

Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение
высшего образования
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»
Институт фундаментальной биологии и биотехнологии
Кафедра медицинской биологии

УТВЕРЖДАЮ
Заведующий кафедрой
_____ Е. И. Шишацкая

«____ » _____ 2020 г.

БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА

06.03.01 – Биология

ОЦЕНКА БИОСОВМЕСТИМОСТИ ПОЛИМЕРНЫХ МАТЕРИАЛОВ

Научный руководитель _____ профессор, д.б.н. Е.И. Шишацкая
подпись, дата

Выпускник _____ Х. Ш. Хомушку
подпись, дата

Красноярск 2020

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	3
1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	6
1.1. Биоматериалы	6
1.1.1. История применения биоматериалов. Биосовместимость. Типы биоматериалов	6
1.1.2. Металлы	11
1.1.3. Керамика	14
1.1.4. Натуральные полимерные материалы	19
1.1.5. Полимерные материалы искусственного происхождения.....	23
1.1.6. Биосовместимость полимерных материалов.....	26
1.1.7. Модели для определения и оценки биосовместимости полимерных материалов	29
1.1.8. Способы изменения биосовместимости полимерных материалов	31
2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.....	41
2.1. Образцы биополимеров ПГА.....	41
2.1.1 Получение пленочных образцов полигидроксиалканоатов из раствора	41
2.1.2 Модификация поверхности образцов при помощи лазера	42
2.2 Исследование поверхностных характеристик полученных образцов ..	42
2.3 Эмбриональные фибробласты мыши линии NIH 3T3	43
2.4 Исследование биосовместимости полученных плёночных образцов <i>in vitro</i>	44
2.5 Статистическая обработка.....	45
3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ	46
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	47
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	48
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ	49

ВВЕДЕНИЕ

Биоматериалы – природные и синтетические материалы, предназначенные для сотворения изделий, приборов и веществ, используемых в медицине, биотехнологии, и применяемые для обеспечения и оптимизации жизнедеятельности человека, животных, растений, микробов. Биоматериалы работают в непосредственном контакте с живыми тканями и клеточными объектами.

Основные области применения биоматериалов-производство медицинских имплантатов, предназначенных для введения в сердечно-сосудистую систему (импланты сосудов, клапанов и всего сердца и др.) и костные (суставные протезы и костные фрагменты, крепежные детали, клеи и цементы) системы, офтальмологические имплантаты, шовные материалы и др.; лекарственные средства с различными видами биологической активности; материалы для разделения и очистки жидких биологических тканей и жидкостей; полимерные системы для культивирования и культивирования клеток и тканей. В зависимости от области применения биоматериалы могут быть использованы для создания высокопрочных изделий, эластичных и гелевых систем, а также водорастворимых препаратов [2]. Одним из перспективных направлений в поиске новых материалов для медицины является изучение, создание и внедрение материалов на основе биополимеров, таких как альгинаты, полилактиды, хитозан. Уникальный набор нативных свойств таких биополимеров-биосовместимость, биоразрушимость, легкодоступность и простота переработки в продукты позволяют отнести эту группу к небольшой группе коммерчески доступных, экологически безопасных полимеров и, в перспективе, к потенциально новым биоматериалам на их основе, исключительно пригодным для использования в медицинских целях [7]. Поскольку такие материалы подвергаются быстрой биодеградации под действием ферментов живого организма, не образуя токсичных веществ, они могут стать отличным биоразлагаемым защитным материалом для лечения открытых ран и ожогов. Возможность соединения

биополимеров с фармацевтическими препаратами и субстанциями позволяет получать биологически активные продукты для медицинской биоинженерии [13]. В связи с этим особую актуальность приобретает целенаправленное изучение оценки биосовместимости биополимерных материалов.

Актуальность моей темы заключается в том, что на сегодняшний день полимеры в медицине применяются практически повсеместно. Наиболее широко используемые продукты в этой области изготавливаются на основе высокомолекулярных соединений и являются пластиками. Они используются для изготовления искусственных сосудов, суставов и других изделий, имитирующих ткани и органы человеческого тела, а также имплантируемых биоразлагаемых средств для слияния тканей, таких как скобы, нити и иглы.

В настоящее время существует большое количество перспективных направлений биоинженерии на базе биосовместимых полимеров, такие как:

- Пленки для чрезслизистого введения, имеющие психотропные вещества, пептидные регуляторы, противозачаточные средства, цитостатики, простогландины
- Дозированные лекарственные препараты для парентерального введения
- Протезы для сосудистой хирургии с антиагрегативным покрытием
- Рентгеноконтрастные гидрогели при обтурировании расширенных вен (прямой кишki, пищевода)
- Биоклеи в неинвазивной терапии язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишki
- Иммунизация нового поколения против инфекционных и заразных заболеваний

Перспективность данных направлений подтверждена в опытных исследовательских работах и для части из них получены обнадёживающие клинические данные [5].

Биоматериал - это “неживой” материал, используемый в медицинском изделии, предназначенный для взаимодействия с биологическими системами [6]. Высокая необходимость в новых функциональных материалах объясняет известной исследований по разработкам и трансформации всевозможных биополимеров, в том числе полилактидов, полигликолов, а также полигидроксиалкоатов. Всевозможные методы трансформаций структуры полигидроксиалкоатов (ПГА) дают возможность еще больше расширить способности данных биоразрушаемых материалов в биоинженерии.

Цель работы - модификация поверхности ПГА – пленок, полученных методом Casting solution (отлив раствора) при помощи углеродного лазера, исследования их свойств в сравнении с исходными образцами в том числе оценка биосовместимости *in vitro*.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

- освоить метод Casting solution (отлив раствора) высокомолекулярных соединений.
- освоить способы выделения и очистки ПГА *Cupriavidus euthrophicus* B-10646.
- освоить ведение клеточных культур эукариот.
- исследовать характеристики пленочных образцов ПГА до и после модификации лазером.
- исследовать биосовместимость пленочных образцов *in vitro*.
- провести статистическую обработку результатов.

Научно-практическая значимость работы заключается: в получении полимерных плёночных образцов и изучение их физико-химических данных, ведении клеточной культуры на опытных образцах и, оценка их биосовместимости *in vitro*.

Работа выполнена в Лаборатории новых материалов Сибирского Федерального Университета.

1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Биоматериалы

1.1.1. История применения биоматериалов. Биосовместимость.

Типы биоматериалов

Биоматериалами, как правило, называют синтетические и природные материалы, которые применяются в контакте с биологическими системами. Внимание к данной теме росло с каждым годом и за почти полвека своего существования стало одним из главных в области хирургии, тканевой инженерии и имплантологии. Она включает в себя аспекты медицины, биологии, химии и материаловедения [11].

Начало разработки биоматериалов связано прежде всего с их использованием в системе кровообращения для закрытия поврежденных сосудов и остановки кровотечений. Натуральные и синтетические нити и волокна все еще используются для восстановления ран. Но с древних времен только коллагеновые материалы, такие как кетгут, широко использовались в наше время в качестве рассасывающихся швов, хотя многие другие материалы были испытаны в течение такого длительного времени. Sushruta, индийский хирург, описывал рассасывающиеся швы, полученные из животных жил в 600 до н.э. В 1759 году хирург из Ньюкасла в Англии Ричард Ламберт писал о своем предложении коллеге Самюэлю Хэллоуэллу о способе закрытия сосудов;

Хэллоуэлл выполнил процедуру успешно, используя деревянную булавку и лигатуру для восстановления плечевой артерии. В 1880-х годах для этой цели также использовались зажимы из слоновой кости и шелковые нити [12].

Первый рассасывающийся синтетический материал, поли (гликолевая кислота), был разработан американской компанией Cyanamid в 1960-х годах; этот материал до сих пор используется в качестве шва и для изготовления

матриц для тканевой инженерии. Не случайно полимеры используются в качестве биоматериалов в стоматологии уже более 100 лет [32].

