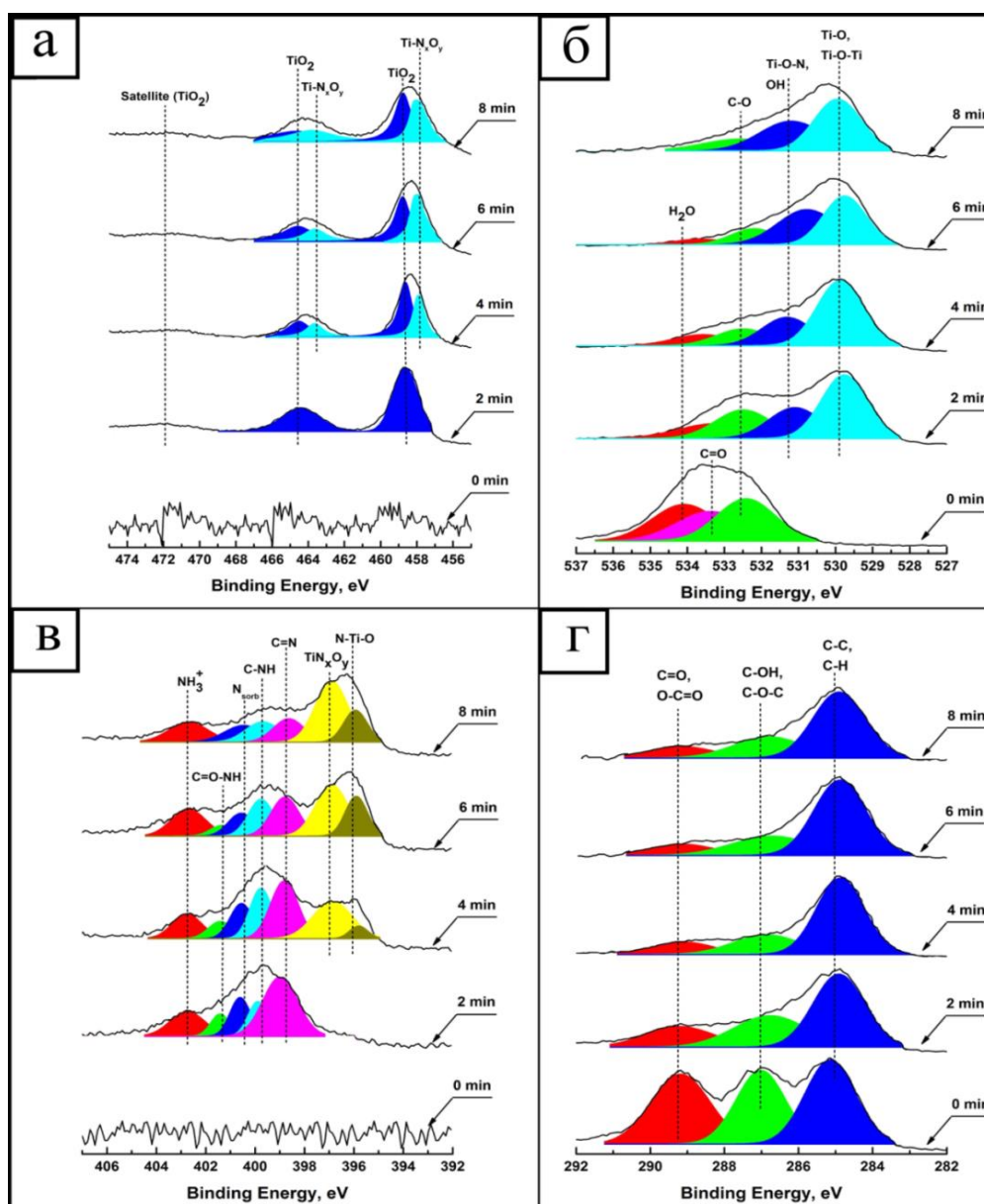


Рисунок 4.1 – РФА спектры ПМК скаффолдов, изготовленных из 5 (масс.%) растворов ПМК, в зависимости от времени плазменного модифицирования:
 а – спектр 2р-электронов атома Ti, б – спектр 1s-электронов атома O, в – спектр 1s-электронов атома N, г – спектр 1s-электронов атома C

В спектре 1s электронов атома O для контрольных образцов ПМК скаффолдов (рис. 4.1б) наблюдались два рефлекса на уровне 532,2 эВ и 531,1 эВ, что соответствуют C=O и C–O связям в ПМК, а также рефлекс в области 534,0 эВ, соответствующий H₂O [190]. При модифицировании в течение 2 минут в спектре 1s электронов атома O наблюдается интенсивный рефлекс в

области 530,0 эВ, который соответствует Ti–O или Ti–O–Ti химическим связям и характеризует ион O_2^- в решётке TiO_2 . В области 530,5 – 534,5 эВ наблюдалось широкое плечо, в котором можно выделить рефлекс в области 531,5 эВ, что соответствует OH группам и является свидетельством формирования гидроксидов титана на поверхности покрытия [188]. Кроме этого рефлекс в области 531,5 эВ может соответствовать формированию соединений типа Ti–O–N [188]. Также в области 530,5 – 534,5 эВ наблюдались рефлексы на уровне 532,2 эВ и 531,1 эВ, свидетельствующие о загрязнении формирующегося покрытия органическими соединениями, при этом интенсивность этих рефлексов уменьшалась с увеличением времени модифицирования.

В спектре 1s электронов атома N контрольных скаффолдов отсутствовали рефлексы, характерные для соединений азота (рис. 4.1в). После двух минут модифицирования в спектре наблюдался широкий рефлекс с максимумом в области 399,6 эВ, что характеризует наличие в покрытии иминная группа (C=N), аминная группа (C-NH), амидная группа (C = O-NH). Небольшой рефлекс в области 402,8 эВ указывает на присутствие протонированного азота (аммоний или протонированный амин) [191, 192]. Рефлекс в области 400,2 эВ свидетельствует о наличии в покрытии сорбированного азота [193]. Следует отметить отсутствие в спектрах рефлекса в области 407,0 эВ, характерного для NO_2 групп [194]. С увеличением времени модифицирования в спектральном интервале 396 – 398 эВ отмечалось увеличение интенсивности рефлексов, характерных для N–Ti–O связей [195], что характеризует формирование оксинитридов титана переменного химического состава от $TiN_{0.63}O_{0.08}$ до $TiN_{0.09}O_{0.74}$ [196]. Известно, что электронная плотность окисленного азота понижается, а энергия связи окисленного N 1s электрона сдвигается в сторону больших значений (уровень $\sim 402,1$ эВ (Ti–O–N связь)) в том случае, если N встраивается в кристаллическую решётку TiO_2 по типу внедрения [194]. Таким образом, отсутствие рефлексов в области $\sim 402,1$ эВ и одновременное

наличие рефлексов в области 396 – 398 эВ при времени модифицирования 4 минуты и более свидетельствует о том, что азот внедрялся в кристаллическую решётку TiO_2 по типу замещения [196], что способствовало образованию связи между атомами азота и титана ($Ti-N$). Следует отметить уменьшение относительной интенсивности рефлексов, характеризующих иминная группа ($C=N$), аминная группа ($C-NH$), амидная группа ($C=O-NH$), и сорбированного азота с увеличением времени модифицирования ПМК скаффолдов.

В 1s спектре атома углерода (рис. 4.1г) для контрольных скаффолдов наблюдалось три основных рефлекса в области 284,8 эВ ($C-H/C-C$), 286,8 эВ ($C-OH/C-O-C$) и 289,2 эВ ($C=O/O-C=O$), характеризующих основные химические связи в ПМК [190, 192]. При модифицировании в течение 2 минут интенсивность рефлексов в области 286,8 эВ и 289,2 эВ существенно снижалась, что является косвенным свидетельством формирования на поверхности ПМК скаффолда связей типа $C-NH$, $C=N$, $N-C=N$ и $NN-C=O$ [192].

Результаты исследований химического состава покрытий позволяют предположить, что механизм формирования покрытий обусловлен двумя основными конкурирующими процессами: первый – деструкция ПМК скаффолдов под воздействием потока энергии, создаваемой плазмой магнетронного разряда; второй – формирование на поверхности тонкого неорганического покрытия, состоящего преимущественно из диоксида титана (TiO_2) (табл. 4.1).

Таблица 4.1 – Концентрация углерода, кислорода, титана и азота в зависимости от длительности модифицирования

Длительность модифицирования, мин	Концентрация элементов, ат. %			
	C	O	Ti	N
Контроль	75,9 ± 1,74	24,1 ± 0,64	–	–
2	40,3 ± 1,57	37,9 ± 0,56	14,2 ± 0,16	7,1 ± 0,11

4	$44,4 \pm 1,77$	$32,6 \pm 0,57$	$14,8 \pm 0,01$	$8,9 \pm 0,04$
6	$36,5 \pm 1,88$	$36 \pm 0,41$	$17,73 \pm 0,04$	$9,8 \pm 0,09$
8	$35,8 \pm 1,67$	$35,8 \pm 0,52$	$17,7 \pm 0,09$	$11,3 \pm 0,14$

Основными видами энергетического воздействия, способного приводить к деструкции поверхности ПМК скаффолдов, модифицируемых в плазме магнетронного разряда при распылении титановой мишени в атмосфере азота, являются энергия отраженных от мишени нейтрализованных ионов, кинетическая энергия осаждаемых атомов, излучение плазмы, энергия конденсации распыленных атомов и энергия ионов [197]. Расчеты показывают, что основное влияние на кинетическую энергию отраженных от мишени нейтрализованных ионов оказывает давление в камере магнетрона, а с увеличением давления рабочего газа энергия отраженных от мишени нейтрализованных ионов существенно уменьшается и при рабочем давлении $\sim 0,85$ Па составляет не более ~ 3 эВ [154]. Энергия излучение плазмы на каждый распыленный атом титана при любых условиях находится в диапазоне $3 \div 4$ эВ. Существенное влияние на кинетическую энергию осаждаемых атомов оказывает рабочее давление в камере магнетрона, с его увеличением кинетическая энергия резко падает и при давлении $\sim 0,85$ Па составляет не более 6 эВ. Относительные потоки ионов, падающие на подложку, при распылении титановой мишени в атмосфере чистого азота представлен такими ионами как Ti^+ , TiN^+ , N_2^+ и N^+ (рис.3.4). При этом поток ионов N_2^+ составляет $\sim 96,3\%$ от общего потока ионов, поток ионов N^+ $\sim 3,5\%$ на долю Ti^+ , TiN^+ приходится порядка $0,2\%$ от общего потока ионов. При этом поток ионов TiN^+ примерно на два порядка меньше потока ионов Ti^+ [198].

4.2. Расчет деструкции полимерных цепей ПМК методом функционала плотности

Процессы разрыва химических связей в ПМК обусловлены стабильностью образующихся радикалов. Для оценки наиболее вероятных

путей деструкции ПМК скаффолдов в процессе плазменной обработки методом функционала плотности с использованием модели B3LYP/6-311**G level of theory была исследована термодинамическая вероятность протекания возможных процессов деструкции (рис. 4.2). Было показано, что наиболее термодинамически выгодным процессом деградации поверхности ПМК волокон является разрушение эфирной связи с образованием радикалов A1 и A2 (рис. 4.2). Полученные результаты согласуются с исследованиями, проведенными ранее в работе [199], и могут быть объяснены стабилизацией радикального центра в A1 за счет пи-системы соседней карбоксильной группы.

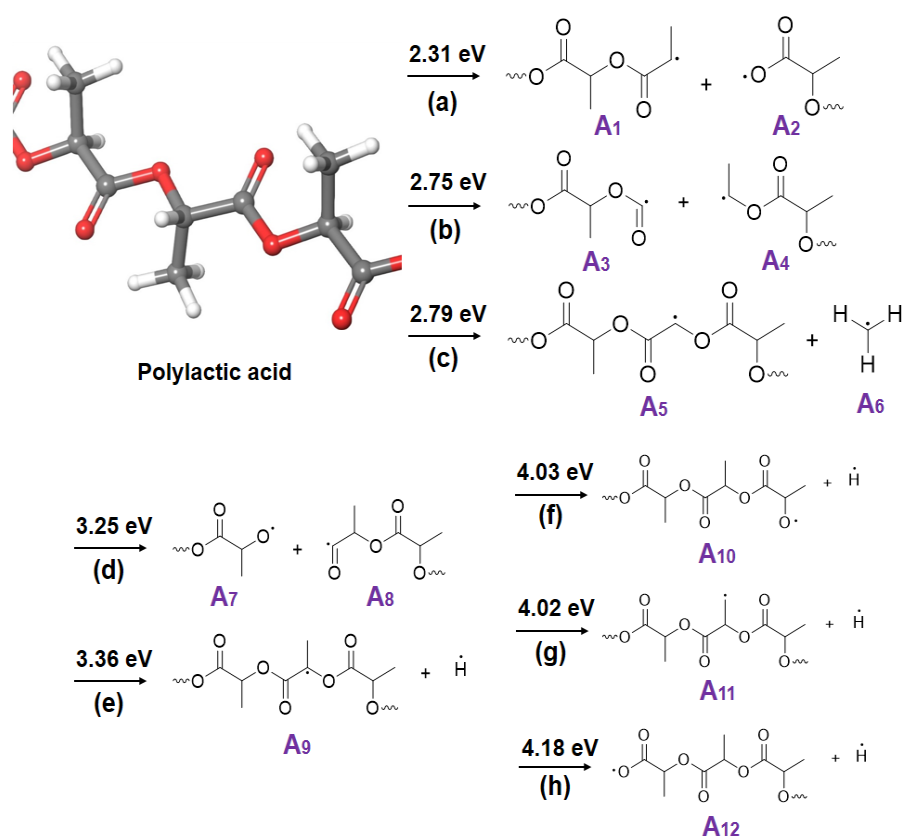


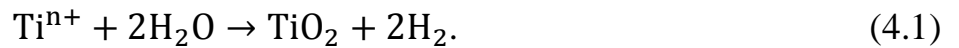
Рисунок 4.2 – Термодинамика и возможные пути деструкции ПМК в плазме магнетронного разряда. Расчеты проведены методом DFT at B3LYP/6-311**G level of theory

Другие возможные, но менее термодинамически выгодные пути разрыва связей в полимерной цепи ПМК показаны на рисунке 4.2 b-h.

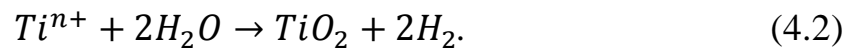
Наименее термодинамически выгодным является отрыв водорода от концевых групп (реакции f-h, рис. 4.2), что обусловлено наименьшей стабильностью образующихся радикалов. Ранее, было показано, что в результате процесса деструкции может происходить движение углеродных радикалов по полимерным цепям и дальнейшее разрушение цепи с удалением таких молекул, как CO_2 , $\text{CH}_2=\text{CH}_2$, $\text{CHO}-\text{CH}_3$ и CO [200]. Исследование термодинамики подобных процессов показало, что перегруппировка радикала A1 с отщеплением $\text{CH}_2=\text{CH}_2$ является термодинамически невыгодным процессом (затрачивается 0,99 эВ энергии), в то время как перегруппировка радикала A2 с отщеплением CO_2 и перегруппировка радикала A8 с отщеплением CO являются термодинамически выгодными: в результате подобных реакций выделяется 1,56 и 0,41 эВ, соответственно. Таким образом, деградация полимерной цепи ПМК по эфирным связям (рис. 4.2 а) приводит к удалению кислородсодержащих молекул CO_2 и CO с поверхности. Это согласуется с результатами XPS анализа, показавшему уменьшение интенсивности C-O-C и C=O компонент в спектре C1s поверхности ПМК с увеличением времени плазменного модифицирования (рис. 4.1).

