Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования Томский политехнический университет

На правах рукописи

Филиппова Екатерина Олеговна

РАЗРАБОТКА ИЗОЛИРУЮЩЕЙ ТРЕКОВОЙ МЕМБРАНЫ НА ОСНОВЕ ПОЛИЭТИЛЕНТЕРЕФТАЛАТА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ БУЛЛЕЗНОЙ КЕРАТОПАТИИ

Специальность: 05.11.17 – Приборы, системы и изделия медицинского назначения

Диссертация на соискание ученой степени кандидата технических наук

> Научный руководитель: д-р физ-мат. наук, профессор В. Ф. Пичугин

Томск - 2017

| ОГЛАВЛЕНИ | ł |
|-----------|---|
|-----------|---|

| ВВЕДЕНИЕ |
|--|
| ГЛАВА І. АНАЛИТИЧЕСКИЙ ОБЗОР 13 |
| 1.1. Буллезная кератопатия 13 |
| 1.2. Консервативные и хирургические способы лечения буллезной |
| кератопатии14 |
| 1.3. Кератотрансплантация: методы кератопластики, материалы, применяемые |
| для пересадки роговицы 15 |
| 1.4. Возможность использования искусственных материалов в |
| кератопластике: органические материалы для изготовления имплантатов 16 |
| 1.5. Полиэтилентерефталат 20 |
| 1.6. Методы изготовления трековых мембран на основе |
| полиэтилентерефталата |
| 1.7. Трековые мембраны на основе полиэтилентерефталата и перспективы их |
| использования в кератопластике |
| 1.8. Методы модификации поверхности полимерных мембран 25 |
| 1.9. Стерилизация полимерных изделий 27 |
| 1.10. Выводы к главе І 29 |
| 1.11. Цели и задачи исследования |
| ГЛАВА II. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ |
| 2.1. Трековых мембран на основе полиэтилентерефталата 32 |
| 2.2. Методика стерилизации мембран: стерилизация в автоклаве, стерилизация |
| гамма – лучами |
| 2.3. Методика воздействия низкотемпературной плазмы на поверхность |
| мембран при атмосферном давлении |
| 2.4. Методика испытания на стерильность ТМ из ПЭТФ со стерилизующим |
| агентом ионизированной плазменной среды |
| 2.5. Методы изучения физических свойств мембран 36 |
| 2.5.1. Электронно-микроскопические методы 36 |
| 2.5.2. Атомная силовая микроскопия |

| 2.5.3. Порометрия исследуемых мембран 37 |
|--|
| 2.5.4. Дифференциальная сканирующая калориметрия |
| 2.5.5. Фазовый анализ и расчет степени кристалличности |
| 2.5.6. Методы оптической спектроскопии 39 |
| 2.5.7. Измерение контактного угла и поверхностной энергии |
| 2.5.8. ИК-спектроскопия |
| 2.5.9. Методы исследования ζ–потенциала трековых мембран |
| 2.5.10. Исследование проницаемости мембран 44 |
| 2.5.11. Методика исследования прочности и механических характеристик |
| трековых мембран на основе ПЭТФ 45 |
| 2.5.12. Трибологические испытания трековых мембран 48 |
| 2.6. Образцы для исследований: плотность и средний диаметр пор исследуемых |
| мембран 50 |
| 2.7. Придание мембране формы определенной кривизны 50 |
| 2.8. Методика исследования цитотоксичности трековых мембран 52 |
| 2.9. Исследование биосовместимости трековой мембраны на основе ПЭТФ in |
| <i>vitro</i> на культуре мезенхимальных стволовых клеток |
| 2.10. Методы статистической обработки экспериментальных данных 55 |
| 2.11. Выводы к главе II |
| ГЛАВА III. ВОЗДЕЙСТВИЕ ИОНИЗИРУЮЩЕО ОБЛУЧЕНИЯ НА |
| СВОЙСТВА И СТРУКТУРУ ПЭТФ ТРЕКОВЫХ МЕМБРАН 57 |
| 3.1. Модификация поверхности трековых мембран низкотемпературной |
| плазмой |
| 3.1.1. Исследование поверхностных свойств модифицированных плазмой |
| трековых мембран |
| 3.1.2. Исследование ζ-потенциала поверхности исходных и |
| модифицированных плазмой трековых мембран |
| 3.1.3. Исследование проницаемости исходных и модифицированных плазмой |
| трековых мембран |

3.3. Выводы к главе III...... 116 ГЛАВА IV. ВЛИЯНИЕ ПРОЦЕССОВ ПАРОВОЙ СТЕРИЛИЗАЦИИ НА

| 4.1. Поверхностные свойства | модифицированных | плазмой | трековых | мембран |
|-----------------------------|------------------|---------|----------|---------|
| после паровой стерилизации | | | | 118 |

4.2. Исследование ζ-потенциала поверхности трековых мембран после паровой Исследование кристалличности трековых мембран после паровой 4.3. 4.4. Исследование проницаемости трековых мембран после паровой 4.5. Сравнительные исследования оптических свойств трековых мембран после паровой стерилизации...... 133 Механические характеристики трековых мембран после паровой 4.6. 4.7. Трибологические испытания трековых мембран после паровой 4.8. Выволы к главе IV...... 139 ГЛАВА V. МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ ТРЕКОВЫХ МЕМБРАН В ЛЕЧЕНИИ БУЛЛЕЗНОЙ КЕРАТОПАТИИ 141 5.1. Определение цитотоксичности ПЭТФ трековых мембран...... 141 5.2. Результаты изучения биосовместимости трековых мембран из ПЭТ Φ in 5.3. Результаты применения плазменной стерилизации трековых мембран... 146 5.4. Биосовместимость разработанной изолирующей трековой мембраны на 5.5. Выводы к главе V..... 151 5.6. Требования к параметрам синтетических трековых мембран на основе полиэтилентерефалата и рекомендации по их применению в хирургическом лечении буллезной кератопатии 152 Перечень принятых сокращений 156 ПРИЛОЖЕНИЕ І Экспериментальные исследования биосовместимости разработанной изолирующей трековой мембраны на основе ПЭТФ *in vivo* 180

ВВЕДЕНИЕ

Буллезная кератопатия является тяжелым, трудно поддающимся лечению прогрессирующим заболеванием, и наиболее распространенной причиной корнеального слабовидения на территории Российской Федерации. В патогенезе буллезной кератопатии ведущую роль играет несостоятельность барьерной функции слоя клеток эндотелия, что ведет к пропитыванию внутриглазной жидкостью стромы с постепенным распространением отека на всю толщу роговой оболочки с образованием пузырей на поверхности, из-за чего нарушается прозрачность роговицы, снижается острота зрения и появляется выраженный болевой синдром.

При лечении буллезной кератопатии широко используются консервативные и хирургические методы, использование которых не всегда обеспечивает высокие и стабильные клинико-функциональные результаты. Одним из перспективных буллезной направлений В кератопатии лечении является применение полупроницаемых мембран, способных к нормализации движения жидкости в роговичной ткани и поддержанию роговицы в слабо дегидрированном состоянии. Попытки использования полупроницаемых трековых мембран (TM) на основе полиэтилентерефталата (ПЭТФ) в качестве эксплантодренажа в хирургии некоторых форм вторичной глаукомы были предприняты ранее (П.Ю. Апель, Л.И. Кравец).

ТМ на основе ПЭТФ, получение которых подробно описано в работах Г.Н. Флерова, П.Ю. Апеля, R.L. Fleischer, D. Karl, P.B. Price, R.M. Walker, R. Spohr, представляют особый интерес и в хирургическом лечении буллезной кератопатии. Их способность обеспечивать избирательную проницаемость жидкости может предотвратить излишнюю гидратацию роговицы и поддерживать в ней обменные процессы. Это и определило цель и задачи работы.

Целью диссертационной работы является разработка изолирующей трековой мембраны на основе полиэтилентерефталата, как имплантатов в хирургическом лечении буллезной кератопатии.

В соответствии с целью диссертационной работы поставлены следующие задачи.

1. Разработать медико-технические требования, предъявляемые к имплантатам, используемым в кератопластике и определить возможность использования ТМ из ПЭТФ в лечении буллезной кератопатии.

2. Исследовать морфологию поверхности, структуру и физикомеханические характеристики мембран из ПЭТФ, определить их функциональные характеристики: оптические, механические, смачиваемость, поверхностную энергию, транспортные свойства, биологическую совместимость.

3. Изучить влияние воздействия внешней среды и внешних факторов на топографию поверхности, структуру и транспортные свойства мембран: воздействие низкотемпературной плазмы, стерилизации γ–облучением и автоклавированием.

4. Провести экспериментальные исследования биосовместимости и цитотоксичности разработанной изолирующей мембраны на основе ПЭТФ *in vitro*.

5. Провести исследование стерилизационного эффекта низкотемпературной атмосферной плазмы при её воздействии на поверхность трековых мембран из ПЭТФ.

6. Определить требования к параметрам синтетических мембран медицинского применения, установить возможность использования ПЭТФ трековых мембран при хирургическом лечении буллезной кератопатии.

7. Изготовить прототип имплантата и провести исследования in vivo.

Научная новизна работы

1. Показано, что стерилизация низкотемпературной атмосферной плазмой при режиме обработки 30 секунд оказывает наименьшее деструктивное действие на трековые мембраны из ПЭТФ по сравнению с воздействием γ–лучами и автоклавированием, а также придает материалу гидрофильность за счет увеличения (в 4 раза) полярности поверхности, стабильно сохраняющуюся в течение 21 дня хранения.

2. Установлено, что у-стерилизация в малых стерилизационных дозах (1 кГр и 10 кГр) и паровая стерилизация в температурных режимах 120°С и 130°С топографии поверхности TM, приводят к изменениям образованию микродефектов γ–стерилизации, овальной формы макродефектов при поверхности мембраны при автоклавировании, изменению механических свойств материала.

3. Установлено, что низкотемпературная атмосферная плазма обладает стерилизующей способностью при режимах обработки образцов по 30, 60 и 90 секунд.

4. Установлено, что имплантация ТМ из ПЭТФ в строму роговицы при буллезной кератопатии способствует стабилизации патологического процесса в роговой оболочке.

Практическая значимость работы. Разработанная изолирующая трековая мембрана на основе полиэтилентерефталата способствует нормализации движения жидкости в роговичной ткани и поддержанию роговицы в слабо дегидрированном состоянии и может быть использована в качестве роговичного имплантата для барьерной кератопластики в лечении буллезной кератопатии. Разработанный способ щадящей стерилизации ΤM путем воздействия низкотемпературной атмосферной плазмы позволяет достичь необходимого бактерицидного эффекта, придать необходимые физико-химические свойства ТМ и может быть рекомендован к апробации в качестве стерилизующего агента в клинических условиях.

Методы исследования. Методами исследования физико-химических свойств ТМ из ПЭТФ являлись: сканирующая электронная и атомная силовая микроскопия, порометрия, дифференциальная сканирующая калориметрия, рентгенофазовый анализ И расчет степени кристалличности, измерение контактного угла и поверхностной энергии, ИК-спектроскопия, исследование ζпотенциала поверхности, проницаемости мембран; были использованы, также, методы оптической спектроскопии и исследования механических характеристик TM.

Медико-биологическое обоснование применения трековых мембран в лечении буллезной кератопатии было проведено с использованием методик исследования на цитотоксичность и биосовместимость TM *in vitro* и на биологических моделях в экспериментах *in vivo*.

Статистическая обработка данных проводилась с применением программы «IMB SPSS Statistics 23».

Личный вклад автора состоит в постановке цели диссертации, участие в разработке задач, проведении экспериментальных исследований, обработке полученных результатов, разработке требований к параметрам ТМ на основе ПЭТФ и рекомендаций по их применению при хирургическом лечении буллезной кератопатии, формулировке выводов и положений, выносимых на защиту, подготовке публикаций по теме работы.

Достоверность. Достоверность результатов обеспечена корректностью поставленных задач. ИХ физико-технической И медико-биологической обоснованностью, современных использованием методов исследования, стандартного оборудования, большим массивом экспериментальных данных и их обработкой, статистической сопоставлением полученных результатов с литературными данными.

На защиту выносятся следующие положения:

1. Воздействие γ -облучения изотопа ⁶⁰Со в стерилизационных дозах на трековые мембраны из ПЭТФ приводит к существенным изменениям их поверхностных свойств: появлению дефектов поверхности со средним размером 0,5 мкм, глубиной 0,4 ± 0,2 мкм; изменению механических характеристик: уменьшению удлинения при разрыве на 33%, модуля Юнга на (11 – 15)%, относительного предела текучести на (62 – 63)%, напряжения при растяжении на (46 - 49)%.

2. Воздействие низкотемпературной атмосферной плазмы приводит к изменению химического состава и реконструкции поверхности трековой мембраны, заключающейся в 9-ти кратном увеличении параметра шероховатости, формировании многочисленных деструктивных областей, увеличению (более чем

в 4 раза) поверхностной энергии за счет роста полярной составляющей, росту гидрофильности ТМ; последующее γ–облучение дозой 1 кГр приводит к снижению количества деструктивных областей и параметров шероховатости на 47% – 77%.

3. Низкотемпературная атмосферная плазма (плотность мощности – 2 Вт/см²) обладает стерилизующей способностью в режимах обработки образцов по 30, 60 и 90 секунд и может применяться в качестве стерилизующего агента для трековых мембран из ПЭТФ, требующих щадящего стерилизационного режима.

4. Изолирующая трековая мембрана из ПЭТФ толщиной 8 мкм с параметрами: диаметр пор 5 мкм, плотность 5×10^8 см⁻², проницаемость по воде 5 мл/мин·см² при p = 0,1 бар; краевой угол смачивания $(30 - 40)^\circ$, поверхностная энергия (120 – 130) мДж/м², заряд поверхности – отрицательный, подвергнутая воздействию плазмы атмосферного давления в течение 30 с и последующему γ – облучению дозой 1 кГр, при имплантации в строму роговицы *in vivo* при буллезной кератопатии уменьшает степень гидратации стромы роговой оболочки и способствует стабилизации патологического процесса.

Реализация и внедрение результатов работы. Результаты работы внедрены в учебный процесс кафедры офтальмологии в разделе «Патология роговицы» ФГБОУ ВО СибГМУ.

Апробация работы. Основные результаты диссертационной работы были доложены и обсуждены на международной конференции Second International Conference on Radiation and Dosimetry Fields of Research – г. Ниш, Сербия (2014), VII Международной научно-практической конференции «Физико-технические проблемы в науке, промышленности и медицине» – г. Томск (2015), XII Международной конференция студентов и молодых ученых «Перспективы развития фундаментальных наук» – г. Томск (2015, 2016), Научная конференция офтальмологов «Невские горизонты – 2016» – г. Санкт-Петербург (2016), 10-й международной конференции «Ядерная и радиационная физика» – Курчатов (Казахстан, 2015), Всероссийской научной конференции с международным участием «Сопряженные задачи механики реагирующих сред, информатики и экологии» – г. Томске (2016), юбилейной научно-практической конференции, посвященной 20-летию курса офтальмологии ФПК и ППС СибГМУ «Современные технологии диагностики и лечения заболеваний органа зрения» – г. Томск (2014).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 19 работ. Из них 5 статьи в научных журналах, входящих в перечень рецензируемых научных журналов и изданий, 3 статьи в зарубежных изданиях, входящих в базу Scopus.

Структура и объем диссертационной работы. Работа состоит из введения, пяти разделов, заключения и списка литературы из <u>219</u> наименований и трех приложений. Всего <u>179</u> страниц машинописного текста, включая <u>95</u> рисунка и <u>20</u> таблиц.

ГЛАВА І. АНАЛИТИЧЕСКИЙ ОБЗОР

1.1. Буллезная кератопатия

На территории Российской Федерации насчитывается более 500 тысяч слабовидящих и слепых [1], среди которых около 18% приходится на пациентов с патологией роговицы [1, 2].

Буллезная кератопатия является тяжелым, прогрессирующим заболеванием роговицы, связанным с декомпенсацией эндотелиального слоя клеток [3, 4, 5, 6, 7]. После повреждения эндотелия и утраты им функции полупроницаемой мембраны между стромой роговицы и влагой передней камеры, постепенно развивается отек стромы роговой оболочки (см. рис. 1.1, 1.2).



Рисунок 1.1 – Патогенез развития буллезной кератопатии.



Рисунок 1.2 – Отек и булла роговой оболочки больного с буллезной кератопатией.

В дальнейшем влага передней камеры проникает под эпителий и отслаивает его с развитием пузырей и рецидивирующих эрозий роговицы, вызывающих мучительные для пациента болевые ощущения, светобоязнь и слезотечение (см. рис. 2) [8, 9, 10, 11, 12].

Частота возникновения эпителиально-эндотелиальной дистрофии роговицы или буллезной кератопатии остается достаточно высокой [13, 14, 15, 16]. Так, несмотря на опыт применения хирургии малых разрезов, совершенствование микрохирургической техники, появление гибких интраокулярных линз (ИОЛ) и новых вискоэластиков, при экстракции катаракты с имплантацией заднекамерной ИОЛ, буллезная кератопатия развивается в (0,1 – 11,3)% случаев, а при имплантации переднекамерной ИОЛ – до 14%. По данным ряда авторов, частота буллезной кератопатии, после офтальмологических как осложнение вмешательств, в целом составляет от 0,6% до 13% [17, 18]. На территории г. Томска И Томской области распространенность буллезной кератопатии составляет: 2007 год - 0,76 %, 2008 год - 0,89%, 2009 - 0,9%, 2010 - 1,03%, 2011 -0,89%, 2012 – 0,65%, 2013 – 1,11%, среди всех патологии органов зрения при стаже заболевания у большинства больных – 4 года [18]. В связи с этим проблема профилактики развития и лечения буллезной кератопатии остается чрезвычайно актуальной.

1.2. Консервативные и хирургические способы лечения буллезной кератопатии

Существующие на современном этапе методы лечения буллезной кератопатии условно делятся на консервативные и хирургические. Выбор метода лечения буллезной кератопатии зависит от стадии патологического процесса [19, 20].

Консервативные методы включают применения различных фармакологических, кератопластических, гиперосмотических, слезозамещающих, антиоксидантных средств, а также лечебных мягких контактных линз, лазерного излучения и так далее [21, 22]. Однако консервативное лечение буллезной кератопатии является недостаточно эффективным, так как обеспечивает лишь кратковременный положительный результат [23 – 27] и не в состоянии восстановить нарушенную барьерную функцию эндотелия роговицы.

Значительно более эффективными являются хирургические методы, которые условно подразделяются на нетрансплантационные и трансплантационные, последние из которых являются патогенетически наиболее обоснованными [28].

1.3. Кератотрансплантация: методы кератопластики, материалы, применяемые для пересадки роговицы

Трансплантационные методы кератопластики подразделяются на четыре группы в зависимости от техники проведения: сквозные (удаление всех слоев роговицы), послойные (удаление передних или задних слоев роговицы реципиента на определенную глубину), послойно-сквозные (удаление слоев роговицы передней и задней ее частей разного диаметра) и межслойные (расслаивание слоев роговицы и помещение в расслоенный «карман» трансплантата) [29, 30].

В зависимости от характера пересаживаемого материала различают: аутотрансплантацию (пересадка тканей и органов в пределах одного организма), изотрансплантацию (пересадка органов И тканей между организмами, отношении (однояйцовые близнецы), идентичными В генетическом аллотрансплантацию (пересадка органов и тканей между организмами одного вида), ксенотрансплантацию (пересадка органов и тканей между организмами разных видов), эксплантацию (пересадка небиологического субстрата) и комбинированную пластику (пересадка тканей и небиологического субстрата) [31].

Однако среди всех существующих видов кератопластики наиболее обоснованным хирургическим способом лечения буллезной кератопатии является сквозная аллотрансплантация, включающая в себя пересадку донорской

роговицы, взятую у умершего человека и являющуюся единственной тканью, способной прижиться прозрачно и возвратить зрение больному. Получение качественного донорского материала для сквозной кератопластики было и остается одной из кардинальных проблем в пересадке роговицы во всем мире [32, 33].

Осуществление трансплантации является сложным и в юридическом и в медицинском плане мероприятием. Согласно статье 4 Закона Российской Федерации от 22 декабря 1992 г. N 4180-1 "О трансплантации органов и (или) тканей человека" забор и заготовка органов, а также их трансплантация может осуществляться только в государственных и муниципальных учреждениях здравоохранения, утверждённых федеральным органом исполнительной власти [34]. В перечень разрешенных организаций по осуществлению кератоплатики с донорских (трупных) использованием материалов включены три офтальмологических центра (по данным 2015 года), расположенных на территории г. Москвы, г. Омска, г. Самары. Таким образом, исключается возможность проведения замещения роговичных лоскутов донорскими тканями на территории государственных и муниципальных учреждении других городов, тем самым пациенты с буллезной кератопатии лишаются возможности оказания подобного вида помощи [35].

Это способствует поиску и разработке искусственных материалов полимерного происхождения для использования в кератопластике в качестве имплантатов.

1.4. Возможность использования искусственных материалов в кератопластике: органические материалы для изготовления имплантатов

Разработка искусственных материалов по замещению роговичных лоскутов ведутся на протяжении последних пятидесяти лет. Одну из первых интрастромальных имплантаций искусственных материалов – линз из целлоидина была выполнена группой ученых во главе с Barraquer J. в 1966 г., однако из-за выраженной неоваскуляризации и помутнения роговой оболочки целлюлоидные линзы не нашли своего применения в офтальмологии [36]. Годом позже, советскими офтальмологами была проведена серия экспериментов по имплантации синтетических материалов в строму роговицы, результаты которых привели авторов на мысль, что во избежание асептического некроза и экструзии имплантата необходимо производить глубокую стромальную кератопластику [37].

Идею имплантации полимерных материалов в глубокие слои роговицы поддержали офтальмологи под руководством И.В. Морхата в 1976 – 80 гг. Ученые, проводя исследования по интастромальной имплантации линз из пластмассы АКР–7 диаметром (6 – 7) мм и толщиной (0,5 – 1,0) мм, пришли к выводу, что ареактивное пребывание в роговице имеют имплантаты с меньшим диаметром [38, 39].

В это же время, группа ученых под руководством С. Dohlman, M. Refojo предложили использовать глицерил-метакрилатные диски с 68% содержанием воды для интракорнеальной имплантации [40, 41]. Согласно полученным в ходе исследований результатам, в раннем послеоперационном периоде из 25 глаз с пересаженными дисками 13 были с асептическим некрозом надлежащей стромы со сроками наблюдения 3,5 месяца. Однако в более поздних сроках (до 6 месяцев) некротических явлений выявлено не было. Согласно гистологическому заключению строма вокруг имплантируемого диска наблюдалась плотнее, умеренная воспалительно-регенераторная выявлялась реакция основного вещества.

Советскими офтальмологами в период 1970 – 72 гг. была произведена серия экспериментов по имплантации в строму роговицы линз из оргстекла [42, 43]. Ареактивность материала, возможность использования диоптрийных линз натолкнуло авторов на мысль о создании имплантатов в форме кольца для ослабления рефракции. Кольца положительной диоптрийности, выполненных из оргстекла, с внутренним и внешним диаметрами 4 мм и 6 мм или 5 мм и 7 мм

соответственно были применены в качестве кератоимплантатов и показали свою высокую эффективность в ослаблении рефракции.

c B.E. Группа ученых BO главе McCarey В исследованиях по интракорнеальной имплантации полимерных материалов получили хорошую биосовместимость тканей на гидрогелевые линзы, однако, несмотря на тканевую переносимость, достигнутый рефракционный эффект был слабым, нестабильным и малопрогнозируемым [44, 45, 46]. Подобные результаты были получены Р. Binder [47] и М. McDonald с соавт. в 1981 г. [48]; Т. Werblin в 1983 г. [49]. В 2007 способы лечения Г., изучая хирургические кератоконуса, российскими офтальмологами во главе с З.И. Мороз было предложено использовать сегментов из сополимера коллагена [50, 51]. Материал показал высокую биосовместимость с роговичной тканью, низкую инертность, пластичность, что способствовало получению положительных результатов. Из осложнений были отмечены случаи экструзии концевого отрезка сегмента в разрез, отложения на полимере в тканях роговицы, а также отмечена чрезмерная «мягкость» материала и, как следствие, затрудненная имплантация.

Из всех когда-либо используемых материалов для интракорнеальной привлекательным имплантации самым оказался полиметилметакрилат, применённый впервые W. Stone, E. Herbert в 1953г. [52, 53], зарекомендовавший себя также и в качестве интраокулярных линз для коррекции афакии. Он выгодно отличался от других по целому ряду параметров: материал показал высокую биосовместимость с роговичной тканью, был нетоксичен, имел малый вес и рефракционный индекс, близкий к роговичному; ПММА оказался удобен и с практической точки зрения: достаточно пластичен, лёгок в обработке, плотен в отличие от силикона и гидрогеля, но одновременно очень упруг и пластичен по сравнению с оргстеклом, пластмассами и полисульфонами. Недостатком всех ранее используемых методов интрастромальной кератопластики было то, что зона операции затрагивала центр роговицы с имплантацией в неё экзогенного материала.

Однако все выше перечисленные используемые полимерные материалы не нашли своего клинического применения в лечении буллезной кератопатии. Наиболее значимые работы в использовании полимерных материалов для лечения БК можно выделить следующие.

В 1997 году М.М. Дронов и В.С. Каранов в качестве роговичного трансплантата в лечении буллезной кератопатии предложили желатиновую пленку толщиной 3 – 5 мкм [54]. Пленку готовили из желатина (ПО "ТАсма", дубления его NNN"N" тетраизопропорксиметилдиамидом Казань) путем малоновой кислоты (ЛИКИ – 19). Для этого в 3%-ный водный раствор желатина вводили 0,8 – 1,24 [55] ЛИКИ–19. Пленки толщиной (3 – 6) мкм создавали на подложке миллипорового фильтра "Владипор", используемого в качестве опоры. После высушивания в течение 40 минут на открытом воздухе при температуре 20°С и относительной влажности 65% подложки помещали в 70% этанол для стерилизации и длительного хранения. Приготовленные пленки обладали нужной прозрачностью и характеризовались температурой плавления выше 100°С адгезионной прочностью к стеклянной подложке на уровне 300 г (по Дерстуганову) [54]. Путем послойной кератопластики выкроенную трепаном пленку укладывали на роговичное ложе вместе с роговичным лоскутом и фиксировали швами 10-00. Недостатками способа являлось его трудоемкость, связанная с необходимостью наложения значительного количества швов, что часто приводила к формированию индуцированного астигматизма роговицы.

И.Б. Дружинин в 2009 году предложил использовать гидрогелевый диск в целях осуществления барьера между влагой передней камеры и тканями роговицы для лечения буллезной кератопатии [56]. После имплантации гидрогелевого диска края роговичного тоннельного разреза самогерметизировались. Недостатками метода являлись техническая сложность оперативного вмешательства, а также высокая гидрофильность имплантируемого материала, который в силу физикохимических характеристик не был способен уменьшить или предотвратить излишнюю гидратацию стромы роговицы, а также относительно большая толщина имплантируемого диска – 0,1 мм. Таким образом, в ходе изучения проблемы лечения буллезной кератопатии и анализа литературных источников по применению полимерных материалов в кератопластике, можно сделать вывод, что имплантаты, выполненные на основе полимерных мембран, весьма перспективны для использования в кератопластике.

В связи с этим возникли вопросы выбора полимерного материала в качестве основы мембраны и метода создания пористой структуры мембраны.

1.5. Полиэтилентерефталат

Полиэтилентерефталат $(\Pi \exists T \Phi)$ – полимер, представитель класса полиэфиров, широко используемый в пищевой, химической промышленности, машино- и приборостроении, бытовой технике, электро- и радиотехнике [57, 58, 59]. Из-за высокой биосовместимости и хороших механических свойств [60], ΠЭΤΦ используется в медицине (шовный материал, система доставки лекарственных препаратов, сухожилий, заместитель поддержка ДЛЯ [61]. культивирования клеток) ПЭФТ используется в аортокоронарном шунтировании [62], клеточно-тканевой инженерии [62, 63] и офтальмологии [64].

ПЭТФ (более известный как ПЭТ или лавсан) представляет собой сложный термопластичный полиэфир терефталевой кислоты и этиленгликоля (см. рис. 1.3).



Рисунок 1.3 – Химическая формула ПЭТФ ($C_{10}H_8O_4$)п.

Это твёрдое вещество белого цвета без запаха, прочный, жёсткий и лёгкий материал. Основные физические свойства ПЭТФ представлены в таблице 1.1.

| Свойства | Значения | |
|--|-------------|--|
| Плотность, ρ (кг/м ³) | 1360 - 1400 | |
| Диэлектрическая постоянная (23 °С, 1 кГц) | 3,25 | |
| Температура стеклования (аморфный/кристаллический), Т _g , | 67/80 | |
| (°C) | | |
| Температура кристаллизации, Т _с , (°С) | 150 | |
| Температура плавления, Т _λ , (°С) | >250 | |
| Энтальпия кристаллизации, ΔH (Дж/г) | 140 | |
| Показатель преломления (линия Na): аморфный / | 1,57/1,64 | |
| кристаллический | | |
| Предел прочности при растяжении, (МПа) | 172 | |
| Модуль упругости, (ГПа) | 2,5-3,0 | |
| Относительное удлинение при разрыве, % | 2-4 | |
| Твердость по Бринеллю, (МПа) | 100 - 120 | |

Таблица 1.1. Физическо-химические свойства ПЭТФ [65, 66, 67, 68].

ПЭТФ существует в виде кристаллической (используется при изготовлении тар для пищевых продуктов и лекарственных препаратов) и аморфной (в ΠЭΤΦ производстве волокон И пленок) фаз. В аморфном состоянии характеризуется взаимным беспорядочным расположением цепей макромолекул с единичными отдельными образованиями упорядоченной структуры и придает полиэфиру прозрачность [69]. Кристаллическое состояние ПЭТФ характеризуется наличием в материале кристаллитов – сложенных пучков макромолекул в виде складчатых пачек (см. рис. 1.4).



Рисунок 1.4 – Схема кристаллической структуры ПЭТФ [70].

Благодаря широкому спектру свойств ПЭТФ нашел свое применение в изготовлении трековых мембран.

1.6. Методы изготовления трековых мембран на основе полиэтилентерефталата

В 1962 г. было установлено, что тяжелые заряженные частицы и осколки деления атомных ядер создает в диэлектрических материалах сплошные структуры, протяженные дефекты называемые треком, который после специальной химической обработки становятся видимыми. Этот эффект стал основой для применения в качестве трековых детекторов ядерных частиц таких диэлектрических материалов как слюда, стекло, природные минералы, а также синтетические полимеры. В тоже время стало ясно, что треки ядерных частиц, после соответствующего химического травления можно использовать для перфорации тонких пленок материала с целью получения фильтров с заданной геометрической формой пор, контролируемыми плотностью и размерами пор. С этого времени ядерные частицы попали в арсенал инструментов, которые используются для создания мембран [71, 72, 73, 74].

Особую роль в создании современной технологии трековых мембран сыграли ученые из Лаборатории ядерных реакций Объединенного Института Ядерных исследований (г. Дубна) под руководством академика Г.Н. Флерова. Итогом научно-исследовательских и конструкторских работ, проведенных в Лаборатории ядерных реакций, стало производство трековых мембран на территории Российской Федерации с использованием ускорителей тяжелых ионов.

Процесс формирования трека тяжелого иона в полимерном материале является комплексным физико-химическим процессом. Согласно многочисленным работам, посвященным механизму создания трековых структур, выделяют несколько стадий формирования трека. На первой стадии тяжелый ион, проходя через вещество и взаимодействуя с электронами материала, передает часть своей кинетической энергии, ионизируя и возбуждая при этом атомы среды взаимодействия. Вторичные электроны в ходе прохождения тяжелого иона образуют радиационные дефекты в сердцевине трека – зоне наибольшей концентрации возбужденных и ионизированных атомов. Степень разрушения в оболочке и в сердцевине трека различны, так как ковалентные связи основной цепи и боковых групп полимерного материала рвутся, тем самым формируя меньшую плотность материала в сердцевине трека на 10% [75, 76], что определяет избирательность травления. Свободный объем, образующийся вдоль траектории прошедшего иона, способствует проникновению химического реагента и ускоряет реакцию химической деструкции сегментов молекул и образованию новых химических связей. Таким образом, необлученные области полимера травятся медленнее, чем поврежденный материал. В работе [77] приводятся данные, что этот эффект обусловлен сшиваем молекул на расстоянии 10 – 50 нм от оси трека.

Травление – взаимодействие жидкой агрессивной среды с полимерным телом с последующей реакцией химической деструкцией макромолекул является сложным многоступенчатым процессом, включающим различные фазы [78]: диффузия активного вещества к поверхности полимера, адсорбция активного компонента на поверхности, проникновение активного компонента, химическая реакция активного компонента с полимером, диффузия продуктов деструкции к поверхности полимера, десорбция продуктов с поверхности. В сложноэфирных полимерах, в том числе в полиэтилентерефталате, протекает химическая реакция взаимодействия травителя (водный раствор гидроксида щелочных металлов) с разрывом сложноэфирных связей, отщеплением молекул этиленгликоля и терефталат-иона с образованием на поверхности карбоксильной и гидроксильной определяющие отрицательный электрический заряд группы, поверхности материала. В целях увеличения избирательности травления треков используют метод фотоокисления продуктов радиолиза В треках действием под ультрафиолетового (УФ) излучения. Это позволяет повысить избирательность в десятки раз [79].

Как правило, для формирования латентных треков используют ионы Xe, Kr, Ne, имеющие большую удельную потерю энергии (МэВ/мкм) [76], однако

проведенные исследования [80] показали возможность использования более легких ионов – 40 Ar $^{+8}$, способных формировать сквозные треки в ПЭТФ толщиной (10 – 15) мкм.

1.7. Трековые мембраны на основе полиэтилентерефталата и перспективы их использования в кератопластике

Одной из первых работ по применению трековых мембран в офтальмологии является труд самарских офтальмологов совместно с учеными из Объединенного Института Ядерных Исследований под руководством П.Ю. Апель, Л.И. Кравец [81]. Трековые мембраны из ПЭТФ с модифицированной в плазме поверхностью были применены в качестве эксплантодренажа в хирургии некоторых форм вторичной глаукомы. Апробация материала была проведена на 30 кроликах породы Шиншилла и 134 пациентах с вторичной глаукомой (разрешение на проведение клинических исследований №01-26718/06 от 28.12.2009). Согласно результатам, разработанный дренаж не обладает местно-раздражающим, сенсибилизирующим действием и соответствует требованиям, предъявляемым к изделиям, постоянно контактирующим с внутренней средой глаза [82]. Однако хирургия роговицы имеет свои особенности, отличающиеся от хирургии глаукомы [83] и опирающиеся на анатомическое строение и физиологию роговой оболочки.

Обменные процессы в роговой оболочке замедлены и осуществляются за счет влаги передней камеры и сосудов перикорнеальной петлистой сети, расположенной вокруг роговицы [84].

Таким образом, материал для корнеального имплантата должен быть способен для избирательной проницаемости жидкости в целях поддержания обменных процессов роговой оболочки, что может осуществлять мембрана полимерного типа. Однако, исходные физико–химические свойства материала, такие как смачиваемость и свободная энергия поверхности, могут не позволять реализовать проницаемость мембраны, что стимулирует на поиск методов модификации поверхности имплантата [85].

1.8. Методы модификации поверхности полимерных мембран

Одним из наиболее перспективных и современных методов модификации поверхности полимерных материалов является воздействие низкотемпературной плазмы, позволяющее изменять свойства поверхности полимеров в достаточно широких пределах [86, 87]. Преимуществом воздействия плазмы является то, что благодаря малой глубине проникновения активных частиц плазмы в материал изменяются свойства тонкого поверхностного слоя мембраны, не меняя, при этом, его объемные свойства [88], что является критичным, с позиций сохранения механических и физико-химических свойств имплантата.

В последнее время появилось множество работ, посвященных исследованию влияния низкотемпературной плазмы на свойства полимерных материалов, в том числе и мембран [89, 90, 91].