Вулканизированный каучук впервые был использован в 1854 году, а в 1868 году был использован целлULOид (нитроцеллюлозный пластик), а поли(метилметакрилат) используется с 1930 года в качестве материала для зубных протезов, пломб и т. д. В 1930-е годы появилось много новых полимеров, в том числе полиамид, полиэфиры и полиэтилен. В 1947 году первым имплантированным синтетическим полимерным биоматериалом был, по-видимому, поли(метилметакрилат), который использовался в качестве эндопротеза тазобедренного сустава. Полиэтилен и другие полимеры использовались в качестве имплантатов в среднем уже в начале 1950-х годов, показывая хорошие первоначальные результаты, но местное воспаление ограничивало их использование. Полимерные материалы также использовались для изготовления катетеров [15].

Фриц Блейхредер был первым человеком, который выполнил катетеризацию - он вставил катетер в свою собственную бедренную артерию [Hamilton E., 2009]. Молодой врач, который провел первую катетеризацию сердца в 1929 году, был Вернер Форсман, который, будучи 23-летним студентом урологии, вставил уретральный катетер через локтевую вену в сердце. Сообщается, что с этим катетером Форсман поднялся по лестнице в рентгеновский кабинет, где задокументировал этот эксперимент, который в итоге принес ему Нобелевскую премию [16].

Хотя биоматериалы в основном используются для изготовления медицинских изделий, они также используются, например, в молекулярной биологии для создания биочипов [46] или в ветеринарии для контроля рождаемости крупного рогатого скота [Rathbone M. J., 1998].

Для медицинских целей биоматериалы редко используются отдельно и чаще интегрируются в какие-либо медицинские устройства или имплантаты [16]. Благоприятное поведение имплантируемого устройства зависит как от материала, из которого оно изготовлено, так и от конструкции самого

устройства. Кроме того, биоматериал всегда следует рассматривать как полностью изготовленную, стерилизованную форму. Например, когда имплантат сердечного клапана из полиуретанового эластомера отливают из раствора, он может вызвать иную реакцию организма, чем при его изготовлении методом литья под давлением [15].

Определение "биоматериал", данное около 30 лет назад, но до сих пор используемое специалистами в этой области, звучит так:

Биоматериал - это "неживой" материал, используемый в медицинском устройстве, предназначенном для взаимодействия с биологическими системами [Williams D. F., 1999].

Если убрать слово "медицинский", то это определение охватывает более широкий спектр применений, описанных выше. Если убрать слово "неживой", то определение станет еще более общим и может также включать в себя множество тканеинженерных и гибридных конструкций, использующих живые клетки.

Область науки, изучающая биоматериалы, включает их физические и биологические исследования, а также их взаимодействие с окружающей средой. В настоящее время наиболее интенсивное развитие получают такие направления исследований биоматериалов, как синтез, оптимизация их свойств, тестирование и исследование их взаимодействия с живым организмом [18].

Большинство биоматериалов вызывают стандартную неспецифическую биологическую реакцию. Значительное число современных исследований направлено на оптимизацию поверхности биоматериалов для более быстрого и точного взаимодействия с белками и клетками в зависимости от назначения того или иного материала [19].

Важным определением, необходимым для более полного понимания назначения (особенностей и применения) науки о биоматериалах, является понятие "биосовместимость" [24].

Биологическая совместимость-способность материала выполнять свои функции в конкретном приложении, вызывая при этом адекватную реакцию со стороны живого организма [Williams D. F., 1999].

"Адекватный ответ" означает отсутствие нарушений в процессе свертывания крови, отсутствие бактериальной обсемененности и нормальное заживление без осложнений. Примерами конкретных изделий могут служить мембрана для гемодиализа, мочевой катетер, протез тазобедренного сустава.

Эта общая концепция биосовместимости была расширена в контексте "тканевой инженерии", в которой патофизиологические процессы *in-vitro* и *in-vivo* включают тщательный отбор клеток, материалов и выбор метаболических и биомеханических условий для восстановления функций тканей.

Таким образом, этими определениями и рассуждениями мы вводим параметры, которые ограничивают семейство биоматериалов от большинства материалов в материаловедении [20].

В таблице 1 представлены некоторые биоматериалы и области их применения.

Таблица 1 - Некоторые биоматериалы и области их применения

Применение	Материалы
Опорно-двигательная система	
-восстановление суставов (тазобедренный, коленный)	Титан, сплав Ti-Al-V, нержавеющая сталь, полиэтилен
-костная пластика при переломах	Нержавеющая сталь, сплав Co-Cr
-костный цемент	Полиметилметакрилат
-восстановление кости	Гидроксиаппатит
-искусственные сухожилия и связки	Тефлон, дакрон
-дентальный имплантат для зубной фиксации	Титан, алюминий, фосфат кальция
Сердечно-сосудистая система	
-протезирование сосудов	Дакрон, тефлон, полиуретан
-сердечные клапаны	Обработанная нативная ткань, нержавеющая сталь, карбон
-катетеры	Тефлон, полиуретан, силоксановый каучук
Внутренние органы	
-искусственное сердце	Полиуретаны, полидиоксанон
-восстановление кожи	Силикон-коллагеновые композиты
- искусственная почка	Целлюлоза, полиакрилонитрил
-аппарат искусственного кровообращения	Силоксановый каучук
Органы чувств	
-восстановление ушной улитки	Платиновый электрод
-искусственный хрусталик	Полиметилметакрилат силоксановый каучук, гидрогель Силиконакрилат, гидрогель

<ul style="list-style-type: none"> - контактные линзы - роговичные имплантаты 	<p>Коллаген, гидрогель</p>
---	----------------------------

Биоматериалы можно разделить на четыре ведущих класса: полимерные материалы, металлы, керамика (включая углеродное волокно, стеклокерамику и стекло) и природные материалы (растительного и животного происхождения). Есть еще также композиционные материалы, когда два или более всевозможных различных материала соединяются в один, к примеру, силиконовый каучук или же углеродное волокно, армированное полимолочной кислотой. Эти композиты составляют пятый класс биоматериалов [21].

В последнее время в области науки о биоматериалах увеличивается внимание и интерес к использованию природных тканей и полимеров в сочетании с живыми клетками. Это тем более видно в области тканевой инженерии, которая фокусируется на направленной регенерации тканей и органов [25].

1.1.2. Металлы

Металлические материалы представляют собой неорганические вещества, которые довольно редко используются в качестве чистого химического элемента, но соединяются с другими элементами и образуют вместе сплав. Это, как правило, комбинации (соединения) металлических химических элементов (железо, титан, алюминий, золото), которые также могут содержать незначительное количество неметаллических элементов (углерод, азот и кислород) [27].

В ортопедии широко используются следующие три класса металла: нержавеющая сталь, кобальт-хромированные сплавы (Co-CR) и титановые сплавы. Благодаря высокому содержанию хрома (вес 17-20%) и

низкоуглеродистому содержанию (менее 0,03%) нержавеющая сталь 316L устойчива к коррозии в богатых солью жидкостях организма. Добавление молибдена (МО) в сплав повышает устойчивость к изъязвлению (что приводит к образованию язв, полостей в металле, начиная с его поверхности); Никель добавляется для стабилизации аустенитной фазы железа при комнатной температуре и повышения коррозионной стойкости. Механические свойства 316L сильно зависят от отжига или холодной обработки. Холодно переработанные (кованая) металлическая гораздо сильнее. Правда, есть и менее дорогие металлы: нержавеющие стали обычно используются для временных имплантатов из-за чувствительности к местной коррозии, где происходят концентрации напряжения и истощение кислорода, так как он находится под пластиной винтов, предназначенных для фиксации перелома [29].