Реакция взаимодействия титана с водой (3.1) с образованием диоксида титана в форме рутила является экзотермической при этом выделяется энергия 4,77 эВ. Максимальное значение соотношения TiN/Ti в потоке частиц при распылении титановой мишени в атмосфере азота составляет ~0,04 [154]. Таким образом, в области подложки количество реакционно способных атомов титана значительно превышает количество атомов TiN. Так же известно, что поверхность гидрофобных материалов при нормальных условиях способна абсорбировать воду как в виде монослоя [201], так и в виде капель размером до 100 нм, абсорбирующихся преимущественно на дефектах поверхности [202]. При этом сформированные ПМК скаффолды характеризовались волокнами имеющими собственный развитый рельеф и значительную площадь свободной поверхности $\sim 10^3$ м²/грамм [203], что

существенно увеличивает вероятность абсорбции водяного пара на поверхности скаффолдов. Поскольку процесс десорбции воды с поверхности гидрофобного материала даже в условиях низкого давления протекает достаточно медленно [204], то существует высокая вероятность взаимодействия абсорбированной воды на поверхности ПМК скаффолдов с атомами и ионами титана из распыляемой мишени по реакции (1)



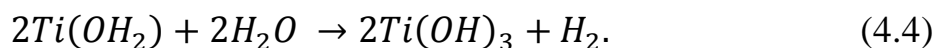
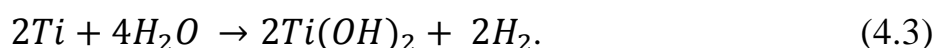
Формирование диоксида титана при малом времени экспозиции может быть объяснено с позиции термодинамики. Известно, что стандартная энергия Гиббса образования диоксида титана составляет $-888,6$ кДж/моль для рутила и $-883,3$ кДж/моль для анатаза, в то время как стандартная энергия Гиббса образования нитрида титана составляет $-294,4$ кДж/моль [195]. Таким образом, в условиях конкуренции между реакциями (4.2) и (4.3) на поверхности ПМК скаффолдов в условиях магнетронного разряда образование диоксида титана термодинамически существенно более выгодно, чем образование нитрида титана.



Также вода может быть захвачена в объём ПМК волокон в процессе формирования скаффолдов. Известно, что взаимодействие плазмы с поверхностью полимерных материалов сопровождается травлением поверхности полимера под воздействием термической и фотохимической деструкции, ионного травления и т. д. [126]. Процесс травления облегчает диффузию воды из внутреннего объёма волокон формирующихся скаффолдов к их поверхности. Таким образом, в условиях пониженного давления в камере тонкий поверхностный слой волокон оказывается обогащён молекулами воды, которые взаимодействуют с ионами скаффолдов, атомами и ионами титана, выбитыми из распыляемой мишени,

по реакции (1). Этот процесс приводит к формированию на поверхности волокон тонкого покрытия из диоксида титана (TiO_2) уже при 2 минутах плазменной обработки (рис. 4.1). Ранее формирование тонких покрытий из диоксида титана наблюдали авторы работ [72, 205] при нанесение на поверхность пленок, изготовленных из поликарбоната, TiN покрытий методом ВЧ магнетронного распыления.

Широкое плечо в $1s$ спектре атома O (рис. 4.1 б) на уровне 532,8 эВ, соответствующее ОН группе [206], наблюдалось уже после двух минут плазменной обработки скаффолдов, что свидетельствует о наличии в покрытие гидроксидов титана типа $\text{Ti}(\text{OH})_2$ и $\text{Ti}(\text{OH})_3$. Формирование гидроксидов титана возможно при взаимодействии воды с ионами и атомами титана из плазмы разряда по реакциям (4.3 – 4.4)



С увеличением времени модифицирования в покрытии формируются соединения оксинитрида титана (TiO_xN_y) (рис. 4.1 а, в). Это, с одной стороны, обусловлено удалением воды с поверхности ПМК волокон в результате формирования пленки TiO_2 , что увеличивает вероятность протекания реакций (2). С другой стороны, формирование оксинитридов титана (TiO_xN_y) обусловлено тем, что ионный радиус азота на 5 % больше кислородного, таким образом, азот способен легко встраиваться в кристаллическую решётку TiO_2 в результате захвата ионов азота из плазмы магнетронного разряда [176, 207].

С увеличением времени модифицирования на поверхности волокон происходит рост пленки сложного химического состава. Формируемая на поверхности волокон пленка выступает диффузионным барьером, сокращающим поступление воды в место плазмохимической реакции. Уменьшение содержания воды увеличивает вероятность протекания на поверхности волокон реакции (4.2), что с увеличением времени плазменного

модифицирования способствует формированию фазы нитрида титана (TiN). В тоже время, TiO₂ пленка, имеющая большое значение энергии связи до – 24,18 эВ [208], способна эффективно защищать поверхность волокон ПМК скаффолдов от деструкции, вызываемой плазмой магнетронного разряда. Таким образом, исследования химического состава поверхности покрытий показывают, что состав поверхности ПМК волокон изменяется со временем модифицирования скаффолдов в плазме магнетронного разряда от композитов диоксида титана, насыщенных соединениями типа C–NH, C=N, N–C=N и HN–C=O, до твердых растворов оксидов титана (Ti_xO_y), оксинитридов титана (TiO_xN_y) и нитрида титана TiN.

4.3. Выводы по главе 4

1. Методом рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии установлено, что состав тонкопленочного покрытия на поверхности волокон ПМК скаффолда изменяется со временем модифицирования в плазме магнетронного разряда от композитов диоксида титана, насыщенных соединениями типа C–NH, C=N, N–C=N и HN–C=O, до твердых растворов оксидов титана (Ti_xO_y), оксинитридов титана (TiO_xN_y) и нитрида титана TiN.
2. Показано, что наиболее термодинамически вероятным процессом деструкции полимерной цепи ПМК является разрушение эфирной связи с образованием радикалов A1 и A2 (изображены на рисунке рисунке 4.2а), что в свою очередь приводит к удалению его поверхности кислородсодержащих молекул CO₂ и CO. Это согласуется с результатами XPS анализа, показывающими уменьшение интенсивности C–O–C и C=O компонент в спектре C1s поверхности ПМК с увеличением времени плазменного модифицирования.

5. Исследование биологических свойств ПМК скаффолдов с Ti-O-N покрытиями

5.1. Исследования *in vitro* на культуре эндотелиальных клеток пупочной вены человека

Изображения эндотелиальных клеток пупочной вены человека (ЭКПВЧ) после культивирования в течение 72 часов на поверхности ПМК скаффолдов в зависимости от длительности плазменного модифицирования представлены на рисунке 5.1. Среднее количество адгезированных клеток на поверхности контрольных ПМК скаффолдов составляло 167 ± 37 клеток/мм². Клетки имели округлую форму (фактор формы $0,80 \pm 0,14$), располагались преимущественно обособлено, характеризовались незначительным количеством точек фокальной адгезии к субстрату при значении цитоплазматического индекса (ЦПИ) адгезированных клеток $0,61 \pm 0,24$ (рис. 5.1, табл. 5.1).

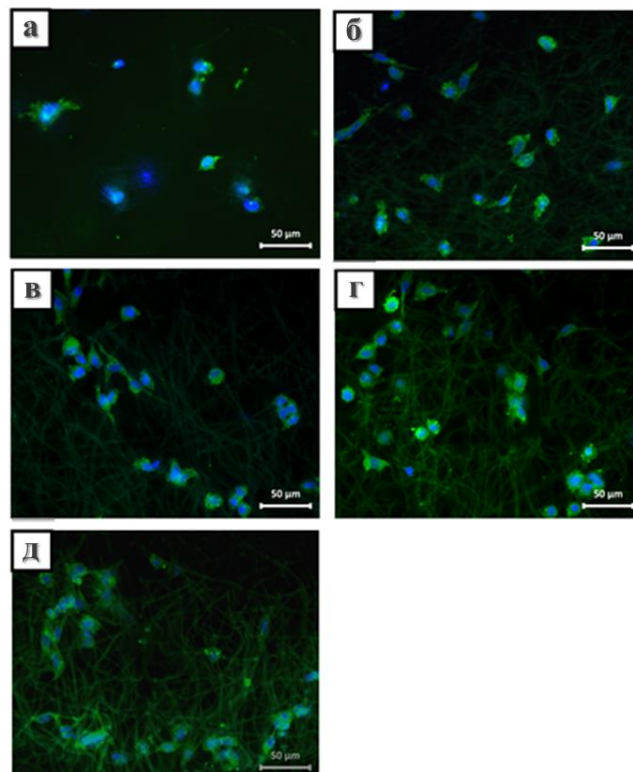


Рисунок 5.1 – Изображения клеток HUVEC после культивирования в течение 72 часов на поверхности ПМК скаффолдов в зависимости от длительности плазменного модифицирования: а – контроль, б – 2 минуты, в – 4 минуты, г – 6 минут, д – 8 мин

При модифицировании ПМК скаффолдов в плазме в течение 2 минут количество адгезированных клеток на их поверхности увеличивалось более чем на 45 % по сравнению с немодифицированными образцами. Адгезированные клетки имели вытянутую форму и располагались вдоль волокон. При этом наблюдалось улучшение взаимодействия между субстратом и адгезированными клетками, что подтверждается уменьшением отношения Я/Ц более чем на 70 % по сравнению немодифицированными образцами (рис. 5.1а, табл. 5.1). Увеличение длительности модифицирования до 4 минут приводило к улучшению межклеточного взаимодействия адгезированных клеток на поверхности скаффолдов и образованию клеточных колоний (рис. 5.1в). При этом незначительно увеличивалось количество адгезированных клеток, клетки по-прежнему располагались преимущественно вдоль волокон и сохраняли высокую функциональную активность, о чем свидетельствует отсутствие достоверных изменений в значении отношения Я/Ц и фактора формы по сравнению с аналогичными параметрами для образцов, модифицированных в течение 2 минут (рис. 5.1в, табл. 5.1).

Таблица 5.1 – Количество адгезированных клеток ЭКПВЧ, отношения ядра к цитоплазме и фактор формы 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 ± 43*	298 ± 71*	210 ± 76*	235 ± 78*
Соотношение Я/Ц	0,6 ± 0,2	0,4 ± 0,2	0,4 ± 0,2	0,5 ± 0,2	0,4 ± 0,1*
Фактор формы	0,8 ± 0,1	0,7 ± 0,5	0,5 ± 0,2	0,7 ± 0,2	0,6 ± 0,2

* $p < 0,05$ относительно контрольного образца (ANOVA)

При увеличении длительности плазменного модифицирования до 6 и 8 минут сохранялся высокий уровень взаимодействия “клетка – клетка” и “клетка – поверхность”, количество клеточных колоний не уменьшалось, не было достоверных изменений значений отношения Я/Ц и фактора формы (рис. 5.1г, д) по сравнению с образцами, модифицированными в течение 4 минут. При этом наблюдалось уменьшение количества адгезированных клеток ~ 30 % (табл. 5.1). Снижение количества адгезированных клеток с увеличением длительности модифицирования может быть обусловлено следующими причинами. Известно, что диоксид титана является эффективным фотокаталитическим материалом, способным в присутствии воды (H_2O) эффективно редуцировать углекислый газ (CO_2). Следовательно, углекислый газ, выделяющийся в процессе деструкции ПМК, и вода, присутствующая на поверхности ПМК волокон, при наличии тонкого TiO_2 покрытия под воздействием излучения плазмы способны преобразовываться в метиловый спирт, уксусную кислоту, оксид углерода и т. п. [209]. Продукты редукции CO_2 способны эффективно сорбироваться на поверхности ПМК волокон, а затем экстрагироваться в культуральную среду при культивировании клеток. Помимо этого, с увеличением длительности модифицирования, происходит увеличение сорбционной способности поверхности модифицированных волокон. Следовательно, в процессе газовой стерилизации ПМК скаффолдов окисью этилена стерилизующий агент способен абсорбироваться на поверхности с последующей миграцией в культуральную среду, что так же способно отрицательно сказываться на количестве адгезируемых клеток [210]. Эти негативные явления можно нивелировать более продолжительной вакуумной отгонкой стерилизующего агента и продуктов редукции CO_2 .

5.2. Исследования *in vivo* гистологических срезов

Гистологические срезы при разных увеличениях, полученные после имплантации ПМК скаффолдов (трансплантатов) в подкожный жировой карман лабораторных мышей (рис. 5.2) на срок 1 и 3 месяца, представлены на

рисунках 5.3 и 5.4. Результаты расчетов соотношения площади соединительной ткани к площади скаффолдов и площади области деградации в зависимости от длительности плазменного модифицирования и срока имплантации приведены в таблице 5.2.

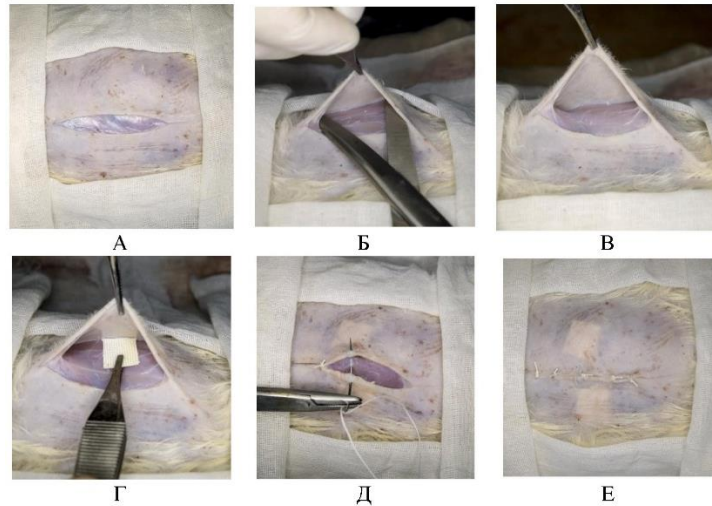


Рисунок 5.2. – Процедура имплантации ПМК скаффолдов в подкожный жировой карман с целью получения гистологического материала: А – разрез кожи, Б-В – формирование кармана между кожей и мышцами вентральной стенки, Г – размещение имплантата в сформированном кармане, Д – наложение швов на кожу с захватом мышечного слоя, Е – узловые швы, наложенные на рану

После имплантации контрольных ПМК скаффолдов (рис. 5.3а и рис. 5.4а) в течение 1 месяца вокруг материала наблюдалась слабая лимфоцитарная инфильтрация. Трансплантат был покрыт тонкой капсулой из соединительной ткани. Вблизи материала обнаруживались кровеносные сосуды с широким просветом и тонкими стенками. После имплантации контрольных ПМК скаффолдов (рис. 5.3б, рис. 5.4б) в течение 3 месяцев наблюдалось умеренное хроническое воспаление, вызванное реакцией инородного тела. Материал был пронизан нитями соединительной ткани. При этом не наблюдались области, соответствующие процессам

биологической деградации, а соотношение площади соединительной ткани к площади скаффолда было близко или равно 1 (табл. 5.2).