В работе [92] приводятся результаты исследования воздействия импульсной плазмы атмосферного давления на морфологические и химические свойства ряда полимерных материалов: полиоксиметилен ко-полимер, поликарбонат, полипропилен, полиэтилен малой плотности, полиэтилентерефталат, полистирен, силиконовая резина. Показано, что взаимодействие поверхности с азотной или азотсодержащей плазмой приводит к образованию азотсодержащих групп в поверхностном слое полимера в форме имидных и уретанных групп, что повышает биосовместимость поверхности, увеличивая смачиваемость. Данные работы [93], в которой исследуется влияние низкотемператерной плазмы атмосферного давления на свойства поверхности пленок полипропилена и политерефталата, а также работы [94], в которой приводятся результаты действия свойства на непредельных каучуков, показывают значительную плазмы гидрофилизацию поверхности материалов, сохраняющуюся В течение длительного времени (до 120 суток). Гидрофилизация поверхности материала

после плазменного воздействия связана в первую очередь с изменением его химической структуры, а также с образованием на поверхности и в приповерхностном слое избыточного поверхностного заряда.

Низкотемпературная атмосферная плазма является источником активных веществ, таких как радикалы, возбужденные и заряженные частицы, фотоны, и способна реализовать не только изменения поверхностных свойств без существенной тепловой нагрузки материала, но и обеспечивать стерилизационный эффект [95].

Микроразряды, возникающие в барьерном разряде, инициируют протекание химических реакций: диссоциацию молекул кислорода на атомы с образованием озона и соединений азота:

$$e + O_2 = O + O + e; O + O_2 + O_2 \rightarrow O_3 + O_2$$

NO + O₃ \rightarrow NO₂ + O₂; NO₂ + O₃ \rightarrow NO₃ + O₂ (1.1)

Данные рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии $(P\Phi \exists C),$ воздействия представленные работе [96], показывают, что результат В атмосферной плазмы на поверхность ПЭТФ комплексный: 1) с одной стороны, уменьшается количество С=С и С=О групп, а также количество бензольных групп в результате воздействия гелиевой (Не) плазмы, что свидетельствует о возможном разрыве цепи ПЭТФ по связям "висячих" ароматических групп; 2) с другой стороны, под воздействием плазмы, на поверхности формируются аминные (Сангидридные (О=С-О-С=О) гидрофильные N), карбонильные (C=O) И функциональные группы, а также комплексы углерод – кремний (C–Si) [96, 97]. В результате воздействия плазмы растет поверхностная энергия, увеличивается гидрофильность и шероховатость поверхности ПЭТФ. Подобного рода эффекты характерны как для плазмы высокочастотного, так и микроволнового разряда [96]. В работе [98] ПЭТФ подвергался воздействию комбинированной плазмы (10%) азота и 90% гелия) и УФ-света, в результате чего наблюдались типичные для плазменного воздействия эффекты: разрыв С-С/С-Н связей, присутствующие в полимере, с последующим их заполнением кислородом и азотом атмосферы, счет полярной составляющей и возрастание поверхностной энергии за

гидрофильности. В работе [99] приводятся результаты сравнительного исследования влияния плазмы различного типа (рабочий газ либо кислород O₂, либо азот N₂) на свойства поверхности ПЭТФ. В качестве основного метода анализа использовалась ИК–спектроскопия. Плазменное воздействие приводит изменению спектров ИК–оптического поглощения: уширение полосы при 1710 нм, обусловленной валентными колебаниями С=О. Кроме того, приводятся данные о стерилизующем эффекте низкотемпературной плазмы и возможности ее использования в качестве стерилизующего агента [100].

1.9. Стерилизация полимерных изделий

Дезинфекция, как метод уничтожение патогенных микроорганизмов, является профилактикой внутрибольничных инфекций и продолжает оставаться одной из актуальных проблем современного здравоохранения.

При несоблюдении режимов дезинфекции изделия медицинского назначения могут являться факторами передачи возбудителей внутрибольничной инфекции бактериальной и вирусной природы, а также служить фактором передачи патогенных грибов и простейших. В связи с этим, все инструменты и изделия медицинского назначения должны подвергаться стерилизации.

В время существует множество дезинфекции настоящее методов наиболее лечебномедицинских изделий, среди которых широко В профилактических учреждениях используется паровой метод (автоклавирование) и стерилизация ионизирующим облучением.

Паровой метод широко распространен в клинической медицине благодаря своей надежности и высокой эффективности. Горячий пар под давлением обладает спороцидным действием, глубоко проникая в стерилизуемые материалы, что позволяет стерилизовать изделия в упаковке и предотвращаеть опасность реинфицирования медицинских материалов.

Однако, при определенных условиях пар превращается в конденсат, что вызывает коррозию инструментов, ухудшает условия хранения изделий,

способствует изменению свойств материалов полимерного происхождения, в связи с чем применение парового метода стерилизации проблематично для оптических инструментов и полимеров. Однако повсеместная доступность и широкое распространение этого метода способствуют пренебрежению ограничениями использования автоклавирования для полимерных медицинских изделий.

Лучевая стерилизация является альтернативой паровой и применяется в тех случаях, когда стерилизуемые предметы не выдерживают высокой температуры. Данный вид стерилизация позволяет обрабатывать сразу большое количество предметов благодаря возможности широкомасштабной И стерилизации, применение этого метода вполне оправдано, несмотря на его экологическую высокую стоимость. Кроме того, полимерные опасность И материалы медицинского назначения, в том числе материалы из ПЭТФ, рекомендуются к проведению процесса радиационной стерилизации у-излучением радионуклидов ⁶⁰Со или ¹³⁷Сѕ в соответствии с ГОСТ Р ИСО 11137 – 2000 [101]. Однако, в результате радиационного воздействия возможны изменения структуры полимерных цепей, связанные с образованием межмолекулярных связей с последующим формированием звеньев диэтиленглюколя в молекулах ПЭТФ, что может также сказываться на физико-химических свойствах материала, что способствует поиску щадящего стерилизационного метода [102].

В последнее время уделяется внимание работам, посвященным плазменной стерилизации медицинских изделий, в связи с чем ведется разработка плазменных стерилизаторов с последующим внедрением в практическое использование [103]. Компании, такие как AMT division Johnson & Johnson, AbTox Inc., обратили внимание на возможность синергизма плазменной стерилизации и модификации, что повлекло создание стерилизационной техники со стерилизующим агентом в виде ионизированной плазменной среды [104, 105]. Многие материалы полимерного происхождения, в том числе трековые мембраны из ПЭТФ, требуют щадящего стерилизационного режима. Однако испытания на стерильность

полимерных пленок и мембран со стерилизующим агентом ионизированной плазменной среды до настоящего времени не проводились.

1.10. Выводы к главе I

В результате выполненного анализа можно сделать следующие выводы:

1. Недостаточная эффективность традиционных методов консервативного и заболевания хирургического лечения, широкая распространённость обусловливают поиск и разработку новых способов лечения буллезной кератопатии. Одним из перспективных направлений в лечении буллезной кератопатии является использование полупроницаемых мембран, способных к нормализации движения жидкости в роговичной ткани и поддержании роговицы в слабо дегидрированном состоянии. В связи с этим поиск и создание биосовместимых материалов для лечения буллезной кератопатии является актуальной задачей. Особый интерес, в связи с этим, представляют трековые мембраны небиологического типа.

Полиэтилентерефталат (ПЭТФ) зарекомендовал 2. себя В качестве перспективного материала для использования в медицине. Выбор ПЭТФ в качестве материала для изготовления изолирующей мембраны представляется мембраны Трековые ИЗ ΠЭΤΦ весьма перспективным. могут служить оптимальным материалом для корнеального имплантата, так как способны обеспечивать избирательную проницаемость жидкости в целях поддержания обменных процессов роговой оболочки.

 Одним из перспективных методов модификации в целях улучшения смачиваемости поверхности полимеров является воздействие низкотемпературной плазмы.

4. Дезинфекция, как комплекс мероприятий профилактики инфекций, остается актуальной проблемой современного здравоохранения. Однако автоклавирование и радиационное воздействие на полимерные имплантаты приводят к изменению их физико-химических свойств, что может сказаться на

функциональности, токсичности и безопасности материала. В связи с этим, в последнее время все больше внимания уделяется разработке новых методов щадящей стерилизации, в частности – антимикробному эффекту низкотемпературной плазмы.

Таким образом, проведенный анализ литературы позволил определить пути решения проблемы лечения буллезной кератопатии: 1) необходимо изготовить изолирующую мембрану, 2) в качестве материала для изготовления мембраны может быть использован ПЭТФ; 3) в качестве мембраны наиболее оптимальны трековые мембраны.

1.11. Цели и задачи исследования

Цель работы: разработка изолирующей трековой мембраны на основе полиэтилентерефталата как имплантатов в хирургическом лечении буллезной кератопатии.

Задачи работы:

1. Разработать медико-технические требования, предъявляемые к имплантатам, используемым в кератопластике и определить возможность использования ТМ из ПЭТФ в лечении буллезной кератопатии;

2. Исследовать морфологию поверхности, структуру и физикомеханические характеристики мембран из ПЭТФ, определить их функциональные характеристики: оптические, механические, смачиваемость, поверхностную энергию, транспортные свойства, биологическую совместимость;

3. Изучить влияние воздействия внешней среды и внешних факторов на топографию поверхности, структуру и транспортные свойства мембран: воздействие низкотемпературной плазмы, стерилизации γ–облучением и автоклавированием;

4. Провести экспериментальные исследования биосовместимости и цитотоксичности разработанной изолирующей мембраны на основе ПЭТФ *in vitro*;

5. Провести исследование стерилизационного эффекта низкотемпературной атмосферной плазмы при её воздействии на поверхность трековых мембран из ПЭТФ;

6. Определить требования к параметрам синтетических мембран медицинского применения, установить возможность использования ПЭТФ трековых мембран при хирургическом лечении буллезной кератопатии;

7. Изготовить прототип имплантата и провести исследования in vivo.

Решение поставленных задач осуществляется путем проведения экспериментальных физико-химических исследований, исследований на биологических моделях *in vitro, in vivo*, испытаний на цитотоксичность, а также путем внедрения результатов.

ГЛАВА II. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Трековые мембраны на основе полиэтилентерефталата

Трековые мембраны из ПЭТФ производства ICI (Швейцария) были получены на циклотроне ТПУ путем облучения пленки ПЭТФ пучком ионов 40 Ar⁺⁸ с максимальной энергией 41 МэВ и последующего селективного щелочного травления. Перед травлением пленку подвергали облучению ультрафиолетовым светом для дополнительной сенсибилизации. Травление осуществляли в водном растворе NaOH с 1,5 N концентрацией при температуре в диапазоне (72 – 82) °C. Методика получения трековых мембран из ПЭТФ описана в работах [106 – 110].

2.2. Методика стерилизации мембран: стерилизация в автоклаве, стерилизация гамма – лучами

Исследование влияния парового метода стерилизации на трековые мембраны были проведены с помощью парового автоматического стерилизатора ГПа–10 ПЗ в двух температурных режимах: (130 – 132)°С при давлении 0,2 МПа – 5 минут; (120 – 121)°С при давлении 0,11 МПа – 20 минут. Время автоклавирования и режимы нормированы согласно ГОСТ Р ИСО 13683–2000.

Паровой стерилизации подверглись как исходные мембраны, так и мембраны после плазменной обработки. Это позволило оценить комбинированное влияние плазменного воздействия и стерилизации паром на изменение свойств основных характеристик исследуемых мембран.

Для лучевой стерилизации трековых мембран использовали статическое гамма-излучение радионуклида ⁶⁰Со, проведенное на установке «Исследователь» цилиндрической рабочей с камерой. Неоднородность мощности дозы (неоднородность дозного поля) в пределах аттестованного объема рабочей камеры диаметром 150 мм и высотой 240 мм не превышала 10%. Аттестация набора дозного поля проводилась по кремнию путем использования

термолюминесцентных дозиметров. Уровень воздействия γ -излучения задавался временем облучения и характеризовался экспозиционной дозой [Гр] (*Si*). В данной работе использовались два уровня воздействия γ -излучения – 1 кГр (*Si*) и 10 кГр (*Si*), что соответствует нижнему и верхнему пределам диапазона доз, используемых при стерилизации ионизирующим излучением. В серии экспериментов облучение проводили как до, так и после плазменной обработки, что позволило оценить комбинированное влияние плазмы и γ -излучения на изменение основных характеристик исследуемых мембран.

2.3. Методика воздействия низкотемпературной плазмы на поверхность мембран при атмосферном давлении

Модификация поверхности трековых мембран проводилась с использованием экспериментальной установки атмосферной низкотемпературной плазмы (ТПУ) [111, 112].

Диэлектриком служило стекло толщиной 1 мм. Напряжение было равно 25 кВ, частота – 5 кГц. Плотность мощности составляла величину 2 Вт/см². Температура поверхности, на которую воздействовала плазма, не превышала 40°С, величина потока воздуха составляла 1 л/мин. Расстояние между электродами было 0,5 мм. Для удаления загрязнений, образцы, предварительно, промывались в спирте.

2.4. Методика испытания на стерильность ТМ из ПЭТФ со стерилизующим агентом ионизированной плазменной среды

Испытания на стерильность полимерных пленок и мембран со стерилизующим агентом ионизированной плазменной среды были проведены в соответствии с МУ 287–113, ГОСТ ИСО 11737–2–2011, ГОСТ ИСО 11737–1–2012, ГОСТ Р ИСО 14937–2012, ГОСТ Р ИСО 14630–2011 [113 – 117] в асептических условиях (в ламинарной установке «ESCO» AC–2 – 4E1). В качестве

стерилизующего агента использовалась атмосферная низкотемпературная плазма, описанная в разделе 2.3.

Исследованию были мембраны подвергнуты трековые ИЗ полиэтилентерефталата с диаметром пор 0,5 мкм. Каждый образец обрабатывался плазмой в течение 30, 60 и 90 с. Стерильность трековых мембран определялась прямого посева (полного погружения) В питательные методом среды (тиогликолевая среда и бульон Сабуро). Питательные среды готовились в соответствии с инструкцией изготовителя и разливались в стерильные флаконы объемом по 100 мл [118]. Образцы трековых мембран из полиэтилентерефталата асептически после воздействия переносили сразу низкотемпературной атмосферной плазмы по 5 шт. каждого режима в каждую питательную среду. Испытание повторяли двукратно. После погружения мембран среда слегка перемешивалась, посевы инкубировали в течение 14 дней при температуре (30 – $35)^{\circ}$ С на тиогликолевой среде и при температуре ($20 - 25)^{\circ}$ С на бульоне Сабуро. Оценка результатов производилась визуальным ежедневным наблюдением: помутнение среды являлось признаком наличия роста микроорганизмов. образцы не подвергались воздействию низкотемпературной Контрольные атмосферной плазмы. Эталоном сравнения служил посев контрольных образцов («положительный контроль») и стерильная питательная среда («отрицательный контроль»).

В ходе определения микробоцидной эффективности низкотемпературной атмосферной плазмы была определена биологическая нагрузка ТМ. Мембраны из контрольной группы асептически переносили во флаконы, содержащие по 100 мл стерильного элюента – буферного раствора, после чего флаконы тщательно встряхивали на шейкере MS 3 basic, чтобы удалить микроорганизмы с поверхности ТМ. Полученный смыв пропускали через мембранный фильтр для количественного определения микроорганизмов методом мембранной фильтрации. По окончании процесса фильтрации мембраны переносили на плотные питательные среды (Сабуро и ГРМ–агар). Посевы на ГРМ–агаре инкубировали при температуре (30 – 35)°С, а на среде Сабуро – при температуре

(20 – 25)°С. По окончании инкубации производили учет результатов. Количество выделенных микробов выражали в колониеобразующих единицах (КОЕ) на одну ТМ. По данной методике было проведено 5 опытов и проанализировано 25 образцов ТМ.

Идентификацию выделенных микроорганизмов проводили стандартными морфологическим, методами ПО тинкториальным, культуральным И биохимическим свойствам, используя метод посева на дифференциальнодиагностические питательные среды и иммерсионный метод микроскопического исследования. Питательные среды использовали для изучения физиологобиохимических свойств. Утилизацию цитрата тестировали с использованием среды Козера. На бульоне с нитратами проверяли способность восстанавливать нитраты. Способность продуцировать сероводород на ГМФ-бульоне, применяя индикаторную бумагу, пропитанную уксуснокислым свинцом. Способность вырабатывать индол определяли на соево-казеиновом бульоне (среда № 15) при добавлении реактива Ковыча, фермент уреазу – на среде Кристенсена, фермент лецитиназу – на ГМФ-бульоне с яичным желтком, наличие коагулазы определяли в реакции с цитратной кроличьей плазмой.

Каталазную активность выявляли в реакции с пероксидом. Подвижность определяли посевом «уколом в столбик» в 0,7% питательный бульон и методом «раздавленной капли» при микрокопировании. Оценивали способность роста культуры при 45°C.

Исследование культур в окрашенном виде проводили по следующим методам: Граму – для выявления грамотрицательных и грамположительных бактерий; Нейссера – для выявления зерен валютина; Бурри – для выявления наличия капсул; Ожешко – для выявления спор.

Выявление новобиоцин-резистентности, выделенных стафилакокков, осуществляли диско-диффузным методом (ДДМ), в соответствии с МУК 4.2.1890–04 [119] с использованием агара Мюллера и дисков с новобиоцином, оценивая зону подавления роста стафилококков: резистентными считали штаммы с диаметром зоны подавления < 10 мм.

2.5. Методы изучения физических свойств мембран

2.5.1. Электронно-микроскопические методы

Для определения диаметра входных отверстий пор, а также поверхностной плотности пор использовалась электронная микроскопия. Для этого на поверхность мембраны наносились AuGd реплики толщиной порядка 200 нм. Просмотр поверхности проводили на микроскопе Hitachi S3400N Туре II (Япония).

Для определения характера поверхности ТМ, построения трехмерного профиля поверхности была проведена лазерная сканирующая микроскопия с помощью «Olympus Lext Ols 4100» (Россия).

2.5.2. Атомная силовая микроскопия

Топография поверхности мембран исследовалась на комплексном корреляторе оптических, спектральных и топографических свойств поверхности объектов «Centaur HR» (ООО "Нано Скан Технология", Россия). Профиль шероховатости поверхности строился с точностью до 1 нм в программе Gwyddion. Расчет параметров шероховатости, описывающих топографию поверхности, проводился согласно ГОСТ 2789–73 и ISO 4287:1997.

Для количественной оценки шероховатости поверхности использовались трехмерные параметры S_a , S_q , S_p , S_z , [120, 121, 122], где: S_a – среднее арифметическое отклонение поверхности; S_q – среднеквадратичное отклонение поверхности от базовой плоскости; S_z – максимальная высота рельефа поверхности, определяемая как разность высот между самой низкой и самой высокой точками поверхности материала на выборочной площади. Параметр S_p определяется как высота самого высокого пика, отсчитанная от средней плоскости и определяемая из следующего условия { $Z(x_i, y_k)$ } = 0 [123].
2.5.3. Порометрия исследуемых мембран

Исследование размеров сквозных пор исходных трековых мембран, мембран после паровой стерилизации (T = 120°C) и γ – стерилизации (доза облучения 1 кГр) было проведено с использованием порометра капиллярного потока Capillary Flow Porometer 7.0 (USA) на образцах площадью 4,5 см². Метод порометрии капиллярного потока сквозных отверстий мембран основан на принципе вытеснения смачиваемой жидкости из пор образца потоком инертного газа.

2.5.4. Дифференциальная сканирующая калориметрия

Метод дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК) был применен для изучения изменения степени кристалличности полимера. ДСК основан на регистрации тепловых потоков при изменениях структуры материала и используется для получения данных о степени кристалличности, температуры стеклования, плавления и тепловых эффектов, протекающих в полимере.

В настоящей работе был использован совмещенный ТГА/ДСКА анализатор SDT Q600 (ТПУ), позволяющий проводить дифференциальную сканирующую калориметрию и термогравиметрический анализ (ТГА). Условия проведения ДСК: температурный интервал – (25 – 300)°С, скорость нагрева – 10°С/мин.

Расчет степени кристалличности проводился по формуле [124, 125]:

$$I_{cm.\kappap.} = \frac{H_{o\delta}}{H_{100}} * 100\%$$
(2.1)

где $I_{cm.\kappa p.}$ – определяемая степень кристалличности, $H_{o\delta}$ – энтальпия образца, H_{100} – энтальпия 100% - го кристаллического ПЭТФ.

2.5.5. Фазовый анализ и расчет степени кристалличности

Фазовый анализ ТМ проводился на дифрактометре Shimadzu XRD 6000S (Япония) с вертикальным высокоточным гониометром. Использовалась линия Си α-излучения с длиной волны 1,54056 Å. Параметры съемки: ускоряющее напряжение 40 кВ, ток пучка 30 мА, диапазон углов сканирования 7° – 35°, шаг сканирования 0,03°, время набора сигнала 1 с.

Степень кристалличности рассчитывается как отношение суммарного рассеяния кристаллитов к общему рассеянию от аморфных и кристаллических областей [126]:

$$x_{c} = \frac{\int_{0}^{\infty} s^{2} I_{c}(s) ds}{\int_{0}^{\infty} s^{2} I(s) ds}$$
(2.2)

где s – вектор обратной решетки, равный

$$s = \frac{(2\sin\theta)}{\lambda} \tag{2.3}$$

 θ – половина угла отклонения дифрагированных лучей от направления падающих рентгеновских лучей, λ – длина волны рентгеновских лучей, I(s) – интенсивность когерентного рентгеновского рассеяния от образца аморфных и кристаллических областей, $I_c(s)$ – интенсивность когерентного рентгеновского рассеяния от кристаллической области (см. рис. 2.1).



Рисунок 2.1 – Рассеяние кристаллической и аморфной фаз частично кристаллических полимеров [126].

Расчет степени кристалличности исследуемых образцов методом рентгеноструктурного анализа проводили с использованием пакета программ POWDERCELL.

2.5.6. Методы оптической спектроскопии

Спектры пропускание трековых мембран были получены спектрофотометрически с помощью спектрофотометра СФ–2000 (Россия) в диапазоне длин волн (380 – 1000) нм с шагом 1 нм. Образцы помещались на внутреннюю стенку кюветы с внутриглазной жидкостью кроликов породы Шиншилла, выделенной в асептических условиях *ех temporo*. В качестве эталона использовали внутриглазную жидкость кроликов породы Шиншилла.

Определение оптических свойств трековых мембран, таких как показатель преломления $n(\lambda)$, коэффициент поглощения $\alpha(\lambda)$, коэффициент экстинкции $k(\lambda)$, возможно с использованием конвертных методов из спектра пропускания с интерференционными эффектами. Конвертные методы определение оптических свойств тонких пленок подробно описаны в работах [127 – 130] и применимы в условиях прозрачной подложки с толщиной намного большей толщины исследуемой пленки.

С помощью конвертных кривых T_{max} и T_{min} , полученных путем параболической экстраполяции эмпирически определенных точек (см. рис. 2.4), соответствующих положению T_{max} максимумов и T_{min} минимумов, возможно определение зависимости показателя преломления $n(\lambda)$:

$$n(\lambda) = \left[\left(\frac{2n_s(T_{\max}(\lambda) - T_{\min}(\lambda))}{T_{\max}(\lambda)T_{\min}(\lambda)} + \frac{n_s^2 + 1}{2} \right) + \sqrt{\left(\frac{2n_s(T_{\max}(\lambda) - T_{\min}(\lambda))}{T_{\max}(\lambda)T_{\min}(\lambda)} + \frac{n_s^2 + 1}{2} \right)^2 - n_s^2} \right]^{1/2} (2.4)$$

 n_s – показатель преломления подложки (кюветы):

$$n_s = \frac{1}{T_s} + \sqrt{\frac{1}{T_s^2} - 1}$$
(2.5)

-1/2

 T_s – пропускание стеклянной подложки (кюветы) = 0,99. Таким образом, исходя из уравнения (2.5), n_s = 1,153.



Рисунок 2.2 – Спектр пропускания пленки с конвертными кривыми для интерференционных максимумов $T_{min}(\lambda)$ и минимумов $T_{min}(\lambda)$, согласно [131].

Коэффициент поглощения $\alpha(\lambda)$ трековых мембран из ПЭТФ был рассчитан согласно уравнению [131]:

$$\alpha(\lambda) = \frac{1}{d} \ln \left[\frac{(n(\lambda) - 1)(n(\lambda) - n_s) \left[\left(\frac{T_{\max}(\lambda)}{T_{\min}(\lambda)} \right)^{1/2} + 1 \right]}{(n(\lambda) + 1)(n(\lambda) + n_s) \left[\left(\frac{T_{\max}(\lambda)}{T_{\min}(\lambda)} \right)^{1/2} - 1 \right]} \right]$$
(2.6)

Где *d* – толщина исследуемых пленок.

Коэффициент экстинкции $k(\lambda)$ – коэффициент, показывающий меру ослабление пучка света при распространении в веществе в результате совместного действия поглощения и рассеяния светового потока, и рассчитывается согласно формуле [131, 132]:

$$k(\lambda) = \lambda \alpha(\lambda) / 4\pi \tag{2.7}$$

2.5.7. Измерение контактного угла и поверхностной энергии

Смачиваемость является важной физико-химической характеристикой взаимодействия жидкости с поверхностью твердых тел. Величиной, характеризующий смачивание, является краевой угол смачивания θ , который определяется законом Юнга [133]:

$$\cos\theta = \frac{\sigma_{TT} - \sigma_{T\mathcal{K}}}{\sigma_{\mathcal{K}T}} \tag{2.8}$$

где $\sigma_{\text{тг,}} \sigma_{\text{тж,}} \sigma_{\text{жг}}$ – это удельные свободные поверхностные энергии на границах раздела жидкость/газ твердое, тело/жидкость, твердое тело/газ.

В зависимости от значения краевого угла смачивания различают несмачивание ($\theta > 90^0$ или $\cos\theta < 0$), ограниченное смачивание ($\theta < 90^0$ или $\cos\theta > 0$), растекание (краевой угол не определяется по причине полного растекания капли в тонкую пленку).

В настоящей работе углы смачивания деионизованной воды (θ_w°) и глицерина (θ_g°) измерялись методом сидячей капли при комнатной температуре (25 ± 2)°C с помощью прибора «KRÜSS Easy Drop DSA 20» и специального программного обеспечения, точность измерения $\pm 0,1^{\circ}$. На образцы наносились по четыре капли воды объемом 3 мкл. Каждое измерение проводилось за время менее 5 секунд после осаждения капли. Контактный угол смачивания определялся на 1, 3, 7, 14, 21 сутки после воздействия плазмы, а также после стерилизации модифицированных образцов в эти же сроки.

Полная поверхностная энергия (σ_s) рассматривалась в рамках модели Оуэнса-Вендта [134], как суперпозиция дисперсионной (σ_s^d) и полярной (σ_s^p) составляющих, которые вычислялись по методу Оуэнса-Вендта-Рабел-Кэлби (OBPK) [134].

$$\frac{\sigma_l \cdot (\cos \theta + 1)}{2\sqrt{\sigma_l^d}} = \frac{\sqrt{\sigma_l^p}}{\sqrt{\sigma_l^d}} \cdot \sqrt{\sigma_s^p} + \sqrt{\sigma_s^d}$$
(2.9)

ОВРК метод позволяет с высокой степенью точности оценить значение поверхностной энергии полимерных материалов. Полярность мембран, определяемая как доля полярной компоненты в суммарной поверхностной энергии, вычислялась по формуле [135]:

$$p = \sigma_s^p / \sigma_s \tag{2.10}$$

Образцы после воздействия плазмы хранились на воздухе, после воздействия стерилизации – в специальных пакетах для стерилизации.

2.5.8. ИК-спектроскопия

Измерения ИК–спектров исходных мембран, модифицированных мембран, а также мембран после стерилизации производили с помощью ИК–Фурье спектрометра Nicolet 5700. В качестве элемента однократного наружного полного внутреннего отражения использовали алмазный кристалл.

Согласно литературным данным, в ИК–спектрах поглощения полиэтилентерефталата имеются следующие полосы поглощения в области (4000 – 100) см⁻¹ (см. табл. 2.1).

| Волновое | Колебания функциональных групп | Литература |
|-------------------------|---|-----------------|
| число, см ⁻¹ | | |
| 723 | Колебания СН ₂ групп | [136, 137] |
| | | |
| 792 | γ (C=O)+ δ (COO) | [138] |
| 847 | $\gamma(CH_2)$ | [138] |
| 871 | Колебания групп ү(СН) фенильного кольца | [139] |
| 1016 | Колебания фенильного кольца –б(СН) | [139] |
| 1096 | Алифатические эфиры С–О–С | [140] |
| 1246 | С=С участка фенильного кольца | [139] |
| 1340 | С–С алканы, =СН ₂ | [139] |
| 1408 | С-С отклонения | [139] |
| 1716 | Алифатические кетоны С=О или С=С группы | [136, 139, 141] |
| с 2000 по | Тройные связи или аккумулированные | [137] |
| 2070 | двойные связи | |

Таблица 2.1. Колебательные моды молекулы полиэтилентерефталата.

| 2907 | Алифатические группы С–Н | [137] |
|------|--------------------------|-------|
| 2968 | Симметричные С–Н группы | [136] |

2.5.9. Методы исследования ζ-потенциала трековых мембран

С-потенциал – величина, связанная с электрокинетической плотностью заряда определяется процессами взаимодействия раствора с поверхностью мембраны. Экспериментально ζ-потенциал макроскопической поверхности получается из измерений потенциала (тока) протекания (ТП). В этом случае, давления прикладывается параллельно поверхности мембраны разность (тангенциальный режим). Тангенциальный ТП измеряется щелевом канале, поверхностями. образованном одинаковыми противолежащими В двумя электрокинетической теории предполагается, что стенки канала ячейки для измерения тока и/или потенциала протекания непрозрачны. Тогда, если высота канала h_{ch} много больше Дебаевской длины, ток протекания (Is) связан с ζ потенциалом, известным соотношением [142]:

$$I_s = -((Wh_{ch}\varepsilon_0\varepsilon_r\Delta p)/\eta L)\cdot\zeta$$
(2.11)

где, W, L и h_{ch} – ширина, длина и высота канала измерительной ячейки, соответственно, ε_0 – электрическая постоянная, ε_r и η – диэлектрическая проницаемость и динамическая вязкость раствора электролита, соответственно, и Δp – разность давления между концами канала.

Исследования электрокинетических свойств трековых мембран проводились на установке SurPASS (Австрия). Блок-схема измерительной ячейки представлена на рисунке 2.3. Для проведения измерения образцы предварительно вырубали в форме дисков с диаметром 10 мм и помещали в раствор 1 мМ КСІ на 48 часов, после чего крепились к противоположным поверхностям регулируемого зазора ячейки установки SurPASS.



Рисунок 2.3 – Схема измерения потенциала (тока) протекания ТП: 1 – электроды; 2 – трековые мембраны; 3 – держатели мембран.

В качестве электролита использовался водный раствор КСІ. Начальная концентрация калия хлорида составляла 1 мМ. рН электролита изменялся с шагом 0,5 единиц в интервале 5 – 9 единиц. Перед началом измерений раствор электролита протекал ячейку в течение 15 минут для стабилизации образца в состоянии равновесия. Максимальное значение разности давления составило 300 мбар в объеме электролита 550 мл. В использованном интервале давлений и размеров ячейки течение раствора электролита имело ламинарный характер. Скорость течения электролита линейно зависит от разности гидростатического давления и описывается формулой Хагена–Пуазейля [143]. Потенциал и сила тока протекания измерялись с использованием Ag/AgCl–электродов. Для уменьшения поляризации электродов направление протекания потока периодически менялось.

2.5.10. Исследование проницаемости мембран

Проницаемость мембран измерялась с помощью Stirred Ultrafiltration Cells (Amicon Model 8010, Millipore) на образцах площадью 4,1 см². В качестве рабочих растворов использовали деионизованную воду и 0,1М раствор NaCl. До начала фильтрации мембраны выдерживали в соответствующем растворе в течение 20 минут. Погрешность измерения составила 0,3%. Схема эксперимента представлена на рисунке 2.4.



Рисунок 2.4 – Схема установки по измерению проницаемости водными растворами мембран.

Для расчета величины потока жидкости применяли уравнение Хагена– Пуазейля [144]:

$$\frac{V}{\Delta t} = \frac{\pi \Delta \operatorname{Pr}^4}{8\eta L}$$
(2.12)

Где V — объем растворенного вещества, проходящий через одну цилиндрическую пору мембраны, Δt — время, ΔP — давление, r — радиус поры, η — вязкость жидкости, L — толщина мембраны.

2.5.11. Методика исследования прочности и механических характеристик трековых мембран на основе ПЭТФ

Существуют опасения, что трековая мембрана из ПЭТФ после процедур плазменной модификации и стерилизации может изменять свои прочностные характеристики. Это может повлечь за собой механическое повреждение и разрыв полимера (см. рис. 2.5, указано стрелками) внутри тканей при хирургических манипуляциях, что недопустимо в офтальмохирургии. Подобные внутритканные разрушения мембраны наблюдались нами в предварительных экспериментах по имплантации ТМ в строму роговицы кролика (см. рис. 2.5, указано стрелками). Поэтому, для обеспечения безопасной работы с пленочным и мембранным материалом, необходимо достоверно определять их физико-механические характеристики, а также закономерности влияния различных факторов на изменение этих свойств.



Рисунок 2.5 – Артефакты имплантата – трековой мембраны из ПЭТФ (указано стрелками), полученные в ходе хирургических манипуляций.

Исследования прочностных и механических характеристик были выполнены стандартной методикой одноосного испытания на растяжение образцов, вырезанных из полотна в виде полосок, согласно ГОСТ 14236–81 и ГОСТ 11262–50 на испытательной установке Instron 3300 (ASTM D882) [145, 146].

В результате механических испытаний, проведенных согласно ГОСТ 14236– 81 и ГОСТ 11262–50, были изучены следующие характеристики: удлинение при растяжении, предел текучести, напряжение при растяжении, а также рассчитан модуль Юнга (*E*) согласно формуле:

$$E = \frac{Fl}{S\Delta l} \tag{2.13}$$

где *F* – нормальная составляющая силы, *S* – площадь поверхности, Δl – модуль измерения длины образца в результате упругой деформации.

Однако, при исследовании механических характеристик пленок или мембран стандартным одноосным способом (ГОСТ 14236–81 и ГОСТ 11262–50) наблюдается значительный разброс результатов испытания [147, 148], так как

пленки и мембраны являются двумерными объектами. Трудно, а порой и невозможно, исследовать одноосным способом пленочные и мембранные композиции, которые имеют пространственно-неоднородную структуру, так как механические свойства пленок и мембран могут существенно меняться в зависимости от их насыщенности дефектами, получаемыми в ходе изготовления, эксплуатации пленок, воздействия излучения, стерилизации и т.д.

Поэтому для исследования механических характеристик мембран и получения объективных данных, был использован, также, двумерный экспериментально – теоретический метод определения интегральной жесткости на растяжение пленок, предложенный и разработанный в Институте механики и машиностроения Казанского научного центра Российской Академии Наук (КазНЦ РАН) на экспериментальной установке ДМ–1 [149, 150].

Экспериментальная установка ДМ–1 позволяет замерять прогиб образцов (полимерных пленок или мембран) округлой формы. Схема ДМ–1 представлена на рисунке 2.6. Образец фиксируется по контуру установки и подвергается одностороннему воздействию равномерного давления воздуха.



Рисунок 2.6 – Схема экспериментальной установки ДМ–1: 1 – испытуемый образец в виде круга; 1' – деформированный образец; 2 – матрица; 3 – пуансон; 4 – источник сжатого воздуха; 5 – манометр; 6 – измерительный комплекс.

При проведении исследований механических характеристик трековых мембран двумерным экспериментально – теоретическим методом производился мониторинг формы деформирования круглых образцов и замеры геометрических параметров образуемого купола, закрепленного по контуру и подвергающемуся воздействию одностороннего равномерного давления, после чего строили зависимость «прогиб *H* – давление *p*» [149 – 152].

$$H_{(r=0)} = f(p)$$
 (2.14)

Механические характеристики мембраны определялись в зависимости от характера деформирования по формулам [150]:

$$E = \frac{Npa}{h} \left(\frac{a}{H}\right) \tag{2.15},$$

для среднего изгиба ($H/h \le 5$) и

$$E = \frac{3}{4} \frac{pa}{hp^*} \tag{2.16}$$

для большого прогиба ($H/h \le 0.15$).