В ортопедии используются два типа кобальтовых хромированных сплавов: сплав для производства изделий путем литья (Co–Cr–Mo: F75) и другой – кованых устройств (Co–Cr–W–Ni: F90) [Hench L., 2007].

Таблица 2. Основные металлы, используемые в медицине

Материал	Свойства	Применение
Нержавеющая сталь	Низкая стоимость изготовления	Хирургическая проволока, шпилька, пластина, винты, интрамедуллярные гвозди (спицы)
Сплавы кобальта – хрома	Высокая стоимость, высокая плотность и модуль, трудны для изготовления	Хирургическая проволока, интрамедуллярные гвозди (спицы)
Сплавы титана	Высокая стоимость, низкая плотность и	Хирургическая проволока, шпильки,

	модуль, хорошая костная интеграция	пластина, интрамедуллярные гвозди	винты,
--	------------------------------------	-----------------------------------	--------

Металлические биоматериалы довольно часто используются в качестве сильно нагруженных имплантатов и внутренних фиксаторов из-за их отличной механической прочности, и стабильности, таких как ортопедические, зубные имплантаты и даже сосудистые протезы и стенты. Несмотря на успехи в исследовании и разработке металлических имплантатов с хорошим весом, фиксация имплантатов в живом организме остается проблемой [31].

Несоответствие между модулем упругости имплантата и кости, а также низкой биологической активности материала часто приводит к плохому контакту между поверхностями между имплантатом и биологических тканей [Юнг е. д., 2015].

Поэтому исследования все больше сосредоточены на оптимизации самой металлической поверхности и 2) связывании определенных биомолекул с металлической поверхностью имплантата с целью достижения необходимого взаимодействия между фазами и нормальной реакции живой ткани [36].

Внутренние свойства металлических материалов имплантата, таких как модуль упругости, предел текучести или прочность на растяжение усталость, не являются единственным фактором, влияющим на производительность и успех имплантата. Конечно, недостаточное внимание к свойствам материала может привести к провалу. Даже с лучшим материалом, устройство может не работать из-за неправильного имплантата, хирургической ошибки или недостаточно точной конструкции имплантата, правильно [18].

1.1.3. Керамика

Керамика-это твердые материалы, изготовленные из неорганических, неметаллических веществ. Общей особенностью всех керамических материалов является то, что они подвергаются высокотемпературной обработке ($>500^{\circ}\text{C}$) в процессе их изготовления или применения. Керамика обычно представляет собой оксид металла, борид, карбид или нитрид, смесь или соединение таких материалов, что означает, что они содержат анионы, которые играют важную роль в их атомной структуре и свойствах. Основными характеристиками керамики являются ее высокая твердость, изоляционные свойства тепла и электричества, устойчивость к нагреву и коррозии, а также хрупкость и хрупкость без деформации.

- 1) Наиболее распространенными кристаллическими структурами в керамике являются следующие:
 - 2) простые кубические, например CsCl , CsBr , CsI ;
 - 3) кубической структуры (f.c.c.), например CaO , MgO , FeO , BaO и т.д.;
 - 4) плотно упакованные гексагональные, например Al_2O_3 , Fe_2O_3 , Cr_2O_3 и т.д. [50].

Стеклокерамика-это особый класс керамики. Это поликристаллические материалы с небольшими керамическими кристаллитами (обычно < 1 мкм) в стеклянной кристаллической решетке. Они производятся путем контролируемой кристаллизации стекла с соответствующей термической обработкой. Расположение кристаллов (зерен) и различных фаз-это микроструктура материала. Как правило, керамические микроструктуры состоят из отдельных кристаллов (зерен), разделенных пограничными слоями и заполненных газорами. Существует широкий диапазон размеров зерна, как правило, в пределах 1– 1000 мкм. [39].

Керамика, используемая для имплантатов и при регенерации больных или поврежденных частей тела, называется биокерамикой. Биокерамика может быть классифицирована как биоинертная, биоактивная и растворимая (абсорбирующая) в организме. На выбор керамики и стекла в качестве

биоматериалов влияют три фактора: 1) физические и механические свойства, 2) распад материала в организме и 3) биосовместимость [40].

Примерами биокерамики служит оксид алюминия (Al_2O_3), двуокись циркония(ZnO_2), окись титана(TiO_2), трикальцийфосфат($Ca_3(PO_4)$), гидроксилапатит ($Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$), алюминаты кальция ($mCaO \cdot nAl_2O$), биоактивные стекла(SiO_2) и стеклокерамика ($Li_2O \cdot ZnO \cdot SiO_2$).

Биокерамика в основном используется для регенерации твердых тканей, таких как кости, суставы или зубы. Выбор конкретного биокерамического материала зависит от типа необходимого крепления биокерамического материала к веществу. Плотные, непористые, почти инертные керамические материалы, такие как Al_2O_3 и ZrO_2 , за счет роста кости прикрепляется к шероховатостям поверхности путем цементирования устройства к ткани или путем вдавливания в дефект (механическая фиксация). Если эти имплантаты имеют поры диаметром более 100 мкм, может произойти костная вставка (биологическая фиксация). Для поверхностно реактивных керамических материалов, особенно таких как гидроксилапатит, материалы прикрепляются к костям (биоактивная фиксация) химическими связями. Биоактивные керамические материалы также используются в качестве покрытий на металлических имплантатах [41].

Биоразлагаемые биокерамические материалы предназначены для постепенного распада и замены естественных тканей тела хозяина. Однако развитие рассасывающихся керамических материалов затруднено прежде всего из-за проблем согласования скорости рассасывания со скоростью замены естественных тканей тела хозяина и сохранения прочности и стабильности биоинтерфейсных суставов в период распада. Скорость роста ткани у разных больных различна и зависит от типа ткани [44].

Основная проблема с использованием керамики в организме в качестве постоянных имплантатов заключается в замене старой, распадающейся кости материалом, который может функционировать в течение оставшихся лет

жизни пациента. Выживание биокерамического материала требует формирования стабильного контакта с живой тканью. При контакте может произойти движение, имплантат быстро ослабевает. Ослабление приводит к клинической неудаче в виде перелома имплантата или кости, прилегающей к имплантату. При использовании инертных биокерамических материалов кость на стыке очень часто структурно слаба из-за заболевания, локализованного разрушения кости или экранирования напряжения, возникающего из-за того, что более высокий модуль упругости имплантата препятствует образованию соответствующей костной нагрузки [41].

Одним из подходов к решению проблем стыковочного крепления является использование биоактивных материалов. Это материалы, вызывающие специфическую биологическую реакцию на соединение материала, что позволяет сформировать связь между тканями и материалом [51].

Гидроксиапатиты и трикальцийфосфат (TCP) в виде порошка успешно используются в клинике в качестве костного наполнителя. Синтетический Гидроксилапатит чаще всего используется, так как он имеет сходный состав, структуру и модуль Юнга с костным материалом. β -TCP также аналогичен материалу кости в том смысле, что они оба являются керамическими материалами на основе фосфата кальция, однако β -TCP рассасывается. В пористой форме керамические материалы гидроксилапатит и β -TCP могут колонизироваться костной тканью. Проблема, связанная с внедрением пор в керамику, заключается в том, что прочность на сжатие материала резко уменьшается [33].

Встречающиеся в природе пористые структуры рассматриваются для изготовления из них гидроксилапатитовых скелетов. Часто используемой структурой является коралл. Гидротермические и растворительно-термические методы используются для превращения природных кораллов в гидроксилапатит после удаления органического компонента путем погружения в гидрохлорид натрия [26].

Механические свойства биокерамики, особенно ее низкая устойчивость к трещинам, являются недостатком прямого использования в качестве замены костей в приложениях под нагрузкой. Обычно биокерамика сочетается с полимерами и металлами и эффективно образует композитные материалы с усиленными механическими свойствами и эластичными константами, соответствующими эластичным константам кости [⁵⁴].