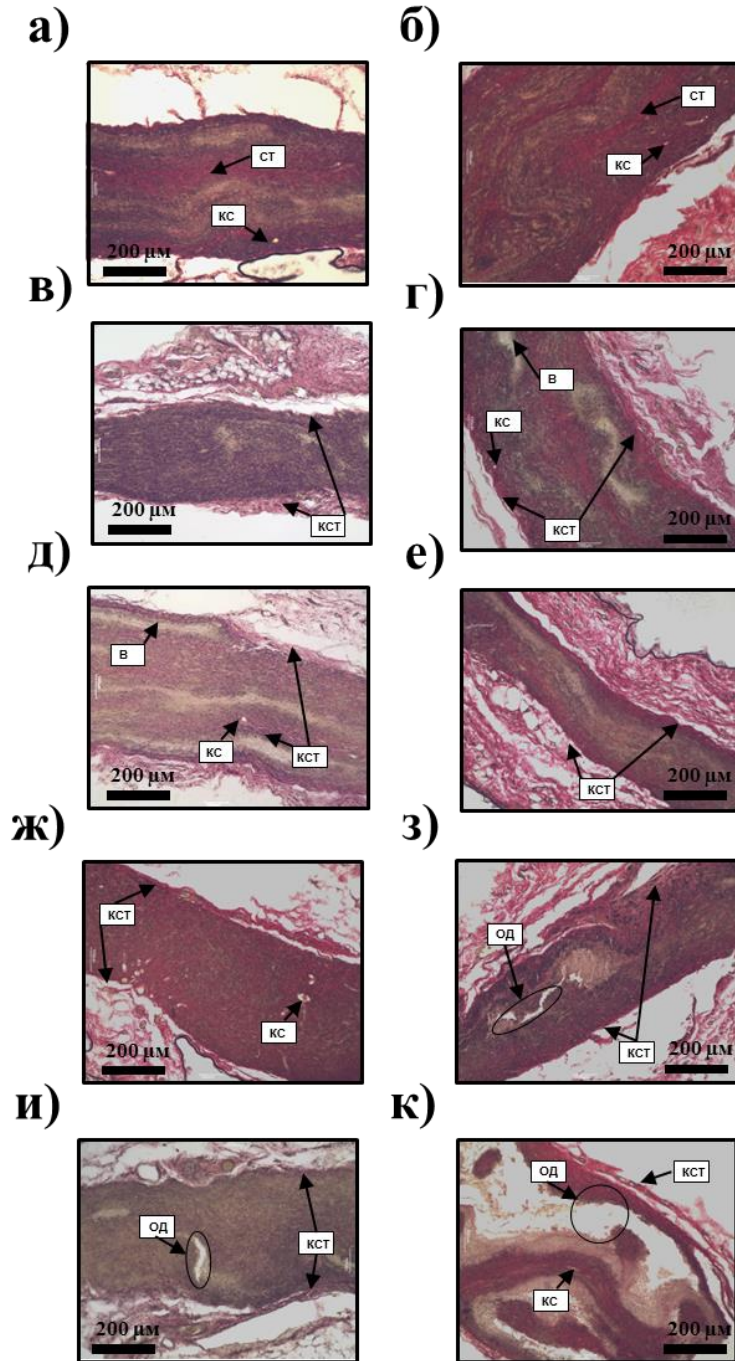


Рисунок 5.3 – Гистологические срезы, полученные после имплантации ПМК-скаффолдов в подкожный жировой карман на срок 1 (левая колонка) и 3 месяца (правая колонка). Увеличение $\times 100$, длительность плазменного модифицировании скаффолдов: контроль 0 мин (а) и (б); 2 мин (в) и (г); 4

мин (д) и (е); 6 мин (ж) и (з) и 8 мин (и) и (к). КС – кровеносные сосуды, В – область вакуолизации, Л – лимфоциты, М – макрофаги, ГК – гигантские клетки, СТ – соединительная ткань, КСТ – капсула соединительной ткани, ОД – область деградации скаффолда

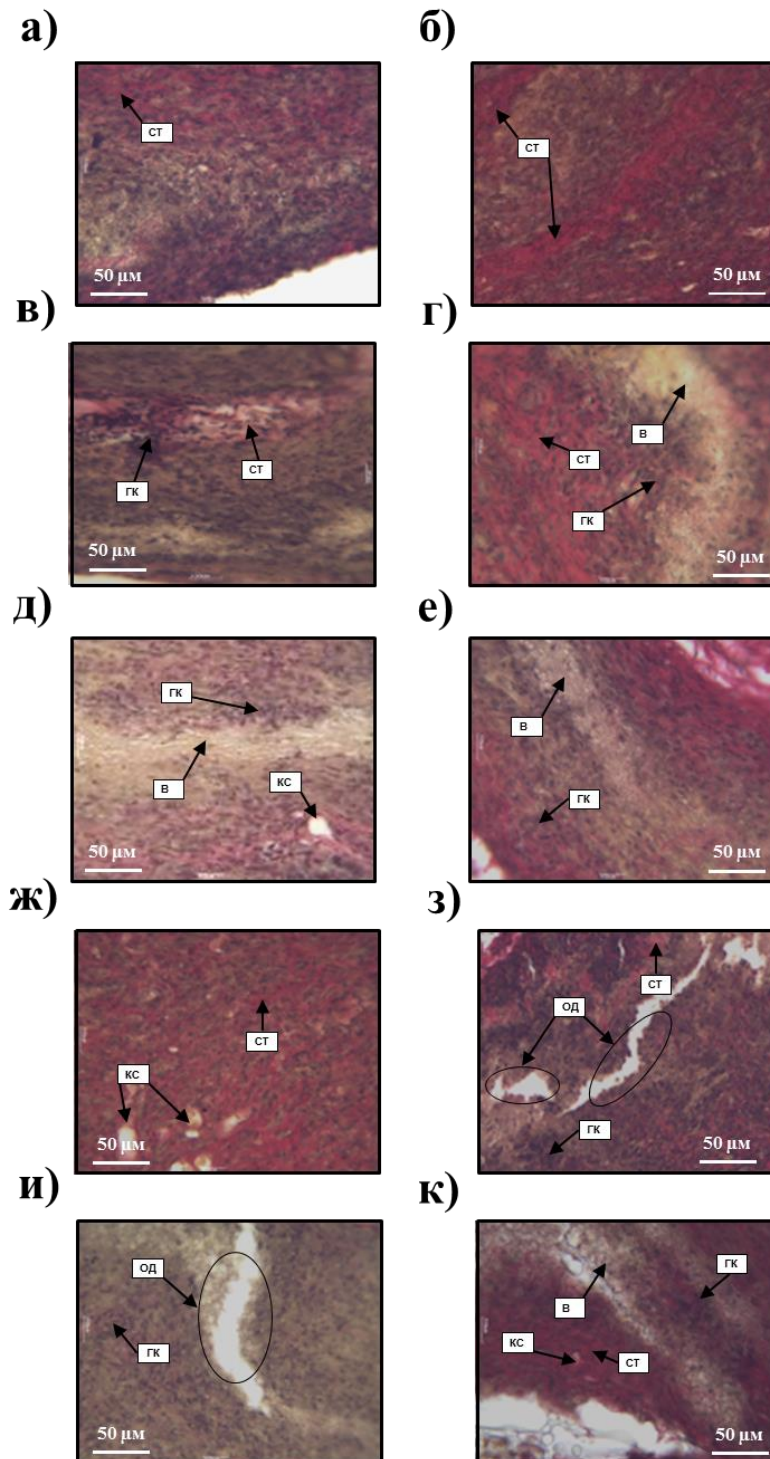


Рисунок 5.4 – Гистологические срезы, полученные после имплантации ПМК-

скаффолдов в подкожный жировой карман на срок 1 (левая колонка) и 3 месяца (правая колонка). Увеличение $\times 400$, длительность плазменного модифицировании скаффолдов: контроль 0 мин (а) и (б); 2 мин (в) и (г); 4 мин (д) и (е); 6 мин (ж) и (з) и 8 мин (и) и (к). КС – кровеносные сосуды, В – вакуолизация, Л – лимфоциты, М – макрофаги, ГК – гигантские клетки, СТ – соединительная ткань, КСТ – капсула соединительной ткани, ОД – область деградации скаффолда

Нетканые ПМК скаффолды, модифицированные в течение 2 минут, имели наименьшую толщину после имплантации на срок 1 месяц (рис. 5.3в, рис. 5.4в). Капсула соединительной ткани, покрывающая материал, была рыхлая. В структуре трансплантата наблюдалась незначительная вакуолизация. При имплантации на срок 3 месяца вакуолизация была более выражена (рис. 5.3г, рис. 5.4г), в окружающих тканях обнаруживались изолированные сосуды. Наблюдалось замещение трансплантата соединительной тканью, однако умеренное хроническое воспаление сохранялось.

При имплантации ПМК скаффолдов, модифицированных в течение 4 мин, на срок 1 месяц на гистологических срезах обнаруживались изолированные гигантские клетки (рис. 5.3д, рис. 5.4д). При сроке имплантации 3 месяца наблюдалась обширная вакуолизация, сопровождающаяся гранулематозным воспалением (рис. 5.3е, рис. 5.4е). Кроме того, наблюдались области биологической деградации с размерами $2 \pm 1 \text{ мкм}^2$ при 1 месяце имплантации и $4 \pm 1 \text{ мкм}^2$ – при 3 месяцах. Наблюдалось некоторое увеличение соотношения площади соединительной ткани к площади скаффолда (табл. 5.2).

В структуре ПМК скаффолдов, модифицированных в течение 6 минут, при 1-месячной имплантации наблюдались продольные полосы замещения соединительной тканью (рис. 5.3ж, рис. 5.4ж). Через 3 месяца имплантации

наблюдалась обширная вакуолизация и полная деградация центральной части скаффолдов (рис. 5.3з, рис. 5.4з, табл. 5.2).

Модифицирование в плазме приводит к уменьшению воспалительной реакции. Модифицированные ПМК скаффолды были покрыты тонкой капсулой соединительной ткани, слабо инфильтрированной лимфоцитами и с невыраженной васкуляризацией. В поздние сроки (3 месяца) наблюдалось образование небольшого количества гигантских клеток. Увеличение длительности модифицирования в плазме приводит к истончению образцов скаффолдов в центральной части. Этот процесс сопровождается замещением материала реципиентной тканью независимо от срока имплантации, что свидетельствует о высокой биосовместимости модифицированных ПМК скаффолдов. Этот процесс был наиболее выражен при имплантации трансплантатов, обработанных в течение 6 и 8 минут. Следует отметить, что деградация ПМК скаффолдов *in vivo* происходит в пределах соединительнотканной капсулы. Основными клеточными элементами, участвующими в деградации, являются макрофаги и гигантские клетки инородных тел. Несмотря на то, что все образцы, модифицированные в течение более 2 минут, подвергались разрушению, полная деградация не наблюдалась даже после имплантации на срок 3 месяца.

Таблица 5.2 – Соотношение площади соединительной ткани к площади скаффолда и площадь области деградации в зависимости от длительности плазменного модифицирования и срока имплантации

Параметры	Срок имплантации 1 месяц				
	Контроль	2 мин	4 мин	6 мин	8 мин
Соотношение соед.ткань/скаффолд	1	1,1	1,2	1,3	1,3
Площадь области деградации, мкм ²	-	-	2 ± 1	3 ± 1	5 ± 1
	Срок имплантации 3 месяца				
	Контроль	2 мин	4 мин	6 мин	8 мин

Соотношение соед.ткань/скаффолд	1,1	1,1	1,3	1,4	1,7
Площадь области деградации, мкм ²	-	-	4 ± 1	5 ± 1	14 ± 3

Увеличение площади деградации и скорости замещения ПМК скаффолдов тканями реципиента с увеличением длительности плазменного модифицирования может быть вызвано следующими причинами:

- плазменная обработка значительно улучшает смачиваемость поверхности нетканых ПМК скаффолдов, облегчая диффузию биологических жидкостей в объем скаффолдов. Это приводит к сольватации макромолекул ПМК с последующей их десорбцией в раствор, что стимулирует процесс гидролитической деградации ПМК [211];
- количество титана и азота на поверхности скаффолдов увеличивается с увеличением длительности модифицирования (рис. 3.9). Известно, что азотсодержащие функциональные группы на поверхности способствуют прикреплению к трансплантату биологически активных молекул, в частности, коллагена [212]. Это приводит к увеличению количества адгезированных клеток. Таким образом, плазменная обработка стимулирует адгезию клеток к скаффолдам.

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.

5.3. Использование биodeградируемых полимерных скаффолдов с модифицированной поверхностью для восстановления мягких тканей

Эффективность взаимодействия ПМК-скаффолдов с окружающими тканями организма определяется преимущественно свойствами их поверхности, к которым относятся: смачивание, морфология, химический

состав, кристаллическая структура и механические свойства. Указанные выше характеристики поверхности во многом определяют ориентацию клеточного цитоскелета, организацию внутри- и межклеточного транспорта питательных веществ и пролиферативные характеристики клеточных культур и взаимодействующих с имплантатом тканей [213]. Поэтому исследование физико-химических свойств скаффолдов является важнейшим этапом в разработке изделий медицинского назначения.

На основании анализа литературных источников, нормативных документов, результатов предварительных исследований физико-химических свойств были разработаны медико-технические требования к полимерным скаффолдам с модифицированной поверхностью (Приложение В):

- средний диаметр волокон ПМК скаффолда должен лежать в диапазоне $2 \pm 0,5$ мкм и не должен изменяться в процессе модифицирования, а поверхность не должна содержать дефектов в виде капель, прожогов и оплавлений;
- краевой угол смачивания поверхности ПМК скаффолдов одной из смачивающих жидкостей (вода, глицерин) после процесса модифицирования не должен превышать $50 \pm 5^\circ$ и не должен достоверно изменяться в течение трех дней после процесса модифицирования;
- относительное удлинение ПМК скаффолдов после модифицирования должно быть не менее 50%, согласно ISO 9073.3:1989;
- предел прочности ПМК скаффолдов после модифицирования должен быть не ниже чем $1,6 \pm 0,3$ МПа;
- фазовый состав ПМК скаффолдов должен иметь кристаллическую или полукристаллическую структуру, а также не должен изменяться после процесса модифицирования;
- химический состав ПМК скаффолдов до и после процесса модифицирования не должен содержать следов остаточных органических растворителей, используемых в процессе их формования.

На основании результатов глав 3 и 4 можно сделать вывод, что полученные ПМК-скаффолды с модифицированной поверхностью удовлетворяют медико-техническим требованиям, а совместные доклинические эксперименты *in vitro* в ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России и ФГБУ «НИИ онкологии Томского НИМЦ» (Приложения А, Б), а также эксперименты *in vivo* в ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» демонстрируют высокую заинтересованность ведущих медицинских центров в разработке таких тканеинженерных конструкций. В актах внедрения специалистами ведущих медицинских центров отмечается, что 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.