где p – равномерно распределенное давление, h – толщина мембраны, a – радиус мембраны, H – прогиб образца, p^* – параметр, зависящий от H/a.

2.5.12. Трибологические испытания трековых мембран

В процессе имплантации ТМ подвергается процессу расправления мембраны путем многократных маятникообразных движений длинных шпателей вдоль поверхностей пленки, что может повлечь ее повреждение внутри тканей роговой оболочки (см. рис. 2.7). В связи с этим, проведение трибологических испытаний может объективно показать воздействие металлических инструментов на поверхность мембраны при хирургических манипуляциях.



Рисунок 2.7 – Интрастромальное расправление трековой мембраны длинным шпателем (стрелкой указано направление шпателя).

Исследования трения и износа тонких ТМ из ПЭТФ проводились в условиях сухого трения скольжения на машине TRIBO technik по схеме палец – диск (см. рис. 2.8).



Рисунок 2.8 – Схема трибологических испытаний трековых мембран по схеме палец – диск.

TM крепилась на поверхности диска с помощью зажимного приспособления. Варьировались следующие параметры испытания: длительность испытания (в диапазоне 10 м - 75 м), скорость скольжения (в диапазоне (1, 5 - 30)мм/с) и нагрузка (1H и 2H). Тесты с различной дистанцией выполнены при нормальной нагрузке 1Н и скорости скольжения 5 мм/с. Тесты с различной скоростью выполнены при нагрузке 1Н. Тесты с различной нагрузкой выполнены скорости скольжения 5 мм/с. В качестве контртела использовался при керамический шарик диаметром 6 мм. Анализ топографии износа ТМ выполнялся на лазерном сканирующем микроскопе Olympus LEXT OLS4100.

2.6. Образцы для исследований: плотность и средний диаметр пор исследуемых мембран

На рисунке 2.9 представлено типичное электронно-микроскопическое изображение элемента поверхности мембраны.





Как видно из рисунка 2.9 поры достаточно равномерно распределены по поверхности мембраны. Расчеты, проведенные по данным электронномикроскопических измерений показывают средний размер пор равный 0,5 мкм и поверхностную плотность пор 5×10^8 пор/см². Сечение элемента мембраны со сквозными порами представлено на рисунке 2.9 (б), из которого видно, что поры имеют цилиндрическую форму.

2.7. Придание мембране формы определенной кривизны

Роговица по физиологическому строению имеет кривизну, равную в горизонтальной $R_1 = 5,66$ мм и вертикальной $R_2 = 6,5$ мм плоскостях, что предполагает создание имплантата с подобными параметрами. В связи с этим, был разработан способ придания мембране определенной кривизны и устройство для его осуществления. Согласно способу, предварительно облученную ионами

 ${}^{40}{\rm Ar}^{+8}$ И обработанную ультрафиолетовым излучением пленку ИЗ полиэтилентерефталата помещали на основание матрицы устройства (см. рис. 2.10) co сформированным полостью заданной кривизны, отвечающей требованиям кривизны роговицы глаза: ширина в горизонтальной D₁ = 10 мм и вертикальной $D_2 = 11$ мм плоскостях, радиус в горизонтальной $R_1 = 5,66$ мм и вертикальной $R_2 = 6,5$ мм плоскостях, высота h = 3мм, с последующей фиксацией крышкой.



Рисунок 2.10 – Элемент устройства для формования полимерной трековой мембраны с полостью заданной кривизны.

Матрицу с облученной пленкой помещали в камеру и устанавливали в трубчатую печь (см. рис. 2.11). С помощью автоматизированного комплекса Gas Reaction Controller фирмы Advanced Materials Corp откачивали воздух из цилиндрической камеры и осуществляли нагрев устройства до 120°С, контролируемый термопарой, и подавали в камеру инертный газ Ar под давлением до 0,25 МПа.



Рисунок 2.11 – Устройство для формования полимерной трековой мембраны с полостью заданной кривизны в собранном состоянии: 1 – цилиндрическая камера; 2 – матрица; 3 – крышка матрицы; 4 – винты; 5 – полимерная пленка; 6 – крышка; 7 – болты; 8 – шайба; 9 – гайка; 10 – штуцер; 11 – термопара; 12 – трубчатая печь;

13 – блок регулирования давления воздуха и газа (БРДВиГ).

После выдерживания постоянной температуры и давления в камере в течении 20 минут, производилось линейное охлаждение камеры 1 со скоростью (1 – 3)°С/мин до комнатной температуры. Затем облученную пленку со сформированной полостью с заданной кривизной, повторяющей кривизну матрицы, извлекали и подвергали щелочному травлению в водном растворе NaOH для получения пористой структуры материала, согласно описанной методики.

Определение профиля поверхности трековой мембраны после формирования заданной кривизны производили на сканирующем микроскопе Olympus LEXT OLS4100.

На разработанное устройство и способ отправлена заявка на изобретение № 2016142238 от 26.10.2016.

2.8. Методика исследования цитотоксичности трековых мембран

Жизнеспособность клеток (мононуклеары крови, полученных из банка стволовых клеток г. Калининграда) оценивали стандартным колориметрическим методом МТТ-тест с использованием тетразолия – 3–[4,5–диметилтиазолил–2– ел]–2,5–дифенилтетразолиум бромида («ПанЭко», Россия) в качестве реагента.

МТТ-тест основан на восстановлении желтого МТТ метаболически активными клетками до нерастворимых в воде темно-фиолетовых гранул формазана. В митохондриальной дыхательной цепи жизнеспособных клеток ферменты дегидрогеназы восстанавливают МТТ до формазана. После растворения кристаллы формазана дают окрашивание, интенсивность которого определяется спектрофотометрически [153].

После инкубации с исследуемыми образцами в течении 24 часов в CO₂– инкубаторе MCO-5AC («SANYO», Япония) при определенных условиях (T = 37°C, 95% воздуха, 5% CO₂) раствором трипсина (0,25%) и ЭДТА (0,02%) («ПанЭко», Россия) клетки снимали с планшета и один раз отмывали в 1хPBS (pH 7,4) («Ambion», США). Затем к осадку добавляли 1 мл рабочего раствора МТТ и инкубировали в суховоздушном термостате TC–1/80 СПУ (Россия) в течение трех часов (T = 37°C). Клетки осаждали путем центрифугирования в течение 2 минут при 330 g на центрифуге Sky Line CM–6M («ELMI», Латвия), и добавляли к осадку 1,5 мл 96%–го изопропанола («Экос–1», Россия) для растворения гранул формазана. На спектрофотометре СФ-2000 («ОКБ–Спектр», Россия) при $\lambda = 570$ нм измеряли количество восстановленного продукта – формазана [154, 155].

2.9. Исследование биосовместимости трековой мембраны на основе ПЭТФ *in vitro* на культуре мезенхимальных стволовых клеток

Исследования *in vitro* биосовместимости трековых пористых мембран были проведены с использованием культуры пренатальных стромальных клеток, первоначально выделенную из легкого 11–недельного эмбриона человека и поддерживаемую *ex vivo* (линия FL–42, ООО "Банк стволовых клеток", г. Томск). После размораживания препараты представляют собой популяцию клеток округлой формы с ограниченным сроком жизни, при пассажах сохраняющих стабильный кариотип и онкогенную безопасность. Клетки прилипают к пластику и принимают фибробластоподобную морфологию. Жизнеспособность клеток после размораживания, определяемая согласно ISO 10993–5 [140] в тесте с 0,4% трипановым синим, составила 94%.

Мембраны с модифицированной поверхностью (образцы с линейными размерами 10×10 мм² и толщиной не более 10 мкм) помещали в лунки 24 – луночных культуральных планшетов (Orange Scientific, Бельгия). В каждой группе было по 3 матрикса. Контролем служила культура клеток на пластиковой поверхности культуральных планшетов без добавления образцов.

В лунки 24-луночных планшетов (Orange Scientific, Бельгия) добавляли безклеточную культуральную среду либо клеточную взвесь в концентрации 3x10⁴ жизнеспособных кариоцитов в 1 мл полной культуральной среды. Состав культуральной среды: 280 мг/л L–глутамина, 50 мг/л гентамицина сульфат, 20% сыворотки крови эмбрионов коров, 80% среды ДМЕМ/F12 (1:1).

Через 72 ч (3 суток) культивирования при (37° С, 5% CO₂ и 100% влажности) мембраны удаляли пинцетом, супернатанты (кондиционные среды) получали путем сбора надосадочной части клеточных культур и последующего их центрифугирования в течение 10 минут при 500 g. Активность щелочной фосфатазы (ЩФ), концентрации кальция (общего и свободного), калия и неорганического фосфата в межклеточной жидкости выявляли с применением стандартного колориметрического метода на биохимическом анализаторе Konelab60i (США) по общепринятой биохимической технике при помощи протоколов специализированных наборов Thermo Fisher Scientific Inc. (США).

Планшеты сушили на воздухе при комнатной температуре в течение 24 ч. В дальнейшем фиксировали прилипающие клетки в течение 30 секунд в парах формалина для проведения иммуноцитохимической окраски на виментин.

Окраску на виментин проводили следующим образом. Культуру клеток фиксировали и пермеабилизировали в холодном (-20⁰C) метаноле в течение 1 минуты. Затем проводили иммуноцитохимическое исследование. Использовали мышиные моноклональные антитела к человеческому виментину (clone V9, NovocastraTM, Великобритания). Рабочее разведение первичных антител – 1:500. Визуализацию проводили на основе рекомендованного производителем первичных антител протокола иммунопероксидазного метода с помощью набора Novolink^{тм} Polymer Detection Systems (Великобритания). В качестве метки иммунной реакции был использован 3,3–диаминобензидин (DAB). Реакцию на виментин считали положительной при обнаружении специфической коричневой окраски в цитоплазме клеток культуры.

2.10. Методы статистической обработки экспериментальных данных

Результаты экспериментов обрабатывали с использованием программы «IMB SPSS Statistics 23».

Для определения зависимости между выборками был проведен кореляционно-регрессионный анализ. Для оценки степени взаимосвязи величин х и у рассчитывали коэффициенты корреляции Пирсона и детерминации. Тесноту связи определяли по величине коэффициента корреляции (r) и детерминации (R²). Сильную зависимость считали r > 0,65, очень сильную r > 0,81 [157, 158, 159].

Для оценки статистической значимости различий применяли параметрический t-критерий Стьюдента (Pt) или непараметрические критерии Манна–Уитни (U-тест, P_U), Крускала–Уоллиса (H-тест). Различия считали статистически значимыми при p < 0,05.

Рассчитывали параметры распределений: для физических параметров – величину среднего значения (М), стандартного отклонения (SD, σ) и ошибки среднего (*m*), для медико-биологических параметров – медиану (Ме), 25% квартиль (Q₁) и 75% квартиль (Q₃) [160, 161].

2.11. Выводы к главе II

Для выполнения поставленных цели и задач в главе II были описаны методики получения трековых мембран на основе полиэтилентерефталата, стерилизации в автоклаве и *γ*–лучами, воздействия низкотемпературной плазмы

на поверхность мембран при атмосферном давлении, испытания на стерильность ТМ из ПЭТФ со стерилизующим агентом ионизированной плазменной среды.

Выбраны методы исследования, которые позволяет комплексно оценить влияние воздействия среды и внешних факторов на физико-химические, механические и оптические свойства ТМ из ПЭТФ.

Предложен способ и устройство для придания мембране формы определенной кривизны, отвечающей требованиям кривизны роговицы глаза.

Описаны методики исследования на цитотоксичность и биосовместимость ТМ из ПЭТФ на биологических моделях в экспериментах *in vitro, in vivo*.

Рассмотрены методы статистической обработки экспериментальных данных.

ГЛАВА III. ВОЗДЕЙСТВИЕ ИОНИЗИРУЮЩЕО ОБЛУЧЕНИЯ НА СВОЙСТВА И СТРУКТУРУ ПЭТФ ТРЕКОВЫХ МЕМБРАН

3.1. Модификация поверхности трековых мембран низкотемпературной плазмой

3.1.1. Исследование поверхностных свойств модифицированных плазмой трековых мембран

Поверхность исследованных мембран подвергалась обработки низкотемпературной атмосферной плазмой по ранее описанной методике.

На рисунке 3.1 представлено электронно-микроскопическое изображение фрагмента поверхности мембраны до и после плазменной модификации.



a)

б)

Рисунок 3.1 – Электронно-микроскопическое изображение трековой мембраны: а – исходный образец; б – после воздействия плазмы 30 с.

Анализ данных (типичное РЭМ–изображение представлено на рисунке 3.1 не показывают следов воздействия низкотемпературной атмосферной плазмы на поверхность ТМ. Средний диаметр поры – 0,5 мкм, плотность пор – 5×10⁸ пор/см². Гистограмма распределения пор, полученная по результатам порометрии по значениям исходных параметров представлена на рисунке 3.2.



Рисунок 3.2 – Распределение пор трековых мембран по размеру диаметра.

Как видно из рисунка 3.2, наиболее вероятное значение диаметра пор лежит в интервале (0,5 - 0,54) мкм. В то же время наблюдаются небольшое количество пор с диаметром до 0,4 мкм. Как показали расчеты, среднее значение диаметра пор $0,52 \pm 0,02$ мкм.

Гистограммы распределения площади сечения пор представлены на рисунках 3.3 и 3.4.



Рисунок 3.3 – Распределение пор трековых мембран по площади сечения.



Рисунок 3.4 – Распределение пор трековых мембран после плазменной обработки (30 с) в зависимости от площади сечения.

Расчеты распределения пор по площади сечения (S_{сечения пор}) ТМ показывают, что более 81% пор имеют площадь входного отверстия в интервале (0,08 – 0,16) мкм². Поры площадью более 0,3 мкм² единичные, и в общем количестве составляют не более 19% (см. рис. 3.3). Наличие пор с большей площадью входного отверстия отражают факт сливных и близкорасположенных отверстий ТМ, образованных в результате диффузно рассеянной бомбардировки тяжелыми ионами по полимерной пленке.

Расчеты распределения пор по площади ТМ после плазменной обработки (30 с) показало, что 79,5% пор имеют площадь входного отверстия (0,1 – 0,15) мкм² (см. рис. 3.4). Поры с площадью более 0,3 мкм единичные и не занимают более 9% в общей массе.

Сравнение данных, представленных на рисунках 3.3 и 3.4, говорит о том, что воздействие низкотемпературной плазмы не оказывает заметного действия на размеры пор и их распределение по поверхности мембраны. Топография поверхности мембраны играет особую роль при ее взаимодействии с живой тканью. Данные о топографии поверхности получены методом ACM, описанном в главе II.

На рисунке 3.5 представлены трёхмерные изображения топографии поверхности мембраны после плазменной обработки. Ha изображениях поверхности ТМ (см. рис. 3.5 а) видно, что поверхность достаточно плоская с наличием пор и достаточно крупных фрагментов рельефа неправильной формы и различного масштаба, представляющие собой, возможно, глобулы полимера [162]. Воздействие низкотемпературной атмосферной плазмы приводит к существенным изменениям морфологии поверхности (см. рис. 3.5 б, в, г): области появляются деструктивные В виде многочисленных хаотично распределенных мелких неровностей конусообразной формы, высотой более 100 нм. Плотность таких образований достигает 2,43 пиков/мкм² при времени воздействия плазмы 30 с.



Рисунок 3.5 – Топография поверхности трековых мембран исходных (а), после плазменной модификации: время обработки 30 с (б), 60 с (в), 90 с (г).

Как показывают наши исследования и литературные данные, ТМ имеет параметр шероховатости $S_a = 0,0306$ мкм (см. табл. 3), для исходных пленок ПЭТФ S_a составляет величины в интервале (2 – 6) нм [163, 164]. Это свидетельствует о том, что процесс создания трековой мембраны способствует росту шероховатости ПЭТФ ($S_a = 0,0306$ мкм). Последующая плазменная обработка ТМ приводит к дальнейшему увеличению параметра шероховатости поверхности S_a от 0,0306 мкм до 0,277 мкм, то есть боле, чем в 9 раз, при времени воздействия плазмы 90 с (см. рис. 3.6), что обусловлено реконструкцией поверхности материала в результате воздействия низкотемпературной атмосферной плазмы [165].



Рисунок 3.6 – Зависимость параметра шероховатости S_a от времени воздействия низкотемпературной атмосферной плазмой.

Данные рисунка 3.6 показывают линейную зависимость параметра шероховатости S_a от времени воздействия плазмы на поверхность ТМ с коэффициентом детерминации $R^2 = 0.9367$.

Также в результате плазменного воздействия увеличиваются параметры шероховатости S_p, S_z (см. табл. 3.1). Причем с увеличением времени воздействия

низкотемпературной атмосферной плазмы на поверхность материала значения S_p , S_z увеличиваются значительней, чем параметр S_a (см. рис. 3.7).

Таблица 3.1. Средние значения параметров шероховатости трековых мембран до и после плазменной обработки поверхности.

| Образец | S_a , мкм | S_q , мкм | S_p , мкм | <i>S</i> _{<i>z</i>} , мкм |
|-----------|-------------|-------------|-------------|------------------------------------|
| Исходный | 0,0306 | 0,0375 | 0,265 | 0,81 |
| Плазма 30 | 0,103* | 0,195* | 0,403 | 0,953 |
| Плазма 60 | 0,148* | 0,230* | 0,775 | 1,273 |
| Плазма 90 | 0,277* | 0,498* | 1,999 | 2,442 |

Примечания: Плазма 30 – время воздействия плазмы 30 с; Плазма 60 – время воздействия плазмы 60 с; Плазма 90 – время воздействия плазмы 90 с. Приведенные данные – средние величины; *p < 0,05 – уровень статистической значимости различий по сравнению с исходными мембранами.



Рисунок 3.7 – Зависимость параметров шероховатости S_p, S_z от времени плазменной модификации.

Как видно из рисунка 3.7, рост параметров шероховатости S_p , и S_z от времени плазменного воздействия описывается полиномом второго порядка со статистической значимостью р < 0,05. Нелинейность изменения S_p , и S_z , возможно, обусловлена нелинейным характером процесса реконструкции поверхности мембраны в результате плазменного воздействия.

Ранее отмечалось, что воздействие плазмы приводит к окислению поверхности ПЭТФ. Это проявляется в уменьшении величины контактного угла – росте гидрофильности поверхности [166]. Поведение трековой мембраны по отношению к плазменному воздействию во многом подобно поведению пленки ПЭТФ, однако наблюдаемые эффекты более значительны.

Важной характеристикой мембраны, во многом определяющей эффективность ее работы, является смачиваемость. Успешное функционирование мембраны возможно только при согласовании ее смачиваемости с выполняемой функцией.

Воздействие на поверхность ТМ атмосферной низкотемпературной плазмы приводит к резкому возрастанию степени гидрофильности поверхности, краевой угол смачивания уменьшился на $40^\circ - 43^\circ$ (56% – 58%), среднее значение θ_w° = 29°. Это хорошо видно из данных, представленных на рисунке 3.8. Рост гидрофильности поверхности, скорее всего, обусловлен окислительновосстановительными химическими реакциями, протекающими в результате плазменного воздействия. Динамика измерения краевого угла смачивания от времени хранения при комнатной температуре показала (см. рис. 3.8) рост величины контактного угла в течение первых трех дней хранения. В течение последующего времени хранения величина контактного угла практически не менялась (см. рис. 3.8), т.е. гидрофильность поверхности сохранялась.

63



Рисунок 3.8 – Зависимость величины краевого угла смачивания исходной трековой мембраны и мембраны, модифицированной плазменной обработкой от времени хранения: 1 – исходная трековая мембрана; 2 – плазменная обработка (время обработки – 30 с); 3 – плазменная обработка (время обработки – 60 с); 4 – плазменная обработка (время обработки – 90 с).

Поверхностная энергия – параметр, определяющий взаимодействие ТМ с окружающей средой. В связи с этим, по значениям контактного угла были рассчитаны значения поверхностного натяжения ТМ. В таблице 3.2 приведены значения поверхностной энергии σ_s , её дисперсионной σ_s^d и поляризационной σ_s^p составляющих для исходной пленки полиэтилентерефталата и трековых мембран. Как видно из данных таблицы 3.2, ПЭТФ относится к классу слабополярных полимеров. Полярность пленки ПЭТФ $p = \sigma_s^p / \sigma_s$, определяемая как доля полярной компоненты в суммарной поверхностной энергии составляет 0,2, что находится в хорошем согласии с литературными данными [167]. Последующий процесс формирования трековой мембраны, включающий ионное облучение и химическое травление поверхности, незначительно влияет (см. табл.

3.2) на величину поверхностной энергии σ_s , однако существенно (более чем на 300%) увеличивает величину полярной σ_s^p составляющей поверхностной энергии. Таким образом, поверхность трековой мембраны (в отличие от пленки ПЭТФ) является сильнополярной, полярность p = 0.8.

Таблица 3.2. Средние значения параметров поверхности ТМ: поверхностная энергия σ_s , дисперсионная σ_s^d и поляризационная σ_s^p составляющие

| поверхностной энергии, | угол смачивания: θ_w° | (вода), | θ_g° (| (глицерин) |). |
|------------------------|-----------------------------------|---------|--------------------|------------|----|
|------------------------|-----------------------------------|---------|--------------------|------------|----|

| TM | σ_s | σ_s^d | σ_s^p | Поляр- ность | Θ°_{w} * | $	heta_g^\circ$ * |
|-------------|------------|--------------|--------------|-----------------|------------------------|-------------------|
| Пленка ПЭТФ | 36,76 | 29,15 | 7,61 | 0,2 | 61,1 | 76,5 |
| ТМ | 29,95 | 5,97 | 23,98 | 0,8 | 72,8 | 74,8 |

Примечание: поверхностная энергия dim $\sigma = M \mbox{Д} \mbox{w}/\mbox{M}^2$; контактный угол dim θ = градус (θ°).*- приведенные данные – средние величины.

Воздействие плазмы на ТМ приводит к значительному, более чем в 4 раза, увеличению поверхностной энергии в большей мере за счет роста полярной составляющей σ_s^p (см. табл. 3.3). Следует отметить, что вклад дисперсионной составляющей σ_s^d в полную поверхностную энергию не превышает 7% (см. табл. 3.3).

Таблица 3.3. Средние значения параметров поверхности ТМ: поверхностная энергия σ_s , дисперсионная σ_s^d и поляризационная σ_s^p составляющие

| поверхностной энергии, угол смачивания: θ°_{w} (вода), θ°_{g} (глицерин). |
|---|
|---|

| TM | σ_s | σ_s^d | σ_s^p | Поляр- ность | Θ°_{w} * | Θ_g° * |
|-----------|------------|--------------|--------------|-----------------|------------------------|----------------------|
| Плазма 30 | 131,53 | 7,33 | 124,21 | 0,94 | 33,0 | 73,3 |
| Плазма 60 | 146,04 | 9,91 | 136,13 | 0,93 | 31,2 | 73,3 |
| Плазма 90 | 129,64 | 7,46 | 122,18 | 0,94 | 26,6 | 74,5 |

Примечание: Плазма 30, 60, 90 – после плазменной обработки поверхности, время воздействия 30, 60, 90 с; поверхностная энергия dim $\sigma = M \Delta m / M^2$; контактный угол dim $\theta =$ градус (θ°).*– приведенные данные – средние величины.

Исследования динамики измерения полной поверхностной энергии трековых мембран после плазменной обработки от времени хранения в течение 21 дня показали относительную стабильность значений СЭП (см. рис. 3.9).



Рисунок 3.9 – Зависимость величины свободной энергии поверхности трековой мембраны после плазменной модификации от времени хранения: 1 – исходная TM; 2 – плазменная обработка (время обработки – 30 с); 3 – плазменная обработка (время обработки – 90 с).

Таким образом, исследование поверхности энергии ТМ показали, что по мере выполнения процедур изготовления и модификации поверхности ТМ происходит увеличение поверхностной энергии от величины ~37 мДж/м², характерной для исходной пленки ПЭТФ, до ~150 мДж/м² для ТМ после плазменной обработки. При этом материал переходит из класса слабополярных (р = 0,2) в класс сильнополярных диэлектриков (р = 0,8), что является причиной гидрофилизации поверхности (с ростом полярности и поверхностной энергии контактный угол уменьшается 56% – 58%).

Для определения причин изменения свойств поверхности мембраны необходимо исследовать изменение химического состава поверхности в результате плазменного воздействия. С этой целью использовался метод ИКоптического поглощения. ИК–спектры ТМ представлены на рисунке 3.10, в которых присутствует классический набор линий поглощения, характерный для пленок ПЭТФ.



Рисунок 3.10 – Спектры ИК оптического поглощения ТМ: 1 – исходная ТМ; 2 – плазменная обработка (время обработки – 30 с); 3 – плазменная обработка (время обработки – 60 с); 4 – плазменная обработка (время обработки – 90 с).

Линия поглощения при 723 см⁻¹ приписывается [168, 169] крутильной моде колебаний метиленовой группы (CH₂), а при 792 см⁻¹ обусловлена колебаниями карбонильных γ (C=O)+ δ (COO) групп [170]. Линия поглощения при 850 см⁻¹ относится к колебаниям метиленовой группы γ (CH₂), а при 872 см⁻¹ – колебаниям фенильного γ (CH) кольца. Поглощение при 1016 см⁻¹ также обусловлено (–C–C–) валентными колебаниями и колебаниями групп (С–H) бензольного кольца в плоскости связи [170]. Линия поглощения при 1093 см⁻¹ и линия поглощения при

1241 см⁻¹ приписывается к колебаниям неполярных (C=C, C=O) функциональных групп, а при 1340 см⁻¹ – колебаниям метиленовых (=CH₂) групп [171]. Поглощение при 1407 см⁻¹ трактуется как отклонения (C–C) групп. Полоса поглощения при 1712 см⁻¹ обусловлена валентными колебаниями (C=C) и (C=O) групп [170, 171].

Воздействие плазмы на поверхность ТМ приводит к некоторому уменьшению поглощения при 1712 см⁻¹, 1241 см⁻¹ и 1093 см⁻¹, которое связано с неполярными (C=C, C=O) функциональными группами В тонком приповерхностном слое ТМ. Полученные данные находятся в хорошем согласии с результатами работ [96, 97, 98], в которых приводятся данные рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии, свидетельствующие об уменьшении количества неполярных (гидрофобных) функциональных групп С=С и С=О в результате плазменного воздействия. Разорванные связи заполняются кислородом и азотом атмосферы. В результате, на поверхности полимера образуются группы С-С/С-Н, С-О и/или С-N, О=С-О и/или N-СО-N, и N-С=О группы, свидетельствующие об увеличении количества полярных (гидрофильных) функциональные групп [96, 97, 98].

Таким образом, при воздействии плазмы происходит деструкция полимерных цепей на поверхности преимущественно в аморфной фазе, подверженной окислению. Авторы [172, 173] полагают, что наиболее вероятен разрыв связи С–О и С–С (см. рис. 3.11), имеющие энергию связи 376 кДж/моль и 335 кДж/моль соответственно.



Рисунок 3.11 – Разрыв молекулы ПЭТФ ТМ в результате воздействия плазмы.

Появившиеся карбоксильные группы, образованные в результате вторичных реакций нестабильных радикалов полимерной цепи поверхностного слоя вследствие процесса реорганизации цепи при плазменном воздействии (см. рис. 3.12), в местах разрыва химических связей определяют гидрофильность поверхности мембран [174] и являются причиной ее реконструкции.



Рисунок 3.12 – Присоединение гидроксильных групп в местах разрыва молекулы ПЭТФ ТМ.

Возможна, также, следующая химическая реакция:

$$\begin{aligned} -\operatorname{OOC} - \operatorname{C}_{6}\operatorname{H}_{4} - \operatorname{COO} - \operatorname{CH}_{2} - \operatorname{CH}_{2} \rightarrow \\ -\operatorname{OOC} - \operatorname{C}_{6}\operatorname{H}_{4} - \operatorname{COO} - + -\operatorname{CH}_{2} - \operatorname{CH}_{2} \rightarrow \\ \rightarrow -\operatorname{OOC} - \operatorname{C}_{6}\operatorname{H}_{4} - \operatorname{COOH} + \operatorname{CH}_{2} = \operatorname{CH} - \end{aligned}$$

Морфологические изменения поверхности мембраны при этом характеризуются появлением многочисленных деструктивных областей полимера, вносящие вклад в гидрофильность материала.

3.1.2. Исследование ζ-потенциала поверхности исходных и модифицированных плазмой трековых мембран

Исследование потенциала поверхности трековых мембран показало, что поверхность мембраны из ПЭТФ имеет отрицательный заряд (см. рис. 3.13). Данные результаты согласуются с работами в области исследований физикохимических свойств трековых мембран из полиэтилентерефталата, где указывается, что при протекании химической реакции взаимодействия травителя происходит отщепление молекулы этиленгликоля и терефталат–иона с образованием на поверхности карбоксильной и гидроксильной группы, определяющие отрицательный электрический заряд поверхности материала [175].

Как видно из рисунка 3.13 плазменное воздействие на поверхность мембран способствует увеличению ζ–потенциала при pH раствора 6,5 – 9,0. Еще в 30-х гг. прошлого столетия Вильбрандт [176] предположил, что электрохимическое поведение целлюлозных мембран обусловлено наличием тех или иных химических активных групп на поверхности капилляров. Активными группами для нитроцеллюлозы он считал нитрогруппы (–NO₂), а для чистой целлюлозы или ее производных с невысокой степенью замещения – гидроксильные группы (– OH). Их активность он предложил оценивать по величине дипольного момента (см. табл. 3.4).



Рисунок 3.13 – ζ–потенциал трековых мембран до и после плазменного воздействия: 1 – исходный образец; 2 – после плазменной обработки (30 с).

| Заместитель | µ·10 ¹⁸ , эл. ст. ед. | Заместитель | µ·10 ¹⁸ , эл. ст. ед. |
|------------------|----------------------------------|-------------------|----------------------------------|
| -OH | -1,7 | –OCH ₃ | -1,0 |
| -COOH | -1,8 | -COOH | -0,9 |
| -NO ₂ | -3,8 | -CH ₃ | -0,4 |
| –COH | -2,8 | -NH ₂ | +1,5 |

Таблица 3.4. Величины и знаки дипольного момента некоторых активных групп целлюлозы.

Где µ – величина дипольного момента (эл. ст. ед.).

Как показано в работе [177], введение в целлюлозу групп заместителей, имеющих кислый характер, приводит к уменьшению величины ζ -потенциала, по сравнению с образцом исходного состава. Введение группы –NO₂ с более высоким дипольным моментом приводит к увеличению ζ -потенциала. Окисление целлюлозы и связанное с этим повышение содержания СОО– групп вызывают увеличение ζ -потенциала при увеличении содержания СОО– групп и аморфной фазе. В работе [178] указано, что при окислении препарата хлопковой целлюлозы (линтер) перхлорной кислотой и увеличении содержания СОО– групп в три раза ζ -потенциал, измеренный на приборе Magendans, увеличился от –37,4 мВ до –18,4 мВ в 0,02М NaCl. Кроме СОО–групп, могут диссоциировать и другие гидроксильные группы, но в связи с низкой степени диссоциации (Кд = (10 – 13)) вклад их ионизации в общий заряд поверхности незначительный [179].

Таким образом, можно предположить, что небольшое уменьшение отрицательного ζ-потенциала при pH раствора 6,5 – 9,0 после плазменного воздействия связано в первую очередь с появлением на поверхности мембраны замещением –(СОО⁻) группы карбоксильной –(СООH) (см. рис. 3.14), что согласуется с данными, полученными методами ИК–спектроскопии (см. рис. 3.10).



Рисунок 3.14 — Схема поверхности трековой мембраны до и после воздействия низкотемпературной атмосферной плазмы.

3.1.3. Исследование проницаемости исходных и модифицированных плазмой

трековых мембран

Проницаемость мембраны является одной из важнейших характеристик мембраны, определяющих ее функциональность, и зависит от различных факторов [180]. Скорость прохождения молекул или ионов через поры зависит от давления, концентрации растворенных веществе с обеих сторон, а также проницаемость мембраны для каждого раствора [180]. Известно, что для мембран с жесткой структурой при диаметре пор намного больше размера молекул воды, увеличение давления приводит к линейному росту проницаемости от давления по H₂O [181]. Исследование зависимости проницаемости по воде и хлориду натрия трековых мембран от величины приложенного давления показывает, также, линейную зависимость (см. рис. 3.15).



Рисунок 3.15 – Проницаемость трековых мембран по воде (а) и хлориду натрия (б): 1 – исходная мембрана; 2 – после плазменной обработки (время обработки 30

c).

Авторы работы [182] рассматривают различия проницаемости мембран жидкостями HCl, KCl и NaCl различной концентрации, приходя к выводам, что различия связаны в первую очередь с концентрацией раствора и его pH.
Аналогичный эффект наблюдается при исследовании проницаемости мембран по NaCl до и после плазменной обработки (см. рис. 3.15 б). Плазменная обработка вносит существенные изменения проницаемости трековых мембран в сравнении с не модифицированными TM: проницаемость увеличивается более чем в 2,5 раза по H₂O, и более, чем в 2,0 раза по NaCl, что также свидетельствует об увеличении гидрофильности поверхности материала после плазменной обработки (см. рис. 3.8, табл. 5).

3.1.4. Исследование кристалличности исходных и модифицированных плазмой трековых мембран

Важной характеристикой полимерного имплантата играет степень его кристалличности, так как повышение кристалличности может способствовать изменению механических свойств полимера и, как следствие, влиять на функциональность медицинского изделия. В нашем случае, непредвиденное разрушение мембраны в предварительных исследованиях на биологических моделях натолкнуло на мысль о возможных механических изменениях имплантата после различных внешних воздействий (плазменная обработка, стерилизация), а также изменениях степени его кристалличности.

Степень кристалличности трековых мембран из ПЭТФ, рассчитанная по формуле (2.1), составляет 41,91%, после плазменной обработки (30 c) – 43,55%. Имеются сведения, что исходные пленки ПЭТФ имеют степень кристалличности ~15% [183], а по некоторым данным она может варьировать 20 – 40% [184, 185, 186].

В результате облучения пленки ПЭТФ и формирования мембраны путем УФ–сенсибилизации и химического травления степень кристалличности возрастает на 26,91%, если учитывать данные [183]. Плазменная обработка существенно не меняет степень кристалличности материал трековых мембран (с 41,91% до 43,55%). На рисунке 3.16 представлены дифрактограммы исходных образцов и образцов, модифицированных низкотемпературной атмосферной плазмой. На представленных дифрактограммах видны интенсивные рефлексы, при углах 20 равных 25,6°, свидетельствующие об образовании кристаллических фаз полимера [187]. Кривая интенсивности рассеяния для аморфного эталонного образца (ПЭТФ) представлена ниже интенсивного рефлекса, полученного от ТМ из ПЭТФ. Согласно расчетам вычисления степени кристалличности, выполненные по формуле (2.2), степень кристалличности исходных мембран равна 39,87%, после плазменной модификации – 40,40% (см. рис. 3.16), что согласуется с ДСК – расчетами.



Рисунок 3.16 – Дифрактограммы трековых мембран до (а) и после (б) плазменной обработки.

Возможность образования кристаллического состояния полимера зависит от способности полимерных молекул выстраиваться в упорядоченные структуры. При образовании кристаллической структуры ароматические кольца полиэфиров укладываются друг на друга (см. рис. 3.17), между полимерными цепочками

образуются водородные связи, способствующие скреплению кристалла. Полярные группы полиэтилентерефталата при этом обеспечивают прочность образованной кристаллической структуры [188].



Рисунок 3.17 – Структурная ориентация ароматических колец полиэфиров при образовании кристаллической структуры.

Все вышеперечисленные процессы имеют место при облучении материала тяжелыми ионами и УФ–воздействия. Процесс облучения тяжелыми ионами, УФ– сенсибилизация и химическое травление способствует упорядоченной укладке некристаллизованной части полимера (см. рис. 3.18), тем самым увеличивая степень кристалличности до 40%.





Процесс плазменной обработки, благодаря малой глубине проникновения активных частиц плазмы, изменяет только поверхностный слой мембраны и не влияет на кристаллическую структуру материала.

В связи с этим, исходя из полученных экспериментальным путем данных, можно сделать вывод, что вклад в изменение степени кристалличности трековых мембран плазменного воздействия незначителен и не превышает 2% по результатам ДСК и 0,5% по результатам фазового анализа.