Таблица 3. Основные керамические изделия, применяемые в тканевой инженерии [Saska S. et al., 2015]

Материал	Применение	Результат
Сульфат кальция	Синуслифтинг	Способствует образованию новой костной ткани с сосудами. Быстрая резорбция (1 месяц)
Гидроксиаппатит	Костный имплант Синуслифтинг	Способствует образованию новой костной ткани. Уменьшает образование тромбов. Повышает объем кости через 8 недель. Способствует минерализации в месте соединения кости и импланта на обширной площади
β – TCP	Регенерация кости Синуслифтинг Костный имплант	Не индуцирует воспаление. Остеокондуктивный эффект. Подвергается деградации макрофагами и остеокластами.
Двухфазный фосфат кальция НА: β – TCP	Костный имплант Синуслифтинг	Повышает объем кости через 8 недель. Остеокондуктивный эффект. Способствует стабильности импланта. Способствует образованию новой костной ткани.

1.1.4. Натуральные полимерные материалы

Природные полимеры имеют то преимущество, что они очень похожи, часто идентичны высокомолекулярным веществам, которые биологическая среда может распознавать и с которыми она может взаимодействовать во время обмена веществ (Таблица 4) [23]. Таким образом, можно избежать проблем, связанных с токсичностью, хронической воспалительной реакцией и плохим обнаружением клеток, которые часто вызваны многими синтетическими полимерами. Кроме того, сходство с природными веществами приводит к интересному способу проектирования биоматериалов на молекулярном уровне. С другой стороны, природные полимеры часто являются чрезвычайно иммуногенными. Поскольку структурно они намного сложнее, чем большинство синтетических полимеров, различные технологические манипуляции, выполняемые с ними, намного сложнее [⁴¹].

Однако эти факторы приводят к значительному количеству применений, где использование натуральных полимеров или химически модифицированных версий является оптимальным. Интересным свойством природных полимеров является их способность разрушаться естественными ферментами, что является гарантией того, что имплантат в конечном итоге разрушится под влиянием физиологических механизмов.

Это свойство может быть недостатком на первый взгляд, поскольку оно является показателем низкой прочности имплантата. Однако это преимущество таких биоматериалов, если использование желательно в течение короткого периода времени, после чего имплантат, как ожидается, будет полностью разрушен и утилизирован во время нормальных обменных процессов. Таким образом, скорость распада и, следовательно, срок службы полимерного имплантата также могут контролироваться химической сеткой или другими модификациями [33].

Потенциальная проблема, возникающая при использовании белков в качестве биоматериалов, - это их иммуногенность, которая возникает именно из-за их сходства с натуральными тканями. Иммунологическая реакция организма-хозяина направлена против отдельных участков (антигенных детерминантов) в молекуле белка. Эта реакция может быть вызвана определенными молекулами жидкостей организма - иммуноглобулинами. Такая молекула (антитело) связывается с одним или несколькими антигенными детерминантами. Иммунологическая реакция также может быть опосредована молекулами, расположенными на поверхности иммунных клеток (лимфоцитов). Имплантат в конце концов разрушается. Реакция может быть практически исключена при химической модификации антигенных детерминантов. Иммуногенность полисахаридов, как правило, намного ниже, чем у белков. А коллаген обладает сниженной иммуногенностью по отношению к большинству белков [49].

Еще одна потенциальная проблема использования природных полимеров в качестве биоматериалов заключается в том, что эти полимеры обычно распадаются или изменяются пиролитически при температурах ниже температуры плавления, что ограничивает использование высокотемпературных методов обработки, таких как экструзия расплава при производстве имплантатов. Тем не менее, процессы экструзии были разработаны при комнатной температуре этих полимеров [44].

Еще одним серьезным недостатком является изменчивость в структуре высокомолекулярных веществ животного происхождения. Каждый из этих полимеров отличается не только химически изолированным от аналогичного или от другого вида (вида), но и изолированным от другой ткани (специфиности ткани). Это, конечно, становится проблемой для производителей имплантатов, если им нужно придерживаться строгих правил изменчивости различных партий продуктов. Поэтому в этом случае следует использовать строгие методы контроля за сырьем [35].

Большинство натуральных полимеров, используемых сегодня в качестве биоматериалов, являются частью внеклеточной матрицы (ECM) соединительной ткани и могут быть найдены в сухожилиях, связках, коже, кровеносных сосудах и костях. Из различных компонентов внеклеточной матрицы, используемых в биоматериальной промышленности, коллаген является одним из наиболее распространенных. Другими важными полимерами природного происхождения являются протеогликаны и спандекс.

Таблица 4. Основные природные полимеры, применяемые в тканевой инженерии

Класс веществ	Название	Материал для получения	Применение
Белки	Шелк	Синтезируется членистоногими	Матриксы для моделирования различных биологических процессов (репарации и клеточной миграции)
	Кератин	Волосы	Регенерации кожи -эндопротезы
	Коллаген	Соединительная ткань (связки, кожи и др.)	мягких тканей -компоненты материалов для лечения кожного покрова, -эндопротезы жидкостных протоков

	Желатин	Частично аморфный коллаген	органов зрения, -регенерация кожи, связок связок периферических нервов -клапаны сердца -шовный материал -хирургические клеи -направленная доставка лекарств -матриксы для выращивания клеток <i>in vitro</i> -покрытие кожного покрова -тканевой адгезив в офтальмологии, -гемостатический агент для сосудистой и лицевой хирургии, -композиции для заполнения дефектов костей
Полисахариды	Целлюлоза Крахмал	Растения Растения	-доставка лекарств -получение

	Декстран	Синтезируется бактериями	полимолочной кислоты -эндопротезы
	Альгинат	Водоросли Микроорганизмы	- ранозаживляющий материал -матриксы для культивирования
	Хитозан	Насекомые Ракообразные (хитин панцирь)	клеток -матриксы для клеточной и тканевой инженерии -заживляющие покрытия -системы доставки клеток, лекарственных веществ и различных факторов роста

1.1.5. Полимерные материалы искусственного происхождения

Синтетические полимеры могут быть изготовлены в контролируемых условиях и поэтому обладают в целом предсказуемыми и воспроизводимыми механическими и физическими свойствами, такими как прочность на растяжение, модуль упругости и скорость распада. Еще одним преимуществом этих полимеров является контроль состава. Возможные

риски, такие как токсичность, иммуногенность и возможность инфекций, реже встречаются при использовании чистых синтетических полимеров, состоящих из хорошо изученных простых мономерных единиц [34].

Наиболее часто применяемыми синтетическими материалами для изготовления 3D – матриков в тканевой инженерии являются предельные полиэфиры, такие как полимолочная кислота (PLA) и полигликолевая кислота (PGA), а так же их сополимеры (PLGA) (полиактид-ко-гликолид (полиглактин 9:1 или аналоги) [37].

Химические свойства этих полимеров вызывают гидролитическое разложение, и после деградации мономерные компоненты каждого полимера естественным образом удаляются. Наш организм содержит специальные механизмы для полного удаления мономеров из молочных и гликоловых кислот. PGA разрушается во время метаболизма или устраняется другими механизмами, PLA разрушается трикарбоновыми кислотами во время цикла. Благодаря этим свойствам PLA и PGA используются в таких продуктах, как биоразлагаемые швейные нити и винты.

PLA и PGA просты в обработке – их скорость деградации, физико-механические свойства можно регулировать в широком диапазоне, выбирая различные молекулярные массы и различные сополимеры. Однако эти полимеры быстро подвергаются процессу объемной эрозии, поэтому они могут привести к преждевременному разрушению биоинженерных каркасов. Кроме того, резкое выделение кислых продуктов распада из них может вызвать сильную воспалительную реакцию [Martin C., 1996].