5.4. Выводы по главе 5

1. Клеточные исследования на культуре клеток HUVEC показывают, что при плазменном модифицировании в течение 2 минут количество адгезированных клеток на поверхности ПМК скаффолдов увеличивается более чем на 45 % по сравнению с контрольными (немодифицированными) образцами. При увеличении длительности модифицирования до 4 минут происходит уменьшение количества адгезируемых клеток примерно на 30 %. Это связано с тем, что диоксид титана является эффективным фотокаталитическим материалом, способным эффективно редуцировать

углекислый газ (CO_2) в присутствие воды (H_2O), что в свою очередь приводит к образованию метилового спирта, уксусной кислоты, оксида углерода. Продукты редукции CO_2 способны эффективно сорбироваться на поверхности ПМК волокон, а затем при культивировании клеток экстрагироваться в культуральную среду, стимулируя ее гибель. При увеличении времени модифицирования до 6 и 8 минут сохраняется высокий уровень взаимодействия “клетка – клетка” и “клетка – поверхность”.

2. Исследования гистологических срезов показывает, что с увеличением длительности плазменного модифицирования наблюдается увеличение области деградации в центральной части с последующим их замещением собственными тканями вне зависимости от срока имплантации, что свидетельствует о высокой биосовместимости образцов. При этом на скаффолдах, модифицированных в течение 6 и 8 минут, этот процесс наиболее выражен, что свидетельствует о том, что увлечение времени модифицирования способствует увеличению скорости деградации ПМК скаффолдов. Полная деградация скаффолдов не происходит даже после 3 месяцев имплантации.

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

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате выполнения диссертационной работы продемонстрирована возможность модифицирования поверхности биорезорбируемых ПМК скаффолдов, изготовленных методом электроспиннинга, в плазме DC реактивного магнетронного разряда, возникающего при распылении титановой мишени в атмосфере азота, с формированием тонких окснитридных титановых покрытий.

Научным результатом работы является развитие представлений о методах модифицирования полимерных материалов (ПМК скаффолдов) в плазме магнетронного разряда. Полученные экспериментальные данные и предложенные механизмы формирования тонкопленочного покрытия на полимерных скаффолдах и их плазменной деструкции расширяют представления о влиянии плазмы магнетронного разряда, возникающего при распылении титановой мишени в атмосфере азота, на физико-химические и медико-биологические характеристики. При этом установлена зависимость между временем плазменного модифицирования и скоростью деградации скаффолда *in vivo*.

Практическим результатом работы 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 для тканевой инженерии при создании систем для терапии, реабилитации и восстановления утраченных функций при восстановлении дефектов мягких тканей, внутренних органов и органов области головы и шеи. При этом, можно выделить следующее:

1. Показано, что средний диаметр волокон ПМК скаффолдов, сформированных методом электроспиннинга, зависит от вязкости прядильного полимерного раствора: при 5% концентрации ПМК в трихлорметане средний диаметр волокон скаффолда составляет $1,4 \pm 0,5$ мкм, а при 14% $5,6 \pm 1,6$ 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 $2,03 \pm 0,07$ атом. % по сравнению с $1,50 \pm 0,02$ атом. % 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 уменьшения краевого угла смачивания с $129 \pm 8^\circ$ до $46 \pm 5^\circ$.

8. При исследовании механических свойств ПМК скаффолдов установлено, что значения предела прочности и относительного удлинения при выбранных технологических режимах модифицирования достоверно не изменяется. 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 C–O и O–C=O связей, 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 на 45 % большим 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.

ПЕРЕЧЕНЬ ПРИНЯТЫХ СОКРАЩЕНИЙ

ВКМ – Внеклеточный матрикс.

ПЛА, ПМК – Полимолочная кислота.

ОЭС, OES – Оптическая эмиссионная спектроскопия.

СЭМ, SEM – Сканирующая электронная микроскопия.

ЭДА, EDX – Энерго-дисперсионный анализ.

ИКФС, FTIR – Инфракрасная спектроскопия с преобразованием Фурье.

РФА, XRF – Рентгенофлуоресцентный анализ;

РФС, XPS – Рентгеновская фотоэлектронная спектроскопия.

РСА, XRD – Рентгеноструктурный анализ.

ЦПИ – цитоплазматический индекс.

КЭПВЧ, HUVEC – Клетки эндотелия пупочной вены человека.

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Madhavan Nampoothir, K. An overview of the recent developments in polylactide (PLA) research // *Bioresour. Technol.* – 2010.
2. Lim, L.T. Processing technologies for poly(lactic acid) // *Prog. Polym. Sci.* – 2008.
3. Tamai, H. Initial and 6-month results of biodegradable poly-l-lactic acid coronary stents in humans / H. Tamai, K. Igaki, E. Kyo, K. Kosuga, A. Kawashima, S. Matsui, H. Komori, T. Tsuji, S. Motohara, H. Uehata // *Circulation* – 2000. – T. 102 – № 4 – С.399–404.
4. Wang, Q. Computational and experimental investigation into mechanical performances of Poly-L-Lactide Acid (PLLA) coronary stents / Q. Wang, G. Fang, Y. Zhao, G. Wang, T. Cai. // *Journal of the mechanical behavior of biomedical materials* – 2017. – T. 65 – С.415–427.
5. Alfonso, M. 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 / M. Alfonso, L.J. Cymberknop, D. Suárez, F.G. Castillo, R.L. Armentano // *Health and Technology* – 2016. – T. 6 – № 3 – С.181–187.
6. Montini-Ballarín, F. Mechanical behavior of bilayered small-diameter nanofibrous structures as biomimetic vascular grafts / F. Montini-Ballarín, D. Calvo, P.C. Caracciolo, F. Rojo, P.M. Frontini, G.A. Abraham, G. V Guinea // *Journal of the mechanical behavior of biomedical materials* – 2016. – T. 60 – С.220–233.
7. Tian, H. Zhuang. X.; Chen, X.; Jing, X / Tian H., Tang Z. // *Biodegradable Synthetic Polymers: Preparation, Functionalization and Biomedical Application.* *Prog. Polym. Sci* – 2012. – T. 37 – С.237–280.
8. Teo, W.E. A review on electrospinning design and nanofibre assemblies / W.E. Teo, S. Ramakrishna // *Nanotechnology* – 2006. – T. 17 – № 14 – С.R89.

9. Bhardwaj, N. Electrospinning: a fascinating fiber fabrication technique / N. Bhardwaj, S.C. Kundu // *Biotechnology advances* – 2010. – T. 28 – № 3 – C.325–347.
10. Santoro, M. Poly (lactic acid) nanofibrous scaffolds for tissue engineering / M. Santoro, S.R. Shah, J.L. Walker, A.G. Mikos // *Advanced drug delivery reviews* – 2016. – T. 107 – C.206–212.
11. Jiang, T. Electrospinning of polymer nanofibers for tissue regeneration / T. Jiang, E.J. Carbone, K.W.-H. Lo, C.T. Laurencin // *Progress in polymer Science* – 2015. – T. 46 – C.1–24.
12. Slepíčka, P. Antibacterial properties of modified biodegradable PHB non-woven fabric / P. Slepíčka, Z. Malá, S. Rimpelová, k V. Švorčí // *Materials Science and Engineering: C* – 2016. – T. 65 – C.364–368.
13. Rasal, R.M. Poly(lactic acid) modifications // *Prog. Polym. Sci.* – 2010.
14. Mark, K. Von Der Engineering biocompatible implant surfaces. Part II: cellular recognition of biomaterial surfaces: lessons from cell–matrix interactions / K. Von Der Mark, J. Park // *Prog Mater Sci* – 2013. – T. 58 – № 3 – C.327–381.
15. Windecker, S. Randomized Comparison of a Titanium-Nitride-Oxide-Coated Stent With a Stainless Steel Stent for Coronary Revascularization: The TiNOX Trial / S. Windecker // *Circulation* – 2005. – T. 111 – № 20 – C.2617–2622.
16. Dion, I. TiN coating: surface characterization and haemocompatibility / I. Dion, F. Rouais, L. Trut, C. Baquey, J.R. Monties, P. Havlik // *Biomaterials* – 1993. – T. 14 – № 3 – C.169–176.
17. Zhang, M. Vascular endothelial cell compatibility of superhard ternary Ti–Si–N coatings with different Si contents / M. Zhang, S. Ma, K. Xu, P.K Chu. // *Vacuum* – 2014. – T. 106 – C.53–63.
18. Arnell, R.D. Recent advances in magnetron sputtering / R.D. Arnell, P.J. Kelly // *Surface and Coatings Technology* – 1999. – T. 112 – № 1–3 – C.170–176.

19. Kelly, P.J. Magnetron sputtering: a review of recent developments and applications / P.J. Kelly, R.D. Arnell // *Vacuum* – 2000. – T. 56 – № 3 – C.159–172.
20. Desmet, T. Nonthermal Plasma Technology as a Versatile Strategy for Polymeric Biomaterials Surface Modification : A Review / T. Desmet, R. Morent, N. De Geyter, C. Leys, E. Schacht, P. Dubruel – , 2009.
21. Goreninskii, S.I. Biological effect of the surface modification of the fibrous poly (L-lactic acid) scaffolds by radio frequency magnetron sputtering of different calcium-phosphate targets / S.I. Goreninskii, N.N. Bogomolova, A.I. Malchikhina, A.S. Golovkin, E.N. Bolbasov, T. V. Safronova, V.I. Putlyayev, S.I. Tverdokhlebov // *BioNanoScience* – 2017. – T. 7 – № 1 – C.50–57.
22. Li, X. Biocomposites reinforced by fibers or tubes as scaffolds for tissue engineering or regenerative medicine / X. Li, Y. Yang, Y. Fan, Q. Feng, F. Cui, F. Watari // *Journal of Biomedical Materials Research Part A: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials* – 2014. – T. 102 – № 5 – C.1580–1594.
23. Xu, H. Electrospun ultrafine fibrous wheat glutenin scaffolds with three-dimensionally random organization and water stability for soft tissue engineering / H. Xu, S. Cai, A. Sellers, Y. Yang // *Journal of biotechnology* – 2014. – T. 184 – C.179–186.
24. Pascual-Teresa ,S. de Flavanols and anthocyanins in cardiovascular health: a review of current evidence / S. de Pascual-Teresa, D.A. Moreno, C. García-Viguera // *International journal of molecular sciences* – 2010. – T. 11 – № 4 – C.1679–1703.
25. Lovett, M. Tubular silk scaffolds for small diameter vascular grafts / M. Lovett, G. Eng, J. Kluge, C. Cannizzaro, G. Vunjak-Novakovic, D.L. Kaplan // *Organogenesis* – 2010. – T. 6 – № 4 – C.217–224.

26. Lovett, M. Silk fibroin microtubes for blood vessel engineering / M. Lovett, C. Cannizzaro, L. Daheron, B. Messmer, G. Vunjak-Novakovic, D.L. Kaplan // *Biomaterials* – 2007. – T. 28 – № 35 – C.5271–5279.
27. Rnjak-Kovacina, J. Electrospun synthetic human elastin: collagen composite scaffolds for dermal tissue engineering / J. Rnjak-Kovacina, S.G. Wise, Z. Li, P.K.M. Maitz, C.J. Young, Y. Wang, A.S. Weiss // *Acta biomaterialia* – 2012. – T. 8 – № 10 – C.3714–3722.
28. Murray, J.A.M. The treatment of nasal injuries by manipulation / J.A.M. Murray, A.G.D. Maran // *The Journal of Laryngology & Otology* – 1980. – T. 94 – № 12 – C.1405–1410.
29. Denny, III J.C. Nasal avulsion injuries / Denny III J.C. // *Otolaryngology–Head and Neck Surgery* – 1987. – T. 97 – № 5 – C.456–461.
30. Stucker, F.J. Nasal soft tissue injuries / F.J. Stucker, G.J. Farrell, R.C. Bryarly // *Otolaryngology*. Philadelphia: JB Lippincott – 1983. – T. 4.
31. Li, X. Effects of physicochemical properties of nanomaterials on their toxicity / X. Li, W. Liu, L. Sun., K.E. Aifantis, B. Yu, Y. Fan, Q. Feng, F. Cui, F. Watari // *Journal of biomedical materials research Part A* – 2015. – T. 103 – № 7 – C.2499–2507.
32. Langer, R.S. Tissue engineering: the challenges ahead / R.S. Langer, J.P. Vacanti // *Scientific American* – 1999. – T. 280 – № 4 – C.86–89.
33. Biazar, E. Application of polymeric nanofibers in soft tissues regeneration / E. Biazar // *Polymers for Advanced Technologies* – 2016. – T. 27 – № 11 – C.1404–1412.
34. Lanza, R. Principles of tissue engineering / R. Lanza, R. Langer, J. P. Vacanti, A. Atala – Academic press, 2020.
35. Mark, J.E. Polymer data handbook / J. E. Mark – Oxford university press, 2009.

36. Carothers, W.H. Studies of polymerization and ring formation. X. The reversible polymerization of six-membered cyclic esters / W.H. Carothers, G.L. Dorrough, F.J. van Natta // *Journal of the American Chemical Society* – 1932. – T. 54 – № 2 – C.761–772.
37. Lowe, C.E. Preparation of high molecular weight polyhydroxyacetic ester // – 1954.
38. Doi, Y. Polyesters III: applications and commercial products / Y. Doi, A. Steinbüchel – Wiley-Vch, 2002.
39. Linnemann, B. M, S. Harwoko, T. Gries / B. Linnemann // *Chemical Fibers International* – 2003. – T. 53 – C.426–433.
40. Perepelkin, K.E. Polylactide fibres: Fabrication, properties, use, prospects. A review / K.E. Perepelkin // *Fibre Chemistry* – 2002. – T. 34 – № 2 – C.85–100.
41. Blackburn, R. Biodegradable and sustainable fibres / R. Blackburn – Taylor & Francis US, 2005.
42. Hartmann, M.H. High molecular weight polylactic acid polymers / M.H. Hartmann // *Biopolymers from renewable resources* – 1998. – C.367–411.
43. Dartee, M. Man-Made Fiber Year Book / M. Dartee, J. Lunt, A. Shafer // *Chem Fibers Intern* – 2001.
44. Schmack, G. Biodegradable fibers of poly (l-lactide) produced by high-speed melt spinning and spin drawing / G. Schmack, r B. Tändle, R. Vogel, R. Beyreuther, S. Jacobsen, H. Fritz // *Journal of applied polymer science* – 1999. – T. 73 – № 14 – C.2785–2797.
45. Treloar, L.R.G. Introduction to polymer science / Treloar L.R.G. – 1970.
46. Gruber, P. Polylactides" Natureworks PLA"() Biopolymers, Polyesters III- Applications and Commercial Products, ed. Y. Doi and A. Steinbüchel. Vol. 4 // – 2002.