3.1.5. Оптические характеристики исходных и модифицированных плазмой

трековых мембран

Мембраны как кератоимплантаты должны быть максимально прозрачны в видимой области спектра. В связи с этим были проведены исследования спектры пропускания в области видимого излучения (380 – 780) нм.

На рисунке 3.19 представлены спектры пропускания трековой мембраны до и после плазменной обработки в различных режимах. Согласно представленным данным, коэффициент пропускания спектра видимого излучения трековых мембран до плазменной обработки находится в пределах 40% – 44,2%, после плазменной обработки: 38,1% – 42,8% (время обработки плазмой 30 с), 36,1% – 43% (время обработки плазмой 60 с), 35,4% – 42% (время обработки плазмой 90 с). Интерференционная картина коэффициента пропускания ТМ до и после плазменной модификации наблюдается с $\lambda = 620$ нм (см. рис. 3.19).



Рисунок 3.19 – Спектр пропускания трековых мембран после плазменной обработки: 1 – исходные мембраны; 2 – после плазменной обработки (30 c); 3 – после плазменной обработки (60 c); 4 – после плазменной обработки (90 c).

Данные рисунка 3.19 показывают, что в ультрафиолетовой области наблюдается резкое увеличение пропускания, однако величина коэффициента пропускания ТМ не превышает 50%, что существенно меньше, чем коэффициент пропускания пленок ПЭТФ (T = 90%).

Показатель преломления трековых мембран, рассчитанный по формуле 2.4, до и после плазменной обработки равен n = 1,255 ± 0,1.

Коэффициент поглощения ТМ $\alpha(\lambda)$ рассчитывался согласно формуле (2.6). Данные расчетов приведены на рисунке 3.20, которые показывают, что коэффициент поглощения изменяется в интервале (0,1 – 0,3) в диапазоне видимого света. Максимальное значение коэффициента поглощения наблюдается при $\lambda = 430$ нм для ТМ. Плазменная обработка приводит к увеличению $\alpha(\lambda)$. Максимум поглощения смещается в область больших значений длин волн [189].



Рисунок 3.20 – Зависимость коэффициента поглощения α от длины волны для трековых мембран после плазменной обработки: 1 – исходные мембраны; 2 – после плазменной обработки (30 с); 3 – после плазменной обработки (60 с).

Коэффициент экстинкции к определяет ослабление света при распространении в среде за счет процессов поглощения и рассеяния. Расчет коэффициента экстинкции проводился по формуле (2.7) и данные представлены на рисунке 3.21. Данные рисунка 3.21 коррелируют с данными по оптическому поглощению α(λ).



Рисунок 3.21 – Зависимость коэффициента экстинкции к от длины волны для трековых мембран после плазменной обработки: 1 – исходные мембраны; 2 – после плазменной обработки (30 с); 3 – после плазменной обработки (60 с).

Таким образом, в видимой области спектра ТМ являются достаточно прозрачными, однако уровень пропускания составляет 40%.

3.1.6. Механические свойства исходных и модифицированных плазмой трековых мембран

Как отмечалось ранее, механические характеристики ТМ играют значимую роль, особенно остро проявляющаяся в процессах при хирургических манипуляциях. Исследования прочностных и механических характеристик были выполнены по стандартной методике одноосного испытания на растяжение образцов согласно ГОСТ 14236–81 и ГОСТ 11262–50 на испытательной установке Instron 3300. Механическое поведение полимера иллюстрировано кривой растяжения, представленной на рисунке 3.22.



Рисунок 3.22 – Кривые растяжения исходных трековых мембран и мембран после плазменной обработки: 1 – исходная трековая мембрана; 2 – плазменная обработка (время обработки – 30 с); 3 – плазменная обработка (время обработки – 60 с); 4 – плазменная обработка (время обработки – 90 с).

Согласно представленному рисунку, кривая растяжения исходных трековых мембран имеет типичный вид деформационной кривой мягкого и вязкого материала без выраженного предела текучести – точки кривой «нагрузки– удлинения», в которой без увеличения растягивающей нагрузки (*S*) происходит первое увеличение деформации образца. В случае, когда материал не имеет предела текучести, графически определяют условный предел текучести (*S_x*) [190].

В представленной зависимости «напряжение при растяжении относительное удлинение» условно можно выделить относительные области: прямолинейный участок, на котором наблюдается линейная зависимость деформация; напряжение участок отклонения от прямолинейности, свидетельствующий о проявлении пластической составляющей, вклад которой по мере приближения к условному пределу текучести (S_x) возрастает; участок снижения приложенного усилия, сопровождающего усилением межмолекулярного взаимодействия полимерных цепей и развитием деформации.

Деформационные кривые мембран после плазменной обработки аналогичны зависимости «напряжение при растяжении – относительное удлинение» исходных образцов, на которых условно присутствуют прямолинейный участок, участок отклонения от прямолинейности, условный предел текучести, участок снижения приложенного усилия. Однако точка разрыва смещена в область меньших значений напряжения и удлинения при разрыве (см. табл. 3.5).

Таблица 3.5. Механические характеристики трековых мембран до и после плазменной обработки.

| Образец | Относительное | Модуль | Условный | Напряжение при |
|-----------|-----------------|-----------------|------------------|------------------|
| | удлинение при | Юнга, МПа | предел | растяжении, |
| | разрыве, % | | текучести, | МПа |
| | | | МПа | |
| Исходный | $10,22 \pm 2,3$ | 3836 ± 184 | $39,3 \pm 12,1$ | $70,8 \pm 17,1$ |
| Плазма 30 | $7,75 \pm 1,8;$ | $3577 \pm 207;$ | $22,1 \pm 11,5;$ | $53,2 \pm 11,4;$ |
| | p < 0,05 | p < 0,008 | p < 0,003 | p < 0,05 |
| Плазма 60 | $6,69 \pm 1,8;$ | $3300 \pm 254;$ | $20,4 \pm 14,2;$ | $49,1 \pm 10,9;$ |
| | p < 0,004 | p < 0,0003 | p < 0,003 | p < 0,04 |
| Плазма 90 | $4,78 \pm 1,3;$ | $3528 \pm 199;$ | $21,4\pm 10,9;$ | $49,0 \pm 13,4;$ |
| | p < 0,0007 | p < 0,008 | p < 0,003 | p < 0,04 |

Примечания: Плазма 30 – время воздействия плазмы 30 с; Плазма 60 – время воздействия плазмы 60 с; Плазма 90 – время воздействия плазмы 90 с. Все приведенные значения в таблице - средние величины. р – уровень статистической значимости по сравнению с исходными мембранами.

Рассчитанный модуль Юнга (*E*) по формуле (2.10) исходных ТМ показал значение 3836 \pm 184 МПа. Плазменная модификация мембран способствует некоторому статистически значимому уменьшению модуля Юнга до 3577 \pm 207 МПа (время обработки плазмой 30 с). В результате расчетов *E* трековых мембран до и после плазменной обработки в различных временных режимах получена зависимость значения модуля Юнга от времени плазменной обработки, представленная на рисунке 3.23. Тесная связь значения *E* от времени обработки плазмой подтверждается значением коэффициента детерминации $R^2 = 0,75$.



Рисунок 3.23 – Зависимость значения модуля Юнга от времени плазменной обработки.

Согласно представленным на рисунке 3.23 данным, модуль Юнга в зависимости от времени плазменной обработки изменяется нелинейно.

Таким образом, исследования механических характеристик ТМ после плазменной обработки показали следующие статистически значимые различия и изменения в сравнении с исходными образцами (см. табл. 8):

1. Уменьшение удлинения при разрыве на 24,18% (30 с воздействия плазмы), 34,55% (60 с воздействия плазмы) и 53,24% (90 с воздействия плазмы).

Уменьшение модуля Юнга на 6,73% (30 с воздействия плазмы), 13,98%
 (60 с воздействия плазмы) и 8,03% (90 с воздействия плазмы).

3. Уменьшение относительного предела текучести на 43,73% (30 с воздействия плазмы), 48,08% (60 с воздействия плазмы) и 45,38% (90 с воздействия плазмы).

4. Уменьшение напряжение при растяжении на 24,8% (30 с воздействия плазмы), 30,64% (60 с воздействия плазмы) и 30,75% (90 с воздействия плазмы).

трековых мембран

В процессе имплантации мембрана подвергается процессу расправления мембраны путем многократных маятникообразных движений длинных шпателей вдоль поверхностей пленки, что может повлечь ее повреждение, заглаживанию и повреждению пор, что скажется на функциональности имплантата (см. рис. 2.6). В связи с этим, проведение трибологических испытаний может объективно показать воздействие металлических инструментов на поверхность мембраны при хирургических манипуляциях.

На рисунках 3.24, 3.25 приведены графики изменения коэффициента трения в зависимости от пути трения и скорости скольжения, при нормальной нагрузке 1Н и 2Н.



Рисунок 3.24 – Зависимости изменения коэффициента трения для различного пути трения (а) и скорости скольжения (б).



Рисунок 3.25 – Коэффициент трения (а) исходных ТМ при нормальных нагрузках (1H и 2H) и изображения (б, в) дорожек трения после испытаний с различной нагрузкой и профиль бороздок с увеличенных фрагментов: 1H (б), 2H (в).

Величина коэффициента трения находится в диапазоне 0,08 - 0,17. Влияние скорости на величину выражается в увеличении коэффициента трения в 3 - 4 раза при уменьшении скорости скольжения от 5 мм/с до 1,5 мм/с. Вместе с тем в диапазоне скоростей 5 мм/с – 30 мм/с коэффициент трения увеличивается в 1,5 - 2 раза (с 0,08 до 0,16). Увеличение нагрузки способствует росту коэффициента трения до 3 раз. Следует отметить, что при испытаниях с большей длительностью и скоростью скольжения величина коэффициента трения варьировалась в диапазоне 0,17 – 0,37 [173]. Изменение длительности испытания не способствует значимому изменению коэффициента трения при увеличении длины пути трения.

На рисунке 3.26 изображены характерные дорожки трения после испытаний с различной длиной пути трения и профиль бороздок с увеличенных фрагментов исходной ТМ, сформировавшиеся на поверхности ТМ. Увеличенные фрагменты изображений иллюстрируют наиболее поврежденные области.

83



Рисунок 3.26 – Изображения дорожек трения после испытаний с различной длиной пути трения и профиль бороздок с увеличенных фрагментов исходной TM: 10 м (а), 15 м (б), 30 м (в).

Согласно данным, представленным на рисунке 3.26, по мере увеличения длительности испытания увеличивается воздействие контртела на поверхность трековой мембраны без явно выраженной направленности: формируются «бороздки» И заглаживаются поры вследствие пластического оттеснения материала под действием контртела. Ширина бороздок увеличивается по мере увеличения длительности испытания (см. рис. 3.26, тест длительностью 30 м). Глубина «бороздок» изменяется не равномерно без явной зависимости от пути трения: при трении с дистанцией 30 м глубина «бороздок» составляет 0,05 мкм, а при трении с дистанцией 10 м глубина «бороздки» достигает 0,29 мкм. Большая глубина «бороздки» предположительно связана с тем, что в случае формирования единственной «бороздки» (тест с дистанцией 10 м), деформация приобретает

локализованный характер и это способствует большему повреждению поверхности. В случаях образования большого количества дорожек, напряжения распределяются на большей поверхности и материал не переходит в стадию разрушения (см. рис. 3.26, тест длительностью 30 м), что способствует формированию меньшей глубины «бороздок» и выглаживанию поверхности трековой мембраны с частичным «замятием» пор.

Аналогичная картина наблюдается при испытаниях с различной скоростью скольжения (см. рис. 3.27). Увеличение нагрузки приводит к образованию более широких следов износа с большим количеством «бороздок» малой глубины с шириной до 1,5 мкм (см. рис. 3.27).



Рисунок 3.27 – Профиль бороздок с фрагментов исходной ТМ после испытаний с различной скоростью скольжения: 5 мм/с (а), 15 мм/с (б), 30 мм/с (в)

На рисунке 3.28 изображены характерные дорожки трения после испытаний с различной длиной пути трения и профиль бороздок с увеличенных фрагментов,

сформировавшиеся на поверхности ТМ после плазменного воздействия (время воздействия 30 с).



Рисунок 3.28 – Изображения дорожек трения с длиной пути трения 10 м и профиль бороздок с увеличенных фрагментов ТМ: исходные (а), после плазменной обработки – 30 с (б), после плазменной обработки – 60 с (в).

Согласно представленным данным на рисунке 3.28, действие контртела на поверхность мембраны после плазменного воздействия аналогичное, как на исходные мембраны, и не имеет явно выраженной направленности. Наблюдалось формирование «бороздок» и заглаживания пор вследствие пластического оттеснения материала под действием контртела. Глубина «бороздок» изменялась без явной зависимости от пути трения: при трении с дистанцией 10 м глубина «бороздок» – 0,25 мкм, при трении с дистанцией 30 м глубина «бороздок» составляла 0,15 мкм (время воздействия плазмы 30 с).

По результатам трибологических испытаний установлено, что длительность обработки низкотемпературной атмосферной плазмой на поверхность ТМ не оказывает существенного влияния на поведение коэффициента трения и характер воздействия контртела на ТМ. Выраженные следы износа материала и замятие пор наблюдается при трении с дистанцией 30 м, большей нагрузкой и со скоростью скольжения более 5 мм/с. Учитывая максимально деликатное воздействие хирургического инструментария на имплантируемый внутритканно материал, минимальную на него нагрузку, а также результаты трибологических тестов, шпатели при расправлении мембраны внутрикорнеально не способствуют деформации и повреждению поверхности мембраны.

3.2. Влияние процессов у-стерилизации на свойства ПЭТФ трековых мембран

3.2.1. Поверхностные свойства модифицированных плазмой трековых мембран после *ү*-стерилизации

Следующим фактором воздействующим на ТМ при создании роговичных имплантатов является стерилизация γ–облучением. При этом необходимо рассмотреть как изолированное действие γ–лучей на трековые мембраны, так и синергетику γ–облучения и плазменного воздействия на структуру и свойства ТМ.

На рисунке 3.29 представлено электронно-микроскопическое изображение фрагмента поверхности модифицированных и немодифицированных плазмой мембран после у-стерилизации (доза 1кГр).



Рисунок 3.29 – Электронно-микроскопическое изображение трековой мембраны после γ-облучения: а) не модифицированный плазмой образец, б) модифицированный плазмой образец (время воздействия плазмы 30 с).

Данные рисунка 3.29 а свидетельствуют о том, что на поверхности мембраны после γ–облучения появляются дефекты неправильной формы (см. рис. 3.29, указано стрелкой). Стерилизация плазменно–обработанных образцов также способствует образованию дефектов различного размера (см. рис. 3.29 б).

На рисунке 3.30 приведены изображения поверхности (см. рис. 3.30 а, г), профили поверхности (см. рис. 3.30 б, д) и трехмерные изображения (см. рис. 3.30 в, е) ТМ после γ -облучения. Дефекты, представленные на рис. 3.30, имеют неправильную форму, средний размер ~ 0,5 мкм, глубину 0,4 ± 0,15 мкм при дозе облучения 1 кГр и 0,5 ± 0,18 мкм при дозе облучения 10 кГр (см. рис. 3.30).



88



Рисунок 3.30 – Изображение, профиль поверхности и трехмерное изображение поверхности трековых мембран после у-стерилизации: доза облучения 1 кГр (а – в) и доза облучения 10 кГр (г − e); кривые 1 − 3 показывают профиль поверхности дефектов трековых мембран.

Аналогичный эффект образования дефектных зон после у-стерилизации наблюдается у плазменно-обработанных образцов (см. рис. 3.31, 3.32).



4 6 Длина, мкм 2 Время плазменной обработки – 60 секунд

1,0

a)

30 мкм

33 мкм

в)

Рисунок 3.31 – Изображение (а), профиль поверхности (б) и трехмерное изображение (в) поверхности плазменно-обработанных ТМ после у-стерилизации (доза облучения 1 кГр).

б)





Глубина дефектов ТМ после γ -стерилизации плазменномодифицированных образцов достигает величины 0,4 ± 0,2 мкм (время плазменной обработки – 30 c), 0,41 ± 0,1 мкм (время плазменной обработки – 60 c), 0,52 ± 0,2 мкм (время плазменной обработки – 90 c) при дозе 1 кГр мкм (см. рис. 3.31) и 0,51 ± 0,9 мкм (время плазменной обработки – 30 c), 0,53 ± 1,1 мкм (время плазменной обработки – 60 c), 0,59 ± 0,9 мкм (время плазменной обработки – 90 c) при дозе облучения 10 кГр (см. рис. 3.32).

Площадь дефектных зон после *γ*-стерилизации модифицированных и не модифицированных плазмой образцов была определена графически. Относительная площадь дефектов [191], равная отношению площади дефектных элементов к общей площади исследуемой области, представлена в таблице 3.6.

90

| Образцы | Относительная площадь кратерообразных дефектов, % | | | | | | | |
|--------------------------|---|----------------|----------------|----------------|--|--|--|--|
| после ү– стерилизации | Время обработки низкотемпературной плазмой | | | | | | | |
| | 0 секунд | 30 секунд | 60 секунд | 90 секунд | | | | |
| 1 кГр | $7,9 \pm 0,9$ | $8,1 \pm 0,4,$ | $8,9 \pm 0,2,$ | $5,8 \pm 1,5,$ | | | | |
| | | p > 0,473 | p > 0,137 | p > 0,579 | | | | |
| 10 кГр | 6,1 ± 1,3 | $8,1 \pm 0,9,$ | $6,5 \pm 2,6,$ | $5,1 \pm 1,8,$ | | | | |
| | | p > 0,319 | p > 0,34 | p > 0,412 | | | | |

Таблица 3.6. Относительная площадь (%) кратерообразных дефектов после *γ*-стерилизации модифицированных и не модифицированных плазмой образцов.

Примечание: p – уровень статистической значимости различий по сравнению с необработанными плазмой стерилизованными образцами.

Согласно данным, представленным в таблице 9, статистически значимых различий между образцами, облученными в дозах 1кГр и 10кГр, нет, как нет и различий между необработанными плазмой стерилизованными мембранами и обработанными плазмой стерилизованными TM (p > 0,05).

Таким образом, *ү*–стерилизация ТМ из ПЭТФ способствует образованию различного размера, глубины и площади дефектов в материале. Различия по размерам, глубине и площади дефектов обработанных и необработанных плазмой образцов после *ү*–облучения, а также облучением разными дозами (1кГр и 10кГр), статистически незначимы.

Вопрос влияния *ү*-облучения и синергетического действия плазмы и *ү*стерилизации на плотность и размеры сквозных пор материала очень важен, так как затрагивает проницаемость мембраны и, как следствие, ее функциональность. Гистограммы распределения сквозных пор по размерам представлены на рисунках 3.33, 3.34.

Результаты измерения сквозных пор трековых мембран после γ стерилизации показали средний размер пор – 0,55 мкм (см. рис. 3.33), что больше на 3,7% по сравнению с исходными образцами.



Рисунок 3.33 – Распределение пор трековых мембран после ү–стерилизации (доза облучения 1 кГр) по размеру диаметра.

Гистограмма распределения пор по значению площади сечения приставлена на рисунке 3.34.



Рисунок 3.34 – Распределение пор трековых мембран после ү–стерилизации (доза 1 кГр) по площади.

На основе расчётов установлено, что больше половины (55%) пор ТМ после γ -стерилизации имеет площадь входного отверстия 0,1 мкм² (см. рис. 3.34). Поры с площадью входного отверстия более 0,3 мкм² составляют ~ 28,6%, что на 9,6% больше количества S_{сечения пор} с диаметром более 0,3 мкм² исходных ТМ.

Исследование топографии поверхности также показало (см. рис. 3.35), что воздействие γ–облучения в стерилизационных дозах (1 кГр и 10 кГр) приводит к возникновению элементов разрушения (указано стрелками) поверхности с плотностью дефектов порядка 4·10⁻³ мкм².



Рисунок 3.35 – Топография поверхности стерилизованных (1 кГр) трековых мембран без (а) и после плазменной модификации: время обработки 30 секунд (б), 60 секунд (в), 90 секунд (г).

Трековые мембраны были обработаны плазмой и после простерилизованы γ–квантами ⁶⁰Со в дозах 1кГр и 10кГр. Исследование топографии мембран после плазменной обработки и последующим γ–облучением показало, что воздействие плазмы способствует появлению деструктивных областей на поверхности материала многочисленных мелких неровностей, хаотично В виде распределенных на поверхности полимера высотой не более 100 нм (см. рис. 3.35). Последующая стерилизация плазменно-обработанных образцов способствует сохранению тенденции к образованию на поверхности материала мелких неровностей, однако при сопоставительном анализе данных, полученных методами АСМ и лазерной сканирующей микроскопии, замечена меньшая выраженность неровностей на поверхности плазменно-обработанных TM, подвергнутых стерилизации.

Сравнительных анализ данных параметра шероховатости S_a показал, что статистически значимых различий параметра S_a TM до и после γ -стерилизации нет, однако имеются различия между обработанными и необработанными плазмой образцами (р < 0,03). Шероховатость мембран, подвергнутых плазменному воздействию и последующему γ -облучению, имеет среднее значение $S_a = 0,055$ мкм, что на 44% – 46% больше среднего значения S_a мембран только после стерилизации (см. табл. 3.7), и на 47% меньше плазменно-обработанных TM (время обработки плазмой – 30 с) (см. табл. 3.1).

Таблица 3.7. Средние значения параметров шероховатости трековых мембран до и после у–стерилизации.

| Образец | S_a , мкм | S_q , мкм | S_p , мкм | S_z , мкм |
|----------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| Исходный | 0,0306 | 0,0375 | 0,265 | 0,81 |
| γ1кГр | 0,0279 | 0,0462 | 0,894 | 1,465 |
| γ10 кГр | 0,0299 | 0,0495 | 0,867 | 1,423 |
| ү1 кГр + пл30 | 0,055* | 0,101* | 0,279 | 0,905 |
| ү1 кГр + пл60 | 0,055* | 0,101* | 0,389 | 0,924 |
| ү1 кГр + пл90 | 0,06* | 0,100* | 0,713 | 1,248 |
| γ10 кГр + пл30 | 0,0345 | 0,0563 | 0,325 | 0,926 |
| γ10 кГр + пл60 | 0,0497* | 0,0824* | 0,645 | 1,199 |
| γ10 кГр + пл90 | 0,0514* | 0,0827* | 1,047 | 1,881 |

Примечания: γ1 кГр и γ10 кГр – после ү–стерилизации в дозах 1кГр и 10кГр; + пл30, 60, 90 – после плазменной модификации поверхности, время воздействия плазмы 30, 60, 90 с. Все приведенные значения в таблице средние величины; *p < 0,05 – уровень статистической значимости различий по сравнению со стерилизованными не модифицированными плазмой мембранами.

Зависимость параметра шероховатости S_a после плазменного воздействия и последующей γ -стерилизации от плазменной обработки представлены на рисунке 3.36, где прослеживается увеличение S_a от 0,0279 мкм до 0,06 мкм при увеличении времени воздействия плазмы. Как видно из рисунка 3.36, зависимость имеет линейный характер. Однако коэффициент детерминации $R^2 = 0,5894$, свидетельствующий о 58,94% различиях в значениях переменной x, не показывает явной зависимости S_a от времени плазменного воздействия.



Рисунок 3.36 – Зависимость параметра шероховатости образцов после стерилизации γ–облучением (доза облучения 1 кГр) от времени воздействия низкотемпературной атмосферной плазмой.

Согласно данным таблицы 3.7, стерилизация γ -квантами ⁶⁰Со способствует увеличению значений высотных параметров S_p , S_z от 0,265 мкм до 0,894 мкм (S_p) и от 0,81 мкм до 1,465 мкм (S_z) при дозе облучения 1 кГр.

Зависимость роста высотных параметров S_p после стерилизации от времени плазменного воздействия, представленная на рисунке 3.37, подтверждается

коэффициентом детерминации $R^2 = 0,79$ (доза облучения 1 кГр) и $R^2 = 0,75$ (доза облучения 10 кГр).



Рисунок 3.37 – Зависимость параметров шероховатости S_p γ–стерилизованных ТМ от времени плазменной модификации: 1 – доза облучения 1 кГр; 2 – доза облучения 10 кГр.

Результаты исследования влияния γ -облучения на величину смачивания ТМ представлены на рисунке 3.38, из которого видно, что γ -стерилизация ТМ не способствует значительному изменению θ_w° . Динамика измерения смачиваемости поверхности в течение 21 суток показала стабильность θ_w° , который оставался в пределах с 71° до 72° (после γ -стерилизации дозой 1 кГр), с 69° до 70° (после γ -стерилизации дозой 1 кГр), с 69° до 70° (после γ -стерилизации дозой 10 кГр) (см. рис. 3.38).



Рисунок 3.38 – Зависимость величины краевого угла смачивания трековой мембраны после γ–стерилизации: 1 – исходная мембрана; 2 – после стерилизации (доза облучения 1 кГр); 3 – после стерилизации (доза облучения 10 кГр).

Анализ результатов показал, что γ -стерилизация не оказывает заметного влияния на θ_w° плазменно-обработанные ТМ (см. табл. 3.8).

Таблица 3.8. Средние значения параметров поверхности ТМ: поверхностная энергия σ_s , дисперсионная σ_s^d и поляризационная σ_s^p составляющие поверхностной энергии, угол смачивания: θ_w° (вода), θ_g° (глицерин).

| TM | σ_s | $\mathbf{\sigma}^d_s$ | σ_s^p | Поляр- | Θ°_w * | $\theta^{\circ}_{a}*$ |
|----------------|------------|-----------------------|--------------|--------|--------------------|-----------------------|
| | | ~ | ~ | ность | | g |
| ү1 кГр | 43,73 | 0,30 | 43,43 | 0,99 | 68,7 | 77,2 |
| γ10 кГр | 37 | 0,9 | 36,34 | 0,98 | 72,3 | 80,9 |
| ү1 кГр + пл30 | 110,3 | 3,1 | 107,2 | 0,97 | 36,0 | 70,5 |
| ү1 кГр + пл60 | 108,56 | 2,68 | 105,88 | 0,98 | 38,1 | 69,3 |
| γ1 кГр + пл90 | 107,1 | 2,43 | 104,67 | 0,98 | 36,1 | 71,1 |
| ү10 кГр + пл30 | 120,1 | 7,08 | 113,02 | 0,94 | 39,1 | 76,9 |
| γ10 кГр + пл60 | 123,07 | 8,15 | 114,91 | 0,93 | 41,4 | 79,1 |

| γ10 кГр + пл90 | 128,13 | 9,6 | 118,53 | 0,93 | 38,3 | 78,6 |
|----------------|--------|-----|--------|------|------|------|
| | | | | | 1 | |

Примечание: $\gamma 1 \ \kappa \Gamma p \ u \ \gamma 10 \ \kappa \Gamma p - после \gamma$ -стерилизации в дозах $1 \kappa \Gamma p \ u \ 10 \kappa \Gamma p; + пл30, 60, 90 - после плазменной модификации поверхности, время воздействия плазмы 30, 60, 90 с; поверхностная энергия dim <math>\sigma = M \Lambda m/m^2$; контактный угол dim $\theta =$ градус (θ°).*- приведенные данные – средние величины.

Динамика изменения угла смачивания плазменно-модифицированных и последовательно γ -стерилизованных ТМ в зависимости от времени хранения показывала увеличение контактного угла (на 10°- 12° и составляет при дозе 1 кГр $\theta = 44,5^{\circ}$, см. рис. 3.39, 3.40) в первые три дня хранения (см. рис. 3.39, 3.40). Дальнейшее хранение в течение 20 дней хранения не приводит к заметному изменению θ_{w}° .



Рисунок 3.39 – Зависимость величины краевого угла смачивания плазменномодифицированных трековой мембраны после γ–стерилизации от времени
хранения: 1 – исходная мембрана; 2 – после стерилизации (доза облучения 1 кГр);
3 – после стерилизации (доза облучения 1 кГр) и плазменной обработки (30 с); 4 – после стерилизации (доза облучения 1 кГр) и плазменной обработки (60 с); 5 – после стерилизации (доза облучения 1 кГр) и плазменной обработки (90 с).



Рисунок 3.40 – Зависимость величины краевого угла смачивания плазменно модифицированной трековой мембраны после γ–стерилизации от времени хранения: 1 – исходная мембрана; 2 – после стерилизации (доза облучения 10 кГр); 3 – после стерилизации (доза облучения 10 кГр) и плазменной обработки (30 с); 4 – после стерилизации (доза облучения 10 кГр) и плазменной обработки (60 с); 5 – после стерилизации (доза облучения 10 кГр) и плазменной обработки (90с).

Стерилизация γ–излучением радионуклида ⁶⁰Со увеличивает СЭП от 29,95 мДж/м² до 43,73 мДж/м² (доза облучения 1 кГр) и 37 мДж/м² (доза облучения 10 кГр), что соответствует увеличению на 31,51% и 19,14% соответственно (см. табл. 3.8). Динамика измерений СЭП показала относительную стабильность ее значений (см. рис. 3.41).



Рисунок 3.41 – Зависимость величины свободной энергии поверхности трековой мембраны после γ–стерилизации от времени хранения: 1 – не стерилизованная TM; 2 – стерилизованная TM (доза облучения 1 кГр); 3 – стерилизованная TM (доза облучения 10 кГр).

Среднее значение поверхностной энергии плазменно-модифицированных ТМ после γ -стерилизации составляет 110,3 мДж/м², что на 66,6 мДж/м² больше полной поверхностной энергии стерилизованных мембран без плазменной обработки. Следует отметить, что вклад полярной составляющей в энергию поверхности плазменно-модифицированных ТМ после γ -стерилизации более значителен, чем вклад дисперсионной (см. табл. 3.8). Как показали результаты исследования, хранение плазменно-обработанных образцов с последующей γ стерилизацией в течение 21 дня не способствует существенным изменениям значений СЭП (см. рис. 3.42).



Рисунок 3.42 – Зависимость величины свободной энергии поверхности трековой мембраны после γ–стерилизации дозами 1 кГр (а) и 10 кГр (б) от времени хранения: 1 – не стерилизованная ТМ; 2 – стерилизованная ТМ; 3 – стерилизованная ТМ после плазменного воздействия (время воздействия 30 с); 4 – стерилизованная ТМ после плазменного воздействия (время воздействия 60 с); 5 – стерилизованная ТМ после плазменного воздействия (время воздействия 90 с).

Приведенные данные показывают существенное влияние процедуры плазменной обработки и последующего γ -облучения на величину шероховатости и контактного угла трековых мембран из ПЭТФ. Литературные данные, касающиеся воздействию плазмы на величину шероховатости и контактного угла смачивания, свидетельствуют о схожих результатах роста параметра R_a [192] и гидрофильности поверхности пленок ПЭТФ. Подобный эффект объясняется окислением поверхности полимера, которое проявляется в уменьшении величины Θ и, как следствие, увеличении гидрофильности поверхности материала [193]. Поведение трековой мембраны по отношению к плазменному воздействию во многом подобно поведению пленки ПЭТФ.

Воздействие плазмы на ТМ приводит к значительному, более чем в 4 раза, увеличению поверхностной энергии, причем это увеличение связано с ростом полярной составляющей σ_s^p полной энергии (см. табл. 3.8). Следует отметить, что вклад дисперсионной составляющей σ_s^d в полную поверхностную энергию не

превышает 7% (см. табл. 3.8). Последующее γ -облучение ТМ дозой 1 кГр и 10 кГр незначительно уменьшает поверхностную энергию σ_s (см. табл. 3.8). Таким образом, поверхностная энергия ТМ из ПЭТФ имеет доминирующе полярный характер, что связано с уменьшением количества неполярных групп и увеличением количества полярных групп на поверхности ТМ.

В результате стерилизации γ -облучением ⁶⁰Со образцов ТМ, модифицированных плазмой, в спектрах ИК-оптического поглощения наблюдается уменьшение интенсивности полосы поглощения 1712 см⁻¹, 1241 см⁻¹, 1340 см⁻¹, 1093 см⁻¹ (см. рис. 3.43, 3.44, 3.45).



Рисунок 3.43 – Спектры ИК-оптического поглощения ТМ: 1 – исходная ТМ; 2 – γ–облучение ТМ дозой 1 кГр; 3 – γ–облучение ТМ дозой 10 кГр.



Рисунок 3.44 – Спектры ИК–оптического поглощения ТМ: 1 – исходная ТМ; 2 – γ–облучение ТМ дозой 1 кГр; 3 – γ–облучение ТМ дозой 1 кГр и плазменная обработка 30 с.



Рисунок 3.45 – Спектры ИК-оптического поглощения ТМ: 1 – исходная ТМ; 2 – γ-облучение ТМ дозой 10 кГр; 3 – γ-облучение ТМ дозой 10 кГр и плазменная обработка 30 с.

Как было отмечено ранее, линия поглощения при 1093 см⁻¹ и линия поглощения при 1241 см⁻¹ приписывается к колебаниям неполярных (C=C, C=O) функциональных групп, а при 1340 см⁻¹ – колебаниям метиленовых (=CH₂) групп [171]. Полоса поглощения при 1712 см⁻¹ обусловлена валентными колебаниями (C=C) и (C=O) групп [170, 171]. Стерилизация γ -лучами способствует уменьшению неполярных (C=C, C=O) функциональных групп, однако, согласно данным ИК–спектров, имеется некоторое уменьшение поглощения при 792 см⁻¹, приписываемые к колебаниям карбонильных γ (C=O)+ δ (COO) групп. Полученные результаты объяснимы деструктивным действие γ –лучей на полимерные цепи с их разрывом и последующей сшивкой с образованием новых связей и функциональных групп.

Таким образом, результаты анализа ИК–спектров показали уменьшение количества полярных функциональных групп, и, как следствие, некоторое уменьшение смачиваемости поверхности (стерилизация модифицированных образцов привела к увеличению краевого угла смачивания на $3^{\circ} - 5^{\circ}$). Следует отметить, что эффекты воздействие жесткого ультрафиолетового (УФ) излучения эксимерной лампы $\lambda = 172$ нм на пленки ПЭТФ (рост поверхностной энергии, диссоциация химических связей) [194] аналогичны наблюдаемому действию γ –излучения.

В отличие от УФ–воздействия, γ –облучение оказывает более существенное влияние на параметры шероховатости поверхности модифицированных плазмой образцов: *S_a* стерилизованной трековой мембраны уменьшился с 0,103 мкм до 0,055 мкм (обработка плазмой 30 с) при дозе γ –облучения 1 кГр и 0,0345 мкм (обработка плазмой 30 с) при дозе γ -облучения 10 кГр (см. рис. 3.37, табл.3.8).

В статье [195] показан механизм влияния *ү*-облучения на структуру пленок ПЭТФ. Согласно приведенным данным, в результате *ү*-воздействия малыми дозами (5 кГр – 10 кГр) происходит разрыв молекулярных связей полимера и последующей сшивкой цепи в областях разрыва с формированием диэтиленгликоль – сегмента (см. рис. 3.46).



105

диэтиленгликоль - сегмент

Рисунок 3.46 – Механизм сшивки полимерной цепи ПЭТФ в результате γ– воздействия малыми дозами.

Подобные изменения характерны только при малых дозах у-воздействия, так как высокие дозы (60 – 200) кГр, как показано в работе [195], способствуют большей деградации полимерной цепи и ее необратимому разрушению. Эффект изменения поверхности TM в результате у-воздействия в малых дозах (уменьшение размеров деструктивных областей и незначительное «сглаживание», выраженное в виде снижения параметра S_a от 0,103 мкм до 0,055 мкм), предположительно, имеет ту же природу, что и эффект малых доз ионизирующего излучения [196], заключающийся в том, что слабое воздействие ионизирующего излучения вызывает перестройку – реконструкцию структуры материала, которая в процессе облучения. Возбуждение у-лучами происходит электронной подсистемы материала передается ядерной подсистеме, что приводит к устранению дефектов и переходу материала в более равновесное состояние по сравнению с исходным [197].

3.2.2. Исследование кристалличности трековых мембран после ү-стерилизации

мембран ПЭТФ Степень кристалличности трековых ИЗ после $\gamma -$ 43,71%, 2% составляет что не более, больше стерилизации чем на кристалличности исходных мембран (рис. 3.47).



Рисунок 3.47 – Степень кристалличности исходных трековых мембран, мембран после γ–стерилизации, после плазменной обработки, полученная методом ДСК.