Биологически разложение полиэфира происходит за счет поглощения воды с последующим гидролизом сложноэфирных связей. На кинетику деградации влияют различные факторы: химический состав, конфигурация, молекулярная масса, полидисперсность, условия окружающей среды, напряжение и напряженность, кристалличность, размер продукта, морфология (например, пористость), распределение химически активных соединений в матрице, добавки [29] и др.

В объемных образцах этих полимеров может происходить гетерогенная деградация, которая может быть обусловлена следующими причинами [Jagur-Grodzinski J., 1999]: 1) диффузия растворимых олигомеров с поверхности во внешнюю среду протекает легче, чем изнутри, и 2) концевые углеродные группы, расположенные на поверхности, нейтрализуются внешним буферным раствором (*in vitro* или *in vivo*). Эти явления способствуют снижению кислотности вблизи поверхности, в то время как скорость разложения увеличивается в объеме за счет автокатализа конечных углеродных групп [42].

Начальная степень кристалличности полиэфира влияет на скорость гидролитической деструкции, так как кристаллические сегменты химически более стабильны, чем аморфные зоны, и они уменьшают проникновение воды в матрицу.

Особое значение в тканевой инженерии имеют остатки и кристалличность побочных продуктов и, особенно, кислых продуктов распада PLA, PGA, PCL и их сополимеров, вызывающих неблагоприятные реакции окружающих тканей. Некоторые материалы специально включают в себя основные части для стабилизации pH и контроля деградации. Для этого используют биологически активное стекло и фосфат кальция [Martin C., 1996, Heidemann W., 2001].

Полигидроксиалканоаты (ПГА) - это термопластичные разрушаемые линейные полиэфиры микробиологического происхождения.

Биотехнологический процесс получения полимеров этого класса заключается в культивировании штамма-продуцента в жидкой питательной среде с постоянной аэрацией стерильным воздухом и смешиванием в определенном режиме с избытком углеродного субстрата в среде и несбалансированным ростом, когда синтез основных (азотсодержащих) клеточных макромолекул ограничен каким-либо компонентом субстрата.

В качестве продуцента используются бактериальные штаммы различных таксономических групп, которые характеризуются способностью

синтезировать полимеры различной химической структуры и позволяют использовать различные субстраты.

Важным технологическим свойством данного производителя является возможность замены ростового субстрата без существенной замены технологического процесса и оборудования.

В качестве ростового субстрата могут использоваться: кристаллические сахара, гидролизаты растительных биомасс, органические кислоты, газовые смеси $H_2 + CO_2 + O_2$ (источником водорода может быть электролиз воды, при этом одновременно процесс обеспечивается кислородом, а источником углерода служит экспанзерная углекислота биохимических производств [17].

1.1.6. Биосовместимость полимерных материалов

Основным качеством, которым должны обладать полимеры, выбранные для медицинских изделий, является полная биосовместимость, которая характеризуется отсутствием токсичности и эффективным функционированием в процессе использования. Токсичность - это комплекс явлений, возникающих *in vivo*, среди которых могут быть: прямое повреждение клеток (цитотокическое действие противораковых препаратов) и физиологические эффекты (воспалительные и аллергические реакции и др.). Проводить исследования этих свойств в системе достаточно сложно, поэтому большинство исследователей определяют токсичность на примере клеточных культур. Изучение цито токсичности различных материалов сводится к анализу таких параметров клеточной культуры, как выживаемость и рост клеток: определение метаболической активности или регенеративного потенциала клеток и клеточной массы. Для этого необходимо ориентироваться на кривую роста клеточной культуры в присутствии исследуемого материала или вещества, построение которой индивидуально в каждом конкретном случае [14].

Известно, что имплантация любого инородного материала, в том числе биологических тканей, в ткани организма вызывает воспалительно-репаративную реакцию, которая приводит к активации пролиферации фибробластов, образованию новых коллагеновых волокон и других компонентов внеклеточного матрикса и, как следствие, образованию соединительнотканной капсулы вокруг имплантата. Когда инородный материал вводится в толщу биологической ткани (попадает во внутреннюю среду организма), происходит немедленная адсорбция тонкого слоя белков на его поверхности. Имплантированный полимер, благодаря первоначальному притяжению полиморфноядерных клеток и макроцитов, становится основным объектом реакции на границе полимер-ткань. В ходе спектрального анализа состава белкового слоя на поверхности имплантата было установлено, что этот слой состоит из 6 основных белков: альбумина, фибронектина, трансферрина, фиброна/фибриногена, иммуноглобулина и фракции С3. Присутствие этих компонентов на поверхности имплантата изменяет его адгезивные свойства и приводит к большей адгезии клеток. Активация клеточной адгезии к материалу, расположенному в толще стromы, приводит к образованию вокруг нее капсулы. В исследованиях завалы Е. и соавторов (1984) было установлено, что толщина капсулы, образующейся вокруг инородного тела, является относительным показателем биосовместимости [24].

Имплантация любого материала вызывает ответную реакцию со стороны организма. Однако необходимо различать развитие тканевой реакции на хирургическую травму, которая чаще всего протекает по типу воспаления, с изменениями, возникающими вследствие наличия материала. Восстановление целостности тканей после хирургической травмы происходит в течение двух недель и заканчивается заживлением, проходя через все стадии воспаления (в случаях мягких тканей). В результате образуется прочная рубцовая ткань, которая возникает за счет реакции фибробластов, макрофагов и образования коллагена. Только по истечении

этого срока можно однозначно сказать, что остаточная воспалительная реакция вызвана непосредственно присутствием материала в ткани. Для твердых тканей, таких как плотная кость, полный период восстановления составляет 8-12 недель, в зависимости от объема дефекта.

Все биоматериалы можно разделить на токсичные, почти инертные, инертные и биоразлагаемые. Совершенно биосовместимого материала не существует. Незначительная тканевая реакция так или иначе будет происходить, когда это произойдет, адгезия клеток и, как следствие, капсулоррафия будут зависеть от физико-химических свойств имплантата: пористости, степени заряженности поверхности, гидратации, качества обработки поверхности.

Токсичным материалом считается тогда, когда его химический состав или производные этого вещества, которые вымываются из имплантата, когда он находится в организме, определяют токсическое действие на клетки и ткани. Такие материалы неприемлемы для производства биологических имплантатов.

В зависимости от характера капсулы, образующейся вокруг инородного тела, материалы делятся на почти инертные, когда капсула определяется как тонкая и не прилипает к поверхности имплантата, инертные, в случае которых капсула отсутствует или очень тонкая, и биоактивные, в случае которых определяется соседняя капсула.

Биоразлагаемые материалы разрушаются при длительном пребывании в тканях организма, сам имплантат замещается тканями человека, что в современной терминологии называется феноменом направленной регенерации тканей. Важным моментом в этом случае является нетоксичность продуктов биодеградации [17].

1.1.7. Модели для определения и оценки биосовместимости полимерных материалов

Среди моделей, используемых в экспериментальной практике для определения и оценки биосовместимости полимерных материалов, можно выделить модели *in vivo* с использованием экспериментальных животных и модели *in vitro* с использованием культур клеток или тканей.

Довольно часто модели экспериментальных животных *in vivo* используются для изучения биосовместимости материалов [24].

Одним из стандартов является тест для определения раздражающего действия экстрактов экспериментального материала по отношению к окружающей среде глаза позвоночного животного, обычно кролика. Для офтальмологической практики такие животные являются кроликами определенных пород, хотя есть работы, в которых в качестве объекта исследования используются антропоиды, кошки, собаки, птицы и морские свинки. Это разнообразие связано со структурными особенностями различных частей глаза. Патологическое действие материала имплантата на ткани роговицы определяется в соответствии с появлением признаков воспалительных и структурно-пластических реакций при однократном или многократном закапывании экстрактов в полость конъюнктивы глаз животного. Однако в случае использования этой модели исследователи сталкиваются с некоторыми трудностями, этическими и / или финансовыми проблемами (содержание животного, способ вывести животное из эксперимента, покупка и хранение животных в специализированных вольерах и т. д.).