47. Suesat, J. Investigation of the influence of fibre morphology on the dyeing and fastness properties of poly (lactic acid) // – 2004.
48. Okihara, T. Crystal structure of stereocomplex of poly (L-lactide) and poly (D-lactide) / T. Okihara, M. Tsuji, A. Kawaguchi, K.-I. Katayama, H. Tsuji, S.-H. Hyon, Y. Ikada // Journal of Macromolecular Science, Part B: Physics – 1991. – T. 30 – № 1–2 – C.119–140.
49. Gupta, M.C. Thermal oxidative degradation of poly-lactic acid: Part II: Molecular weight and electronic spectra during isothermal heating / M.C. Gupta, V.G. Deshmukh // Colloid and Polymer Science – 1982. – T. 260 – C.514–517.
50. Södergård, A. Properties of lactic acid based polymers and their correlation with composition / A. Södergård, M. Stolt // Progress in polymer science – 2002. – T. 27 – № 6 – C.1123–1163.
51. Zhang, X. An investigation of the synthesis and thermal stability of poly (DL-lactide) / X. Zhang, U.P. Wyss, D. Pichora, M.F.A. Goosen // Polymer Bulletin – 1992. – T. 27 – C.623–629.
52. Amass, W. A review of biodegradable polymers: uses, current developments in the synthesis and characterization of biodegradable polyesters, blends of biodegradable polymers and recent advances in biodegradation studies / W. Amass, A. Amass, B. Tighe // Polymer international – 1998. – T. 47 – № 2 – C.89–144.
53. Li, S.M. Structure-property relationships in the case of the degradation of massive poly (α -hydroxy acids) in aqueous media: Part 2 Degradation of lactide-glycolide copolymers: PLA37. 5GA25 and PLA75GA25 / S.M. Li, H. Garreau, M. Vert // Journal of Materials Science: Materials in Medicine – 1990. – T. 1 – № 3 – C.131–139.
54. Агапова, О. Биодegradуемые изделия на основе фиброина шелка для тканевой инженерии и регенеративной медицины / О. Агапова, И. Агапов –

Litres, 2022.

55. Puppi, D. Development of 3D wet-spun polymeric scaffolds loaded with antimicrobial agents for bone engineering / D. Puppi, D. Dinucci, C. Bartoli, C. Mota, C. Migone, F. Dini, G. Barsotti, F. Carlucci, F. Chiellini // *Journal of bioactive and compatible polymers* – 2011. – T. 26 – № 5 – C.478–492.

56. Lee, G.-S. Direct deposited porous scaffolds of calcium phosphate cement with alginate for drug delivery and bone tissue engineering / G.-S. Lee, J.-H. Park, U.S. Shin, H.-W. Kim // *Acta biomaterialia* – 2011. – T. 7 – № 8 – C.3178–3186.

57. Pati, F. Development of chitosan-tripolyphosphate non-woven fibrous scaffolds for tissue engineering application / F. Pati, B. Adhikari, S. Dhara // *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* – 2012. – T. 23 – № 4 – C.1085–1096.

58. Landers, R. Fabrication of soft tissue engineering scaffolds by means of rapid prototyping techniques / R. Landers, A. Pfister, U. Hübner, H. John, R. Schmelzeisen, R. Mülhaupt // *Journal of Materials Science* – 2002. – T. 37 – № 15 – C.3107–3116.

59. Neves, S.C. Chitosan/Poly (ϵ -caprolactone) blend scaffolds for cartilage repair / S.C. Neves, L.S.M. Teixeira, L. Moroni, R.L. Reis, C.A. Van Blitterswijk, N.M. Alves, M. Karperien, J.F. Mano // *Biomaterials* – 2011. – T. 32 – № 4 – C.1068–1079.

60. Fedorovich, N.E. 3D-fiber deposition for tissue engineering and organ printing applications , 2010. – 225–239c.

61. Enea, D. Extruded collagen fibres for tissue engineering applications: effect of crosslinking method on mechanical and biological properties / D. Enea, F. Henson, S. Kew, J. Wardale, A. Getgood, R. Brooks, N. Rushton // *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* – 2011. – T. 22 – № 6 – C.1569–1578.

62. DeRosa, K.E. Design and characterization of a controlled wet spinning device for collagen fiber fabrication for neural tissue engineering IEEE, 2011. – 1–2c.

63. He, Y. Alginate/graphene oxide fibers with enhanced mechanical strength prepared by wet spinning / Y. He, N. Zhang, Q. Gong, H. Qiu, W. Wang, Y. Liu, J. Gao // *Carbohydrate Polymers* – 2012. – Т. 88 – № 3 – С.1100–1108.
64. Раувендааль, К. Экструзия полимеров / Раувендааль К. – 2006.
65. Xiong, Z. Fabrication of porous poly(L-lactic acid) scaffolds for bone tissue engineering via precise extrusion / Z. Xiong, Y. Yan, R. Zhang, L. Sun // *Scripta Materialia* – 2001. – Т. 45 – № 7 – С.773–779.
66. Легонькова, О.А. Линейные полиэфиры в современной медицине / О.А. Легонькова, Л.Ю. Асанова // *Высокотехнологическая медицина* – 2017. – Т. 4 – № 1 – С.16–31.
67. Sinclair, K.D. The effect of various denier capillary channel polymer fibers on the alignment of NHDF cells and type i collagen / K.D. Sinclair, K. Webb, P.J. Brown // *Journal of Biomedical Materials Research - Part A* – 2010. – Т. 95 – № 4 – С.1194–1202.
68. Hufenus, R. Biodegradable bicomponent fibers from renewable sources: melt-spinning of poly (lactic acid) and poly [(3-hydroxybutyrate)-co-(3-hydroxyvalerate)] / R. Hufenus, F.A. Reifler, K. Maniura-Weber, A. Spierings, M. Zinn // *Macromolecular Materials and Engineering* – 2012. – Т. 297 – № 1 – С.75–84.
69. Gomes, M.E. Starch–poly (ϵ -caprolactone) and starch–poly (lactic acid) fibre-mesh scaffolds for bone tissue engineering applications: structure, mechanical properties and degradation behaviour / M.E. Gomes, H.S. Azevedo, A.R. Moreira, V. Ellä, M. Kellomäki, R.L. Reis // *Journal of tissue engineering and regenerative medicine* – 2008. – Т. 2 – № 5 – С.243–252.
70. Sumanasinghe, R.D. Melt spun microporous fibers using poly(lactic acid) and sulfonated copolyester blends for tissue engineering applications / R.D. Sumanasinghe, C.M. Haslauer, B. Pourdeyhimi, E.G. Loba // *Journal of Applied*

Polymer Science – 2010. – T. 117 – № 6 – C.3350–3361.

71. Arif, M. In situ assessment of target poisoning evolution in magnetron sputtering / M. Arif, C. Eisenmenger-Sittner // Surface and Coatings Technology – 2017. – T. 324 – C.345–352.

72. Neuhäuser, M. Optical emission spectroscopy studies of titanium nitride sputtering on thermoplastic polymers / M. Neuhäuser, S. Bärwulf, H. Hilgers, E. Lugscheider, M. Riester // Surface and Coatings Technology – 1999. – T. 116–119 – C.981–985.

73. Hufenus, R. Design and characterization of a bicomponent melt-spun fiber optimized for artificial turf applications / R. Hufenus, C. Affolter, M. Camenzind, F.A. Reifler // Macromolecular Materials and Engineering – 2013. – T. 298 – № 6 – C.653–663.

74. Medeiros, E.S. Solution blow spinning: A new method to produce micro-and nanofibers from polymer solutions / E.S. Medeiros, G.M. Glenn, A.P. Klamczynski, W.J. Orts, L.H.C. Mattoso // Journal of applied polymer science – 2009. – T. 113 – № 4 – C.2322–2330.

75. Oliveira, J.E. Nano and submicrometric fibers of poly (D, L-lactide) obtained by solution blow spinning: Process and solution variables / J.E. Oliveira, E.A. Moraes, R.G.F. Costa, A.S. Afonso, L.H.C. Mattoso, W.J. Orts, E.S. Medeiros // Journal of applied polymer science – 2011. – T. 122 – № 5 – C.3396–3405.

76. Tutak, W. The support of bone marrow stromal cell differentiation by airbrushed nanofiber scaffolds / W. Tutak, S Sarkar., S. Lin-Gibson, T.M. Farooque, G. Jyotsnendu, D. Wang, J. Kohn, D. Bolikal, C.G. Simon Jr // Biomaterials – 2013. – T. 34 – № 10 – C.2389–2398.

77. Srinivasan, S. Solution spraying of poly (methyl methacrylate) blends to fabricate microtextured, superoleophobic surfaces / S. Srinivasan, S.S. Chhatre, J.M. Mabry, R.E. Cohen, G.H. McKinley // Polymer – 2011. – T. 52 – № 14 –

C.3209–3218.

78. Zhuang, X. Solution blown nanofibrous membrane for microfiltration / X. Zhuang, L. Shi, K. Jia, B. Cheng, W. Kang // Journal of membrane science – 2013. – Т. 429 – С.66–70.
79. Oliveira, J.E. Structural and morphological characterization of micro and nanofibers produced by electrospinning and solution blow spinning: a comparative study / J.E Oliveira., L.H.C. Mattoso, W.J. Orts, E.S. Medeiros // Advances in Materials Science and Engineering – 2013. – Т. 2013.
80. Park, K.-C. Optimal design of permeable fiber network structures for fog harvesting / K.-C. Park, S.S. Chhatre, S. Srinivasan, R.E. Cohen, G.H. McKinley // Langmuir – 2013. – Т. 29 – № 43 – С.13269–13277.
81. Lou, H. Systematic investigation on parameters of solution blown micro/nanofibers using response surface methodology based on box-Behnken design / H. Lou, W. Li, C. Li, X. Wang // Journal of Applied Polymer Science – 2013. – Т. 130 – № 2 – С.1383–1391.
82. Shi, L. Solution blowing nylon 6 nanofiber mats for air filtration / L. Shi, X. Zhuang, X Tao., B. Cheng, W. Kang // Fibers and Polymers – 2013. – Т. 14 – № 9 – С.1485–1490.
83. Zhuang, X. Solution blowing of submicron-scale cellulose fibers / X. Zhuang, X. Yang, L. Shi, B. Cheng, K Guan., W. Kang // Carbohydrate polymers – 2012. – Т. 90 – № 2 – С.982–987.
84. Бартнев, Г.М.Физика полимеров / Г. М. Бартнев, С. Я. Френкель – Химия, 1990.
85. Филатов, Ю.Н. Электроформование волокнистых материалов (ЭФВ-процесс) / Ю.Н. Филатов – 1997.
86. Lannutti, J. Electrospinning for tissue engineering scaffolds / J. Lannutti, D. Reneker, T. Ma, D. Tomasko, D. Farson // Materials Science and Engineering: C –

2007. – T. 27 – № 3 – C.504–509.

87. Ramakrishna, S. An introduction to electrospinning and nanofibers / S. Ramakrishna – World scientific, 2005.

88. Lyons, J. Melt-electrospinning part I: processing parameters and geometric properties / J. Lyons, C. Li, F. Ko // *Polymer* – 2004. – T. 45 – № 22 – C.7597–7603.

89. Rošic, R. The role of rheology of polymer solutions in predicting nanofiber formation by electrospinning / R. Rošic, J. Pelipenko, P Kocbek., S. Baumgartner, M. Bešter-Rogač, J. Kristl // *European Polymer Journal* – 2012. – T. 48 – № 8 – C.1374–1384.

90. Agarwal, S. Use of electrospinning technique for biomedical applications / S. Agarwal, J.H. Wendorff, A. Greiner // *Polymer* – 2008. – T. 49 – № 26 – C.5603–5621.

91. Neto, W.A.R. Influence of the microstructure and mechanical strength of nanofibers of biodegradable polymers with hydroxyapatite in stem cells growth. Electrospinning, characterization and cell viability / W.A.R. Neto, I.H.L. Pereira, E. Ayres, A.C.C. de Paula, L. Averous, A.M. Góes, R.L. Oréfice, R.E.S. Bretas // *Polymer degradation and stability* – 2012. – T. 97 – № 10 – C.2037–2051.

92. Machmudah, S. Formation of PVP hollow fibers by electrospinning in one-step process at sub and supercritical CO₂ / S. Machmudah, H. Kanda, S. Okubayashi, M. Goto // *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification* – 2014. – T. 77 – C.1–6.

93. Liu, Z. Control of structure and morphology of highly aligned PLLA ultrafine fibers via linear-jet electrospinning / Z. Liu, X. Li, Y. Yang, K. Zhang, X. Wang, M. Zhu, B.S. Hsiao // *Polymer* – 2013. – T. 54 – № 21 – C.6045–6051.

94. Pant, H.R. Fabrication of highly porous poly (ϵ -caprolactone) fibers for novel tissue scaffold via water-bath electrospinning / H.R. Pant, M.P Neupane., B. Pant,

G. Panthi, H.-J. Oh, M.H. Lee, H.Y. Kim // *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* – 2011. – T. 88 – № 2 – C.587–592.

95. Zhou, J. Electrospinning of silk fibroin and collagen for vascular tissue engineering / J. Zhou, C. Cao, X. Ma, J. Lin // *International Journal of Biological Macromolecules* – 2010. – T. 47 – № 4 – C.514–519.

96. Vaquette, C. A simple method for fabricating 3-D multilayered composite scaffolds / C. Vaquette, J. Cooper-White // *Acta biomaterialia* – 2013. – T. 9 – № 1 – C.4599–4608.

97. Shabani, I. Cellular infiltration on nanofibrous scaffolds using a modified electrospinning technique / I. Shabani, V. Haddadi-Asl, E. Seyedjafari, M. Soleimani // *Biochemical and biophysical research communications* – 2012. – T. 423 – № 1 – C.50–54.

98. Leong, M.F. Fabrication and in vitro and in vivo cell infiltration study of a bilayered cryogenic electrospun poly (D, L-lactide) scaffold / M.F. Leong, W.Y. Chan, K.S. Chian, M.Z. Rasheed, J.M. Anderson // *Journal of Biomedical Materials Research Part A* – 2010. – T. 94 – № 4 – C.1141–1149.

99. Lee, Y.H. Electrospun dual-porosity structure and biodegradation morphology of Montmorillonite reinforced PLLA nanocomposite scaffolds / Y.H. Lee, J.H. Lee, I.-G. An, C. Kim, D.S. Lee, Y.K. Lee, J.-D. Nam // *Biomaterials* – 2005. – T. 26 – № 16 – C.3165–3172.

100. Bognitzki, M. Preparation of fibers with nanoscaled morphologies: Electrospinning of polymer blends / M. Bognitzki, T. Frese, M. Steinhart, A. Greiner, J.H. Wendorff, A. Schaper, M. Hellwig // *Polymer Engineering & Science* – 2001. – T. 41 – № 6 – C.982–989.

101. Yokoyama, Y. Novel wet electrospinning system for fabrication of spongiform nanofiber 3-dimensional fabric / Y. Yokoyama, S. Hattori, C. Yoshikawa, Y. Yasuda, H. Koyama, T. Takato, H. Kobayashi // *Materials letters* –

2009. – T. 63 – № 9–10 – C.754–756.

102. Choi, H. woon Structuring electrospun polycaprolactone nanofiber tissue scaffolds by femtosecond laser ablation / H. woon Choi, J.K. Johnson, J. Nam, D.F. Farson., J. Lannutti // *Journal of Laser Applications* – 2007. – T. 19 – № 4 – C.225–231.