На рисунке 3.48 представлены дифрактограммы образцов после устерилизации, где виден интенсивный рефлекс, при 20 – 25,6°, что также свидетельствует об образовании кристаллических фаз полимера [198]. Кривая аморфного образца интенсивности рассеяния для эталонного $(\Pi \Im T \Phi)$ представлена ниже интенсивного рефлекса, полученного от ТМ из ПЭТФ после устерилизации. Степень кристалличности, рассчитанная с использованием пакета программ POWDERCELL, соответствует 42,71% (см. рис. 3.48), что на 2,84% больше степени кристалличности исходных мембран, рассчитанной по той же методике. Плазменный эффект в изменения степени кристалличности трековых мембран после стерилизации незначителен (см. рис. 3.47).



Рисунок 3.48 – Дифрактограмма трековых мембран после ү-стерилизации.

Полученные данные хорошо согласуются с результатами работ [199, 200, 201]. Увеличение степени кристалличности наблюдается в результате уоблучения малыми дозами (до 25 кГр). С увеличением дозы у-облучения кристалличность полимера снижается, при ЭТОМ на дифрактограммах исследуемых образцов после у-воздействия дозами свыше 50 кГр появляется сглаживание пика, свидетельствующее о переходе материала в более аморфное состояние [201, 202 Механизм подобного действия связан с разрывом связей, образующих кристаллическую структуру, результате *у*–воздействия, В c последующей более хаотичной перестройкой цепей. Более высокие дозы уоблучения способствуют значительной деградации полимера и значительному разрушению упорядочено уложенной структуры полимерных цепей, что проявляется в снижении степени кристалличности [203,204].

3.2.3. Исследование ζ-потенциала поверхности трековых мембран после γстерилизации

Результаты измерения электрокинетических свойств мембран после стерилизации *ү*–облучением ⁶⁰Со представлены на рисунке 3.49.



Рисунок 3.49 – ζ–потенциал трековых мембран до и после стерилизации γ– облучением ⁶⁰Co: 1 – исходный образец; 2 – после стерилизации.

Как видно из рисунка 3.49 и 3.50, при pH = 6,8 ζ-потенциал резко увеличивается у образцов после стерилизации и достигает своих значений до –56 мВ при pH = 8,8, что соответствует увеличению на 23% по сравнению с исходными образцами.



Рисунок 3.50 – ζ– потенциал трековых мембран после плазменного воздействия без стерилизации и со стерилизацией γ–облучением ⁶⁰Co: 1 – исходный образец; 2 – после плазменной обработки (30 c); 3 – после плазменной обработки (30 c) и стерилизации (доза облучения 1 кГр).
Последующее воздействие γ -квантами ⁶⁰Со способствует уменьшению ζ потенциала с –45 мВ до –63 мВ при рН = 5,6, что может быть связано с появлением новых отрицательно заряженных групп на поверхности полимера в результате повреждения полимерных цепей. Возможный механизм этого процесса представлен на рисунке 3.51.



Рисунок 3.51 – Схема поверхности трековой мембраны до (а) и после (б) воздействия *ү*–облучения.

В связи с полученными результатами, можно предположить, что находясь в условиях циркуляции внутриглазной жидкости, содержащей воду (98%) с электролитами (Na, Cl, K, Ca, HCO₃, PO₄, Mg) и глобулины, имеющие отрицательный заряд на поверхности [205], в диапазоне pH 5 – 9 трековая мембрана с зарядом поверхности «–» не способна адгезировать на своей поверхности белки, тем самым способствуя функционированию пор и пропусканию воды с электролитами.

3.2.4. Исследование проницаемости трековых мембран после у-стерилизации

Исследование проницаемости трековой мембраны по H_2O и 0,9% (0,1 M) NaCl после стерилизации ионизирующего облучения показало, что воздействие γ – лучами способствует увеличению проницаемости по воде на 51% (доза облучения 1 кГр) и 58,3% (доза облучения 10 кГр), по хлориду натрия на 11,2% (доза облучения 1 кГр) и 40,3% (доза облучения 10 кГр) в сравнении с исходной ТМ (см. рис. 3.52).



Рисунок 3.52 – Проницаемость трековых мембран по воде (а) и хлориду натрия (б): 1 – исходная мембрана; 2 – после ү–стерилизации (доза облучения 1 кГр); 3 – после ү–стерилизации (доза облучения 10 кГр).

Наблюдаемый эффект иллюстрирует предполагаемое увеличение диаметра пор (см. рис. 3.33, 3.34), как наиболее «уязвимой» области полимера к внешнему воздействию [76], вследствие разрушающего действия γ -облучения, что проявляется в увеличении проницаемости мембраны. Данные порометрии подтверждают данный факт (средний размер пор после γ -стерилизации составляет 0,5483 мкм, что больше на 3,7% по сравнению с исходными образцами).

3.2.5. Сравнительные исследования оптических свойств трековых мембран после γ–стерилизации

Как отмечалось ранее, мембраны должны быть максимально прозрачны в видимой области спектра, в связи с чем, были проведены исследования спектры пропускания в области видимого излучения. На рисунке 3.53 представлены спектры пропускания трековой мембраны до и после γ -стерилизации в различных дозах. Согласно представленным данным, коэффициент пропускания трековых мембран после стерилизации γ -квантами ⁶⁰Со спектра видимого излучения находится в пределах 38,5% – 43,4% (доза облучения 1 кГр), 37,5% – 42,5% (доза облучения 10 кГр). Интерференционная картина коэффициента пропускания ТМ после γ -стерилизации как и в случае с исходными мембранами наблюдается с $\lambda = 580$ нм (см. рис. 3.53).



Рисунок 3.53 – Спектр пропускания трековых мембран после γ-стерилизации: 1 – исходная мембрана; 2 – после γ – стерилизации (доза облучения 1 кГр); 3 – после γ–стерилизации (доза облучения 10 кГр).

Показатель преломления трековых мембран, рассчитанный по формуле (2.4), до и после γ–стерилизации равен n = 1,26 ± 0,1.

Коэффициент поглощения ТМ α(λ) рассчитывался согласно формуле (2.6). Данные расчётов приведены на рисунке 3.54, которые показывают, что изменяется в интервале (0,1 – 0,23) в видимом диапазоне света. Максимальное значение α -поглощения наблюдается при $\lambda = 437$ нм для ТМ, при $\lambda = 430$ нм для мембран после γ -стерилизации. Стерилизация приводит к увеличению $\alpha(\lambda)$, однако изменения значения α -поглощения после плазменной обработки более значительны (см. рис. 3.54).



Рисунок 3.54 – Зависимость коэффициента поглощения α от длины волны для трековых мембран после γ–стерилизации: 1 – исходные мембраны; 2 – после γ– стерилизации (доза облучения 1 кГр); 3 – после γ–стерилизации (доза облучения 10 кГр).

Коэффициент экстинкции к определяет ослабление света при распространении в среде за счет процессов поглощения и рассеяния. Расчет коэффициента экстинкции трековых мембран после γ -стерилизации проводился по формуле (2.7) и показал корреляцию с данными по оптическому поглощению $\alpha(\lambda)$.

3.2.6. Механические характеристики трековых мембран после у–стерилизации

Как отмечалось в главе I и II, существуют опасения, что трековая мембрана из ПЭТФ после процедуры стерилизации может изменять свои прочностные характеристики, поэтому очень важно определить стерилизующее действие на механические характеристики TM.

В результате исследования испытаний TM механических после стерилизации γ-облучением, проведенных Институте В механики И машиностроения КазНЦ РАН на экспериментальной установке ДМ-1, были получены данные, представленные на рисунке 3.55.



Рисунок 3.55 – Зависимость «давление *P* – прогиб *H*» трековых мембран до и после стерилизации γ–облучением: 1 – исходные TM; 2 – после стерилизации (доза облучения 1 кГр); 3 – после стерилизации (доза облучения 10 кГр).

Согласно представленным на рисунке 3.55 данным, прогибы образцов *H* увеличиваются после γ -стерилизации в условиях приложенного давления от 0,04 кг/см². С увеличением приложенного давления прогиб *H* линейно возрастает как исходных, так и стерилизованных γ -лучами образцов.

Исследования механических характеристик трековых мембран после γ– стерилизации на установке Instron, выполненных по ГОСТ 14236–81 и ГОСТ 11262–50 показали аналогичную зависимость «напряжение – деформация» для ТМ после γ–стерилизации немодифицированных плазмой и модифицированных образцов, как для исходных мембран. Однако выявлены следующие статистически значимые различия предельных значений (см. табл. 3.9):

1. Уменьшение удлинения при разрыве на 33,15% (доза облучения 1 кГр) и 27,04% (доза облучения 10 кГр).

2. Уменьшение модуля Юнга на 11,34% (доза облучения 1 кГр) и 15,46% (доза облучения 10 кГр).

3. Уменьшение относительного предела текучести на 61,97% (доза облучения 1 кГр) и 62,68% (доза облучения 10 кГр).

4. Уменьшение напряжения при растяжении на 46,14% (доза облучения 1 кГр) и 48,97% (доза облучения 10 кГр).

Подобные изменения связаны с действием ү-лучей на структуру ТМ: вследствие разрыва связей в полимере образуются «кратерообразные» дефекты (см. рис. 3.30, 3.31, 3.32), увеличивается степень кристалличности (см. рис. 3.47), что способствует изменению механических характеристик материала. Полученные результаты согласуются с работами [206, 207, 208], где приводятся данные относительно пленки ПЭТФ. Однако, в отношении исходной пленки ΠЭΤΦ есть различия с трековыми мембранами из-за ИХ структурной неоднородности, что объясняет значительный объем поражающего действия уоблучения на ТМ и более выраженные изменения механических характеристик.

Стерилизация плазменно-обработанных образцов способствует незначительным изменениям механических характеристик ТМ в сравнении со стерилизованными образцами без плазменной модификации (см. табл. 3.9): удлинение при растяжении уменьшилось на 22,55% (доза облучения 1 кГр) и 15,19% (доза облучения 10 кГр), модуль Юнга уменьшился на 4,31% (доза облучения 1 кГр) и 1,88% (доза облучения 10 кГр), предел текучести увеличился на 12,21% (доза облучения 1 кГр) и 11,6% (доза облучения 10 кГр), напряжение

при растяжении увеличилось на 12,17% (доза облучения 1 кГр) и 11,6% (доза облучения 10 кГр) при времени воздействия плазмой 30 с. Однако статистически значимых различий между стерилизованными плазменно–обработанными образцами и стерилизованными образцами без плазменного воздействия не выявлено (р > 0,05). Это обусловлено «поверхностным» действием плазмы.

Таблица 3.9. Механические характеристики модифицированных и не модифицированных плазмой трековых мембран после *ү*–стерилизации.

| Образец | Относительное | Модуль | Относительный | Напряжение | |
|----------------|-----------------|----------------------|----------------------|------------------|--|
| | удлинение при | Юнга, МПа | предел | при | |
| | разрыве, % | | текучести, | растяжении, | |
| | | | МПа | МΠа | |
| Исходный | $10,22 \pm 2,3$ | 3836 ± 184 | $39,3 \pm 12,1$ | $70,8 \pm 17,1$ | |
| γ1 кГр | $6,83 \pm 2,6;$ | 3401 ±331; | $14,9 \pm 7,3;$ | $38,1 \pm 15,3;$ | |
| | p < 0,04 | p < 0,002 | p < 0,004 | p < 0,0007 | |
| γ10 кГр | $7,46\pm 1,8;$ | $3243 \pm 153;$ | $14,7 \pm 5,6;$ | $36,1 \pm 18,8;$ | |
| | p < 0,05 | p < 0,0001 | p < 0,004 | p < 0,0007 | |
| γ1 кГр + пл30 | 5,29 ±2,7; | 3254 ±223; | $16,8 \pm 5,1;$ | $42,8 \pm 9,9;$ | |
| | $p_1 > 0,23$ | $p_1 > 0,54$ | $p_1 > 0,16$ | $p_1 > 0,13$ | |
| γ1 кГр + пл60 | $5,23 \pm 3,1;$ | $3358 \pm 201;$ | 15,6 ±6,8; | $38,1 \pm 13,1;$ | |
| | $p_1 > 0,23$ | $p_1 > 0,84$ | p ₁ >0,37 | $p_1 > 0,27$ | |
| γ1 кГр + пл90 | $4,9 \pm 2,6;$ | $3231 \pm 246;$ | $17,1 \pm 4,6;$ | $42,6 \pm 8,7;$ | |
| | $p_1 > 0,22$ | $p_1 > 0,31$ | $p_1 > 0,32$ | $p_1 > 0,46$ | |
| γ10 кГр + пл30 | $6,33 \pm 2,8;$ | $3182 \pm 204;$ | $16,4 \pm 3,8;$ | $40,3 \pm 16,1;$ | |
| | $p_2 > 0,41$ | p ₂ >0,52 | $p_2 > 0,106$ | $p_2 > 0,76$ | |
| γ10 кГр + пл60 | $5,98 \pm 2,4;$ | $3225 \pm 159;$ | $16,9 \pm 3,3;$ | $41,9 \pm 14,3;$ | |
| | $p_2 > 0,37$ | $p_2 > 0,49$ | $p_2 > 0,305$ | $p_2 > 0,53$ | |
| γ10 кГр + пл90 | $5,02 \pm 1,3;$ | $3126 \pm 168;$ | $17,5 \pm 4,7;$ | 43,0 ± 13,2; | |
| | $p_2 > 0,14$ | $p_2 > 0,43$ | $p_2 > 0,27$ | $p_2 > 0,49$ | |

Примечания: γ1 кГр, γ10 кГр – после γ-стерилизации доза 1 кГр и 10 кГр соответственно; + пл30, 60, 90 – после плазменной модификации поверхности, время воздействия плазмы 30, 60, 90 с. Все приведенные значения в таблице средние величины. р – уровень статистических значимых различий по сравнению с исходными мембранами; p₁ – уровень статистических значимых различий по сравнению со стерилизованными ТМ (доза облучения 1 кГр); p₂ – уровень статистических значимых различий по сравнению по сравнению со стерилизованными ТМ (доза облучения 1 кГр); p₂ – уровень статистических значимых различий по сравнению со стерилизованными ТМ (доза облучения 10 кГр).

Таким образом, ү–стерилизация способствует уменьшению удлинения при разрыве, модуля Юнга, относительного предела текучести трековых мембран с плазменной и без плазменной обработки поверхности, что связано, в первую

очередь, с деградирующим действием ү–лучей на структуру ТМ. В связи с этим, учитывая выраженное поражающее действия данного метода на ТМ, необходим поиск альтернативного способа стерилизации мембран из ПЭТФ.

3.2.7. Трибологические испытания трековых мембран после ү-стерилизации

Результаты трибологических испытаний ТМ после γ–стерилизации показали схожую картину действия контртела на поверхность мембраны без явно выраженной направленности как и в случае с исходными ТМ и мембранами после плазменной обработки поверхности. Наблюдалось формирование «бороздок» (до 0,24 мкм) и заглаживания пор вследствие пластического оттеснения материала под действием контртела. Глубина «бороздок» с дистанцией 10 м – 0,21 мкм, при трении с дистанцией 30 м – 0,24 мкм (доза облучения 1 кГр).

По результатам трибологических испытаний установлено, что увеличение дозы облучения с 1 кГр до 10 кГр на ТМ не оказывает существенного влияния на поведение коэффициента трения и характер воздействия контртела.

3.3. Выводы к главе III

1. Воздействие низкотемпературной атмосферной плазмы на поверхность трековой мембраны приводит к увеличению параметра шероховатости $S_a \sim в 9$ раз, формированию деструктивных областей в виде многочисленных, хаотично распределенных по поверхности неровностей, что обусловлено окислительно– восстановительными химическими реакциями, протекающими в результате плазменного воздействия и приводящими к резкому (в 4 раза) увеличению полярности поверхности.

2. Воздействие плазмы на поверхность мембраны приводит к увеличению свободной энергии поверхности до 101,58 ± 7,26 мДж/м² за счет роста полярной составляющей и уменьшению краевого угла смачивания на 43,9° ± 2,3°, что увеличивает проницаемость ТМ.

3. Плазменная обработка поверхности ТМ способствует изменению физикомеханических свойств мембраны: уменьшает удлинение при разрыве на (24 – 53)%, модуль Юнга на (7 – 14)%; относительный предела текучести на (43 – 45)%, напряжение при растяжении на (24 – 31)%.

4. Воздействие на ТМ γ -излучения ⁶⁰Со приводит к образованию дефектов поверхности, которые занимают до 10% от общей площади материала и вызваны разрывом молекулярных связей полимера, а также к некоторому «сглаживанию» рельефа плазменно-обработанных мембран вследствие сшивки полимерных цепей в областях разрывов с формированием диэтиленгликоль – сегментов (*S*_a уменьшается с 0,103 мкм до 0,055 мкм (обработка плазмой 30 с) при дозе γ -облучения 1 кГр и до 0,035 мкм (обработка плазмой 30 с) при дозе γ -облучения 10 кГр).

5. Стерилизация *γ*-облучением ⁶⁰Со образцов ТМ, модифицированных плазмой, уменьшает количество полярных функциональных групп, и, как следствие, смачиваемость поверхности и проницаемость ТМ.

6. Воздействие малыми дозами γ-стерилизации на ТМ незначительно увеличивает степень кристалличности и составляет 43,71%, что способствует изменению физико-механических свойств ТМ: . уменьшается удлинение при разрыве на (27 – 33)%, модуль Юнга на (11 – 15)%, относительный предел текучести на 62%, напряжение при растяжении на (46 – 49)%.

ГЛАВА IV. ВЛИЯНИЕ ПРОЦЕССОВ ПАРОВОЙ СТЕРИЛИЗАЦИИ НА СВОЙСТВА ПЭТФ ТРЕКОВЫХ МЕМБРАН

4.1. Поверхностные свойства модифицированных плазмой трековых мембран после паровой стерилизации

Как было отмечено ранее, паровая стерилизация медицинских изделий получила широкое распространение в медицинской практике из-за своей эффективности, надежности и дешевизне. Однако некоторые медицинские изделия подвергать автоклавированию не рекомендуется из-за возможного изменения свойств материала, что может повлечь нарушению его функциональности. В данной главе представлены результаты исследования влияния процесса паровой стерилизации на трековые мембраны из ПЭТФ.

На рисунке 4.1 представлено электронно-микроскопическое изображение элемента поверхности мембраны после автоклавирования.



a)

б)

Рисунок 4.1 – Электронно-микроскопическое изображение трековой мембраны после паровой стерилизации (T = 120°C, P = 0,11 МПа): а – не модифицированный плазмой образец, б – не модифицированный плазмой образец (время воздействия плазмы 30 с).

На РЭМ-изображениях трековых мембран после паровой стерилизации (см. рис. 4.1, указано стрелками) наблюдаются неравномерно распределенные по всей

поверхности образования овальной формы различных размеров. Подобные изменения возникают также после паровой стерилизации у модифицированных плазмой образцов.

На рисунке 4.2 представлены изображения поверхности ТМ, полученные на сканирующем лазерном микроскопе после паровой стерилизации, профили поверхности, характеризующие шероховатость мембраны, и трёхмерные изображения ТМ.



Рисунок 4.2 – Изображения, профиль поверхности и 3D профиль поверхности трековых мембран после паровой стерилизации при температурных режимах: 120°C (а – г) и 130°C (г – е); кривые 1 – 3 показывают профиль поверхности куполообразных областей мембраны.

Профили поверхности, представленные на рисунке 4.2, иллюстрируют появление мелких выступов куполообразной формы высотой 0,3 ± 0,27 мкм, образованные в результате парового воздействия.

Гистограмма распределения пор, полученная по результатам порометрии, описанной в главе II, по значениям диаметра пор представлена на рисунке 4.3.



Рисунок 4.3 – Распределение пор трековых мембран после паровой стерилизации (T = 120°C) по размеру диаметра.

Как видно из рисунка 4.3, средний размер пор после паровой стерилизации составил 0,494 мкм, что на 6% меньше среднего размера пор исходных ТМ. Незначительное изменение среднего размера пор ТМ после паровой стерилизации связано с деформациями в результате термического воздействия, приводящими, как следствие, к искажению диаметра пор.

Гистограмма распределения площади сечения пор после паровой стерилизации представлена на рисунке 4.4.



Рисунок 4.4 – Распределение пор трековых мембран после паровой стерилизации (T = 130°C) по площади сечения.

Расчеты распределения пор по площади сечения после паровой стерилизации (130°С) показали, что ~65,85% пор имеет площадь входного отверстия (0,08 – 0,12) мкм² (см. рис. 4.4). Поры с площадью входного отверстия более 0,3 мкм² составляют ~1,5%, что на 7,5% меньше количества S_{сечения пор} с диаметром более 0,31 мкм² исходных ТМ.

Сравнение данных распределения пор по площади сечения исходных ТМ, мембран после плазменной обработки, образцов после стерилизации (γоблучения, автоклавирования) свидетельствуют о том, что средняя площадь сечения пор находится в пределах (0,1 – 0,15) мкм², внешнее воздействие (плазма, стерилизация) на трековые мембраны не оказывает заметного влияния на S_{сечения} _{пор}.

Данные о топографии поверхности ТМ после автоклавирования получены методом АСМ, представлены на рисунке 4.5. Как было указано ранее, исходной ТМ является поверхность достаточно плоской. Последующее воздействие горячим паром при давлении (0,11 – 0,2) МПа меняет топографию ТМ: появляются дополнительные крупные овальной формы поверхности образования («выпячивания») высотой (300 – 400) нм и средним диаметром 3,0 мкм (см. рис. 4.5). На увеличенном фрагменте трековой мембраны (см. рис. 4.5 д) после паровой стерилизации плазменно обработанного образца видно, что, несмотря на появившиеся в ходе автоклавирования выпячивания материала, сохраняются контуры входных отверстий пор мембраны. Расчеты показали, что плотность выступов, имеющих куполообразную форму и появившихся в результате воздействие паровой стерилизации составляет величину 0,007 выступов/мкм².



a)





B)

50 MKM



д)

Рисунок 4.5 – Топография поверхности трековых мембран после паровой стерилизации при T= 120°C (а) и T = 130°C (б), а также после плазменной модификации с временем обработки 30 секунд (в), 60 секунд (г), 90 секунд (д) и стерилизации при T= 120°С.

Как было отмечено ранее (см. гл. II) ТМ были обработаны плазмой и после у–стерилизации, автоклавирование простерилизованы. В отличие ОТ не способствует областей, сохранению деструктивных полученных В ходе

плазменной обработки (см. гл. 3.1.1), что в первую очередь сказывается на параметрах шероховатости мембран.

Данные измерений параметра шероховатости S_a показали, что воздействие горячего пара на исходные образцы ТМ приводит к изменению S_a её поверхности (см. табл. 4.1): статистически значимые по сравнению с исходными образцами различия были получены у ТМ после паровой стерилизации (р < 0,05). Параметры S_a , S_q плазменно–обработанных образцов от образцов без плазменной обработки статистически не различались (р > 0,05).

Таблица 4.1. Средние значения параметров шероховатости трековых мембран до

| Образец | S _a , мкм | S _q , мкм | S _p , мкм | S _z , мкм |
|----------------|---------------------------|--------------------------|----------------------|----------------------|
| Исходный | 0,0306 | 0,0375 | 0,265 | 0,81 |
| Пар.120 | 0,0509; p < 0,0024 | 0,0881; p < 0,023 | 0,479 | 1,111 |
| Пар.130 | 0,0564; p < 0,0131 | 0,0949; p < 0,021 | 0,526 | 1,161 |
| Пар.120 + пл30 | $0,051;p_1 > 0,05$ | $0,0858; p_1 > 0,05$ | 0,706 | 1,49 |
| Пар.120 + пл60 | $0,0378; p_1 > 0,05$ | $0,0682; p_1 > 0,05$ | 1,52 | 2,874 |
| Пар.120 + пл90 | $0,0429; p_1 > 0,05$ | $0,0721; p_1 > 0,05$ | 1,481 | 2,516 |
| Пар.130 + пл30 | $0,059; p_1 > 0,05$ | $0,0992; p_1 > 0,05$ | 0,651 | 1,414 |
| Пар.130 + пл60 | $0,0598; p_1 > 0,05$ | $0,0893; p_1 > 0,05$ | 1,457 | 2,065 |
| Пар.130 + пл90 | $0,0612;p_1 > 0.05$ | $0,1059;p_1 > 0,05$ | 1,57 | 2,221 |

и после ү-стерилизации.

Примечания: Пар.120, Пар.130 – после паровой стерилизации при T = 120°C (P = 0,11 МПа) и T=130°C (P = 0,2 МПа) соответственно;+ пл30, 60, 90 – после плазменной модификации поверхности, время воздействия плазмы 30, 60, 90 с. Приведенные данные – средние величины; p – уровень статистической значимости различий по сравнению с исходными мембранами; p_1 – уровень статистической значимости различий по сравнению со стерилизованными не модифицированными плазмой мембранами.

Корреляционно-регрессионный анализ показывает отсутствие зависимости параметра шероховатости S_a от времени воздействия низкотемпературной атмосферной плазмой, $R^2 = 0.0554$ (см. рис. 4.6).



Рисунок 4.6 – Зависимость параметра шероховатости *S_a* от времени воздействия низкотемпературной атмосферной плазмой на ТМ после паровой стерилизации.

Результаты измерения контактного угла смачивания показали, что воздействие паровой стерилизации в отличие от плазмы и γ -облучения способствует увеличению гидрофобности поверхности мембран, увеличивая краевой угол смачивания на 9° для паровой стерилизации при T = 120°C, и на 20° при T = 130°C (см. рис. 4.7).



Рисунок 4.7 – Зависимость величины краевого угла смачивания трековой мембраны после паровой стерилизации от времени хранения: 1 – исходная

мембрана; 2 – после стерилизации T= 130°C, P = 0,2 МПа, 3 – после стерилизации T= 120°C, P = 0,11 МПа.

Динамика измерения краевого угла смачивания от времени хранения показала снижение краевого угла смачивания на 5,65% при $T = 120^{\circ}C$ и на 8,5% при $T = 130^{\circ}C$ к 21 дню хранения (см. рис. 4.2).

Результаты измерения контактного угла смачивания ТМ после плазменной обработки и паровой стерилизации показали, что воздействие пара способствует увеличению гидрофобности поверхности ТМ: θ_w° увеличился на 36,3° (время воздействия плазмы 30 с), на 35,7° (время воздействия плазмы 60 с), на 39,7° (время воздействия плазмы 90 с) при T = 120°C (см. рис. 4.8). Аналогичный эффект наблюдался при режиме паровой стерилизации T = 130°C, P = 0,2 МПа (см. рис. 4.9).

Динамика измерения краевого угла смачивания от времени хранения при комнатной температуре после плазменной обработки и последующей паровой стерилизации ТМ показала (см. рис. 4.8) рост величины контактного угла в течение первых трех дней хранения (на 8,3% – 12,8% (см. рис. 4.9)).



Рисунок 4.8 – Зависимость величины краевого угла смачивания трековой мембраны после паровой стерилизации от времени хранения: 1 – исходная мембрана; 2 – после паровой стерилизации (120°С); 3 – после паровой

стерилизации (120°С) и плазменной обработки (30 с); 4 – после паровой стерилизации (120°С) и плазменной обработки (60 с); 5 – после паровой стерилизации (120 °С) и плазменной обработки (90 с).



Рисунок 4.9 – Зависимость величины краевого угла смачивания трековой мембраны после паровой стерилизации от времени хранения: 1 – исходная мембрана; 2 – после паровой стерилизации (130°С); 3 – после паровой стерилизации (130°С) и плазменной обработки (30 с); 4 – после паровой стерилизации (130°С) и плазменной обработки (60 с); 5 – после паровой стерилизации (130°С) и плазменной обработки (60 с); 5 – после паровой стерилизации (130°С) и плазменной обработки (90 с).

Расчет полной поверхностной энергии ТМ после паровой стерилизации показал среднее значение СЭП 27,48 мДж/м² и 24,35 мДж/м² при T = 120°C и T = 130°C соответственно (см. рис. 4.10).



Рисунок 4.10 – Зависимость величины свободной энергии поверхности трековой мембраны: 1 – исходная мембрана; 2 – после паровой стерилизации (120°С); 3 – после паровой стерилизации (130°С).

Как было отмечено раннее, воздействие плазмы на исходную ТМ приводит к значительному, более чем в 4 раза, увеличению поверхностной энергии за счет полярной составляющей σ_s^p полной энергии. Паровая стерилизация при T = 120°C значительно снижает значения поверхностной энергии модифицированных мембран до 33,08 мДж/м², фактически до исходных значений для мембран до плазменной обработки – 36,76 мДж/м² (см. табл. 4.2).

Аналогичная картина наблюдалась при режиме стерилизации T = 130°C, P = 0,2 МПа (см. табл. 4.2). Результаты измерений свободной энергии поверхности трековых мембран после паровой стерилизации в течение 21 дня показали неизменность значений СЭП мембран после паровой стерилизации.

В таблице 4.2 приведены значения поверхностной энергии σ_s , её дисперсионной σ_s^d и поляризационной σ_s^p составляющих для трековых мембран после паровой стерилизации.

Таблица 4.2. Средние значения параметров поверхности ТМ: шероховатость R_a , поверхностная энергия σ_s , дисперсионная σ_s^d и поляризационная σ_s^p составляющие поверхностной энергии, угол смачивания: θ_w° (вода), θ_g°

| TM | σ_s | σ_s^d | σ_s^p | Поляр- | θ_w° * | $\theta_{\sigma}^{\circ} *$ |
|----------------|------------|--------------|--------------|--------|--------------------|-----------------------------|
| | | 5 | 5 | ность | ,,, | 8 |
| | | | | | | |
| Пар.120 | 27,48 | 13,89 | 13,59 | 0,49 | 81,4 | 61,3 |
| Пар.130 | 24,35 | 14,64 | 9,71 | 0,4 | 91 | 69,1 |
| Пар.120 + пл30 | 33,08 | 14,95 | 18,13 | 0,55 | 69,8 | 69,2 |
| Пар.120 + пл60 | 38,05 | 20,33 | 17,72 | 0,45 | 66,9 | 70,7 |
| Пар.120 + пл90 | 40,98 | 21,01 | 19,97 | 0,49 | 66,3 | 70,2 |
| Пар.130 + пл30 | 31,67 | 15,4 | 16,27 | 0,5 | 72,6 | 64,5 |
| Пар.130 + пл60 | 35,86 | 15,69 | 20,17 | 0,56 | 70,1 | 66,9 |
| Пар.130 + пл90 | 38,64 | 18,1 | 20,54 | 0,5 | 71,5 | 70,1 |

(глицерин).

Примечание: Пар.120, Пар.130 — после паровой стерилизации при T = 120°C и 130°C соответственно; + пл30, 60, 90 — после плазменной модификации поверхности, время воздействия плазмы 30, 60, 90 с; поверхностная энергия dim $\sigma = M \Delta m/m^2$; контактный угол dim $\theta =$ градус (θ°).*— приведенные данные — средние величины.

Изменения химического состава поверхности ТМ в результате воздействия паровой стерилизации исследовались методом инфракрасной спектроскопии и представлены на рисунке 4.11.



Рисунок 4.11 – Спектры ИК–оптического поглощения ТМ: 1 – исходная ТМ; 2 – после паровой стерилизации (T = 120°C); 3 – после паровой стерилизации (T = 130°C).

В результате паровой стерилизации ТМ наблюдается незначительное уменьшение интенсивности полосы поглощения 1716 см⁻¹, что свидетельствует об уменьшении количества полярных функциональных групп, и, как следствие, уменьшение смачиваемости поверхности (стерилизация модифицированных образцов привела к увеличению краевого угла смачивания на 10° – 12°).

Таким образом, стерилизация паром под давлением имеет заметное влияние на ТМ. Это, в первую очередь, сказывается на морфологии поверхности материала: появление образований овальной формы различных размеров, увеличение параметров шероховатости (S_a , S_q), увеличение гидрофобности и уменьшение СЭП поверхности. В работе [209] приводятся данные, что подобные изменения связаны в первую очередь с деградацией поверхности и реакцией гидролиза, что приводит к декарбоксилации, циклизации и, как следствие, увеличению циклических тримеров на поверхности ПЭТФ. С увеличением времени паровой стерилизации увеличивается количество циклических олигомеров на поверхности материала, что проявляется в значительных морфологических и физико-химических изменениях (изменения шероховатости, снижение гидрофильности поверхности).

4.2. Исследование ζ-потенциала поверхности трековых мембран после паровой стерилизации

Результаты измерения ζ-потенциала ТМ после паровой стерилизации представлены на рисунке 4.12, из которого видно, что паровая стерилизация не вносит существенного вклада в изменения поверхностного заряда трековой мембраны (ζ – потенциал находится в пределах (-41) мВ – (-43) мВ при pH = 5,8). плазменно модифицированных образцов Стерилизация паром сохраняет тенденцию увеличения количества отрицательно-заряженных групп на 4.12), поверхности материала (см. рис. как В случае плазменно с модифицированными образцами без стерилизации (см. рис. 3.13).



Рисунок 4.12 – ζ–потенциал трековых мембран до и после паровой стерилизации: 1 – исходный образец; 2 – после стерилизации (120°С); 3 – после плазменной модификации (30 с) и стерилизации (120°С).

Таким образом, несмотря на морфологические изменения, а также декарбоксилацию поверхности, как показано в работе [209], стерилизация горячим паром под давлением не приводит к изменению поверхностного заряда ТМ.

4.3. Исследование кристалличности трековых мембран после паровой стерилизации

Степень кристалличности трековых мембран из ПЭТФ после паровой стерилизации составляет 41,71% (см. рис. 4.13).

Дифрактограмма образцов после паровой стерилизации стерилизации имеет тот же вид, что и для исходной ТМ (см. рис. 3.16). Присутствует рефлекс при 25,6°. Степень кристалличности, рассчитанная с использованием пакета программ POWDERCELL, соответствует 40,69%, и фактически не отличается от степени кристалличности исходных мембран.



Рисунок 4.13 – Степень кристалличности исходных трековых мембран, мембран после паровой стерилизации и плазменной обработки, полученная методом ДСК.

Полученные результаты свидетельствуют об отсутствии влияния паровой стерилизации на степень кристалличности трековых мембран из ПЭТФ. Интересен тот факт, что воздействие горячего пара под давлением на ТМ прямо

противоположно воздействию горячего пара на исходную пленку ПЭТФ. В работе [209] приводятся результаты увеличения степени кристалличности на 7% – 15% после автоклавирования, причем с увеличением времени паровой стерилизации кристалличности ПЭТФ. Генерация увеличивается степень новых областей полукристаллического объясняется кристаллических полимера аморфных фаз в материале под действие реорганизацией температуры стерилизации (120°C – 130°C). Однако подобные явления не были замечены по отношению трековых мембран из ПЭТФ. Горячий пар под давлением не способствует дальнейшей кристаллизации ТМ из ПЭТФ, сохраняя полимер в кристаллизованной фазе на 40% – 42%, что обусловлено, по всей вероятности, уже сформированной кристаллической структурой ТМ в результате воздействия потоков ионов ⁴⁰Ar⁺⁸ и последующего щелочного травления при изготовлении мембраны.

4.4. Исследование проницаемости трековых мембран после паровой стерилизации

Исследование проницаемости трековой мембраны по H₂O и 0,9% (0,1М) водного раствора NaCl после паровой стерилизации показало, что воздействие горячего пара под давлением увеличивает проницаемость по воде на 40% (120°C) и 52,7% (130°C) по сравнению с исходными ТМ. Проницаемость по хлориду натрия мембраны после паровой стерилизации также линейно возрастает при увеличении приложенного давления (см. рис. 4.14).



Рисунок 4.14 – Проницаемость трековых мембран по воде (а) и хлориду натрия (б): 1 – исходная мембрана; 2 – после паровой стерилизации (T=120°C); 3 – после паровой стерилизации (T=130°C).

4.5. Сравнительные исследования оптических свойств трековых мембран после паровой стерилизации

На рисунке 4.15 представлены спектры пропускания трековой мембраны до и после паровой стерилизации в различных режимах. Согласно представленным данным, коэффициент пропускания трековых мембран после стерилизации спектра видимого излучения находится в пределах 37,5% - 42% (120°C), 39,9% - 42,5% (130°C). Интерференционная картина коэффициента пропускания TM после стерилизации как и в случае с исходными мембранами и мембранами после γ -стерилизации наблюдается с $\lambda = 580$ нм (см. рис. 4.15).