Сегодня предпринимаются попытки заменить классический тест на токсичность - тест Дрейза, предложенный FDA в 1944 году, исследованиями на клеточных культурах. Культура эпителиальных клеток роговицы человека была выбрана в связи с тем, что эти клетки первыми вступают в контакт с окружающей средой и вступают в процесс активации раны. Логично, что использование этой клеточной культуры недостаточно

корректно для определения биосовместимости материалов, имплантированных в строму роговицы. Недавние исследования в этой области посвящены выявлению первичной культуры клеток кератоцитов стромы роговицы, которые используются для изучения фундаментальных общих биологических проблем, а также в практических целях, в качестве тестовых объектов при анализе биосовместимости новых материалов и фармакологии веществ. Наряду с использованием этой клеточной культуры некоторые авторы предложили использовать изолированные культуры других клеток. Ответом на действие конкретного токсина *in vitro* может быть изменение метаболизма или выживаемости клеток, тогда как основной проблемой *in vivo* может быть ткань (воспалительный ответ, фиброз) или системный ответ (лихорадка, сосудистая реакция). Для получения таких ответов предлагается использовать модель органотипических культур. Основным преимуществом перед клеточными культурами является сохранение структурного единства, которое поддерживает клеточную связь, присутствующую в ткани. Среди ограничений использования этой модели можно выделить трудности в проведении биохимического и молекулярного анализа изменений, происходящих во время культивирования, которые связаны с более сложной организацией таких экспериментальных моделей по сравнению с клеточными культурами. Также стоит отметить, что при использовании органотипического культивирования процент реагирующих клеток или клеток, которые дают ответ на действие определенного стимула (реакция с материалом имплантата, с химическим веществом), значительно меньше, чем в случае изолированных клеточных культур. Не менее важным является невозможность размножения органотипических культур, что означает увеличение материала, расходуемого на исследования [24].

1.1.8. Способы изменения биосовместимости полимерных материалов

Среди полимерных материалов, описанных в литературе, которые используются, например, в хирургии роговицы, ПММА и ГЭМА являются наиболее распространенными. Их использование не всегда сопровождается полным отсутствием реакции на ткани организма, эти материалы относительно инертны. Когда речь идет об использовании полимеров в качестве основы для изготовления интрастромальных имплантатов, должны быть соблюдены определенные требования, а именно: прозрачность материала, качественная обработка поверхности, отсутствие образования капсул при длительном воздействии на ткани органов. Несоответствие требованиям приводит к появлению помутнения ткани роговицы, что, в свою очередь, влияет на ее преломляющие свойства. При периферическом положении имплантата возможно определенное допущение перечисленных критериев.

Чтобы изменить адгезионные свойства материала и, следовательно, повысить биосовместимость имплантатов, было разработано много методов воздействия, которые изменяют поверхностные свойства полимерного продукта.

Полимеры, наиболее часто используемые при изготовлении интрастромальных имплантатов, и способы их модификации поверхности более подробно описаны ниже [35].

Полиметилметакрилат является твердым, твердым, стеклообразным, но хрупким полимером с температурой стеклования приблизительно 100 °, нерастворимым в воде и алифатических углеводородах и устойчивым к маслам, жирам, щелочам и разбавленным кислотам.

В настоящее время ПММА используется для производства различных имплантатов, используемых в офтальмологии: интраокулярные линзы, внутрикапсулярные кольца, интрастромальные сегменты роговицы, кератопротезы, интракорнеальные линзы и другие. Первые попытки

имплантации ПММА в строму роговицы были предприняты в середине 20-го века.

В литературе имеются данные об изменении адгезионных свойств имплантатов, изготовленных из ПММА. Поверхностная обработка полимерного продукта изменяет его поверхностную энергию и, следовательно, гидрофобные и / или гидрофильные свойства, которые непосредственно определяют адгезионную способность материала. Среди методов воздействия на поверхность имплантата: прямая обработка поверхности, нанесение специального покрытия и добавление основного вещества вспомогательными материалами.

Поверхностная обработка полимерных изделий осуществляется несколькими способами: химическим окислением (обработка озоном), обжигом поверхности и физическим воздействием (обработка низкотемпературной плазмой, лазерами (световыми фотонами) и излучением). Все вышеперечисленное способствует образованию новых химических соединений на поверхности или изменению качества поверхности. В доступной литературе по использованию интрастромальных имплантатов с модифицированной поверхностью была найдена только одна работа по использованию сегментов роговицы, изготовленных из ПММА, с поверхностью, обработанной растворами глюкозаминогликана (ГАГ). Методы обработки поверхности изделий из ПММА, одного из самых плотных полимеров для медицинского применения, анализируются на примере ИОЛ.

Суть модификации поверхности полимерных имплантатов заключается в придании основной макромолекуле различных молекул с гидрофильными или гидрофобными свойствами, которые, в свою очередь, изменяют адгезивные свойства полимера и его биосовместимость. Одним из примеров нанесения химического вещества на поверхность полимера является тефлоновое покрытие. В результате на поверхности образуется тонкий слой фторуглеродов. Исследования на кроликах показали, что

использование ИОЛ, обработанных тефлоновым ФП, имеет значительно более низкую клеточную адгезию по сравнению с ИОЛ, поверхность которых не изменилась. Результаты были подтверждены электронной сканирующей микроскопией и спектрометрией эксплантированных ИОЛ. Установленный антиадгезионный эффект повышает биосовместимость ПММА *in vivo*.

Следующий метод модификации поверхности ПММА можно отличить обработкой раствором гепарина. Отрицательный заряд молекулы гепарина также приводит к снижению адгезии клеток и микроорганизмов, и активации фибробластов, макрофагов и гранулоцитов и, как следствие, снижает вероятность образования капсул.

Группа исследователей из Университета Калифорнии (США) провела работу по изменению адгезионных свойств поверхности ПММА, используемой для изготовления кератопротезов. В исследовании сравнивали адгезию стромальных клеток роговицы к полимерным дискам, изготовленным из ПММА, поверхность которого была модифицирована с использованием диамино-полиэтиленгликоля (диамино-ПЭГ) и аргининглицил аспарагиновой кислоты (пептид RGD). Присутствие ПЭГ на поверхности дисков ПММА значительно снижало адгезию стромальных клеток роговицы по сравнению с RGD - модифицированная поверхность и не модифицированная ($p < 0,05$). Полученные результаты показали, что адгезию стромальных клеток роговицы к поверхности полимерного имплантата можно контролировать, изменяя характеристики его поверхности, тем самым повышая биосовместимость и функцию имплантата.

В своей работе Mateo N. и Ratner B. (1989) изучали влияние перфторпропана, окиси этилена, ГЭМА и N-винил-2-пирролидона (NVP) на адгезивные свойства ПММА. Авторами было установлено, что адгезия клеток увеличивается для материалов с повышенным обогащением углеводородов и материалов с эфирными и кето-эфирными цепями.