103. Windecker, S. Randomized Comparison of a Titanium-Nitride-Oxide-Coated Stent With a Stainless Steel Stent for Coronary Revascularization: The TiNOX Trial / S. Windecker, R. Simon, M. Lins // *ACC Current Journal Review* – 2005.

104. Pichugin, V.F. In-vitro dissolution and structural and electrokinetic characteristics of titanium-oxynitride coatings formed via reactive magnetron sputtering / V.F. Pichugin, A.A. Pustovalova, M.E. Konishchev, I.A. Khlusov, N.M. Ivanova, S. Zhilei, S.S. Gutor // *Journal of Surface Investigation. X-ray, Synchrotron and Neutron Techniques* – 2016. – T. 10 – № 2 – C.282–291.

105. Cuong, N.D. Characterizations of high resistivity TiN_xO_y thin films for applications in thin film resistors / N.D. Cuong, D.-J. Kim, B.-D. Kang, C.S. Kim, S.-G. Yoon // *Microelectronics Reliability* – 2007. – T. 47 – № 4–5 – C.752–754.

106. Maury, F. TiO_xN_y coatings grown by atmospheric pressure metal organic chemical vapor deposition / F. Maury, F.-D. Duminica // *Surface and Coatings Technology* – 2010. – T. 205 – № 5 – C.1287–1293.

107. Koerner, R.J. Bacterial adhesion to titanium-oxy-nitride (TiNOX) coatings with different resistivities: a novel approach for the development of biomaterials / R.J. Koerner, L.A. Butterworth, I.V. Mayer, R. Dasbach, H.J. Busscher // *Biomaterials* – 2002. – T. 23 – № 14 – C.2835–2840.

108. Moussa, M. Modulation of osteoblast behavior on TiN_xO_y coatings by altering the N/O stoichiometry while maintaining a high thrombogenic potential / M. Moussa, P. Fontana, F. Hamdan, M. Cattani-Lorente, S.S. Scherrer, O. Banakh, A.H.W Wiskott., S. Durual // *Journal of biomaterials applications* – 2016. – T. 30 –

№ 8 – C.1219–1229.

109. Steinemann, S.G. Metal implants and surface reactions / S.G. Steinemann // *Injury* – 1996. – T. 27 – C.S-C16.

110. Durual, S. TiNO_x coatings on roughened titanium and CoCr alloy accelerate early osseointegration of dental implants in minipigs / S. Durual, P. Rieder, G. Garavaglia, A. Filieri, M. Cattani-Lorente, S.S. Scherrer, H.W.A. Wiskott // *Bone* – 2013. – T. 52 – № 1 – C.230–237.

111. Durual, S. Titanium nitride oxide coating on rough titanium stimulates the proliferation of human primary osteoblasts / S. Durual, F. Pernet, P. Rieder, M. Mekki, M. Cattani-Lorente, H.W.A. Wiskott // *Clinical Oral Implants Research* – 2011. – T. 22 – № 5 – C.552–559.

112. Rieder, P. TiNO_x coatings increase human primary osteoblasts proliferation independently of the substrate—A short report / P. Rieder, S. Scherrer, i A. Filier, H.W. Wiskott, S. Durual // *Bio-Medical Materials and Engineering* – 2012. – T. 22 – № 5 – C.277–281.

113. Barybin, A.A. A nonisothermal physicochemical model of synthesis of oxynitrides by reactive sputtering techniques / A.A. Barybin, A. V. Zav'yalov, V.I. Shapovalov // *Glass Physics and Chemistry* – 2012. – T. 38 – № 4 – C.396–401.

114. Park, J.Y. Red blood cell and platelet interactions with titanium implant surfaces / J.Y. Park, J.E. Davies // *Clinical oral implants research* – 2000. – T. 11 – № 6 – C.530–539.

115. Pfeilschifter, J. Chemotactic response of osteoblastlike cells to transforming growth factor β / J. Pfeilschifter, O. Wolf, A. Naumann, H.W. Minne, G.R. Mundy, R. Ziegler // *Journal of Bone and Mineral Research* – 1990. – T. 5 – № 8 – C.825–830.

116. Gittens, R.A. Implant osseointegration and the role of microroughness and nanostructures: lessons for spine implants / R.A. Gittens, R. Olivares-Navarrete, Z.

- Schwartz, B.D. Boyan // *Acta biomaterialia* – 2014. – Т. 10 – № 8 – С.3363–3371.
117. Olivares-Navarrete, R. Integrin $\alpha 2\beta 1$ plays a critical role in osteoblast response to micron-scale surface structure and surface energy of titanium substrates / R. Olivares-Navarrete, P. Raz, G. Zhao, J. Chen, M. Wieland, D.L. Cochran, R.A. Chaudhri, A. Ornoy, B.D. Boyan, Z. Schwartz // *Proceedings of the National Academy of Sciences* – 2008. – Т. 105 – № 41 – С.15767–15772.
118. Fiedler, J. IGF-I and IGF-II stimulate directed cell migration of bone-marrow-derived human mesenchymal progenitor cells / J. Fiedler, C. Brill, W.F. Blum, R.E. Brenner // *Biochemical and biophysical research communications* – 2006. – Т. 345 – № 3 – С.1177–1183.
119. Clarkin, C.E. Evaluation of VEGF-mediated signaling in primary human cells reveals a paracrine action for VEGF in osteoblast-mediated crosstalk to endothelial cells / C.E. Clarkin, R.J. Emery, A.A. Pitsillides, C.P.D. Wheeler-Jones // *Journal of cellular physiology* – 2008. – Т. 214 – № 2 – С.537–544.
120. Kaigler, D. VEGF scaffolds enhance angiogenesis and bone regeneration in irradiated osseous defects / D. Kaigler, Z. Wang, K. Horger, D.J. Mooney, Krebsbach P.H. // *Journal of bone and mineral research* – 2006. – Т. 21 – № 5 – С.735–744.
121. Вершок, Б.А. Получение нанопорошка вакуумным импульсно-дуговым методом / Б.А. Вершок, А.Б. Дормашев, И.Я. Маргулев, Ю.В. Мартыненко, О.И. Обрезков, В.П. Смирнов // *Вопросы атомной науки и техники. Серия: Термоядерный синтез* – 2006. – № 2 – С.31–40.
122. Валуев, В.П. Нанесение вакуумно-дуговых покрытий на крупногабаритные изделия и изделия сложной формы / В.П. Валуев, С.И. Рыбников, В.Г. Кузнецов // *Инструм. и технол* – 2004. – № 17–18 – С.33.
123. Данилин Б.С. Магнетронные распылительные системы / Б.С. Данилин, В.К. Сырчин // *М.: Радио и связь* – 1982. – Т. 72 – С.3.

124. Bolbasov, E.N. The use of magnetron sputtering for the deposition of thin titanium coatings on the surface of bioresorbable electrospun fibrous scaffolds for vascular tissue engineering: A pilot study / E.N. Bolbasov, L. V. Antonova, K.S. Stankevich, A. Ashrafov, V.G. Matveeva, E.A. Velikanova, Y.I. Khodyrevskaya, Y.A. Kudryavtseva, Y.G. Anissimov, S.I. Tverdokhlebov // *Applied Surface Science* – 2017. – T. 398 – C.63–72.
125. Sankar, D. Surface plasma treatment of poly (caprolactone) micro, nano, and multiscale fibrous scaffolds for enhanced osteoconductivity / D. Sankar, K.T. Shalumon, K.P. Chennazhi, D. Menon, R. Jayakumar // *Tissue Engineering Part A* – 2014. – T. 20 – № 11–12 – C.1689–1702.
126. Slepíčka, P. Plasma treatment of the surface of poly(hydroxybutyrate) foil and non-woven fabric and assessment of the biological properties / P. Slepíčka, Z. Malá, S. Rimpelová, N. Slepíčková Kasálková, V. Švorčík // *Reactive and Functional Polymers* – 2015. – T. 95 – C.71–79.
127. Correia, D.M. Superhydrophilic poly (l-lactic acid) electrospun membranes for biomedical applications obtained by argon and oxygen plasma treatment / D.M. Correia, C. Ribeiro, G. Botelho, J. Borges, C. Lopes, F. Vaz, S.A.C. Carabineiro, A. V. Machado, S. Lanceros-Méndez // *Applied Surface Science* – 2016. – T. 371 – C.74–82.
128. Agarwala, M. Highly effective antibiofilm coating of silver–polymer nanocomposite on polymeric medical devices deposited by one step plasma process / M. Agarwala, T. Barman, D. Gogoi, B. Choudhury, A.R. Pal, R.N.S. Yadav // *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials* – 2014. – T. 102 – № 6 – C.1223–1235.
129. Sproul, W.D. Control of reactive sputtering processes / W.D. Sproul, D.J. Christie, D.C. Carter // *Thin solid films* – 2005. – T. 491 – № 1 – C.1–17.
130. Bolbasov, E.N. Surface modification of electrospun poly-(l-lactic) acid scaffolds by reactive magnetron sputtering / E.N. Bolbasov, P.V. Maryin, K.S.

Stankevich, A.I. Kozelskaya, E.V. Shesterikov, Y.I. Khodyrevskaya, M.V. Nasonova, D.K. Shishkova, Y.A. Kudryavtseva, Y.G. Anissimov, S.I. Tverdokhlebov // *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* – 2018. – T. 162 – C.43–51.

131. Alves, C.F.A. Bioactivity response of Ta $1-x$ O x coatings deposited by reactive DC magnetron sputtering / C.F.A. Alves, A. Cavaleiro, S. Carvalho // *Materials Science and Engineering: C* – 2016. – T. 58 – C.110–118.

132. Civantos, A. Titanium Coatings and Surface Modifications: Toward Clinically Useful Bioactive Implants / A. Civantos, E. Martínez-Campos, V. Ramos, C. Elvira, A. Gallardo, A. Abarrategi // *ACS Biomaterials Science & Engineering* – 2017.

133. Kulkarni, M. Biomaterial surface modification of titanium and titanium alloys for medical applications / M. Kulkarni, A. Mazare, P. Schmuki, A. Iglíč // *Nanomedicine* – 2014. – T. 111 – C.111–136.

134. Uwais, Z.A. Surface Modification of Metallic Biomaterials for Better Tribological Properties: A Review / Z.A. Uwais, M.A. Hussein, M.A. Samad, N. Al-Aqeeli // *Arabian Journal for Science and Engineering* – 2017. – C.1–20.

135. Saffari, M.-R. Antibacterial property of PLA textiles coated by nano-TiO₂ through eco-friendly low-temperature plasma / M.-R. Saffari, M.-R. Saffari, R. Kamali Miab, R. Kamali Miab // *International Journal of Clothing Science and Technology* – 2016. – T. 28 – № 6 – C.830–840.

136. Nuñez, J.A.P. Antibacterial efficiency of magnetron sputtered TiO₂ on poly (methyl methacrylate) / J.A.P. Nuñez, III H.S. Salapare, M.M.S. Villamayor, M.A.T. Siringan, H.J. Ramos // *Surfaces and Interfaces* – 2017. – T. 8 – C.28–35.

137. Navabpour, P. The effect of process parameters on the structure, photocatalytic and self-cleaning properties of TiO₂ and Ag-TiO₂ coatings deposited using reactive magnetron sputtering / P. Navabpour, S. Ostovarpour, J.

Hampshire, P. Kelly, J. Verran, K. Cooke // *Thin Solid Films* – 2014. – Т. 571 – С.75–83.

138. Кузьмичёв, А.И. Магнетронные распылительные системы. Книга 1. Введение в физику и технику магнетронного распыления // – 2008.

139. Schiller S. Reactive high rate DC sputtering: Deposition rate, stoichiometry and features of TiO_x and TiN_x films with respect to the target mode / S. Schiller, G. Beister, W. Sieber // *Thin Solid Films* – 1984. – Т. 111 – № 3 – С.259–268.

140. Лонг, Ю.П. Биоразлагаемые полимерные смеси и композиты из возобновляемых источников / Ю.П. Лонг – 2013.

141. Martins, A. Surface modification of electrospun polycaprolactone nanofiber meshes by plasma treatment to enhance biological performance / A. Martins, E.D. Pinho, S. Faria, I. Pashkuleva, A.P. Marques, R.L. Reis, N.M. Neves // *small* – 2009. – Т. 5 – № 10 – С.1195–1206.

142. Rumble, Jr J.R. The NIST x-ray photoelectron spectroscopy database / Jr J.R. Rumble, D.M. Bickham, C.J. Powell // *Surface and interface analysis* – 1992. – Т. 19 – № 1-12 – С.241–246.

143. Baudin, B. A protocol for isolation and culture of human umbilical vein endothelial cells / B. Baudin, A. Bruneel, N. Bosselut, M. Vaubourdolle // *Nature protocols* – 2007. – Т. 2 – № 3 – С.481–485.

144. Dolci, L.S. Carboxyl Surface Functionalization of Poly (l-lactic acid) Electrospun Nanofibers through Atmospheric Non-Thermal Plasma Affects Fibroblast Morphology / L.S. Dolci, S.D. Quiroga, M. Gherardi, R. Laurita, A. Liguori, P. Sanibondi, A. Fiorani, L. Calzà, V. Colombo, M.L. Focarete // *Plasma Processes and Polymers* – 2014. – Т. 11 – № 3 – С.203–213.

145. Garber, J.C. Guide for the care and use of laboratory animals / J.C. Garber, R.W. Barbee, J.T. Bielitzki, L.A. Clayton, J.C. Donovan, C.F.M. Hendriksen, D.F. Kohn, N.S. Lipman, P.A. Locke, J. Melcher // *The National Academic Press*,

Washington DC – 2011. – T. 8 – C.220.

146. Li, Z. Effects of working parameters on electrospinning / Z. Li, C. Wang, Z. Li, C. Wang // One-dimensional nanostructures: Electrospinning technique and unique nanofibers – 2013. – C.15–28.

147. Freitas, R.A. Nanomedicine, volume IIA: biocompatibility / Freitas R. A. – CRC Press, 2003.

148. Sill, T.J. Electrospinning: applications in drug delivery and tissue engineering / T.J. Sill, H.A. von Recum // Biomaterials – 2008. – T. 29 – № 13 – C.1989–2006.

149. Cheng, Q. Plasma surface chemical treatment of electrospun poly (L-lactide) microfibrillar scaffolds for enhanced cell adhesion, growth, and infiltration / Q. Cheng, B.L.-P. Lee, K. Komvopoulos, Z. Yan, S. Li // Tissue Engineering Part A – 2013. – T. 19 – № 9–10 – C.1188–1198.

150. Barbarash, L.S. Surface modification of poly- ϵ -caprolactone electrospun fibrous scaffolds using plasma discharge with sputter deposition of a titanium target / L.S. Barbarash, E.N. Bolbasov, L. V. Antonova, V.G. Matveeva, E.A. Velikanova, E. V. Shesterikov, Y.G. Anissimov, S.I. Tverdokhlebov // Materials Letters – 2016. – T. 171 – C.87–90.

151. Geyter, N. De Plasma modification of polylactic acid in a medium pressure DBD / N. De Geyter, R., Morent T. Desmet, M., Trentesaux L. Gengembre, P. Dubruel, C. Leys, E. Payen // Surface and Coatings Technology – 2010. – T. 204 – № 20 – C.3272–3279.