Рисунок 4.15 – Спектр пропускания трековых мембран после паровой стерилизации: 1 – исходные мембраны; 2 – после паровой стерилизации (120°С); 3 – после паровой стерилизации (130°С).

Зависимость коэффициента пропускания от λ для TM после плазменной обработки и последующей паровой стерилизации аналогична представленным данным на рисунке 4.15.

Результаты расчета показателя преломления ТМ показали, что паровая стерилизация не оказывает влияния на n.

Коэффициент поглощения $\alpha(\lambda)$ трековых мембран после паровой стерилизации в пределах λ (380 – 780) нм, рассчитанный по формуле (2.6) изменяется с длинной волны аналогично данным для исходных ТМ (см. рис. 4.18).



Рисунок 4.18 – Зависимость коэффициента поглощения α от длины волны для трековых мембран после паровой стерилизации: 1 – исходные мембраны; 2 – паровая стерилизация при 120°С; 3 – паровая стерилизация при 130°С.

Зависимость коэффициента экстинкции к, рассчитанный по формуле (2.7), от длины волны для трековых мембран после паровой стерилизации имеет вид, аналогичный для $\alpha(\lambda)$.

4.6. Механические характеристики трековых мембран после паровой стерилизации

Данные механических испытаний мембран после паровой стерилизации были получены в Институте механики и машиностроения КазНЦ РАН на экспериментальной установке ДМ–1 и представлены на рисунке 4.19.

С увеличением приложенного давления прогиб *Н* линейно возрастает как исходных, так и стерилизованных образцов (см. рис. 4.19). Существенной

разницы между стерилизованными паром образцами при T = 120°C и T = 130°C нет.



Рисунок 4.19 – Зависимость «давление *P* – прогиб *H*» трековых мембран до и после паровой стерилизации: 1 – исходные TM; 2 – после стерилизации (120°C); 3 – после стерилизации (130°C).

Исследования механических характеристик трековых мембран после паровой стерилизации на установке Instron, выполненных по ГОСТ 14236–81 и ГОСТ 11262–50 показали аналогичную зависимость «напряжение – деформация» как для ТМ после автоклавирования, так и для исходных мембран. На деформационных кривых образцов после паровой стерилизации, как у исходных ТМ, присутствуют: линейный участок, участок отклонения от прямолинейности, условный предел текучести, предел прочности (см. рис. 4.21). Предел прочности ТМ относительно исходных мембран в результате автоклавирования уменьшается. Относительное удлинение уменьшается также (см. табл. 4.3).



Рисунок 4.21 – Кривые растяжения трековых мембран после паровой стерилизации: 1 – исходные мембраны; 2 – после паровой стерилизации (120°С); 3 – после плазменной обработки (30 с) и паровой стерилизации (120°С); 4 – после плазменной обработки (60 с) и паровой стерилизации (120°С); 5 – после плазменной обработки (90 с) и паровой стерилизации (120°С).

Выявлены следующие различия предельных значений (см. табл. 4.3):

1. Уменьшение удлинения при разрыве с 10,22% до 5,25% (120°С) и 5,89% (130°С).

2. Уменьшение относительного предела текучести с 39,25 МПа до 17,10 МПа и 18,17 МПа при T = 120°C и T = 130°C соответственно.

 Уменьшение модуля Юнга с 3836 МПа до 3497 МПа и 3383 МПа при T = 120°С и T = 130°С соответственно.

4. Уменьшение напряжения при растяжении с 71 МПа до 38 МПа.

Все выявленные различия между исходными ТМ и ТМ после паровой стерилизации статистически значимы (p > 0,05).

137

| Образец | Удлинение | Модуль | Предел | Напряжение |
|----------|----------------------------|----------------------------|-------------------|-----------------------|
| | при | Юнга, МПа | текучести, | при |
| | растяжении, | | МΠа | растяжении, |
| | % | | | МПа |
| Исходный | $10,22 \pm 2,3$ | 3836 ± 184 | $39,3 \pm 12,1$ | $70,8 \pm 17,1$ |
| Пар.120 | $5,25 \pm 1,3;$ | $3497 \pm 264;$ | $17,0 \pm 9,1;$ | $38,3 \pm 12,5;$ |
| | p < 0,0005 | p < 0,01 | p < 0,0005 | p <0,0003 |
| Пар.130 | $5,89 \pm 1,89;$ | $3383 \pm 231;$ | $18,5 \pm 5,5;$ | $38,4 \pm 9,8;$ |
| | p < 0,0005 | p < 0,0097 | p < 0,0005 | p < 0,0003 |
| Пар.120+ | $5,6 \pm 2,11;$ | $3632 \pm 199;$ | $18,7 \pm 3,9;$ | $41,8 \pm 10,9;$ |
| пл30 | $p_1 > 0,203$ | $p_1 > 0,05$ | $p_1 > 0,21$ | $p_1 > 0,61$ |
| Пар.120+ | $4,78 \pm 1,79;$ | $3549 \pm 201;$ | $19,2 \pm 4,7;$ | $42,9 \pm 10,6;$ |
| пл60 | $p_1 > 0,16$ | $p_1 > 0,05$ | $p_1 > 0,24$ | $p_1 > 0,62$ |
| Пар.120+ | $3,8 \pm 1,34;$ | $3615 \pm 273;$ | $20,3 \pm 5,1;$ | $43,9 \pm 10,4;$ |
| пл90 | $p_1 < 0.03$ | $p_1 > 0,05$ | $p_1 > 0,19$ | $p_1 > 0,67$ |
| Пар.130+ | $5,64 \pm 1,58;$ | $3501 \pm 218;$ | $20,6 \pm 6,8;$ | $42,9 \pm 19,1;$ |
| пл30 | p ₂ > 0,41 | $p_2 > 0,06$ | $p_2 > 0,49$ | p ₂ > 0,61 |
| Пар.130+ | $4,91 \pm 2,13;$ | $3615 \pm 239;$ | $20,7 \pm 3,9;$ | $43,0 \pm 15,1;$ |
| пл60 | $p_2 > 0,31$ | $p_2 > 0,06$ | $p_2 > 0,206$ | $p_2 > 0,69$ |
| Пар.130+ | $4,8\overline{7\pm 2,37};$ | $355\overline{4} \pm 209;$ | $21, 1 \pm 4, 8;$ | $43, 8 \pm 15, 0;$ |
| пл90 | $p_2 > 0,3$ | $p_2 > 0.06$ | $p_2 > 0,31$ | $p_2 > 0,68$ |

Таблица 4.3. Механические характеристики модифицированных и не

модифицированных плазмой трековых мембран после паровой стерилизации.

Примечания: Пар.120, Пар.130 — после паровой стерилизации при T = 120 °C и 130°C соответственно; + пл30, 60, 90 — после плазменной модификации поверхности, время воздействия плазмы 30, 60, 90 с. Все приведенные значения в таблице средние величины. р — уровень статистических значимых различий по сравнению с исходными мембранами; p₁ — уровень статистических значимых различий по сравнению со стерилизованными TM (T = 120°C); p₂ — уровень статистических значимых различий по сравнению со стерилизованными TM (T = 130°C).

Исследование механических характеристик ТМ после паровой стерилизации плазменно–обработанных и необработанных образцов показало, что статистически значимых различий между стерилизованными модифицированных плазмой мембранами и стерилизованными мембранами без плазменной модификации нет. 4.7. Трибологические испытания трековых мембран после паровой стерилизации

Результаты трибологических испытаний ТМ после паровой стерилизации показали аналогичную картину действия контртела на поверхность мембраны без явно выраженной направленности как и в случае с исходными ТМ, мембранами после плазменной обработки поверхности и после γ–стерилизации. Наблюдалось формирование «бороздок» (до 0,28 мкм), а также заглаживания пор вследствие пластического оттеснения материала под действием контртела. Глубина «бороздок» с дистанцией 10 м глубина – 0,26 мкм, при трении с дистанцией 30 м – 0,28 мкм (температура стерилизации 120°С).

По результатам трибологических испытаний установлено, что увеличение температуры стерилизации на ТМ не оказывает существенного влияния на поведение коэффициента трения и характер воздействия контртела.

4.8. Выводы к главе IV

1. Воздействие горячим паром при давлении меняет топографию поверхности ТМ: на поверхности образуются крупные овальной формы дефекты («выпячивания») высотой (300 – 400) нм плотностью до 0,007 выступов/мкм² со средним диаметром – 3,0 мкм; а также увеличивает поверхностную шероховатость на 40%.

способствует увеличению 2. Паровая стерилизация гидрофобности поверхности мембран, увеличивая краевой угол смачивания на 10° – 20°, значительно снижает значение поверхностной энергии модифицированных мембран до 33,08 мДж/м², что фактически составляет значения исходных мембран до плазменной обработки. Подобные изменения связаны в первую очередь с деградацией поверхности и реакцией гидролиза, которая приводит к декарбоксилации, циклизации и, как следствие, увеличению циклических тримеров на поверхности материла, что проявляется в изменении шероховатости и снижении гидрофильности поверхности.

3. Паровая стерилизация ТМ способствует изменению физикомеханических свойств мембраны: уменьшается удлинение при растяжении от 10,2% до 5,3%, модуль Юнга на 396 ± 57 МПа; предел текучести на 21,5 ± 0,5 МПа, напряжение при растяжении с 71 МПа до 38 МПа.

ГЛАВА V. МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ ТРЕКОВЫХ МЕМБРАН В ЛЕЧЕНИИ БУЛЛЕЗНОЙ КЕРАТОПАТИИ

5.1. Определение цитотоксичности ПЭТФ трековых мембран

Определение цитотоксичности ТМ производилось исследованием влияния мембраны на жизнеспособность мононуклеаров крови методом МТТ-теста.

TM В результате тестирование на цитотоксичность ИЗ полиэтилентерефталата определена жизнеспособность клеток, культивируемых с модифицированными плазмой (время обработки 30 с) и не модифицированными мембранами после паровой стерилизации при T = 120°С и P = 0,11 МПа (табл. 5.1). Данные табл. 5.1 показывают, что жизнеспособность клеток составила 94,98% и 95,25% соответственно (см. табл. 5.1). В контроле жизнеспособность клеток – 95,03%.

Таблица 5.1. Влияние трековых мембран, обработанных низкотемпературной атмосферной плазмой и не обработанных плазмой на жизнеспособность

| Исследуемые образцы | n | Жизнеспособность клеток, <i>Me</i> , % | | Н | | р | |
|------------------------------------|---|--|-------|-------|-------|-------|-------|
| | | γ | StSt | γ | StSt | γ | StSt |
| Контроль реактива | 5 | 95,02 | 95,03 | | | | |
| Трековая мембрана | 5 | 94,73 | 95,25 | 0 246 | 0.211 | 0 884 | 0 754 |
| Трековая мембрана после плазменной | 5 | 94,83 | 94,98 | | 0,211 | 0,001 | 0,701 |
| модификации поверхности | | | | | | | |

мононуклеаров крови с применением метода МТТ-теста.

Примечание: Данные представлены в виде медианы (*Me*), характеризующей центральную тенденцию. Данные представлены в % от *Me* контроля; n – количество измерений, H – значение критерия Крускала-Уолиса, p – уровень статистической значимости различий по

сравнению с контролем. γ – после γ -стерилизации (доза 1кГр); StSt – после паровой стерилизации (T = 120°C).

Жизнеспособность клеток, культивируемых с модифицированными плазмой (время обработки 30 с) и не модифицированными мембранами после стерилизации γ–облучением (доза облучения 1 кГр) составила 94,83% и 94,73% соответственно (см. табл. 5.1). В контроле жизнеспособность клеток – 95,02% (см. табл. 5.1).

Результаты проведенного испытания на цитотоксичность трековых мембран из ПЭТФ до и после пламенного воздействия, а также после паровой стерилизации и стерилизации γ–облучением свидетельствуют об отсутствии цитотоксического действия ТМ на изолированные клетки костного мозга и морфологию монослойных культур мезенхимальных стволовых клеток костного мозга.

5.2. Результаты изучения биосовместимости трековых мембран из ПЭТФ in

vitro

Проблемой полимерных медицинских изделий является раздражение клеток соединительной ткани, приводящее к формированию капсулы вокруг имплантатов. Избыточная инкапсуляция может привести к неуспеху их офтальмологических приложений.

Изменение физико-химических свойств поверхности трековых пористых мембран, обусловленное воздействием холодной плазмы, обусловило изучение *in vitro* реакции стромальных клеток на тестируемые материалы.

Результаты показали в изучаемых группах слабую экспрессию виментина (внутриклеточного маркера фибробластов) в единичных пренатальных стромальных клетках (см. рис. 5.1, указаны стрелками). Это предполагает, что трековые мембраны не стимулируют дифференцировку и созревание стволовых клеток, относящихся к пулу мезенхимальных стромальных клеток (МСК), в фибробласты, и риск развития фиброваскулярной пролиферативной реакции минимален.



Рисунок 5.1 – Состояние 3–суточной культуры фибробластоподобных пренатальных стромальных клеток, выделенных из легких человека, в условиях сокультивирования с тестируемыми материалами: а) контроль роста клеток в отсутствие материала; б) ТМ после стерилизации ⁶⁰Со (доза облучения 1 кГр); в) ТМ после обработки плазмой (30 с) с последующей стерилизацией ⁶⁰Со (доза облучения 1 кГр). Окраска на виментин (участки клеток коричневого цвета).

Сорбция ионов (прежде всего, кальция) на поверхности имплантатов для мягких тканей является нежелательным явлением [210], в том числе, может приводить к нарушению их оптических характеристик. Изменение уровней кальция, неорганического фосфора и активности щелочной фосфатазы (ЩФ) в биологических средах in vitro рассматривается в качестве маркеров остеогенных потенций фибробластоподобных клеток [211]. Данные минералы являются субстратом ЩФ для формирования и отложения фосфатов кальция на мембране остеогенных клеток [212] или на искусственных поверхностях [213].

Согласно данным таблицы 5.2, стерилизация мембран гамма-лучами 60 Со практически не сопровождается изменением (в сравнении с контрольной культурой) их сорбционных свойств в культуральной среде, насыщенной биологически активными ионами. В условиях предварительной (перед стерилизацией гамма–лучами) обработки материала холодной плазмой отмечалось снижение (на 6% в сравнении с группой 3; р < 0,05) концентрации фосфатных групп в супернатантах (группа 5 в табл. 5.2). Возможно, повышенное отложение анионов неорганического фосфора на мембраны отражает изменение их поверхностных свойств (заряд, увеличение гидрофильности), вызванное холодной плазмой.

В свою очередь, в группе 5, по-видимому, мягко меняется активность фибробластоподобных клеток, о чем свидетельствует достоверное снижение в межклеточной жидкости ионизированного кальция и активности щелочной фосфатазы по сравнению с контролем и группой 3.

Тем не менее, представленные тесты на клеточно-молекулярную биосовместимость трековых пористых мембран, выполненных из полиэтилентерефталата, с краткосрочной культурой фибробластоподобных клеток *in vitro* позволяют говорить об их относительной биоинертности в отношении стромальных клеток человека.

Таким образом, в результате проведенного цитологического испытания на биосовместимость и цитотоксичность трековых мембран из ПЭТФ до и после пламенного воздействия, а также после стерилизации γ -облучением установлено, что ТМ из ПЭТФ не оказывают цитотоксического действия на изолированные клетки костного мозга и морфологию монослойных культур мезенхимальных стволовых клеток.
Таблица 5.2. Биохимический и минеральный состав супернатантов 3-суточной культуры стромальных пренатальных клеток легкого человека (контроль роста) в присутствии трековых мембран после различной обработки их поверхности,

| Me(O1 | -03). |
|-------|-----------------------|
| | x - <i>j</i> - |

| N⁰ | Исследуемая группа | pН | Кальций | Кальций | Фосфат- | Калий | ЩФ, |
|--|-------------------------|---------------|--------------------|-------------------------------|-----------------|-----------------|--------------------------|
| группы | | - | ионизированный, | общий, | ионы, | ионизированный, | Ед/л |
| | | | мМ | мМ | мМ | мМ | |
| | · | | Контрольная к | ультура без ТМ | | | |
| 1 | Полная культуральная | 9,00 | 1,15 | 1,64 | 0,78 | 5,85 | 22 |
| | среда (ПКС), n=4 | (8,89 - 9,12) | (0, 96 - 1, 17) | (1,25 – 1,68) | (0,73 - 0,80) | (5, 7 - 5, 95) | (19, 5 - 24, 5) |
| 2 | Контроль роста | 8,86 | 1,21 | 1,58 | 0,73 | 5,70 | 44,5* |
| | фибробластоподобных | (8,78 – 9,01) | (0,95 - 1,24) | (1,11 – 1,61) | (0, 67 - 0, 77) | (5,25 - 5,95) | (41, 5 - 47) |
| | клеток на пластике, n=4 | | | | | | p ₁ < 0,00012 |
| | | , | ТМ после стерилиза | ции ⁶⁰ Со в дозе 1 | 0 кГр | | |
| 3 | ТМ в ПКС без клеток, | 8,88 | 1,18 | 1,33 | 0,69 | 6,1* | 18 |
| | n=3 | (8,85 - 8,88) | | (1, 27 - 1, 36) | | $p_1 < 0.05$ | (15 - 22) |
| 4 | Трековые мембраны в | 9,03* | 1,17 | 1,62 | 0,77 | 6,0* | 45* |
| | контакте с клетками, | (9,03 – 9,04) | | (1,59 – 1,64) | (0, 76 - 0, 77) | $p_3 < 0.05$ | (45 - 47) |
| | n=3 | $p_3 < 0,05$ | | | | | $p_3 < 0.05$ |
| ТМ после обработки холодной плазмой с последующей стерилизацией ⁶⁰ Со в дозе 10 кГр | | | | | | | |
| 5 | ТМ в ПКС без клеток, | 9,15 * | 1,18 | 1,27 | 0,65* | 6,1* | 17* |
| | n=3 | (9,13 – 9,15) | (1, 17-1, 18) | (1, 25 - 1, 27) | (0,65 - 0,67) | $p_1 < 0.05$ | (16 - 18) |
| | | $p_3 < 0.05$ | | | $p_1 < 0,02$ | | $p_1 < 0.04$ |
| | | | | | $p_3 < 0.05$ | | |
| 6 | ТМ в контакте с | 9,09* | 1,13* | 1,53 | 0,76 | 6,0* | 42* |
| | клетками, n=3 | (9,09 – 9,10) | (1, 12 - 1, 13) | (1, 52 - 1, 82) | (0,73 - 0,77) | $p_5 < 0.05$ | (42 - 44) |
| | | $p_4 < 0,05$ | $p_4 < 0.05$ | | | | $p_4 < 0.05$ |
| | | | $p_5 < 0.05$ | | | | $p_5 < 0.05$ |

Примечание: *) – статистически значимые различия согласно U-критерию Манна-Уитни;

n – количество исследованных образцов/лунок в планшете.

5.3. Результаты применения плазменной стерилизации трековых мембран

В результате наблюдения микробоцидной эффективности воздействия низкотемпературной плазмы было выявлено помутнение сред контрольной группы образцов на первые сутки инкубации. Среды с образцами основной (экспериментальной) группы были прозрачными и оставались интактными на протяжении всего времени инкубации. Наличие роста микроорганизмов обозначали знаком «+», отсутствие роста – знаком «-». Результаты исследования приведены в таблице 5.3.

Таблица 5.3. Результаты контроля стерильности ТМ методом прямого посева.

| | Посев на питательную среду | | | |
|---------------------------|------------------------------------|------------------------------------|--|--|
| Испытуемые образцы | Тиогликолевая среда | Бульон Сабуро | | |
| (общее количество – 80 | (по 5 образцов на | (по 5 образцов на | | |
| образцов) | каждый повтор; всего | каждый повтор; всего | | |
| | – 10 образцов) | – 10 образцов) | | |
| Плазма 30 с (20 образцов) | | | | |
| Плазма 60 с (20 образцов) | | | | |
| Плазма 90 с (20 образцов) | | | | |
| К(+)*(20 образцов) | ++ | ++ | | |
| К(-)* (без образцов) | | | | |

*Примечание: К(+) – образцы, не подвергшиеся воздействию низкотемпературной атмосферной плазмой, К(–) – стерильная питательная среда.

Данные экспериментальных исследований позволили определить биологическую нагрузку ТМ (см. рис. 5.2). В таблице 5.3 приведены данные микробиологического анализа смывов с ТМ до воздействия низкотемпературной атмосферной плазмой. Согласно приведенным в таблице 5.4 данным, предстерилизационное число на одну мембрану составило 3,8 ± 0,6 КОЕ.



Рисунок 5.2 – Количество бактерий на среде ГРМ–агаре (а) и грибов на среде Сабуро (б) в смыве с трековых мембран до воздействия низкотемпературной атмосферной плазмой.

Таблица 5.4. Результаты исследования микробной контаминации ТМ.

| | Колониеобразующие единицы (КОЕ) | | | | | | | |
|---------|---------------------------------|---------------------------------|---|---|---|-----------------|--|--|
| Образец | | $(\mathbf{M} \perp \mathbf{m})$ | | | | | | |
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | $(1VI \pm III)$ | | |
| TM | 8 | 2 | 3 | 1 | 5 | $3,8 \pm 0,6$ | | |

Примечания: Количество КОЕ из расчета на один образец ТМ.

Выделены две группы микроорганизмов: грамположительные палочки (№ 1) и стафилококки (№ 2) (см. рис. 5.3, 5.4).



Рисунок 5.3 – Микроскопия выделенных грамположительных палочек с поверхности трековых мембран до воздействия низкотемпературной атмосферной плазмой. Окраска по Граму.



Рисунок 5.4 – Микроскопия выделенных стафилококков с поверхности трековых мембран до воздействия низкотемпературной атмосферной плазмой. Окраска по Граму.

Согласно классификации, представленной в определителе Берджи [214], полученные данные в таблицах 5.5, 5.6 позволяют отнести выделенные культуры, к апатогенным микроорганизмам класса *Bacilli* и роду *Staphylococcus*, относящиеся к группе к коагулазо–негативных, новобиоцин– чувствительных (см. табл. 5.5, 5.6).

Таблица 5.5. Культурально-морфологические и тинкториальные свойства выделенных культур с ТМ.

| Признаки | Культура | | | | | |
|-----------------------------|----------------------------|-------------------|------------------------------|----------------------------|---------|-------------|
| признаки | | <u>№</u> 1 | | Nº 2 | | |
| | Колонии | белого | цвета, | Колони | и белов | ато-желтого |
| Морфология | средней | средней величины, | | цвета, | средней | величины, |
| колоний | круглые, матовые, плоские, | | круглые, блестящие | | | |
| | края ровные | | | выпуклые, с ровными краями | | |
| Морфология | Палочки, располагаются | | Кокки, располагаются в виде | | | |
| Корфология Бактериальной | хаотично | | гроздьев винограда, коротких | | | |
| Сактериальной | | | | цепоче | к, пар | рами и |
| КЛСТКИ | | | | поодин | очке | |
| Размер клетки | (0,6-0,8) | x(1,9-2,8) | 3) | Диамет | p – 0,6 | |
| (мкм) | | | | | | |

| | T | | 1 / | - | v | |
|--------------|---------|--------------|-------------|---------------|----------|------------|
| Таблица 5.6. | І ИНКТО | риальные и (| ризиолого-(| эиохимические | своиства | вылеленных |
| | | F | | | | A |

| Тинкториальные и физиолого- | Культура | | | |
|-----------------------------|-----------|----------------|--|--|
| биохимические свойства | Nº 1 | <u>№</u> 2 | | |
| | (палочки) | (стафилококки) | | |
| Окраска по Граму | + | + | | |
| Наличие спор | — | — | | |
| Наличие капсул | — | — | | |
| Наличие зерен валютина | — | — | | |
| Подвижность | — | — | | |
| Ферментация глюкозы | — | _ | | |
| Ферментация маннита | _ | _ | | |
| Ферментация лактозы | + | + | | |
| Ферментация сахарозы | — | + | | |
| Ферментация салицина | _ | _ | | |
| Продукция каталазы | + | + | | |
| Продуцирование уреазы | — | + | | |
| Продуцирование лецитиназы | — | * | | |
| Продуцирование амилазы | _ | * | | |
| Продуцирование протеазы | — | * | | |
| Образование аммиака | — | * | | |
| Образование индола | _ | * | | |
| Образование сероводорода | — | * | | |
| Рост при t 45° С | — | * | | |
| Редукция нитратов | — | * | | |
| Утилизация цитрата | + | * | | |
| Образование ацетона | + | * | | |
| Устойчивость к новобиоцину | * | — | | |
| Продукция коагулазы | * | | | |

культур с ТМ.

«+» – положительный тест, «-» – отрицательный тест, «*» – тест не проводился

Стерилизующий эффект плазмы, как показано в [215], достигается путем воздействия образующихся в ходе химических реакций заряженных и активных оболочку микроорганизмов. частиц плазмы на внешнюю В результате плазмохимических реакций, образованные активные частицы, такие как атомарный и синглетный кислород О в возбужденном состоянии; озон О₃; окислы азота NO, NO₂; гидроксильные радикалы OH и в ряде случаев отрицательный ион кислорода [216], воздействуют на клеточную стенку микроорганизмов, индуцируя в ней необратимые изменения и вызывая тем самым гибель клеток. Механизм

взаимодействия частиц плазмы с бактериальными клетками обсуждается в работах [217, 218, 219], однако многие его аспекты требуют дальнейшего исследования.

В результате экспериментальных исследований определена биологическая нагрузка ТМ, установлено, что вероятные виды загрязняющих микроорганизмов, выделенные с поверхности ТМ, не несут факторов патогенности и представлены сапрофитной микрофлорой. Также, определена способность низкотемпературной атмосферной плазмы оказывать летальное действие на микроорганизмыконтаминанты.

Таким образом, полученные результаты позволяют сделать вывод, что низкотемпературная атмосферная плазма обладает стерилизующей способностью в режимах обработки образцов по 30, 60 и 90 секунд и может применяться в качестве стерилизующего агента для трековых мембран из полиэтилентерефталата, которые требуют щадящего стерилизационного режима.

5.4. Биосовместимость разработанной изолирующей трековой мембраны на основе ПЭТФ на биологических моделях *in vivo*

Материалы экспериментальных исследований биосовместимости разработанной изолирующей трековой мембраны на основе ПЭТФ *in vivo* представлены в Приложении I.

В результате экспериментальных исследований биосовместимости *in vivo*, выполненных на 16 кроликах породы Шиншилла, был разработан хирургический метод лечения буллезной кератопатии с применением трековых мембран. Согласно предложенному способу в роговице с предварительно индуцированной буллезной кератопатии формируется 2 тоннельных – до глубоких слоев стромы – надреза в 1,5 мм от лимба шириной 1,2 мм на 3 и 9 часах. С помощью шпателя через оба тоннельных надреза формируют интрастромальный «карман» в слоях собственного вещества роговицы, в который с помощью цангового пинцета

имплантируют ТМ. Края тоннельных надрезов гидратируют. На данный способ получен патент № 2594447 от 14.06.2016.

При сравнительном анализе имплантации ТМ из ПЭТФ в строму роговицы в эксперименте выявлена эффективность мембраны в лечении буллезной кератопатии (купирование роговичного синдрома, снижение отека роговицы при Выявленные в ходе гистологического исследования наружном осмотре). изменения передней трети умеренные В стромы роговицы между имплантированной ТМ и слоями роговичной ткани – свидетельствуют о стабилизации патологического процесса.

5.5. Выводы к главе V

В результате проведенных медико-биологических исследований применения трековых мембран из ПЭТФ в лечении буллезной кератопатии, а также испытания на стерилизующий эффект низкотемператрной атмосферной плазмы сделаны следующие выводы:

- ТМ из ПЭТФ до и после плазменной обработки поверхности не оказывают цитотоксического действия на изолированные клетки костного мозга и морфологию монослойных культур мезенхимальных стволовых клеток.
- Низкотемпературная атмосферная плазма обладает стерилизующей способностью в режимах обработки образцов по 30, 60 и 90 секунд и может применяться в качестве стерилизующего агента для ТМ из ПЭТФ, которые требуют щадящего стерилизационного режима.

5.6. Требования к параметрам синтетических трековых мембран на основе полиэтилентерефалата и рекомендации по их применению в хирургическом лечении буллезной кератопатии

В результате проведенных исследований разработаны требования к параметрам трековых мембран на основе полиэтилентерефталата, применяемых в качестве роговичного имплантата для лечения буллезной кератопатии:

1. Трековая мембрана на основе полиэтилентерефталата может быть получена путем облучения пленки ПЭТФ пучком тяжелых ионов и последующего селективного щелочного травления.

2. Толщина ТМ не более 8 мкм, форма пор – цилиндрическая, средний диаметр пор 0,5 мкм, плотность пор не более 5×10^8 пор/см².

3. Физико-химические требования: краевой угол смачивания $30^{\circ} - 40^{\circ}$, поверхностная энергия (120 – 130) мДж/м², проницаемость по воде 5 мл/мин·см² при P = 0,1 бар, заряд поверхности - отрицательный, удлинение при растяжении не менее 7%, модуль Юнга не менее 3500 МПа, предел текучести не менее 20 МПа, напряжение при растяжении не менее 50 МПа.

4. Требования к форме заданной кривизны имплантата: ширина в горизонтальной $D_1 = 10$ мм и вертикальной $D_2 = 11$ мм плоскостях, радиус в горизонтальной $R_1 = 5,66$ мм и вертикальной $R_2 = 6,5$ мм плоскостях, высота h = 3 мм.

Рекомендован щадящий режим стерилизации и стерилизующий агент – низкотемпературная атмосферная плазма в режиме стерилизации 30 секунд на каждую сторону имплантата. Это позволяет не только достичь необходимого бактерицидного эффекта, но и придать необходимые физико-химические свойства материалу. Стерилизацию следует проводить в асептических условиях в соответствии с МУ 287–113, ГОСТ ИСО 11737–2–2011, ГОСТ ИСО 11737–1– 2012, ГОСТ Р ИСО 14937–2012, ГОСТ Р ИСО 14630–2011, после чего полимер может храниться в специальных пакетах для стерилизации в течение 21 дня до момента использования.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результатом выполненной работы является достижение поставленной цели по разработке изолирующей трековой мембраны на основе полиэтилентерефталата как имплантатов в хирургическом лечении буллезной кератопатии.

На основе анализа выполненных экспериментальных исследований можно сделать следующие выводы:

1. Воздействие низкотемпературной атмосферной плазмы на поверхность трековой мембраны приводит к увеличению параметра шероховатости $S_a \sim в$ 9 раз, формированию деструктивных областей в виде многочисленных, хаотично распределенных по поверхности неровностей, что обусловлено окислительно– восстановительными химическими реакциями, протекающими в результате плазменного воздействия и приводящими к резкому (в 4 раза) увеличению полярности поверхности.

2. Воздействие плазмы на поверхность мембраны приводит к увеличению свободной энергии поверхности до 101,58 ± 7,26 мДж/м² за счет роста полярной составляющей и уменьшению краевого угла смачивания на 43,9° ± 2,3°, что увеличивает проницаемость ТМ.

3. Плазменная обработка поверхности ТМ способствует изменению физикомеханических свойств мембраны: уменьшает удлинение при разрыве на (24 – 53)%, модуль Юнга на (7 – 14)%; относительный предела текучести на (43 – 45)%, напряжение при растяжении на (24 – 31)%.

4. Воздействие на ТМ γ -излучения ⁶⁰Со приводит к образованию дефектов поверхности, которые занимают до 10% от общей площади материала и вызваны разрывом молекулярных связей полимера, а также к некоторому «сглаживанию» рельефа плазменно-обработанных мембран вследствие сшивки полимерных цепей в областях разрывов с формированием диэтиленгликоль – сегментов (*S*_a уменьшается с 0,103 мкм до 0,055 мкм (обработка плазмой 30 с) при дозе γ -

облучения 1 кГр и до 0,035 мкм (обработка плазмой 30 с) при дозе *ү*–облучения 10 кГр).

5. Стерилизация γ–облучением ⁶⁰Со образцов ТМ, модифицированных плазмой, уменьшает количество полярных функциональных групп, и, как следствие, смачиваемость поверхности и проницаемость ТМ.

6. Воздействие малыми дозами γ-стерилизации на ТМ незначительно увеличивает степень кристалличности и составляет 43,71%, что способствует изменению физико-механических свойств ТМ: . уменьшается удлинение при разрыве на (27 – 33)%, модуль Юнга на (11 – 15)%, относительный предел текучести на 62%, напряжение при растяжении на (46 – 49)%.

7. Воздействие горячим паром при давлении меняет топографию поверхности ТМ: на поверхности образуются крупные овальной формы дефекты («выпячивания») высотой (300 – 400) нм плотностью до 0,007 выступов/мкм² со средним диаметром – 3,0 мкм; а также увеличивает поверхностную шероховатость на 40%.

8. Паровая стерилизация способствует увеличению гидрофобности поверхности мембран, увеличивая краевой угол смачивания на 10° – 20°, значительно снижает значение поверхностной энергии модифицированных мембран до 33,08 мДж/м², что фактически составляет значения исходных мембран до плазменной обработки. Подобные изменения связаны в первую очередь с деградацией поверхности и реакцией гидролиза, которая приводит к декарбоксилации, циклизации и, как следствие, увеличению циклических тримеров на поверхности материла, что проявляется в изменении шероховатости и снижении гидрофильности поверхности.

9. Паровая стерилизация ТМ способствует изменению физикомеханических свойств мембраны: уменьшается удлинение при растяжении от 10,2% до 5,3%, модуль Юнга на 396 ± 57 МПа; предел текучести на 21,5 ± 0,5 МПа, напряжение при растяжении с 71 МПа до 38 МПа. 10. ТМ из ПЭТФ до и после плазменной обработки поверхности не оказывают цитотоксического действия на изолированные клетки костного мозга и морфологию монослойных культур мезенхимальных стволовых клеток.

11. Низкотемпературная атмосферная плазма обладает стерилизующей способностью в режимах обработки образцов по 30, 60 и 90 секунд и может применяться в качестве стерилизующего агента для ТМ из ПЭТФ, которые требуют щадящего стерилизационного режима.

12. Трековая мембрана из ПЭТФ со следующими характеристиками: толщина 8 –мкм, диаметр пор – 5 мкм, плотность 5×10^8 см⁻², проницаемость по воде 5 мл/мин·см² (при p = 0,1 бар), краевой угол смачивания $(30 - 40)^\circ$, поверхностная энергия (120 – 130) мДж/м², заряд поверхности – отрицательный, при имплантации в строму роговицы *in vivo* при буллезной кератопатии уменьшает степень гидратации стромы роговой оболочки и способствует стабилизации патологического процесса.

13. Результаты работы внедрены в учебный процесс кафедры офтальмологии в разделе «Патология роговицы» ФГБОУ ВО СибГМУ.

Перечень принятых сокращений

ПЭТФ – полиэтилентерефталат;

ТМ – трековая мембрана;

ИК-спектроскопия – инфракрасная спектроскопия;

РЭМ – растровая электронная микроскопия;

АСМ – атомно-силовая микроскопия;

ДСК – дифференциальная сканирующая калориметрия;

ТГА – термогравиметрический анализ;

ДДМ – диско-диффузный метод выявления новобиоцин-резистентности;

МТТ-тест – колориметрический тест для оценки метаболической активности клеток;

УФ – ультрафиолет;

СЭП – свободная энергия поверхности;

ОВРК – Оуэнса-Вендта-Рабел-Кэлби;

ИОЛ – интраокулярная линза;

ЩФ – щелочная фосфатаза;

МСК – мезенхимальные стромальные клетки;

КОЕ – колониеобразующие единицы;

ГРМ-агар – питательный агар для культивирования микроорганизмов;

ГМФ-бульон – питательный бульон для культивирования микроорганизмов;

РФЭС – рентгеновская фотоэлектронная спектроскопия.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бойко, Э. В. Лечение буллезной кератопатии излучением иттербийэрбиевого лазера / Э. В. Бойко // VII-й Съезд офтальмологов России: тезисы докладов. – Москва, 2000. – С. 11.

2. Бойко, Э. В. Панкорнеальная коагуляция излучением лазеров среднего ИК диапазона в лечении буллёзной кератопатии / Э. В. Бойко, А. В. Ян // Лазеры в офтальмологии: вчера, сегодня, завтра: сборник статьей науч.-практ. конференции. – Москва, 2009. – С. 113 – 117.