Другой возможностью модификации поверхности имплантатов из ПММА является плазменная обработка. С физической точки зрения плазма представляет собой частично или полностью ионизированный газ, в котором плотности положительных или отрицательных зарядов практически одинаковы. При сильном нагревании каждое вещество испаряется и превращается в газ. Если вы продолжите повышать температуру, процессы ионизации значительно возрастут, т.е. Н. Молекулы газа начинают распадаться на соответствующие атомы, которые затем превращаются в ионы. Для плазмы обычно используют два определения: низкая и высокая температура, в то время как низкотемпературная плазма рассматривается как плазма с температурой $T \leq 105$ К и высокой температурой - $T \geq 106 - 108$ К. Для получения различных химикатов используются плазменные картриджи, которые производят сопла из низкотемпературной плазмы, на которые наносятся различные покрытия. В офтальмологии низкотемпературная плазменная обработка чаще всего используется для силиконовых и силиконовых гидрогелевых интраокулярных и контактных линз. Исследования в этой области начались в 1990-х годах и были направлены на оценку изменения гидрофильных свойств силиконовых ИОЛ *in vivo* и *in vitro*.

Так в работе Hettlich H. с соавт. (1992) в условиях *in vitro* (модель культуры клеток глаза кролика) и *in vivo* (экспериментальные животные кролики) анализировали влияние низкотемпературной плазмы в присутствии кислорода на гидрофильные свойства силиконовых ИОЛ и возникновение задних синехий при имплантации в заднюю камеру. Изменения гидрофильности поверхности силиконовых ИОЛ были также подтверждены другими исследователями, использующими нитрит титана (TN). В ходе работы было обнаружено снижение гидрофильности поверхности и, следовательно, снижение адгезионных свойств используемых силиконовых материалов.

Аналогичные результаты были сообщены Eloy R. et al. (1993) *in vitro* исследования ПММА, поверхностное фторирование которого проводилось низкотемпературной плазмой с использованием CF4. Авторы обнаружили уменьшение адгезии человеческих гранулоцитов к поверхности ПММА и однородность распределения молекул фтора на поверхности ИОЛ. Подобные результаты были описаны Qu C. et al. (2004), который исследовал изменение адгезивных свойств ИОЛ, изготовленных из ПММА с плазмодифицированной поверхностью в присутствии альфа-аллилгликозида. В этих исследованиях наблюдалось снижение гидрофильности поверхности, снижение адгезивных свойств ИОЛ и увеличение их биосовместимости.

Особое внимание следует уделить работе группы авторов из государственного университета Сан-Паулу, которая изучает биосовместимость сегментов роговицы (ПК) модели FerraraRing, поверхность которой была модифицирована глюкозаминогликанами (сульфатом хондроитина). В исследовании *in vivo* (экспериментальные животные на кроликах) были проанализированы следующие параметры: наличие отека, васкуляризация, развитие инфекции и экструзия MS в первый день после операции, через 30 и 60 дней после операции. Гистологические срезы регистрировали количество эпителиальных слоев роговицы при проецировании MS, возникновение отечной дегенерации стромальных клеток роговицы и наличие воспалительных клеток, неоваскуляризацию и образование капсул. Авторы обнаружили значительную разницу между группой РС с модифицированной поверхностью и РС без хондроитинсульфатного покрытия. MS, предложенный для использования, вызвал меньшее количество клинических и гистологических изменений, что указывает на большую биосовместимость.

Гидроксиэтилметакрилат (гидрогель) представляет собой пористый гидрофильный материал, относящийся к той же группе полимеров, что и ПММА, был синтезирован в 1960 году и состоит из сложных эфиров акриловой и метакриловой кислот. Важной характеристикой для этих

веществ является температура перехода 110 ° С, что означает, что при температуре ниже этого значения имплантат является твердым, а при превышении температуры он становится гибким. Этот показатель накладывает определенные условия на производственный процесс и предоперационную подготовку имплантатов.

Этот полимер довольно широко используется в медицине и офтальмологии в качестве основы для внутриглазных и контактных линз, а также в качестве коллагенового сополимера для изготовления внутрикорневых имплантатов. Благодаря наличию включений групп OH, ГЭМА обладает способностью связывать молекулы воды, что означает, что он обладает большей гидрофильностью по сравнению с ПММА, что положительно влияет на биосовместимость имплантатов, изготовленных из этого полимера. Увеличение содержания воды в гидрогеле увеличивает диаметр и количество пор на поверхности продукта, что изменяет проницаемость для питательных веществ и влияет на биосовместимость.

Исследования ГЭМА, как полимера, потенциально пригодного для применения в хирургии роговицы, начались в конце 60-ых - начале 70-ых годах XX века. Одним из первых на хорошую совместимость ГЭМА с тканями роговицы обратил внимание Dohlman C. (1967). В своих исследованиях Yamagushi T. (1984) в условиях эксперимента *in vivo* на приматах определил, что интрастромальные имплантанты, выполненные из ГЭМА, достаточно стабильны при длительном нахождении в тканях роговицы, а ранний полеоперационный период отличается практически полным отсутствием воспалительной реакции и гистологических признаков изменений в строме.

Позднее в работах Mester U. с соавт. (1979) и Smetana T. с соавт. (1987) было предложено использование ГЭМА со значительным содержанием воды (65-75%) и с наличием коллагена в качестве основы для производства кератопротезов. В результате исследований было установлено также ареактивное течение послеоперационного периода, отсутствие

капсулобразования вокруг импланта и минимальная реакция со стороны роговицы при помещении материала в переднюю камеру экспериментальных животных (кролики).

Однако хорошая адгезия кератоцитов не всегда является необходимым условием при использовании интракорнеальных имплантатов из-за вероятности развития фибропластических процессов и образования капсулы соединительной ткани, которая может нарушать оптические свойства роговицы. Поэтому, как и в случае использования РММА, различные исследователи предложили варианты модификации поверхности полимерного продукта от ГЭМА.

Так Сюэ Г. (1993-1994) в своих исследованиях предложил метод плазменной полимеризации НЕМА в присутствии силиконовых каучуков, аргона (Ar) и поли-4-метил-1-пентана (TPX). Для эксперимента использовалась модель двумерного культивирования клеток эпителия роговицы кролика. В результате исследования было отмечено, что, когда поверхность полимера модифицируется в присутствии силиконовых каучуков, TPX и в контрольных группах (ГЭМА не модифицируется), наблюдается достаточная адгезия и рост эпителиальных клеток, в отличие от группы образцов с обработкой Ar - плазмой, в которых адгезия не была значительной. Несколько позже данные были подтверждены с помощью ионной масс-спектрометрии и фурье-спектроскопии. Lee S. (1996) получил аналогичные результаты в своей работе: в эксперименте *in vitro* он определил необходимую концентрацию силикона на поверхности мембран НЕМ для адгезии и хорошего роста эпителия роговицы.

В 2001 году Merrett с соавт. опубликовали работу, посвященную оценке разницы адгезии клеток к мембранам из ГЭМА с поверхностью, модифицированной с использованием различных пептидов (аргинин – глицин -аспаргиновая кислота (Arg – Gly – Asp, RGDS), тирозин – изолейцин – глицин – серин – аргинин (Tyr – Ile – Gly – Ser - Arg, YIGSR). Для получения максимального покрытия поверхности авторами был также

использован хлористый тизил в качестве источника атомов азота, связывание которого происходило в присутствии ацетона. Увеличение концентрации пептида на поверхности полимера увеличивало адгезивную способность ГЭМА. В 2004 году Bi J. с соавт. получил аналогичные результаты, однако в качестве модифицирующего агента был выбран полиэтиленгликоль (ПЭГ). В это же время многие исследователи начали проводить работы по изучению свойств сополимеров: смесей ГЭМА и ПММА, сополимеров коллагена и ПММА.

Год спустя Джейкоб Дж. Т. и соавт. (2005) опубликовали результаты исследования, сравнивающего адгезивные возможности НЕМА, который связан с белками внеклеточного матрикса (фибронектин, ламинин, IGF-1) и пептидными последовательностями, которые связаны через цепи PEG. В качестве объекта исследования была выбрана культура эпителиальных клеток роговицы кролика. Гидрогель, который представляет собой смесь ГЭМА и РММА, был исследован на наличие клеточной адгезии и влияние модифицированной поверхности на скорость роста клеток. Результаты подтвердили гипотезу о том, что связывание некоторых белков внеклеточного матрикса и / или пептидов с поверхностью гидрогеля улучшает рост и адгезию эпителиальных клеток.