152. Boumerzoug, M. Room temperature electron cyclotron resonance chemical vapor deposition of high quality TiN / M. Boumerzoug, Z. Pang, M. Boudreau, P. Mascher, J.G. Simmons // Applied Physics Letters – 1995. – T. 66 – № 3 – C.302–304.

153. Vandavelde, T. Optical emission spectroscopy of the plasma during CVD diamond growth with nitrogen addition / T. Vandavelde, M. Nesladek, C.

- Quaeyhaegens, L. Stals // *Thin Solid Films* – 1996. – T. 290–291 – C.143–147.
154. Mahieu, S. Reactive sputter deposition of TiN layers: modelling the growth by characterization of particle fluxes towards the substrate / S. Mahieu, D. Depla // *Journal of Physics D: Applied Physics* – 2009. – T. 42 – № 5 – C.053002.
155. Hasan, A. Electrospun scaffolds for tissue engineering of vascular grafts // *Acta Biomater.* – 2014.
156. Pham, Q.P. Electrospinning of polymeric nanofibers for tissue engineering applications: A review // *Tissue Eng.* – 2006. – T. 12. – № 5. – 1197–1211c.
157. Chao, C.Y. Engineering electrospun multicomponent polyurethane scaffolding platform comprising grapeseed oil and honey/propolis for bone tissue regeneration / C.Y. Chao, M.P. Mani, S.K. Jaganathan // *PLoS One* – 2018. – T. 13 – № 10 – C.e0205699.
158. Fricke, K. Atmospheric pressure plasma: a high-performance tool for the efficient removal of biofilms / K. Fricke, I. Koban, H. Tresp, L. Jablonowski, K. Schröder, A. Kramer, K.-D. Weltmann, T. von Woedtke, T. Kocher – 2012.
159. Rochford, E.T.J. An in vitro investigation of bacteria-osteoblast competition on oxygen plasma-modified PEEK / E.T.J. Rochford, G. Subbiahdoss, T.F. Moriarty, A.H.C. Poulsson, H.C. van der Mei, H.J. Busscher, R.G. Richards // *Journal of Biomedical Materials Research Part A* – 2014. – T. 102 – № 12 – C.4427–4434.
160. Swann, S. Magnetron sputtering / S. Swann // *Physics in technology* – 1988. – T. 19 – № 2 – C.67.
161. Wucher, A. Angular distribution of sputtered particles from metals and alloys / A. Wucher, W. Reuter // *J. Vac. Sci. Tech. A* – 1988. – T. 6 – № 4 – C.2316–2318.
162. Tsuge, H. Angular distribution of sputtered atoms from polycrystalline metal targets / H. Tsuge, S. Esho // *Journal of Applied Physics* – 1981. – T. 52 – № 7 –

C.4391–4395.

163. Bolbasov ,E.N. Yu. A. Kudryasvtseva, YG Anissimov, SI Tverdokhlebov and LS Barbarash / E.N. Bolbasov, L. V. Antonova, K.S. Stankevich, A. Ashrafov, V.G. Matveeva, E.A. Velikanova, Y.I.K. Hodyrevskaya // Appl. Surf. Sci – 2017. – T. 398 – C.63.

164. Yasuniwa, M. Melting behavior of poly(l-lactic acid): X-ray and DSC analyses of the melting process / M. Yasuniwa, K. Sakamo, Y. Ono, W. Kawahara // Polymer – 2008. – T. 49 – № 7 – C.1943–1951.

165. Keller, A. Morphology of crystallizing polymers / Keller A. // Nature – 1952. – T. 169 – C.913–914.

166. Patil, N. A study on the chain– particle interaction and aspect ratio of nanoparticles on structure development of a linear polymer / N. Patil, L. Balzano, G. Portale, S. Rastogi // Macromolecules – 2010. – T. 43 – № 16 – C.6749–6759.

167. Wu, Y. Polymer Microscopy. Sawyer LC, Grubb DT, and Meyers GF. Springer, New York; 2008, 540 pages. ISBN 978-0-387-72627-4 // – 2009.

168. Meyers, M.A.Mechanical behavior of materials / M. A. Meyers, K. K. Chawla – Cambridge university press, 2008.

169. Arienzo, M. The dual role of microplastics in marine environment: Sink and vectors of pollutants / M. Arienzo, L. Ferrara, M. Trifuoggi // Journal of Marine Science and Engineering – 2021. – T. 9 – № 6 – C.642.

170. kareem Degheim, K. Study the effect of Crystallization Factors on the Mechanical Properties of Semi-Crystalline Polymers for Transport Applications IOP Publishing, 2021. – 12011c.

171. Vasanthan, N. Effect of microstructure on hydrolytic degradation studies of poly (l-lactic acid) by FTIR spectroscopy and differential scanning calorimetry / N. Vasanthan, O. Ly // Polymer Degradation and Stability – 2009. – T. 94 – № 9 – C.1364–1372.

172. Zhang, J. Structural Changes and Crystallization Dynamics of Poly(L-lactide) during the Cold-Crystallization Process Investigated by Infrared and Two-Dimensional Infrared Correlation Spectroscopy / J. Zhang, H. Tsuji, I. Noda, Y. Ozaki // *Macromolecules* – 2004. – T. 37 – № 17 – C.6433–6439.
173. Zhang, J. Crystal Modifications and Thermal Behavior of Poly(L-lactic acid) Revealed by Infrared Spectroscopy / J. Zhang, Y. Duan, H. Sato, H. Tsuji, I. Noda, S. Yan, Y. Ozaki // *Macromolecules* – 2005. – T. 38 – № 19 – C.8012–8021.
174. Pan, P. Polymorphous crystallization and multiple melting behavior of poly(L-lactide): Molecular weight dependence / P. Pan, W. Kai, B. Zhu, T. Dong, Y. Inoue // *Macromolecules* – 2007. – T. 40 – C.6898–6905.
175. Pan, P. Blending effects on polymorphic crystallization of poly(L-lactide) / P. Pan, Z. Liang, B. Zhu, T. Dong, Y. Inoue // *Macromolecules* – 2009. – T. 42 – C.3374–3380.
176. Morent, R. Influence of discharge atmosphere on the ageing behaviour of plasma-treated polylactic acid / R. Morent, N. De Geyter, M. Trentesaux, L. Gengembre, P. Dubruel, C. Leys, E. Payen // *Plasma Chemistry and Plasma Processing* – 2010.
177. Hirotsu, T. Plasma surface treatments of melt-extruded sheets of poly(L-lactic acid) / T. Hirotsu, K. Nakayama, T. Tsujisaka, A. Mas, F. Schue // *Polymer Engineering & Science* – 2002. – T. 42 – № 2 – C.299–306.
178. Moraczewski, K. Comparison of some effects of modification of a polylactide surface layer by chemical, plasma, and laser methods / K. Moraczewski, P. Rytlewski, R. Malinowski, M. Żenkiewicz // *Applied Surface Science* – 2015. – T. 346 – C.11–17.
179. Slepíčka, P. Plasma treatment of the surface of poly(hydroxybutyrate) foil and non-woven fabric and assessment of the biological properties / P. Slepíčka, Z. Malá, S. Rimpelová, N.S. Kasálková, V. Švorčík // *Reactive and Functional*

Polymers – 2015. – Т. 95 – С.71–79.

180. Tverdokhlebov, S.I. Modification of polylactic acid surface using RF plasma discharge with sputter deposition of a hydroxyapatite target for increased biocompatibility / S.I. Tverdokhlebov, E.N. Bolbasov, E.V. Shesterikov, L.V. Antonova, A.S. Golovkin, V.G. Matveeva, D.G. Petlin, Y.G. Anissimov // *Applied Surface Science* – 2015. – Т. 329 – С.32–39.

181. Lee, K. Growth factor delivery-based tissue engineering: general approaches and a review of recent developments / K. Lee, E.A. Silva, D.J. Mooney // *Journal of the Royal Society Interface* – 2011. – Т. 8 – № 55 – С.153–170.

182. Бобович, Б.Б. Неметаллические конструкционные материалы: учеб. пособие: [для вузов по направлению подгот. 150600 (651700) "Материаловедение, технологии материалов и покрытий"] / Б. Б. Бобович – МГИУ, 2009.

183. Тугов, И.И. Химия и физика полимеров / И. И. Тугов – Рипол Классик, 1989.

184. Desai, A. In vitro biomechanical and hydrodynamic characterisation of decellularised human pulmonary and aortic roots / A. Desai, T. Vafaei, P. Rooney, J.N. Kearney, H.E. Berry, E. Ingham, J. Fisher, L.M. Jennings // *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials* – 2018. – Т. 79 – С.53–63.

185. Silver, F.H. Mechanical properties of the aorta: a review. / F.H. Silver, D.L. Christiansen, C.M. Buntin // *Critical reviews in biomedical engineering* – 1989. – Т. 17 – № 4 – С.323–358.

186. Fung, Y.-C. Mechanical properties and active remodeling of blood vessels / Y.-C. Fung, Y.-C. Fung // *Biomechanics: Mechanical properties of living tissues* – 1993. – С.321–391.

187. Martin, R.B. Skeletal tissue mechanics / R. B. Martin, D. B. Burr, N. A. Sharkey, D. P. Fyhrie – Springer, 1998.

188. Kot, M. Long-term ambient surface oxidation of titanium oxynitride films prepared by plasma-enhanced atomic layer deposition: An XPS study / M. Kot, J. Łobaza, F. Naumann, H. Gargouri, K. Henkel, D. Schmeißer // *Journal of Vacuum Science & Technology A: Vacuum, Surfaces, and Films* – 2018. – T. 36 – № 1 – C.01A114.
189. Grosso, S. Titanium and titanium nitride thin films grown by DC reactive magnetron sputtering Physical Vapor Deposition in a continuous mode on stainless steel wires: Chemical, morphological and structural investigations / S. Grosso, L. Latu-Romain, G. Berthomé, G. Renou, T. Le Coz, M. Mantel // *Surface and Coatings Technology* – 2017. – T. 324 – C.318–327.
190. Ferreira, B.M.P. Plasma surface treatments of poly(l-lactic acid) (PLLA) and poly(hydroxybutyrate-co-hydroxyvalerate) (PHBV) / B.M.P. Ferreira, L.M.P. Pinheiro, P.A.P. Nascente, M.J. Ferreira, E.A.R. Duek // *Materials Science and Engineering C* – 2009. – T. 29 – № 3 – C.806–813.
191. Renò, F. Atmospheric Pressure Plasma Surface Modification of Poly(D,L-lactic acid) Increases Fibroblast, Osteoblast and Keratinocyte Adhesion and Proliferation / F. Renò, D. D'Angelo, G. Gottardi, M. Rizzi, D. Aragno, G. Piacenza, F. Cartasegna, M. Biasizzo, F. Trotta, M. Cannas // *Plasma Processes and Polymers* – 2012. – T. 9 – № 5 – C.491–502.
192. Sarapirom, S. Effect of surface modification of poly (lactic acid) by low-pressure ammonia plasma on adsorption of human serum albumin / S. Sarapirom, L.D. Yu, D. Boonyawan, C. Chaiwong // *Applied Surface Science* – 2014. – T. 310 – C.42–50.
193. Jeyachandran, Y.L. Properties of titanium nitride films prepared by direct current magnetron sputtering / Y.L. Jeyachandran, S.K. Narayandass, D. Mangalaraj, S. Areva, J.A. Mielczarski // *Materials Science and Engineering: A* – 2007. – T. 445–446 – C.223–236.
194. Demina, T. DC discharge plasma modification of chitosan/gelatin/PLLA

- films: Surface properties, chemical structure and cell affinity / T. Demina, D. Zaytseva-Zotova, M. Yablokov, A. Gilman, T. Akopova, E. Markvicheva, A. Zelenetskii // *Surface and Coatings Technology* – 2012. – T. 207 – C.508–516.
195. Pustovalova, A.A. Structural features of N-containing titanium dioxide thin films deposited by magnetron sputtering / A.A. Pustovalova, V.F. Pichugin, N.M. Ivanova, M. Bruns // *Thin Solid Films* – 2017. – T. 627 – C.9–16.
196. Kuznetsov, M.V. XPS analysis of adsorption of oxygen molecules on the surface of Ti and TiN_x films in vacuum / M.V. Kuznetsov, J.F. Zhuravlev, V.A. Gubanov // *Journal of Electron Spectroscopy and Related Phenomena* – 1992. – T. 58 – № 3 – C.169–176.
197. Kersten, H. The energy balance at substrate surfaces during plasma processing / H. Kersten, H. Deutsch, H. Steffen, G.M.W. Kroesen, R. Hippler // *Vacuum* – 2001. – T. 63 – № 3 – C.385–431.
198. Petrov, I. Mass and energy resolved detection of ions and neutral sputtered species incident at the substrate during reactive magnetron sputtering of Ti in mixed Ar+N₂ mixtures / I. Petrov, A. Myers, J.E. Greene, J.R. Abelson // *Journal of Vacuum Science & Technology A: Vacuum, Surfaces, and Films* – 1994. – T. 12 – № 5 – C.2846–2854.
199. Bochevarov, A.D. Jaguar: A high-performance quantum chemistry software program with strengths in life and materials sciences / A.D. Bochevarov, E. Harder, T.F. Hughes, J.R. Greenwood, D.A. Braden, D.M. Philipp, D. Rinaldo, M.D. Halls, J. Zhang, R.A. Friesner // *International Journal of Quantum Chemistry* – 2013. – T. 113 – № 18 – C.2110–2142.
200. Inagaki, N. Surface modification and degradation of poly(lactic acid) films by Ar-plasma / N. Inagaki, K. Narushima, Y. Tsutsui, Y. Ohshima // *Journal of Adhesion Science and Technology* – 2002. – T. 16 – № 8 – C.1041–1054.
201. Homma, Y. Photoluminescence Measurements and Molecular Dynamics

Simulations of Water Adsorption on the Hydrophobic Surface of a Carbon Nanotube in Water Vapor / Y. Homma, S. Chiashi, T. Yamamoto, K. Kono, D. Matsumoto, J. Shitaba, S. Sato // *Physical Review Letters* – 2013. – T. 110 – № 15 – C.157402.

202. Cao, P. The Microscopic Structure of Adsorbed Water on Hydrophobic Surfaces under Ambient Conditions / P. Cao, K. Xu, J.O. Varghese, J.R. Heath // *Nano Letters* – 2011. – T. 11 – № 12 – C.5581–5586.

203. Chen, V.J. Bone regeneration on computer-designed nano-fibrous scaffolds / V.J. Chen, L.A. Smith, P.X. Ma // *Biomaterials* – 2006. – T. 27 – № 21 – C.3973–3979.

204. Fletcher, A.J. Adsorption and desorption kinetics for hydrophilic and hydrophobic vapors on activated carbon / A.J. Fletcher, Y. Yüzak, K.M. Thomas // *Carbon* – 2006. – T. 44 – № 5 – C.989–1004.

205. Riester, M. Morphology of sputtered titanium nitride thin films on thermoplastic polymers / M. Riester, S. Bärwulf, E. Lugscheider, H. Hilgers // *Surface and Coatings Technology* – 1999. – T. 116–119 – C.1001–1005.