 Каспаров, А. А. Криокератопластика в лечении буллёзной кератопатии / А.
 А. Каспаров, Ю. Магден, А. А. Федоров // Актуальные вопросы офтальмологии: сборник науч. трудов. – Воронеж, 1998. – С. 67.

4. Каспарова, Е. А. Клиническая эффективность персонализированной клеточной терапии заболеваний эндотелия роговицы / Е. А. Каспарова, А. М. Суббот, А. И. Антохин, А. С. Павлюк // Рефракционная хирургия. – 2011. – № 11: 2. – С. 45 – 49.

5. Павлюк, А. С. Клеточная терапия послеоперационной ранней буллезной кератопатии аутологичными лейкоцитами периферической крови преактивированными in vitro полиА:полиУ / А. С. Павлюк, А. А. Каспаров, Евг. А. Каспарова, А. М. Суббот, Д. С. Николаенко // Российский иммунологический журнал. – 2008. – № 2 (11). – С. 115 – 118.

6. Ченцова, Е. В. Фетотерапия эндотелиально-эпителиальной дистрофии роговицы / Е.В. Ченцова // Актуальные вопросы офтальмологии: материалы конференции. – Москва, 2000. – С. 155 – 157.

 Жаров, В. В. Экспериментально-клиническое обоснование применения пласта фетальных клеток в комплексном лечении эндотелиально-эпителиальной дистрофии роговой оболочки / В. В. Жаров, В. М. Малов, П. А. Перевозчиков, Е. Р. Точилова // Новые технологии в лечении заболеваний роговицы: материалы научно-практической конференции Федоровские чтения. – Москва, 2004. – С. 439 – 442. Оганесян, О. Г. Результаты эндотелиальной кератопластики. Часть 1. Неавтоматизированная эндотелиальная кератопластика (DSEK)) / О. Г. Оганесян,
 В. Нероев, Р. А. Гундорова, Д. Ю. Данилова, М. А. Сметанина // Рефракционная хирургия и офтальмология. – 2010. – Т. 10. – № 4. – С. 17 – 24.

9. Мамиконян, Р. Автоматизированная эндотелиальная кератопластика с удалением десцеметовой мембраны (DSAEK) / Р. Мамиконян, С. В. Труфанов // Восток-Запад: сборник научных трудов научн.-прак. конференции. – Уфа, 2011. – С. 91 – 93.

 Мамиконян, В. Р. Автоматизированная эндотелиальная кератопластика с трансплантацией Десцеметовой мембраны (DMAEK) / В. Р. Мамиконян, С. В. Труфанов // Восток-Запад: сборник научных трудов научн.-прак. конференции. – Уфа, 2011. – С. 89.

11. Скачков, Д. П. Отдаленные результаты интрастромальной имплантации амниотической мембраны в лечении пациентов с индуцированной эндотелиальноэпителиальной дистрофией роговицы / Д. П. Скачков, А. Л. Штилерман // Офтальмохирургия. – 2014. – № 1. – С. 38 – 41.

 Гундорова, Р. А. Микроинвазивная десцеметопластика-пересадка десцеметовой мембраны и эндотелия через 2,0 мм разрез / Р. А. Гундорова, В. В. Нероев, М. А. Воробьева // Российский общенациональный офтальмологический форум. – Москва, 2009. – С. 275 – 277.

 Каспаров, А. А. Послеоперационная буллезная кератопатия: трансплантационные и нетрансплантационные методы лечения / А. А. Каспаров,
 Е. А. Каспарова, С. В. Труфанов // IX съезда офтальмологов России: тезисы докладов. – Москва, 2010. – С. 307.

14. Труфанов, С. В. Результаты обратной грибовидной кератопластики в хирургической реабилитации пациентов с буллезной кератопатией / С. В. Труфанов // Практическая медицина. – 2012. – Т. 4 (12). – С. 126 – 129.

 Скачков, Д. П. Хирургические методы лечения эпителиально – эндотелиальной дистрофии роговицы / Д. П. Скачков, А. Л. Штилерман // Дальневосточный медицинский журнал. – 2012. – № 2. – С. 144 – 148. 16. Kaiserman, I. Suture-assisted vs forceps-assisted insertion of the donor lenticula during Descemet stripping automated endothelial keratoplasty / I. Kaiserman, I. Bahar, P. McAllum, A. R. Slomovic, D. S. Rootman // Am. J. Ophthalmol. – 2008. – № 145. – P. 986 – 990.

17. Иванова, О. В. Кератоамниопокрытие трансплантата при кератопластике у больных бельмами и дистрофиями роговицы / О. В. Иванова, В. К. Степанов // Федоровские чтения – 2011: ІХ Всероссийская науч.-практич. конференция. – Москва, 2011. – С. 69 – 70.

18. Кривошеина, О. И. Клинико-экономическая оценка консервативного лечения эндотелиально–эпителиальной дистрофией роговицы / О. И. Кривошеина, Е. О. Филиппова // Труды XIX Международного симпозиума имени академика М. А. Усова студентов и молодых учёных, посвященного 70-летнему юбилею Победы советского народа над фашистской Германией. – Томск, 2015. – С. 675 – 678.

Каспаров, А. А. Тотальная задняя криопексия роговицы в лечении буллёзной хронической кератопатии / А. А. Каспаров, Ю. Магден, А. А. Федоров // Вестник офтальмологии. – 2000. – Т. 116. – № 2. – С. 5 – 7.

 Краснов, М. М. Двухэтапное лечение хронической буллёзной дистрофии роговицы / М. М. Краснов, А. А. Каспаров, А. А. Мусаев // Сборник трудов IV Всероссийский съезда офтальмологов. – Москва, 1982. – С. 376 – 377.

21. Малюгин, Б. Э. Задняя автоматизированная послойная кератопластика с использованием ультратонких трансплантатов / Б. Э. Малюгин, З. И. Мороз, Е. В. Ковшун // IX съезд офтальмологов России: тезисы докладов. – Москва. – 2010. – С. 310 – 311.

22. Гундорова, Р. А. Микроинвазивная десцеметопластика-пересадка десцеметовой мембраны и эндотелия через 2,0 мм разрез / Р. А. Гундорова, В. В. Нероев, М. А. Воробьева // Российский общенациональный офтальмологический форум: сборник науч. трудов. – Москва, 2009. – С. 275 – 277.

23. Егоров, В. В. Поиск возможностей повышения эффективности лечения тяжелых индуцированных дистрофий роговицы методом эксимерной хирургии /

В. В. Егоров, В. Д. Посвалюк, Е.Л. Сорокин // Офтальмология. – 2008. – Т. 5. – № 3. – С. 35 – 40.

24. Волков, В. В. Офтальмохирургия с использованием полимеров / В. В.
Волков, В. В. Бржеский, Н. А. Ушаков. – СПб.: Гиппократ. – 2003. – С. 172 – 178.
25. Гундорова, Р. А. Применение амниотической мембраны в офтальмологии: обзор литературы / Р. А. Гундорова // Рефракционная хирургия и офтальмология.

 $-2007. - N_{2} 2. - C. 27 - 31.$

26. Драваджян, З. Х. Применение амниотической мембраны при перфорациях роговицы / З. Х. Драваджян, А. В. Амбариумян, А. В. Овакимян // Российский общенациональный офтальмологический форум: сборник науч. трудов. – Москва, 2009. – С. 280 – 284.

27. Мамиконян, В. Р. Современные технологии пересадки роговицы / В. Р. Мамиконян, С. В. Труфанов, Г. А. Осипян // IX съезд офтальмологов России: тезисы докладов. – Москва, 2010. – С. 311.

28. Джураева, Ш. У. Первый опыт пересадки амниотической мембраны в лечении различных заболеваний роговицы / Ш. У. Джураева, Т. И. Гельманова // IX съезд офтальмологов России: тезисы докладов. – Москва, 2010. – С. 304.

29. Малюгин, Б. Э. Эндотелиальная кератопластика (обзор литературы) / Б. Э. Малюгин, З. И. Мороз, И. В. Дроздов // Офтальмохирургия. – 2013. – № 1. – С. 66 – 72.

30. Слонимский, А. Ю. Возможности сквозной пересадки роговицы при различной патологии переднего отрезка глаза / А. Ю. Слонимский // Клиническая Офтальмология. – 2001. – Т.2. – № 3. – С. 102 – 105.

Фаттахов, Б. Т. Способ лечения буллезной кератопатии / Б. Т. Фаттахов,
Н.А. Никитин // Фундаментальные исследования. – 2008. – № 3. – С. 92 – 93.

Филатов, В. П. Оптическая пересадка роговицы и тканевая терапия / В.П.
 Филатов. – М.: Мезгиз, 1945. – 232 с.

33. Закон РФ "О трансплантации органов и (или) тканей человека" от
22.12.1992 г. // Ведомости Съезда народных депутатов РФ и Верховного Совета
РФ, 1993. № 2. с. 62.

34. Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации «О трансплантации органов и (или) тканей человека» от 4 июня 2015 г. N 307н/4 г.

35. Борзенок, С. А. Законодательные и нормативно-правовые аспекты в деятельности глазных тканевых банков России / С. А. Борзенок // VIII Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Федоровские чтения 2009»: сборник тезисов докладов. – Москва, 2009. – С. 535.

36. Barraquer, J. I. Queratoplastia: Problemas qui plantea la fijacion del injerto / J. I.
Barraquer // 16th Consilium Ophthalmologicum. London: British Medical Association.
- 1951. - Vol. 2. - P. 999 - 1004.

37. Краснов, М. М. Первый опыт имплантации искусственной роговицы (аллопластическое кератопротезирование) / М. М. Краснов, Е. А. Орлова // Вестник офтальмологии. – 1967. – № 6. – С. 11 – 16.

 Морхат, И. В. Интраламеллярная кератопластика / И. В. Морхат. – Минск: Беларусь, 1980. – 110 с.

39. Морхат, И. В. Методика расчётов изменения рефракции при рефракционной интраламеллярной кератопластике твёрдым аллопластическим материалом / И. В Морхат., Л. Е. Медведская // Проблемы офтальмологии. –1976. – С. 54 – 55.

40. Dohlman, C. H. Syntetic polymers corneal surgery. Glyceryl mehacrylate / C. H. Dohlman // Arch. Ophthalmol. – 1967. – Vol. – 77 (2). – P. 252 – 257.

41. Refojo, M. F. Alloplastic implants in corneal edema / M. F. Refojo, C. H. Dohlman // Int. Ophthalmol. Clin. – 1968. – Vol. – 8 (3) – P. 729 – 756.

42. Животовский, Д. С. Изменение рефракции глаза в результате имплантации внутрироговичных пластмассовых линз в эксперименте / Д. С. Животовский // Вестник офтальмологии. – 1970. – № 2. – С. 34 – 38.

43. Животовский, Д. С. Применение внутрироговичных пластмассовых линз в эксперименте и клинике / Д. С. Животовский // Вестник офтальмологии. – 1972. – № 2. – С. 38 – 45.

44. McCarey, B. E. Refractive keratoplasty with intrastromal hydrogel lenticular implants / B. E. McCarey, D. T. Andrews // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. – 1991. – Vol. 21. – P. 107 – 115.

45. McCarey, B. E. Hydrogel implants for refractive keratoplasty: corneal morphology / B. E. McCarey // Cur. Eye Res. – 1982. – Vol. 2. – P. 29 – 38.

46. McCarey, B. E. Hydrogel keratophakia: a freehand pocket dissection in the monkey model / B. E. McCarey // Br. J. Ophthalmol. – 1986. – Vol. 70 (3). – P. 187 – 189.

47. Binder, P. S. Hydrogel implants keratophakia in non-human primates / P. S. Binder // Curr. Eye Res. – 1981. – Vol. 1. – P. 535 – 542.

48. McDonald, M. B. Alloplastic epikeratophakia for the correction of aphakia / M.
B. McDonald // Cur. Eye Res. – 1981. – Vol. 1. – P. 131 – 137.

49. Werblin, T. P. Stability of hydrogel intracorneal implans in nonhuman primates /
T. P. Werblin // Cont. Lens Assoc. Ophthalmol. – 1983. – Vol. 9. – P. 17 – 61.

50. Гурбанов, Р. С. Интрастромальная кератопластика в коррекции миопии и миопического астигматизма при кератоконусе: дис. ... канд. мед. наук: 14.01.07 / Гурабонов Рашадат Сади оглы. – М., 2010. – 151 с.

Мороз, З. И. Рефракционные результаты имплантации интрастромальных роговичных сегментов на основе гидрогеля у пациентов с кератоконусом / З. И. Мороз, Ю. Ю. Калинников, Г. Д. Леонтьева // Офтальмохирургия. – 2009. – № 1. – С. 14 – 17.

52. Stone, W. Experimental study of plastic materal as replacement for the cornea / W. Stone, E. Herbert // Am. J. Ophthalmol. – 1953. – Vol. 36. – P. 168 – 173.

53. D'Hermies, F. Biocompatibility of a refractive intracorneal PMMA ring / F. D'Hermies, C. Hartmann // Forschr. Ophthalmol. – 1991. – Vol. 88. – P. 790 – 793.

54. Дронов М. М., Каранов К. С., Бобырь А. Б. Способ лечения буллезной кератопатии. – Патент России № 2082364, приоритет от 27.06.1997.

55. Дронов М. М., Каранов В. С. Способ лечения буллезной кератопатии. - Патент России № 208236410–4М, приоритет от 21.01.2008.

56. Дружинин, И. Б. Способ лечения буллезной кератопатии. – Патент России № 2405513, приоритет от 13.10.2009.

57. Şebnem, Düzye Effects of different sterilization methods on polyester surfaces /
Düzyer Şebnem, Koral Koç Serpil, Hockenberger Aslı, Evke Elif, Kahveci Zeynep,
Uğuz Agah // Tekstil ve Konfeksiyon. - 2013. - № 23 (4). - P. 319 - 324.

58. Taylor, T. L. Suture Material: A Comprehensive Review of the Literature / T. L. Taylor // Journal of American Podiatry Association. – 1975. – Vol. 65. – P. 1 – 12.

59. Rerat, Vincent Surface grafting on poly(ethylene terephthalate) track-etched microporous membrane by activation with trifluorotriazine: Application to the biofunctionalization with GRGDS peptide / Vincent Rerat, Vincent Pourcelle, Sabrina Devouge, Bernard Nysten, Jacqueline Marchand-Brynaert // Journal of Polymer Science. Part A, Polymer Chemistry. $-2010. - N_{\rm P} 1. - Vol. 48. - P. 195 - 208.$

60. Kannan, R. Y. In Fundamentals of Tissue Engineering and Regenerative Medicine / R. Y. Kannan, A.M. Scifalian // Springer-Verlag. – 2009. – P. 685 – 692.

61. Kang, X. Adipose tissue model using three-dimensional cultivation of preadipocytes seeded onto fibrous polymer scaffolds / X. Kang, Y. Xie, D. A. Kniss // Tissue Eng. -2005. $-N_{2}$ 1. -P. 458 - 468.

62. Chollet, C. The effect of RGD density on osteoblast and endothelial cell behaviour on RGD-grafted polyethylene terephthalate surfaces / C. Chollet, C. Chanseau, M. Remy, A. Guignandon, R. Bareille, C. Labruge're, L. Bordenave, M. C. Durrieu // Biomaterials. – 2009. – N_{2} 30. – P. 711 – 720.

63. Vunjak-Novakavic, G. Tissue engineering of ligaments / G. Vunjak-Novakavic,
G.Altman, R.Horan, D.L. Kaplan // Biomed Eng. – 2004. – № 6. – P. 131 – 156.

64. Рязанцева, Т.В. Эксплантодренирование ядерной мембраной в хирургии некоторых форм вторичной глаукомы (клинико-экспериментальное исследование): дис. ... канд. мед. наук: 14.01.07 / Рязанцева Татьяна Владимировна. – Самара, 1996. – 120 с.

65. Кнунянц, И. Л. Химическая энциклопедия: в 5 т. / Под ред. И. Л. Кнунянц,
H. С. Зефиров. – М.: Советская энциклопедия (тт. 1 – 2); Большая Российская энциклопедия (тт. 3 – 5). – 1988 – 1998.

66. Dae, Hoon Jeon The effects of irradiation on physicochemical characteristics of PET packaging film / Hoon Jeon Dae, Kwang Ho Lee, Hyun Jin Park // Radiation phycics and chemistry. $-2004. - N_{2} 71. - P. 1059 - 1064.$

67. Speight, J. G. Norbert Adolph Lange. Lange's handbook of chemistry / J. G. Speight. – McGraw-Hill. – 2005. – 1000 p.

68. Алакаева, З. Т. Получение стабилизированного полиэтилентерефталата и исследование его свойств / З. Т. Алакаева, М. А. Микитаев, М. М. Хупова, В. В. Козуб, А. Х. Цуров, С. Ю. Хаширова, Т. А. Борукаев // Современные проблемы науки и образования. – 2013. – № 3.;URL: http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=9279 (дата обращения: 29.09.2016).

69. Табаев, Б. В. Особенности кристаллизации аморфного полиэтилентерефталата в твердой фазе в условиях механических деформаций / Б. В. Табаев, Р. Н. Хлесткин, Е. И. Масленников // Башкирский химический журнал. – 2010. – № 17 (4). – С. 29 – 31.

 McKeen, L. W. Handbook of Polymer Applications in Medicine and Medical Devices / L. W. McKeen. – Elsevier Inc.: Oxford. – 2014. – 53 p.

71. Price, P. B. Walker, R. M. Molecular sieves and methods for producing same. US Patern 3303085 (1962).

72. Fleisher, R. L. Solid-State Track Detectors: Applications to Nuclear Science and Geophysics / R. L. Fleisher, P. B. Price, R.M. Walker // Rev. Sci. Instrum. – 1962. – V.
34. – P. 5 – 28.

73. Karl, D. // Limnolody and Oceonography Bulletin. – 2009. – V. 44. – P. 704.

74. Флеров, Г. Н. // Вестник Академии наук СССР. – 1984. – № 4. – С. 35.

75. Spohr, R. Ion Tracks and Microtechnology / R. Spohr // Principles and Applications. Braunschweig. – 1990. – P. 269 – 272.

76. Ярославцев, А. Б. Мембраны и мембранные технологии / А. Б. Ярославцев.
– М.: Научный мир, 2013. – 612 с.

77. Апель, П. Ю. Кондуктометрические исследования структуры треков многозарядных ионов в различных полимерах / П. Ю. Апель // Химия высоких энергий. – 1991. – Т. 25. – С. 132.

78. Fleischer, R. L. Nuclear Tracks in Solids / R. L. Fleischer, P. B. Price, R. M. Walker // CA: University of California Press. – 1975. – P. 605.

79. Apel, P. Yu. Tracks of very heavy ions in polymers / P. Yu. Apel, A. Schulz, R. Spohr, C. Traumann, V. Vulsadakis // Nucl. Instrum. Meth. in Phys. Res. – 1997. – V. B130. – P. 55 – 63.

Коловков, В. М. Особенности получения трековых мембран с помощью циклотрона типа У–120 / В. М. Головков, А. И. Комов, В. А. Коньков // Известия ВУЗов. Физика. – 1998. – № 4. – С. 187 – 192.

81. Рязанцева, Т. В. Экспериментальное исследование полиэтилентерефталатных трековых мембран с наноструктурированной поверхностью в качестве эксплантодренажа / Т. В. Рязанцева, Л.И. Кравец // Известия Томского политехнического университета. – 2012. – Т. 320. – № 2. – С. 120 – 125.

82. Ryazantseva, T. V. Modified by air plasma polymer tack membranes as drainage material for antiglaucomatous operations / T. V. Ryazantseva, L. I. Kravets, V. M. Elinson // Journal of Physics: Conference Series. -2014. $-N_{2}1$. -T. 516. -C. 12009.

83. Рапуано, Кристофер Дж. Роговица / Кристофер Дж.Рапуано, Ви-Джин Хенг.
– М.: Геотар-Медия, 2010. – 320 с.

84. Копаева, В. Г. Глазные болезни. Основы офтальмологии / Под ред. В. Г.
Копаева. – М.: ОАО «Издательство «Медицина», 2012. – 560 с.

85. Ryazantseva, T. V. Plasma nanostructuring of the surface layer in track membranes for producing a highly efficacious biocompatible explantodrainage for the surgical management of refractory glaucoma / T. V. Ryazantseva, L. I. Kravets, V. M. Elinson // Inorganic Materials: Applied Research. – 2012. – № 5. – T. 3. – C. 408 – 416.
86. Dmitriev, Sergue N. Water permeability of poly(ethylene) terephthalate track membranes modified in plasma / Serguei N. Dmitriev, Lyubov I. Kravets, Vladimir V. Sleptsov, Vera M. Elinson // Desalination. – 2002. – № 146. – P. 279 – 286.

87. Фортова, В. Е. Энциклопедия низкотемпературной плазмы. Вводный том IV
/ Под ред. В.Е. Фортова. – М.: Наука, – 2000. – 386 с.

88. Kravets, L. I. Modification of properties of polymer membranes by low-temperature plasma treatment / L. I. Kravets, S. N. Dmitriev, A. B. Gilman // High Energy Chemistry. $-2009. - T. 43. - N_{2} 3. - C. 181 - 188.$

89. Кравец, Л. И. Исследование поверхностных и электрохимических свойств полипропиленовой трековой мембраны модифицированной в плазме неполимеризующихся газов / Л. И. Кравец, А. Б. Гильман, М. Ю. Яблоков // Препринт Объединенного института ядерных исследований. – Дубна. –2012. – С. 1–21.

90. Yu, H.-Y. Surface modification of poly(propylene) microporous membrane to improve its antifouling characteristics in an SMBR: O₂ plasma treatment / H.-Y. Yu, X.-Ch. He, L.-Q. Liu, J.-Sh. Gu, X.-W. Wei // Plasma Process. and Polym. – 2008. – V. 5. – N_{2} 1. – P. 84 – 91.

91. Zhou, J. Surface modification of polypropylene membrane to improve antifouling characteristics in a submerged membrane-bioreactor: Ar plasma treatment / J. Zhou, W. Li, J.-Sh. Gu, H.-Y. Yu // Membrane Water Treatment. – 2010. – V. 1. – № 1. – P. 83 – 92.

92. Slepicka, P. Argon plasma irradiation of polypropylene / P. Slepicka, A. Vasina,
Z. Kolska // Nucl. Instrum. and Meth. D. – 2010. – V. 268. – № 11 – 12. – P. 2111 – 2114.

93. Головятинский, С. А. Модификация поверхности полимеров импульсной плазмой атмосферного давления / С. А. Головятинский // Вестник Харьковского университета. – 2004. – № 62. – С. 80 – 86.

94. Акишев, Ю. С. Экспериментальные и теоретические исследования воздействия неравновестной низкотемпературной плазмы атмосферного давления на поверхность полимерных пленок / Ю. С. Акишев, М. Е. Грушин, Н. А. Дятко, В. Б. Караульник, И. В. Кочетов // 5-й Международный симпозиум по теоретической и прикладной плазмохимии: материалы симпозиума. – Иваново. 2008 – С. 360 – 363. 95. Провоторова, Д. А. Модификация непредельных каучуков в низкотемпературной плазме с целью улучшения их адгезионных свойств / Д. А. Провоторова // Клеи. Герметики. Технологии. – 2013. – № 9. – С. 7 – 9.

96. Dowling, D. P. Atmospheric Pressure Plasma Treatment of Amorphous Polyethylene Terephthalate for Enhanced Heatsealing Properties / D .P. Dowling, J. Tynan, P. Ward, A. M. Hynes, J. Cullen // International Journal of Adhesion and Adhesives. -2013. - Vol. 35. - P. 1 - 8.

97. Kwang-Hyuk, Ch. Effect of Ar Ion Beam Pre-Treatment of Poly(ethylene terephthalate) Substrate on the Mechanical and Electrical Stability of Flexible InSnO Films Grown by Roll-to-Roll Sputtering System / Ch. Kwang-Hyuk, K. Han-Ki // Japanese Journal of Applied Physics. – 2013. – Vol. 52. – P. 45 – 49.

98. Navaneetha, K. Adhesive properties of polypropylene (PP) and polyethyleneterephthalate (PET) film surfaces treated by DC glow discharge plasma / K. Navaneetha, V. Pandiyaraj, R. Selvarajan // Vacuum 83. - 2009. - P. 332 - 339.

99. Aflori, M. Combined treatments for the improving of the PET surfaces hydrophilicity / M. Aflori, M. Drobota // Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures. -2015. - Vol. 10. - No 2. - p. 587 - 593.

100. Novak, I. Investigation of poly(ethylene terephthalate) treated by low-temperature plasma / I. Novak, I. Chodak, J. Sedlia // Annals of Warsaw University of Life Sciences – SGGW Forestry and Wood Technology. – 2010. – № 72. – P. 83 – 89.

101. ГОСТ Р ИСО 11137–2000 Стерилизация медицинской продукции. Требования к валидации и текущему контролю. Радиационная стерилизация.

102. Остроухова, А. А. Обоснование и оценка эффективности применения плазменной стерилизации в стоматологической клинике: дис. ... канд. мед. наук: 14.00.21 / Остроухова Алла Александровна – М., 2005. – 180 с.

 Арутюнов, С. Д. Современные технологии стерилизующего воздействия физических и химических сред в стоматологической практике: Руководство / С. Д. Арутюнов, В.Н. Царёв, А.А. Остроухова. – М.: Изд-во МИА, – 2003. – 230 с. 104. Ищенко, П. В. Современные технологии стерилизующего воздействия физических и химических сред в стоматологической практике / П. В. Ищенко, А.А. Вильчик // Стоматолог-практик. 2016. – № 2. – С. 66 – 70.

105. Остроухова, А. А. Дезинфекция и стерилизация в стоматологии / А. А. Остроухова // Всероссийская конференция по профилактике, диагностике и лечению стоматологических заболеваний: материалы конференции. – Москва, 2003. – С. 34 – 36.

106. Апель, П. Ю. Радиационно-химическая модификация полиэтилентерефталатных пленок при облучении ускоренными тяжелыми ионами и разработка ультрафильтрационных мембран: дис. ...канд. хим. наук: 02.00.09 / Апель Павел Юрьевич. – Дубна, 1985.

107. Апель, П. Ю. Изучение процессов травления следов тяжелых заряженных частиц кондуктометрическим методом / П. Ю. Апель, С. П. Третьякова // Приборы и техника эксперимента. – 1980. – № 3. – С. 58 – 61.

108. Apel, P. Yu. Measurements of the diameter of selectively etchable tracks produced in polymer by heavy ions / P. Yu. Apel // Nuclear Tracks and Radiation Measurements. $-1982. - T. 6. - N_{\odot} 2 - 3. - P. 115 - 118.$

109. Флеров, Г. Н. Использование ускорителей тяжелых ионов для изготовления ядерных мембран/ Г. Н. Флеров, П. Ю. Апель, А. Ю. Дидык, В. И. Кузнецов, Р. Ц. Оганесян // Атомная энергия. – 1989. – Т. 67. – № 4. – С. 274.

110. Нечаев, А. Н. Асимметричные трековые мембраны / А. Н. Нечаев, В. В. Березкин, А. И. Виленский, Г. С. Жданов, Л. Г. Карпухина, М. Ф. Кудояров, А. М. Митерев, Н. В. Митрофанова, В. А. Пронин, Т. В. Цыганова, Б. В. Мчедлишвили // Мембраны. – 2000. – № 6. – С. 17.

111. Алейник, А. Н. Плазменная медицина: Учебное пособие / А. Н. Алейник, Томск: ТПУ. – 2011. – 40 с.

112. Виноградова, О. И. Применение неравновесной плазмы в медицине и биологии / О. И. Виноградова, С. Ю. Телицкий, Е. В. Щукина, А. Н. Алейник // Научная сессия Московского инженерно-физического института. – 2009. – С. 128.

ГОСТ ИСО 11737–2–2011 Стерилизация медицинских изделий.
 Микробиологические методы. Часть 2.

114. ГОСТ ИСО 11737–1–2012 Стерилизация медицинских изделий.Микробиологические методы. Часть 1.

115. ГОСТ Р ИСО 14937–2012 Общие требования к определению характеристик стерилизующего агента и к разработке, валидации и текущему контролю процесса стерилизации медицинских изделий.

116. ГОСТ Р ИСО 14630–2011 Имплантаты хирургические неактивные. Общие требования.

117. МУ 287–113 Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения.

118. Государственная фармакопея Российской Федерации, XII выпуск, Ч. 1. – М., 2007.

119. МУК 4.2.1890-04 Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам.

120. ГОСТ 2789–73 Шероховатость поверхности. Параметры и характеристики.

121. ГОСТ 2.309-73. Обозначения шероховатости поверхностей.

122. ИСО Р 468 Шероховатость поверхности. Параметры, их значения и общие правила установления технических требований.

123. Новак, А. В. Шероховатость пленок аморфного, поликристаллического кремния и поликристаллического кремния с полусферическими зернами / А. В. Новак, В. Р. Новак // Письма в ЖТФ. – 2013. – Т. 39. – Вып. 19. – С. 32 – 40.

124. Xiaofan, Luo Effects of SureFlo® on the Crystallization and Melting Behavior ofSemi-Crystalline Polyethylene (PE) and Polypropylene (PP) Systems / Luo Xiaofan // Flow Polymers, LLC 12819 Coit Road, http://www.flowpolymers.com/tech/Thermo Oxidative%20Stability v1 031611.pdf.

125. Чердынцев, В. В. Термическая устойчивость полимерных нанокомпозитов на основе сверхвысокомолекулярного полиэтилена и полисульфона / В. В. Чердынцев, А. А. Бойков // Науковедение. – 2013. – № 4. – С.1 – 8. 126. Рабек, Я. Экспериментальные методы в химии полимеров: В 2-х частях / Я. Рабек. – М.: Мир, 1983. – 480 с.

127. Swanepoel, R. Determination of the thickness and optical constants of amorphous silicon / R. Swanepoel // J. Phys. E: Sci. Instrum. 1983. – № 12. – Vol. 16. – P. 1214–1221.

Sanchez-Gonzalez, J. / J. Sanchez-Gonzalez, A. Diaz-Parralejo, A. L. Ortiz, F. Guiberteau // Appl. Surf. Sci. – 2006. – Vol. 252. – P. 6013 – 6017.

129. Ilican, S. Determination of the thickness and optical constants of transparent indium-doped ZnO thin films by the envelope method / S. Ilican, M. Gaglar, Y. Gaglar // Mater. Sci. Poland. – 2007. – Vol. 25. – P. 709 – 717.

130. Gumus, C. Structural and optical properties of zinc oxide thin films prepared by spray pyrolysis method / C. Gumus, O. M. Ozkendir, H. Kavak, Y. Ufuktepe // J. Optoelectron. Anv. Mater. – 2006. – Vol. 8. – P. 299 – 303.

131. Брус, В. В. Оптические свойства тонких пленок TiO₂-MnO₂, изготовленных по методу электронно-лучевого испарения / В. В. Брус, З. Д. Ковалюк, П. Д. Марьянчук // Журнал технической физики. – 2012. – Т. 82. – Вып. 8. – С. 110 – 113.

132. Брус, В. В. Особенности оптических и электрических свойств поликристаллических пленок CdTe, изготовленных методом термического испарения / В. В. Брус, М. Н. Солован, Э. В. Майструк, И. П. Козярский // Физика твердого тела. – 2014. – Т. 56 – Вып. 10. – С. 1886 – 1890.

Сумм, Б. Д. Физико-химические основы смачивания и растекания / Б. Д.
 Сумм, Ю.В. Горюнов. – М.: Химия, 1976. – 232 с.

134. Carre, A. Polar interactions at liquid/polymer interfaces / A. Carre // Adhesion
Sci. Technol. - 2007. - Vol. 21. - № 10. - P. 961 - 981.

135. Кузнецов, В. Д. Поверхностная энергия твердых тел / В. Д. Кузнецов. – М.: Государственное издательство технико-теоретической литературы, 1954. – 220 с.

136. Barbara, H. S. Infrared spectroscopy: Fundamentals and Application / H. S. Barbara. – Pr.: Wiley. – 2004. – 244 p.

137. Larkin, P. J. Infrared and Raman spectroscopy. Principles and spectral interpretation / P. J. Larkin. – Pr.: Elsevier. – 2011. – 230 p.

138. Liang, C. Y. Infrared spectra of high polymers: Part IX. Polyethylene terephthalate / C. Y. Liang, S. Krimm // J. of Molec. Spectr. – 1959. – № 3. – P. 554 – 574.

139. Shiv, G. P. Structural and Optical Investigations of Radiation Damage in Transparent PET Polymer Films / G. P. Shiv, D. Abhijit, D. Udayan // International Journal of Spectroscopy. -2011. - P. 1 - 7.

140. Тарасевич, Б. Н. ИК-спектры основных классов органических соединений. Справочные материалы / Б.Н. Тарасевич. – М.: Химический факультет МГУ. – 2012. – 54 с.

141. Jing, Zhao Biomimetic and bioinspired membranes: Preparation and application / Zhao Jing, Xueting Zhao, Zhongyi Jiang, Zhen Li // Progress in Polymer Science. –
2014. – Vol. 39. – P. 1668 – 1720.

142. Дамаскин, Б. Б. Основы теоретической электрохимии / Б. Б. Дамаскин, О. А.
 Петрий. – М.: Высш.школа, 1978. – 239 с.

143. Касаткин, А. Г. Основные процессы и аппараты химической технологии / А.
Г. Касаткин. М.: ГХИ, – 1961. – 831 с.

144. Geismann, Ch. Permeability and electrikinetic characterization of PET capillary pore membrane with grafted temperature-responsive polymers / Ch. Geismann, Andriy Yaroshchuk, M. Ulbricht // Langmuir. – 2006. – P. 76 – 83.

145. ГОСТ 14236-81 Пленки полимерные. Метод испытания на растяжение.

146. ГОСТ 11262–50 Пластмассы. Метод испытания на растяжение.

147. Куприянов, В. Н. Пленочно – тканевые материалы для строительных конструкций / В. Н. Куприянов. – Казань: КИСИ, 1989. – 94 с.

148. Oliver, W. An improved technique for determining hardness and elastic modulus using load and displacement sensing indentation experiments / W. Oliver, G. Pharr // J. Mater. Res. – 1992. – V. 7. – N_{2} 6. – P. 15641583.

149. Якупов, Н. М. Экспериментально – теоретический метод исследования прочности полимерных пленок / Н. М. Якупов, Н. К. Галимов, А.А. Леонтьев //

Механика композиционных материалов и конструкций. – 2000. – Т. 6. – № 2. – С. 238 – 243.

150. Галимов, Н. К. Экспериментально-теоретический метод определения механических характеристик сферических пленок и мембран со сложной структурой / Н. К. Галимов, Н. М. Якупов, С. Н. Якупов // МТТ. – 2011. – № 3. – С. 58 – 66.

151. Якупов, Н. М. Методология исследования механических характеристик тонких пленок и нанопленок / Н. М. Якупов, Р. Г. Нуруллин, С. Н. Якупов // Вестник машиностроения. – 2009. – № 6. – С. 44 – 47.

152. Галимов, Н. К. Об упругом равновесии защемленных круглых мембран под действием равномерного давления / Н. К. Галимов, Р. Г. Нуруллин, А. А. Леонтьев // Актуальные проблемы механики сплошной среды. – 2004. – С. 129 – 139.

153. Аникина, Л. В. Сравнительное определение жизнеспособности клеток с помощью МТТ и ресазурина / Л. В. Аникина, С. А. Пухов, Е. С. Дубровская, С. В. Афанасьева, С. Г. Клочков // Фундаментальные исследования. – 2014. – № 12 – 7. – С. 1423 – 1427.

154. Cory, A. H. Use of an aqueous soluble tetrazolium/formazan assay for cell growth assays in culture / A. H. Cory, T. C. Owen, J. A. Barltrop, J. G. Cory // Cancer communications. -1991. $-N_{2}$ 3 (7). -P. 207 -212.

155. Berridge, M. V. Characterisation of the cellular reduction of 3-(4,5dimethylthiazol-2yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT): Subcellular localization, substrate dependence, and involvement of mitochondrial electron transport in MTT reduction / M. V. Berridge, A. S. Tan // Archives Biochem Biophys. – 1993. – P. 474 – 482.

156. ISO 10993-5 Biological evaluation of medical devices -- Part 5: Tests for in vitro cytotoxicity.

157. Гайдышев, И. Анализ и обработка данных. Специальный справочник / И. Гайдышев. – СПб: Питер, 2001. – 753 с.

158. Куприенко, Н. В. Статистические методы изучения связей. Корреляционнорегрессионый анализ / Н. В. Куприенко, О. А. Пономарева, Д. В. Тихонов. – СПб: Изд политехнического ун-та, 2008. – 118 с.

159. Громыко, Г. Л. Теория статистики: учебник / Под ред. проф. Г. Л. Громыко.
– М.: ИНФА-М, 2006. – 476 с.

160. Гублер, Е. В. Применение непараметрияеских критериев статистики в медико-биологических исследований / Е. В. Гублер, А. А. Генкин, СПб: Медицина, 1973. – 144 с.

161. Молчанов, В. М. Статистические методы обработки результатов измерений
/ В. М. Молчанов. – СПб: Изд. политехнического ун-та, 2008. – 51 с.

162. Яворский, Б. И. Справочник по физике / Б. И. Яворский, А. А. Детлаф. – М.:
Наука, 1977. – 512 с.

163. Dowling, D. P. Atmospheric Pressure Plasma Treatment of Amorphous Polyethylene Terephthalate for Enhanced Heatsealing Properties / D. P. Dowling, J. Tynan, P. Ward, A. M. Hynes, J. Cullen // International Journal of Adhesion and Adhesives. -2013. - Vol. 35. - P. 1 - 8.

164. Navaneetha, Pandiyaraj K. Adhesive properties of polypropylene (PP) and polyethylene-terephthalate (PET) film surfaces treated by DC glow discharge plasma / Pandiyaraj K. Navaneetha, V. Selvarajan, R.R. Deshmukh, Gao Changyou // Vacuum $83. - 2009. - P.\ 332 - 339.$

165. Chiper, A. Correlation between surface modifications induced on PET/TiO2 sample by DBD plasma produced in He/N₂ gas mixture and plasma parameters / A. Chiper, N. Apetroaiei, G. Popa // Optoelectron. Adv. Mater. – 2005. – N_{2} 7(5). – P. 2561–2570.

166. Nastuta, A. V. Surface modifications of polymer induced by atmospheric DBD plasma in different configurations / A. V. Nastuta, G. B. Rusu, I. Topala, A. S. Chiper, G. Popa // Journal of optoelectronics and advanced materials. – 2008. – Vol. 10. – № 8. – P. 2038 – 2042.

167. Гужова, А. А. Влияние параметров электретирования на поверхностные и электретные свойства полиэтилентерефталата / А. А. Гужова, Д. Э. Темнов, М. Ф.

Галиханов // Известия Российского Государственного педагогического университета им. А. И. Герцена. – 2013. – № 157. – С. 55 – 60.

168. Barbara, H. Stuart Infrared spectroscopy fundamentals and application / H. Barbara // Wiley. – 2004. – P. 244.

169. Larkin, P. J. Infrared and Raman spectroscopy / P. J. Larkin // Principles and spectral interpretation. – 2011. – P. 230.

170. Liang, C. Y. Infrared Spectra of High Polymers. Part IX. Polyethylene Terephthalate / C. Y. Liang, S. Krimm // Journal of molecular spectroscopy. $-1959. - N_{2} 3. - P. 554 - 574.$

171. Shiv, Govind Prasad Structural and Optical Investigations of Radiation Damage in Transparent PET Polymer Films / Govind Prasad Shiv, Abhijit De, Udayan De // International Journal of Spectroscopy. -2011. - P. 7.

172. Кравец, Л. И. Модификация свойств полимерных мембран под воздействием низкотемпературной плазмы / Л. И. Кравец, А. Б. Гильман, С. Н. Дмитриев // Химия высоких энергий. – 2009. – Т. 43. – № 3. – С. 227 – 234.

173. Рязанцева, Т. В. Плазменное наноструктурирование поверхности трековых мембран для хирургического лечения рефрактерной глаукомы / Т. В. Рязанцева, Л. И. Кравец // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Физика. – 2011. – Т. 11. – № 1. – С. 59 – 66.

174. Chiper, A. Correlation between surface modifications induced on PET/TiO₂ sample by DBD plasma produced in He/N₂ gas mixture and plasma parameters / A. Chiper, N. Apetroaiei, G. Popa // Optoelectron. Adv. Mater. $-2005. - N_{2} 7 (5). - P.$ 2561 – 2570.

175. Ярославцев, А. Б. Мембраны и мембранные технологии / А. Б. Ярославцев.
– М: Научный мир, 2013. – 612 с.

176. Григоров, О. Н. Электрокинетические явления / О. Н. Григоров. - Ленинград: Изд-во ЛГУ, 1973. – 520 с.

177. Юрьев, В. И. Электрокинетические явления. Химия древесины и целлюлозы
/ под ред. И. Н. Никитина. – М-Л: Изд-во акад. наук СССР, 1962. – С. 121.

178. Духин, С. С. Электропроводность и электрокинетические свойства дисперсионных систем / С. С. Духин. – Киев: Наукова думка, 1975. – 246 с.

179. Шабиев, Р. О. Анализ электрокинетических параметров бумажной массы / Р.О. Шабиев, А. С. Смолин. – СПб: СПб ГТУРП, 2012. – 82 с.

180. Богомолов, В. Ю. Диффузионная проницаемость полимерных мембран в водных растворах белофора ОЦД / В. Ю. Богомолов, С. А. Вязовов, С. И. Лазарев // Вестник ТГУ. – 2012. – Т. 17. – Вып. 2. – С. 688 – 690.

181. Karz, M. Wydeven, T. // J. Appl. Polym. Sci. – 1981. – V. 26. – № 9. – P. 2935.

182. Geismann, Ch. Permeability and Electrokinetic Characterization of Poly(ethyleneterephthalate) Capillary Pore Membranes with Grafted Temperature-Responsive Polymers / Ch. Geismann, A. Yaroshchuk, M. Ulbricht // Langmuir. – 2007. – Vol. 23. – No. 1. – P. 76 – 83.

183. Instrumentation Center // Сайт университета National Taiwan University URL: http://www.hic.ch.ntu.edu.tw/(дата обращения: 01.08.2016).

184. Perkinelmer//Сайткомпании«Perkinelmer»URL:http://www.perkinelmer.co.kr/files/PETech-29.pdf (дата обращения: 10.09.2016).

185. Perkinelmer//Сайткомпании«Perkinelmer»URL:http://www.perkinelmer.com/Content/applicationnotes/app_thermalcrystallinitythermoplastics.pdf (дата обращения: 26.09.2016).

186. Júlio, C. Viana. Morphology and Mechanical Properties of Injection Molded Poly(Ethylene Terephthalate) / Júlio C. Viana, Natália M. Alves, João F. Mano // Polymer engineering and science. – 2004. – Vol. 44. – № 12. – P. 2174 – 2184.

187. Zhang, J. Disorder-to-order phase transition and multiple melting behavior of poly (L-lactide) investigated by simultaneous measurements of WAXD and DSC / J. Zhang // Macromolecules. $-2008. - V. 41. - N_{2} 4. - P. 1352 - 1357.$

188. Odian, George Principles of Polymerization / George Odian. – 3rd ed., New York: John Wiley & Sons. – 1991. – 839 p.

189. Митрофанов, А. В. Исследование поверхности пленок из полиэтилентерефталата, модифицированных вакуумно-ультрафиолетовым облучением на воздухе / А. В. Митрофанов, О. В. Карбань, А. Сугоняко, М.

Любомска // Поверхность, рентгеновские, синхротронные и нейтронные исследования. – 2009. – № 7. – С. 30 – 38.

190. ГОСТ 14236-81 Пленки полимерные. Метод испытания на растяжение.

191. Попов, В. П. Общий курс полиграфии / В. П. Попов. – Изд. 3-е, Ленинград: Гизлег-пром. – 1947. – 472 с.

192. Nastuta, A. V. Surface modifications of polymer induced by atmospheric DBD plasma in different configurations / G. B. Rusu, I. Topala, A. S. Chiper, G. Popa // Journal of optoelectronics and advanced materials. -2008. -Vol. $10. -N_{2} 8. -P. 2038 - 2042$.

193. Refojo, M. F. Alloplastic implants in corneal edema / M. F. Refojo, C. H. Dohlman // Int. Ophthalmol. Clin. – 1968. – Vol. 8(3). – P. 729 – 756.

194. Takashira, K. Surface modification of polyethylen-terephthalat (PET) by 172-nm eximer lamp / K. Takashira, Sh. Shuichi, M. Jun // Transaction of the Japan Institute of Electronics Packaging. -2012. -Vol 5. -No 1. -P. 47 - 54.

195. Jeon, D. H. The effects of irradiation on physicochemical characteristics of PET packaging film / D. H. Jeon, Kwang Ho Lee, Hyun Jin Park // Radiation Physics and Chemistry. $-2004. - N_{\odot} 6. - Vol. 71. - P. 1059 - 1064.$

196. Мамонтов, А. П. Эффект малых доз ионизирующего излучения / А. П. Мамонтов, И. П. Чернов. – Т.: Дельтаплан, 2009. – 288 с.

197. Чернов, И. П. Аномальное воздействие малых доз ионизирующего излучения на металлы и сплавы / И. П. Чернов, А. П. Мамонтов, А. А. Ботаки // Атомная энергия. – 1984. – Т. 57. – Вып. 1 – С. 56 – 58.

198. Zhang J. Disorder-to-order phase transition and multiple melting behavior of poly (L-lactide) investigated by simultaneous measurements of WAXD and DSC / J. Zhang // Macromolecules. $-2008. - V.41. - N_{\odot}.4. - P.1352 - 1357.$

199. Yaghoubi, N. Gamma and electron beam radiation induced physico-chemical modifications of polypro-pylene / N. Yaghoubi, R. Peron, B. Legendre, J.L. Grossiord, D. Ferrier // Nuclear Instruments and Methods in Physics Research. – 1999. – P. 247–254.

200. Maryam, Mizania Effect of gamma irradiation on physico-mechanical properties of spicepackaging films / Mizania Maryam, Nasrin Sheikhb, Samad N. Ebrahimic, Abas Geramid, Farnaz A. Tavakoli // Radiation Physics and Chemistry. – 2009. – № 78. – P. 806 – 809.

201. Shiv, Govind Prasad Structural and Optical Investigations of Radiation Damage in Transparent PET Polymer Films / Shiv Govind Prasad, Abhijit De ,Udayan De // International Journal of Spectroscopy. -2011. - P. 1 - 7.

202. Zhu, Z. Modification of polyethylene terephthalate under high-energy heavy ion irradiation / Z. Zhu, C. Liu, Y. Sun // Nuclear Instruments and Methods in Physics Research. $-2002. - Vol. 191. - N \ge 1 - 4. - P. 723 - 727.$

203. Stojanovic, Z. Crystallinity changes and melting behaviour of the uniaxially oriented iPP exposed to high dose of gamma radiation / Z. Stojanovic, Z. Kac`arevic`-Popovic`, S. Galovic`, D. Milic`evic`, E. Suljovrujic' // Polymer Degradation and Stability. $-2005. - N_{\odot} 87. - P. 279 - 286.$

204. Buchalla, R. Effect of ionizing radiation on plasticfood packaging materials: a review. Part 1. Chemical and physical changes / R. Buchalla, C. Schuttler, K.W. Bogl // Journal of Food Protection. – 1993. – N_{2} 56. – P. 991 – 997.

205. Tripathi, R. C. Protein composition of human aqueous humor: SDS-PAGE analysis of surgical and post-mortem samples / R. C. Tripathi, C. B. Millard, B. J. Tripathi // Exp Eye Res. – 1989. – N_{2} 48. – P. 117 – 130.

206. Maryam, Mizani Effect of gamma irradiation on physico-mechanical properties of spice packaging films / Mizani Maryam, Nasrin Sheikh, Samad N. Ebrahimic, Abas Geramid, Farnaz A. Tavakoli // Radiation Physics and Chemistry. – 2000. – № 78 (9). – P. 806 – 809.

207. Riganakos, K. A. Effects of ionizing radiation on properties of monolayer and multilayer flexiblefood packaging materials / K. A. Riganakos, W. D. Koller, D. A. E. Ehlermann, B. Bauer, M. G. Kontominas // Radiation Physics and Chemistry. – 1999. – $N_{\rm P}$ 54. – P. 527 – 540.

208. Welle, F. Migration and sensory changes of packaging materials caused by ionizing radiation / F. Welle, A. Mauer, R. Franz // Radiation Physics and Chemistry. – $2002. - N_{2} 63. - P. 841 - 844.$

209. Prabha, D. Nair Morphological changes of poly(ethylene terephthalate) on multiple Steam sterilization / D. Prabha // Clinical Materials. – 1990. – № 5. – P. 43 – 46.

210. Ratner, B. D. Biomaterials Science: an introduction to materials in medicine /
B.D. Ratner, A. S. Hoffman, F. J. Schoen, J. E. Lemons(Eds.). – Third ed– Elsevier Academic Press: Oxford, UK; Waltham, MA. – 2013. – 1520 p.

211. Khlusov, I. A. Detection in vitro and quantitative estimation of artificial microterritories which promote osteogenic differentiation and maturation of stromal stem cells / I. A. Khlusov, N. M. Shevtsova, M. Y. Khlusova // Methods Mol. Biol. – 2013. – Vol. 1035. – P. 103 – 119.

212. Riggs, B. L. Osteoporosis: Etiology, diagnosis, and management / B. L. Riggs, L.
J. Melton – 2nd ed. Philadelphia, New York: Lippincott-Raven Publ, 1995. – 524 p.

213. Khlusov, I. A. Pilot in vitro study of the parameters of artificial niche for osteogenic differentiation of human stromal stem cell pool / I. A. Khlusov, M. Yu. Khlusova, K. V. Zaitsev, T. D. Kolokol'tsova // Bull. Exp. Biol. Med. – 2011. – Vol. 150 (4). – P. 535 – 542.

214. De Vos, Paul Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Firmicutes / Paul De Vos, George Garrity, Dorothy Jones. – 2009. – Vol. III. –1450 p.

215. Aleinik, A. N. Application of Cold Atmospheric Pressure Plasmas for Biological Tissue Treatment / A. N. Aleinik, A. N. Baykov // Advanced materials research. – 2015.
– Vol. 1084. – P. 602 – 605.

216. Елистратов, А. А. Генерация импульсных объемных разрядов в воздушной среде атмосферного давления для целей стерилизации и обеззараживания: автореф. дис. ... канд. тех. наук: 01.04.13 / Елистратов Евгений Андреевич – М., 2012. – 12 с.

217. Алейник, А. Н. Особенности взаимодействия неравновесной плазмы с живыми тканями / А.Н. Алейник, А.Н. Байков, Г.Ц. Дамбаев // Вестник науки Сибири. – 2012. – № 3. – С. 44 – 48.

218. Остроухова, А. А. Обоснование и оценка эффективности применения плазменной стерилизации в стоматологической клинике: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.00.21 / Остроухова Алла Александровна – М., 2005. – 17с.

219. Aleinik, A. N. Application of Cold Atmospheric Pressure Plasmas for Biological Tissue Treatment / A. N. Aleinik, A. N. Baykov // Advanced materials research. – 2015.
– Vol. 1084. – P. 602 – 605.

ПРИЛОЖЕНИЕ І

Экспериментальные исследования биосовместимости разработанной изолирующей трековой мембраны на основе ПЭТФ *in vivo*
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ БИОСОВМЕСТИМОСТИ РАЗРАБОТАННОЙ ИЗОЛИРУЮЩЕЙ ТРЕКОВОЙ МЕМБРАНЫ НА ОСНОВЕ ПЭТФ *IN VIVO*

1.1. Методика изучения биосовместимости разработанной мембраны на основе ПЭТФ в эксперименте на биологических моделях *in vivo*

Изучение биосовместимости разработанной мембраны *in vivo* осуществлялось на 16 кроликах породы Шиншилла весом 3,5 – 4,0 кг.

На I этапе каждому животному в условиях операционной моделировали буллезную кератопатию путем механического повреждения и удаления эндотелия роговицы одного из глаз (см. рис. 1).



Рисунок 1 – Схема моделирование буллезной кератопатии (а) и глаз кролика с буллезной кератопатией (б): 1 – эндотелиальный слой.

На II этапе через три недели после развития патологического процесса в роговой оболочке животные в зависимости от планируемого лечения были разделены на 2 группы:

– основная – 8 кроликов (8 глаз), которым выполняли имплантацию трековой мембраны. Методика осуществлялась следующим образом. В условиях

операционной после наркоза и обработки операционного поля с соблюдением правил асептики и антисептики, животным выполняли операцию: в роговице с предварительно индуцированной буллезной кератопатии формировали 2 тоннельных – до глубоких слоев стромы – надреза в 1,5 мм от лимба шириной 1,2 мм на 3 и 9 часах (см. рис. 2 а).



a)

б)

Рисунок 2 – Формирование парацентезов (а) в роговице и имплантация трековой мембраны (б): 1 – парацентезный нож; 2 – цанговый пинцет; 3 – трековая мембрана.

С помощью шпателя через оба тоннельных надреза формировали интрастромальный «карман» в глубоких слоях собственного вещества роговицы.

Затем в один из туннельных надрезов вводили цанговый пинцет, проводя его сквозь расслоенную строму, и выводили через противоположный тоннельный надрез, где браншами пинцета захватывали свернутую валиком трековую мембрану после плазменной обработки (время обработки 30 с). Во время обратного движения пинцета мембрану имплантировали в интрастромальный роговичный «карман» (см. рис. 2 б).

С помощью шпателя трековую мембрану аккуратно расправляли. Края тоннельных надрезов гидратировали.

 сравнения – 8 кроликов (8 глаз), которым проводилось традиционное консервативное лечение (метаболические средства, кератопротекторы).

В ходе эксперимента проводили наружный осмотр, фоторегистрацию. Спустя 2, 4, 6, 8 недель от начала эксперимента производили забор материала.

Энуклеированные глаза фиксировали в 12% нейтральном формалине при комнатной температуре в течение 24 часов. Затем, после промывания в проточной воде, объекты подвергали обезвоживанию в спиртах восходящей концентрации, просветляли в О-ксилоле и заливали в парафин. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином, по методу Ван-Гизона и полихромным красителем по Малллори.

Для подсчета различных структурных компонентов и клеточной инфильтрации использовали световой микроскоп ЛОМО Биолам АУ-12 (ок. х7, об. х40, х90, собственное увеличение микроскопа х1,5), окулярную сетку Автандилова на 50 точек, окулярную вставку с известной площадью.

Цифровые фотографии гистологических срезов подвергали морфометрическому исследованию с использованием компьютерной программы ImageJ 1.46. За единицу измерения был принят 1 мм² роговицы. С помощью метода точечного счета Г.Г. Автандилова с использованием Plugins «Grid» в гистологических препаратах были посчитаны удельные объемы (%) дистрофически измененных эпителиоцитов, площадь тканевых щелей, определена толщина переднего эпителия в 1 мм² среза.

1.2. Результаты экспериментальных исследований биосовместимости разработанной изолирующей трековой мембраны на основе ПЭТФ *in vivo*

По данным наружного осмотра две недели после индуцирования буллезной кератопатии у животных обеих групп наблюдались: блефароспазм, слезотечение, перикорнеальная инъекция и диффузный отек роговицы.

При сравнительном анализе в эксперименте выявлена высокая эффективность применения трековой мембраны в лечении буллезной кератопатии.

По данным наружного осмотра у животных основной группы уже на второй было неделе OT начала лечения отмечено существенное уменьшение блефароспазма и слезотечения, наблюдались смешанная инъекция сосудов переднего отрезка, умеренный отек эпителия и основного вещества роговицы, единичные буллы (p < 0,05). Трековая мембрана плотно прилежала к тканям роговицы, признаков избыточного фиброгенеза не отмечено. Передняя камера была средней глубины, среда в ней прозрачная. На четвертой неделе после имплантации признаки роговичного синдрома отсутствовали. Объективно: глаз умеренно раздражен, смешанная инъекция сосудов склеры, рыхлость эпителия и умеренный отек основного вещества роговицы, трековая мембрана плотно прилежала к тканям роговицы, признаков избыточного фиброгенеза не отмечено (р < 0,05), в отношении остальных структур переднего отрезка – без изменений. На шестой неделе от начала лечения глаз спокоен, незначительный локальный отек эпителия, основное вещество роговицы без признаков отечности, трековая мембрана плотно прилежала к тканям роговицы, признаков избыточного фиброгенеза не отмечено (p < 0.05).

У животных группы сравнения на второй неделе от начала лечения наблюдались симптомы блефароспазма, светобоязни и слезотечения, выделения из глаз слизистого характера Объективно: глаз раздражен, смешанная инъекция сосудов переднего отрезка, диффузный отек эпителиального слоя и основного вещества роговой оболочки, единичные буллы, местами эрозированный эпителий

(p < 0,05), эндотелий слушен, передняя камера была средней глубины, среда в ней прозрачная. На четвертой неделе после имплантации умеренно выраженный роговичный синдром. Биомикроскопически: глаз раздражен, смешанная инъекция сосудов конъюнктивы склеры, отек эпителия и основного вещества роговицы, единично встречаемые буллы (p < 0,05), эндотелий слушен, в отношении остальных структур переднего отрезка – без изменений. На шестой неделе от начала лечения глаз умеренно раздражен, диффузный отек стромы и эпителиального слоя роговицы, буллы отсутствовали (p < 0,05).

1.3. Результаты гистологического исследования

Через две недели после индуцирования буллезной кератопатии у животных обеих групп в роговице обнаруживались характерные для данного патологичного процесса изменения. Передний эпителий многослойный с признаками баллонной дистрофии. Количество дистрофически измененных эпителиоцитов составляло $21,1 \pm 1,0$ клеток в поле зрения. Толщина переднего эпителия находилась в пределах $39,3 \pm 0,5$ мкм. Собственное вещество роговицы представлено гидратированными коллагеновыми волокнами, между которыми обнаруживались тканевые щели общей площадью до 1340 ± 25 мкм². Задняя пограничная мембрана была неравномерно утолщена, эндотелий отсутствовал на всем протяжении.

Через две недели от начала лечения у животных основной группы передний эпителий многослойный, количество дистрофически измененных эпителиоцитов составляло $9,4 \pm 1,0$ клеток в поле зрения. Толщина переднего эпителия находилась в пределах $34,1 \pm 0,5$ мкм. Собственное вещество роговицы представлено гидратированными коллагеновыми волокнами, между которыми обнаруживались тканевые щели общей площадью до 1150 ± 120 мкм². Задняя пограничная мембрана была неравномерно утолщена, эндотелий отсутствовал фактически на всем протяжении (см. рис. 3).



Рисунок 3 – Утолщение и неравномерное окрашивание передней пограничной мембраны (указано стрелками), неравномерно выраженный отек собственного вещества, дистрофические изменения и отслойка заднего эпителия роговицы у животных группы сравнения через две недели после индуцирования буллезной кератопатии. Окраска гематоксилином и эозином.

Через две недели от начала лечения у животных группы сравнения передний эпителий многослойный, количество дистрофически измененных эпителиоцитов составляло $15,3 \pm 1,3$ клеток в поле зрения. Толщина переднего эпителия находилась в пределах $36,1 \pm 1,5$ мкм. Собственное вещество роговицы представлено гидратированными коллагеновыми волокнами, между которыми обнаруживались тканевые щели общей площадью до 1284 ± 109 мкм². Задняя пограничная мембрана была неравномерно утолщена, эндотелий отсутствовал фактически на всем протяжении (см. рис. 4).



Рисунок 4 – Дистрофические изменения переднего эпителия роговицы (указано черными стрелками), гомогенная передняя пограничная мембрана (указана оранжевыми стрелками), отек (О) основного вещества роговицы основной группы. Окраска гематоксилином и эозином.

На четвертой неделе от начала лечения у животных основной группы среди клеток переднего эпителия роговой оболочки толщиной $23,7 \pm 1,4$ мкм обнаруживались единичные клетки с явлениями баллонной дистрофии – $3,1 \pm 0,1$ клеток в поле зрения. Боуменова мембрана визуализировалась в виде гомогенной эозинофильной полоски. В собственном веществе роговицы обнаруживались неравномерные умеренные изменения (см. рис. 5).



Рисунок 5 – Неизмененный передний эпителий (ПЭп) и передняя пограничная мембрана (указана стрелками) роговицы (СВ – собственное вещество) на четвертой неделе от начала лечения у животных основной группы. Окраска гематоксилином и эозином.

В зоне имплантации трековой мембраны выявлялись лимфо- моноцитарная инфильтрация основного вещества и отек, чуть более выраженный в задней трети стромы – между имплантированной мембраной и десцеметовой оболочкой (см. рис. 7).



Рисунок 6 – Изменения собственного вещества роговицы после имплантации мембраны (обозначена стрелками): отек (О) в задней части собственного вещества; ПЭп – передний эпителий роговицы; М – трековая мембрана у животных основной группы на четвертой неделе от начала лечения. Окраска гематоксилином и эозином.

У животных группы сравнения передний эпителий был представлен дистрофически измененными эпителиоцитами – до $12,6 \pm 1,3$ клеток в поле зрения. Его толщина составляла $35,9 \pm 5,9$ мкм. Строма представлена рыхло расположенными деструктивно измененными коллагеновыми волокнами, среди которых обнаруживались полости общей площадью 1190 ± 90 мкм² и тонкостенные новообразованные сосуды. Эндотелий отсутствовал (см. рис. 7, 8).



Рисунок 7 – Передний эпителий роговицы: слабо выраженная передняя пограничная мембрана (обозначена оранжевыми стрелками), гиперхромные вытянутой формы ядра клеток базального слоя (обозначены синими стрелками), двуядерные клетки (обозначены черными стрелками) у животных группы сравнения на четвертой неделе от начала лечения. Окраска гематоксилином и эозином.



Рисунок 8 – Очаговая деструкция коллагеновых волокон (указана черными стрелками), новообразованные сосуды (указана красными стрелками) в собственном веществе роговицы у животных группы сравнения на четвертой неделе от начала лечения. Окраска гематоксилином и эозином.

На шестой неделе от начала лечения у животных основной группы передний эпителий был без признаков дистрофии. Передняя пограничная мембрана дифференцировалась на всем протяжении. В собственном веществе роговицы, между имплантированной мембраной и боуменовой оболочкой, ход коллагеновых волокон становился более упорядоченным, в задней 1/3 стромы пучки коллагена сохраняли повышено извитой ход (см. рис. 9). Площадь полостей между волокнами уменьшалась до 426 ± 63 мкм².



Рисунок 9 – Изменения собственного вещества роговицы после имплантации мембраны (обозначена стрелками): отек (О) и изменения коллагеновых волокон

(КлВ) в задней части собственного вещества (СВ); ЗЭп – задний эпителий роговицы на шестой неделе от начала лечения у животных основной группы. Окраска гематоксилином и пикрофуксином по Ван-Гизону.

Между задней поверхностью имплантированной мембраны и основным веществом роговицы наблюдалось развитие рыхлой соединительной ткани, богатой лимфоцитарными клетками и мелкими тонкостенными сосудами (см. рис. 10, 11, 12).



Рисунок 10 – Воспалительная инфильтрация (черные стрелки) и новообразованные сосуды (белые стрелки) в собственном веществе роговицы после имплантации мембраны (М – имплантированная мембрана; ПЭп – передний эпителий роговицы; СВ – собственное вещество роговицы) на восьмой неделе от начала лечения у животных основной группы. Окраска гематоксилином и пикрофуксином по Ван-Гизону.



Рисунок 11 – Развитие грануляционной ткани в месте имплантации мембраны в собственное вещество роговицы: М – имплантированная мембрана; Гр – грануляционная ткань; ПЭп – передний эпителий роговицы; ЗЭп – задний эпителий роговицы; СВ – собственное вещество роговицы на шестой неделе от начала лечения у животных основной группы. Окраска гематоксилином и эозином.



Рисунок 12 – Отек собственного вещества роговицы и единичные макрофаги в месте имплантации мембраны на шестой неделе от начала лечения у животных основной группы. Окраска гематоксилином и эозином (а) и полихромным красителем по Малллори (б).

У животных группы сравнения цитоплазма эпителиоцитов переднего эпителия содержала большое количество вакуолей, ядра клеток гиперхромны. Толщина эпителия – 33,4 ± 0,9 мкм. Коллагеновые волокна собственного вещества роговицы с явлениями отека. Площадь тканевых щелей составляла 901 ± 90 мкм², что свидетельствовало об относительном уменьшении степени гидратации стромы. Однако число новообразованных сосудов увеличилось. Эндотелий отсутствовал (см. рис. 13).



Рисунок 13 – Отек и изменение тинкториальных свойств коллагеновых волокон роговицы животных группы сравнения на шестой неделе от начала лечения. Окраска гематоксилином и пикрофуксином по Ван–Гизону.

При анализе динамики изменения площади тканевых щелей у животных с буллезной кератопатией отмечено статистически значимое уменьшение площади щелей у основной группы уже на 2 неделе от начала лечения (см. рис. 14): площадь уменьшилась в 1,2 раза от исходного значения в основной группе, в группе сравнения статистически значимого различия от исходного значения не выявлено (p > 0,05).



Рисунок 14 – Динамика изменения площади тканевых щелей у животных с буллезной кератопатией в зависимости от метода лечения.

На 4 неделе указанный показатель в основной группе уменьшился в 1,6 раз, на 6 неделе – в 3,3 раза. В группе сравнения на 4 неделе наблюдения площадь тканевых щелей уменьшилась в 1,1 раз, на 6 неделе – в 1,4 раза от исходного значения. Корреляционно-регрессионный анализ показал сильную взаимосвязь ($R^2 > 0,9$) изменения площади тканевых щелей у животных с буллезной кератопатией после лечения в динамике наблюдения (см. рис. 14).

При анализе динамики изменения количества дистрофически измененных эпителиоцитов у животных с буллезной кератопатией отмечено статистически значимое уменьшение дистрофических клеток у животных основной группы на 2 неделе от начала лечения (см. рис. 15).



Рисунок 15 – Динамика изменения количества дистрофически измененных эпителиоцитов у животных с буллезной кератопатией в зависимости от метода лечения.

На 4 неделе количество дистрофически измененных эпителиоцитов уменьшилось в 6,4 раза от исходного значения в основной группе, в 1,5 раза – в группе сравнения (р < 0,05). На 6 неделе указанный показатель в основной группе уменьшился в 18 раз, в группе сравнения в 4,5 раз от исходного значения. Корреляционно-регрессионный анализ показал сильную взаимосвязь ($\mathbb{R}^2 > 0,9$) изменения количества дистрофически измененных эпителиоцитов у животных с буллезной кератопатией после лечения в динамике наблюдения (см. рис. 15).

Анализ полученных в ходе эксперимента данных, свидетельствует о том, что имплантация трековой мембраны в строму роговицы при буллезной кератопатии сопровождается развитием умеренно выражено воспалительно – регенераторной реакции. Отсутствие избыточного фиброгенеза в роговичной ткани в определенной степени может быть объяснено физико-химическими свойствами самого полимера.

Выявленные в ходе гистологического исследования умеренные изменения в передней трети стромы роговицы – между имплантированной трековой мембраны и слоями роговичной ткани – свидетельствуют о стабилизации патологического процесса.

1.4. Выводы

В результате проведенных исследований применения трековых мембран из ПЭТФ в лечении буллезной кератопатии в эксперименте *in vivo* сделаны следующие выводы:

- Имплантация ТМ из ПЭТФ в строму роговицы при буллезной кератопатии сопровождается развитием умеренно выражено воспалительно – регенераторной реакции. Отсутствие избыточного фиброгенеза в роговичной ткани в определенной степени может быть объяснено физико-химическими свойствами самого полимера.
- Выявленные в ходе гистологического исследования умеренные изменения в передней трети стромы роговицы – между имплантированной ТМ и боуменовой мембраной – свидетельствуют о стабилизации патологического процесса.

ПРИЛОЖЕНИЕ II

Акт результатов внедрения



AKT

внедрения в учебный процесс кафедры офтальмологии ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России

результатов диссертационной работы Филипповой Екатерины Олеговны на тему "Разработка изолирующей трековой мембраны на основе полиэтилентерефталата для лечения буллезной кератопатии", представленной на соискание ученой степени кандидата технических наук по специальности 05.11.17. Приборы, системы и изделия медицинского назначения.

Мы, нижеподписавшиеся, комиссия в составе: председателя – и.о. заведующего кафедрой офтальмологии д-р. мед. наук, профессора Кривошеиной О.И. и членов: канд. мед. наук, доцента Сергеевой Т.М., канд. мед. наук, доцента Фетисова А.А. удостоверяем, что результаты диссертационной работы Филипповой Е.О. внедрены в учебный процесс кафедры офтальмологии в разделе "Патология роговицы" с 2016 г. Получены новые данные, касающиеся разработки трековой мембраны на основе полиэтилентерефталата в качестве имплантата для роговицы в лечении буллезной кератопатии. Предложенный метод хирургического лечения буллезной кератопатии с использованием изолирующей мембраны позволяет стабилизировать патологический процесс и заслуживает дальнейшего его изучения в клинических условиях.

Председатель:

И.о. заведующего кафедрой офтальмологии д-р мед. наук, профессор

M

О.И. Кривошеина

Члены комиссии:

канд. мед. наук, доцент

канд. мед. наук, доцент

An

Т.М. Сергеева

А.А. Фетисов

ПРИЛОЖЕНИЕ III

Патент



РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



⁽¹⁹⁾ RU ⁽¹¹⁾
 2 594 447⁽¹³⁾ C1
 ⁽⁵¹⁾ ΜΠΚ

A61F 9/007 (2006.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

| (21)(22) Заявка: 2015131871/14, 30,07.2015 (24) Дата начала отсчета срока действия патента: 30.07.2015 Приоритет(ы): (22) Дата подачи заявки: 30.07.2015 (45) Опубликовано: 20.08.2016 Бюл. № 23 (56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: RU 2405513 C1, 10.12.2010. SU 810235 A1, 07.03.1981. АКИМЕНКО С.Н. и др. Свойства трековых мембран на основе полиэтиленнафталата. Серия Критические технологии. Мембраны, 2002, N15, с. 21-28. MUENZLER WS et al. Lens replacement in pseudophakic bullous keratopathy. In: Brightbill FS, ed. Comeal Surgery: Theory, Technique, and Tissue. St. Louis: CV Mosby Co, 1986; p.229-236, pedepar. | (72) Автор(ы): Запускалов Игорь Викторович (RU), Кривошенна Ольга Ивановна (RU), Филиппова Екатерина Олеговна (RU) (73) Патентообладатель(и): Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования "Сибирский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации (ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава России) (RU) | RU 259444 |
|---|---|-----------|
| Аллес иля переписии | | 7 |
| Адрес для переписки: 634050, г. Томск, Московский тракт, 2, ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава России, отдел ИС и В, Зубаревой Н.Г. | | c |

(54) СПОСОБ ЛЕЧЕНИЯ ЭНДОТЕЛИАЛЬНО-ЭПИТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСТРОФИИ РОГОВИЦЫ

(57) Формула изобретения

Способ лечения эндотелиально-эпителиальной дистрофии (ЭЭД) роговицы, включающий имплантацию диска из полимерного материала мембранного типа в строму роговой оболочки, отличающийся тем, что формируют интрастромальный роговичный карман в глубоких слоях собственного вещества роговой оболочки, для чего на первом этапе выполняют два тоннельных надреза, до глубоких слоев стромы, на расстоянии 1,5 мм от лимба, шириной 1,2 мм, на 3 и 9 часах, далее с помощью шпателя, используя оба тоннельных надреза, формируют интрастромальный «карман» в глубоких слоях собственного вещества роговицы, после этого в один из туннельных надрезов вводят цанговый пинцет, проводя его сквозь расслоенную строму, и выводят через противоположный тоннельный надрез, где браншами пинцета захватывают свернутую валиком полимерную трековую мембрану, выполненную в виде диска из полиэтиленфталата диаметром 8,0 мм, толщиной 7 мкм, с размером пор 0,4 мкм,

плотностью 5*10⁶ пор/см², которую имплантируют в интрастромальный роговичный «карман» во время обратного движения пинцета, после этого трековую мембрану

Стр. 1