206. Fioretta, E.S. Differential response of endothelial and endothelial colony forming cells on electrospun scaffolds with distinct microfiber diameters / E.S. Fioretta, M. Simonet, A.I.P.M. Smits, F.P.T. Baaijens, C.V.C. Bouten // *Biomacromolecules* – 2014. – T. 15 – № 3 – C.821–829.

207. Kumar, A. Synthesis, antimicrobial activity and QSAR studies of some new sparfloxacin derivatives / A. Kumar, A.S. Grewal, V. Singh, R. Narang, D. Pandita, V. Lather // *Pharmaceutical Chemistry Journal* – 2018. – T. 52 – № 5 – C.444–454.

208. Balducci, G. Identification and stability determinations for the gaseous titanium oxide molecules Ti_2O_3 and Ti_2O_4 / G. Balducci, G. Gigli, M. Guido // *The Journal of Chemical Physics* – 1985. – T. 83 – № 4 – C.1913–1916.

209. Shehzad, N. A critical review on TiO₂ based photocatalytic CO₂ reduction system: Strategies to improve efficiency / N. Shehzad, M. Tahir, K. Johari, T. Murugesan, M. Hussain // *Journal of CO₂ Utilization* – 2018. – T. 26 – C.98–122.
210. Horakova, J. The effect of ethylene oxide sterilization on electrospun vascular grafts made from biodegradable polyesters / J. Horakova, P. Mikes, A. Saman, V. Jencova, A. Klapstova, T. Svarcova, M. Ackermann, V. Novotny, T. Suchy, D. Lukas // *Materials Science and Engineering: C* – 2018. – T. 92 – C.132–142.
211. Göpferich, A. Mechanisms of polymer degradation and erosion / A. Göpferich // *The biomaterials: silver jubilee compendium* – 1996. – C.117–128.
212. Yang, J. Enhanced cell affinity of poly (D, L-lactide) by combining plasma treatment with collagen anchorage / J. Yang, J. Bei, S. Wang // *Biomaterials* – 2002. – T. 23 – № 12 – C.2607–2614.
213. Bacakova, L. Modulation of cell adhesion, proliferation and differentiation on materials designed for body implants. / L. Bacakova, E. Filova, M. Parizek, T. Ruml, V. Svorcik // *Biotechnology advances* – 2011. – T. 29 – № 6 – C.739–67.

ПРИЛОЖЕНИЕ А АКТ ВНЕДРЕНИЯ В НАУЧНУЮ ДЕЯТЕЛЬНОСТЬ РЕЗУЛЬТАТОВ ДИССЕРТАЦИОННОЙ РАБОТЫ

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ
БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР
ИМЕНИ В. А. АЛМАЗОВА»



197341, Россия, Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, д. 2
Телефон: +7 (812) 702-37-38
e-mail: info@almazovcenter.ru
ОГРН 5027504031011 ИНН 7802058429 КПП 781401001

24.01.2023 № 22-05-052/23
на № _____ от _____

Заместитель генерального директора
по научной работе
ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова»



Минздрава России,
докт. академик РАН
О. Кудрякин

АКТ

внедрения в научную деятельность результатов диссертационной работы Марьина П.В. в
ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова».

Настоящий акт составлен представителями ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России (далее – Центр) на основании результатов работы, выполненной совместно с Томским политехническим университетом в рамках Соглашения о партнерстве № 15276 от 18.07.2017 г., которое в соответствии с п 2.12 упомянутого Соглашения предполагает формирование условий для эффективной совместной научно-исследовательской и опытно-конструкторской деятельности в интересах Центра в области:

- сердечно-сосудистой хирургии, травматологии, ортопедии и нейрохирургии;
- улучшения биосовместимости и функциональных возможностей медицинских изделий;
- медико-биологических и клинических исследований в рамках компетенции Центра;
- изготовления с учетом имеющихся технических возможностей опытных образцов медицинских изделий с биопокрытиями, а также из биополимеров;

Одной из задач, решаемых в рамках выполнения совместных работ, являлось придание поверхности биорезорбируемых скаффолдов, изготовленных из полимолочной кислоты (ПМК) методом электроспиннинга, гидрофильности, влияющей на цитостатический и терапевтический эффекты. Кроме того, приоритетной задачей было установление механизмов формирования тонкопленочных покрытий на поверхности скаффолдов при их магнетронном модифицировании. При участии Марьина П.В. были разработаны режимы модифицирования поверхности ПМК скаффолдов в плазме магнетронного разряда, возникающего при распылении титановой мишени в атмосфере азота, при малой плотности мощности и различном времени модифицирования. Кроме того, Марьиным П.В. был проведен комплексный анализ результатов рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии и теоритических расчетов методом функционала плотности, в ходе которого были установлены механизмы плазменной деструкции скаффолдов и формирования тонкопленочных оксинитридных покрытий на их поверхности.

По результатам работы изготовлена экспериментальная партия ПМК скаффолдов, проведены исследования *in vitro* до и после процесса плазменного модифицирования, опубликована совместная статья. Разработанные режимы модифицирования позволяют придать ПМК скаффолдам гидрофильность, которая существенно зависит от химического состава покрытия на поверхности скаффолда, а предложенные механизмы формирования тонкопленочных покрытий на их поверхности вносят существенный вклад в фундаментальные знания о взаимодействии плазмы магнетронного разряда с полимерными материалами. Полученные изделия перспективны для применения в области тканевой инженерии для лечения различных заболеваний.

Директор института молекулярной биологии
и генетики, д.м.н.
Руководитель группы
гено-клеточной инженерии, д.м.н.

 Костарева А.А.
 Головкин А.С.

ПРИЛОЖЕНИЕ Б АКТ ВНЕДРЕНИЯ В НАУЧНУЮ ДЕЯТЕЛЬНОСТЬ РЕЗУЛЬТАТОВ ДИССЕРТАЦИОННОЙ РАБОТЫ

Федеральное государственное
бюджетное научное учреждение
«Томский национальный исследовательский
медицинский центр Российской академии наук»



**НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ИНСТИТУТ ОНКОЛОГИИ
(НИИ онкологии)**

Кооперативный пер., д. 5, Томск, 634009
Тел. / факс (3822) 51 10 39 / 51 33 06
E-mail: onco@nims.ru

ОКПО 01895186, ОГРН 1027000861568
ИНН / КПП 7019011939 / 701745014

УТВЕРЖДАЮ»

Директор НИИ онкологии
Томского НИМЦ

д.м.н., проф., академик РАН

Е.Л. Чойнзенов

«31» января 2023 г.



№ 01.01.001.2023 от 31-01-2023

АКТ

о внедрении в научную деятельность результатов диссертационной работы Марины П.В.
в Научно-исследовательском институте онкологии Федерального государственного
бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский
центр Российской академии наук» (НИИ онкологии Томского НИМЦ)

Настоящий акт составлен представителями НИИ онкологии Томского НИМЦ на основании результатов работ, выполненных совместно с Томским политехническим университетом в рамках Соглашения о научно-техническом сотрудничестве № 34921.

В ходе проведения совместных научно-исследовательских работ в области разработки медицинских изделий и материалов было исследовано влияние смеси рабочих газов при магнетронном распылении титановой мишени на морфологию, химический состав и биологические характеристики *in vitro* биорезорбируемых скаффолдов, изготовленных из полимолочной кислоты (ПМК) методом электроспиннинга. Предложенные Мариной П.В. режимы модифицирования позволяют эффективно воздействовать на поверхность ПМК скаффолдов, придавая их поверхности гидрофильные свойства и не приводя при этом к плазменной деструкции. Кроме того, установлено, что модифицирование поверхности скаффолдов в смеси рабочих газов позволяет увеличить пролиферативную активность клеточной культуры фибробластов (3Т3), что является косвенным показателем улучшенного процесса заживления. Оптимальными сочетаниями рабочих газов выбраны азот и аргон (N₂+Ar), а также азот и ксенон (N₂+Xe), поскольку они обеспечивают адгезию наибольшего количества фибробластов при высоком уровне межклеточного взаимодействия. По результатам работы в журнале *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* опубликована совместная статья Maryin Pavel V., Fedotkin Alexander Y., Bolbasov Evgeny N., Kozelskaya Anna I., Buldakov Mikhail A., Evtina Anastasia A., Sberdyntseva Nadezhda V., Rutkowski Sven, Tverdokhlebov Sergei 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; 649: 129464. - 20 September. – DOI: 10.1016/j.colsurfa.2022.129464

Полученные результаты перспективны при создании систем для терапии, реабилитации и восстановления утраченных функций, в состав которых входят нетканые скаффолды – тканеинженерные конструкции, способствующие улучшению регенеративных процессов при восстановлении дефектов мягких тканей, внутренних органов и органов области головы и шеи. В перспективе это позволит обеспечить повышение качества медицинского обслуживания населения.

Заведующий лабораторией
молекулярной онкологии и иммунологии
докт.бiol.наук, проф., член-корр. РАН

Н.В. Чердашева

С.н.с. лаборатории молекулярной
онкологии и иммунологии к.м.н.

М.А. Буддаков

С.н.с. отделения опухолей головы
и шеи, д.м.н.

Д.Е. Кудбакин

ПРИЛОЖЕНИЕ В МЕДИКО-ТЕХНИЧЕСКИЕ ТРЕБОВАНИЯ НА РАЗРАБОТКУ НЕТКАНЫХ ПМК СКАФФОЛДОВ С МОДИФИЦИРОВАННОЙ ПОВЕРХНОСТЬЮ

УТВЕРЖДАЮ
Директор НИИ онкологии
Томского НИМЦ


Е.Л. Чойнзонгов


УТВЕРЖДАЮ
Генеральный директор
ООО «Прогресс4Био»


Д.В. Калчаев
ООО МП
«ПРОГРЕСС4БИО»

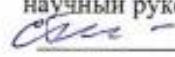

УТВЕРЖДАЮ
Директор ИЯТШ ТПУ


О.И. Долматов
МП


Техническое задание (медиико-технические требования)

**Разработка нетканых биорезорбируемых ПМК скаффолдов (матриц) с
модифицированной поверхностью для регенеративной медицины
мягких тканей**

Руководитель темы:

доцент НОЦ Б.П. Вейнберга НИ ТПУ,
научный руководитель аспиранта
 С.И. Твердохлебов

Ответственный исполнитель
аспирант (соискатель)
НОЦ Б.П. Вейнберга НИ ТПУ
 П.В. Марьин

г. Томск
2022

ПРИЛОЖЕНИЕ Г РЕЗУЛЬТАТ ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ «КОММЕРЧЕСКАЯ ТАЙНА»



Утверждаю
ректор ТПУ

Д.А. Седнев

«12» сентября 2022 г.

ПРОТОКОЛ № 16

от «12» сентября 2022 г.

Экспертная комиссия ТПУ рассмотрела предложение сотрудника ТПУ Твердохлебова С.И., и.о. руководителя лаборатории плазменных гибридных систем, НОЦ Б.П. Вейнберга о включении в состав коммерческой тайны ТПУ сведений о разработке «Режимы модифицирования поверхности биорезорбируемых чемберов различной геометрии, изготовленных из полимолочной кислоты с помощью 3D FDM печати, с целью улучшения их смачиваемости» и о распространении на указанную работу режима «Коммерческая тайна» в связи с наличием в ней научно-технических новшеств, представляющих интеллектуальную собственность, и связанных с экономическими интересами ТПУ.

По результатам рассмотрения экспертная комиссия РЕШИЛА:

1. Определить в качестве объекта ценности страницы описания результата интеллектуальной деятельности (ноу-хау).
2. В соответствии с Положением о коммерческой тайне и конфиденциальной информации ТПУ:
 - 2.1. Установить для данного объекта следующие защитные меры: проставление грифа «коммерческая тайна» на материальных носителях ноу-хау, ограничение допуска сотрудников ТПУ и третьих лиц к материальному носителю ноу-хау, обеспечить сохранность документов, содержащих описание ноу-хау.
 - 2.2. Определить защищаемую документальную среду в следующем составе:
Описание объекта ноу-хау.
 - 2.3. Установить для рассматриваемого объекта порядок документального оформления и контроля в соответствии с требованиями сохранения коммерческой тайны.
3. Допуск к защищаемой среде разрешить следующим лицам:
 1. Твердохлебов Сергей Иванович, и.о. руководителя Лаборатории плазменных гибридных систем и доцент НОЦ Б.П. Вейнберга ИЯТШ ТПУ;
 2. Марьин Павел Владимирович, инженер Лаборатории плазменных гибридных систем (ЛПГС) НОЦ Б.П. Вейнберга ИЯТШ ТПУ;
 3. Ашрафов Андрей Хакимович, инженер Лаборатории плазменных гибридных систем (ЛПГС) НОЦ Б.П. Вейнберга ИЯТШ ТПУ.
4. Срок окончания действия режима «Коммерческая тайна» «7» ноября 2025 г.


Председатель экспертной комиссии

директор ИЯТШ ТПУ

 /Долматов О.Ю./

Члены комиссии

Зам. директора по развитию ИЯТШ ТПУ

 /Ломов И.В./

Заведующий кафедрой - руководитель
отделения ядерно-топливного цикла на правах кафедры
ИЯТШ ТПУ

 /Горюнов А.Г./

ПРИЛОЖЕНИЕ Д АКТ ВНЕДРЕНИЯ В ОБРАЗОВАТЕЛЬНЫЙ ПРОЦЕСС РЕЗУЛЬТАТОВ ДИССЕРТАЦИОННОЙ РАБОТЫ



Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
федеральное государственное автономное
образовательное учреждение высшего образования
«Национальный исследовательский Томский политехнический университет» (ТПУ)

УТВЕРЖДАЮ
Директор ИЯТШ ТПУ
О.Ю. Долматов
«30» 03 2023 г.

АКТ ВНЕДРЕНИЯ

Мы, нижеподписавшиеся, заведующий кафедрой – руководитель научно-образовательного центра Б.П. Вейнберга на правах кафедры, д.ф.-м.н., профессор Кривобоков, профессор научно-образовательного центра Б.П. Вейнберга, д.ф.-м.н., Г.А. Блейхер, доцент научно-образовательного центра Б.П. Вейнберга, к.ф.-м.н., С.И. Твердохлебов, подтверждаем, что результаты диссертационной работы Марьяна Павла Владимировича на тему «Разработка биodeградируемых полимерных скаффолдов с модифицированной поверхностью для восстановления мягких тканей», представленной на соискание ученой степени кандидата технических наук по специальностям 1.3.8 «Физика конденсированного состояния» и 2.2.12 «Приборы, системы и изделия медицинского назначения» используются в учебном процессе Инженерной школы ядерных технологий, НОЦ Б.П. Вейнберга при изучении дисциплины «Пучковое и плазменное модифицирование поверхности», преподаваемой студентам, обучающимся по специальности 14.03.02 «Ядерная физика и технологии».

Заведующий кафедрой - руководитель
НОЦ Б.П. Вейнберга. д.ф.-м.н.

В.П. Кривобоков

Профессор НОЦ Б.П. Вейнберга, д.ф.-м.н.

Г.А. Блейхер

Доцент НОЦ Б.П. Вейнберга. к.ф.-м.н.

С.И. Твердохлебов