В работе Guo P. (2007), с применением электронно-сканирующей микроскопии и с использованием иммуногистохимической окраски, было проведено изучение реакции ткани роговиц кроликов и обезьян на имплантацию кератопротезов, выполненных из ГЭМА и смеси ГЭМА с ПММА. В ходе выполнения работы было зафиксировано прорастание фибробластов на сроке в две недели после операции, а на сроке до 2 - 3 месяца после имплантации кератопротеза было отмечено врастание новообразованных сосудов.

В исследовании Zainuddin M. с соавт.(2008) увеличение адгезивных свойств поверхности гидрогеля было достигнуто при проведении радикальной полимеразной прививки. Результаты показали, что

модифицированные образцы гидрогеля имели более равномерное распределение адгезированных клеток на своей поверхности за счет наличия фосфатных групп.

Среди полимеров, которые используются для производства имплантатов в медицине, также используются те, чье производство может осуществляться по одношаговой схеме. К таким веществам относится олигоуретанметакрилат (ОУМА), применение которого изначально было направлено на стоматологическую практику. ОУМА используется в качестве основы для изготовления внутриглазных имплантатов, дренажей и внутрикапсулярных колец.

Модификация продуктов из высокомолекулярных соединений с использованием физических методов воздействия на материал является перспективным направлением в биотехнологии.

Лазерное излучение является относительно новым подходом к модификации полимерных материалов и изделий. Основное преимущество перед другими типами обработки заключается в том, что поверхность меняется выборочно, не разрушая материал и не выделяя токсичных веществ. Считается, что лазерное излучение делает поверхность более гидрофильной и тем самым улучшает ее адгезивные свойства по отношению к клеткам [36]. Опубликованные исследования посвящены влиянию лазерной обработки на поверхность различных полимеров - поликапролактона, [50,53], полиметилсилоксана, [39,40] полидиметилсилоксан-2-гидроксиэтилметакрилата, [41] полиэтилентерефталата, [26,⁵⁴] смесей. Поликарбонат и полиметилметакрилат, [⁵¹] гиалуронат [33] и поли-L-молочная кислота [49].

Работа показывает, как углеродный лазер можно использовать для изменения структуры и свойств поверхности пленочных и объемных прессованных изделий из ПГА. Отмечено, что характер изменений зависит как от состава ПГА и метода фокусировки лазерного луча, так и от продолжительности и энергии воздействия.

В настоящей работе расширено исследование влияния СО₂-лазера с новыми характеристиками излучения на свойства пленочных образцов из ПЗГБВ10, наиболее гибкого и прочного образца ПГА, перспективного для ТИ кожи и мягких тканей, а также раневых биоразрушаемых покрытий. Обоснованный выбор лазера заключался в использовании СО₂-лазера, отличие которого от других типов лазеров длительного действия заключается в большей мощности, чем при использовании смеси нескольких газов (СО₂, Не, N₂, а также H₂, водяного пара и/или Xe). В СО₂ лазерах усиление интенсивности света происходит за счет молекул углекислого газа и их эффективность выше 10% и они способны генерировать излучение высокого качества с мощностью в несколько киловатт при меньших «разрушениях» материала.

2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1. Образцы биополимеров ПГА

В работе использован образец полиэфиров гидроксиарбоновых кислот – полигидроксиалканоатов, ПГА, поли-3-гидроксибутират-ко-валерат с включением валерата 10 мол. %, ПЗГБВ10, один из наиболее распространенных представителей группы. Этот полимерный материал характеризуется хорошей гибкостью и прочностью, при отсутствии растяжимости, что делает его перспективным для разработки ткано-инженерных аналогов кожи и других мягких тканей, а также раневых покрытий. Как и все представители группы ПГА, ПЗГБВ10 является биоразрушимым материалом. Образец, использованный в работе, имел следующие базовые характеристики: молекулярную массу 280 кДа, температура плавления, Тпл, 158 °С, и степень кристалличности, Сх,, в диапазоне 55-58%. ПЗГБВ10 синтезирован по стандартному протоколу биосинтеза [13].

2.1.1 Получение пленочных образцов полигидроксиалканоатов из раствора

Для получения пленок ПЗГБВ10 навеску полимера растворяли в дихлорметане (ДХМ, CH₂Cl₂), из расчета 7 мл раствора на одну чашку Петри диаметром 80 мм, нагревая раствор на магнитной мешалке до 500С в течение 15 минут, и дважды фильтровали через мельничный газ с ячейкой 80 мкм. Для одной чашки брали 350 мг ПЗГБВ10. Раствор отливали на обезжиренную поверхность стекла, оставляли для высыхания в беспылевом боксе на 48 часов, после чего снимали пленки с чашек при помощи горячей стерильной воды и просушивали в комнате. Толщину пленок определяли в пяти-шести местах, и вычисляли среднюю.

Стерилизация

Пленки для культивирования стерилизовали, подвергая их воздействию 70% этилена и затем ультрафиолетового излучения в ламинарном шкафу в течение 30 минут, затем трижды промывая их в полной среде DMEM и помещая 6 образцов на точку в лунки 96-луночного планшета для дальнейших наблюдений за культивированием клеток.

Пленки разрезали под лункой 96-луночного культурального планшета с использованием металлического шаблона, имеющего соответствующий диаметр, а именно 4,8 мм (внутренний диаметр лунки 5 мм).

Для анализа гидрофильности-гидрофобности пленки разрезали на полоски размером 1 × 6 см и фиксировали в зажиме устройства.

2.1.2 Модификация поверхности образцов при помощи лазера

Для изменения характеристик поверхности поверхностного слоя пленок РНА в целях восстановительной медицины и тканевой инженерии тканей, имеющих структуру резервуара, таких как кожа и слизистые оболочки, пленки обрабатывали сфокусированным лучом углеродного лазера Explorer II (Когерентный, США) на кафедре «Фотоники и лазерных технологий» Сибирского федерального университета.

2.2 Исследование поверхностных характеристик полученных образцов

Характеристики поверхности полимерных изделий были оценены с помощью инструмента DSA-25E (Krüss, Германия) с использованием программного обеспечения DSA-4 для Windows. На поверхность образца с помощью микрошипца наносили капли воды объемом 1,5 мкл с видеофиксацией моментов взаимодействия жидкости с поверхностью образца. Для нахождения краевых углов смачивания кадр видеозаписи капли после ее стабилизации обрабатывался в полуавтоматическом режиме

встроенным в программный пакет методом «Circle». Из полученных значений краевых углов смачивания (θ , град) вычисляли свободную поверхностную энергию (γ_s), свободную энергию межфазовой поверхности (γ_{SL}) и величину сил сцепления (W_{SL}) (эр/см²), используя известные уравнения.

Свободную поверхностную энергию (эр/см²) находили из уравнения

$$\gamma_s = \gamma_L (1 + \cos\theta)^2 / 4,$$

(1)

где γ_L – свободное поверхностное натяжение воды, равное 72.8 эрг/см². Свободную энергию межфазовой поверхности «полимер-вода» (γ_{SL} , эрг/см²) – по уравнению

$$\gamma_{SL} = \gamma_s + \gamma_L - W_{SL},$$

(2)

где γ_{SL} – критерий остаточной межфазовой энергии; γ_s и γ_L –, соответственно, свободная энергия поверхности плёнки и воды.

Силу сцепления, характеризующую прочность адгезионного шва между фазами, вычисляли из зависимости

$$W_{SL} \approx 2 \sqrt{\gamma_s \gamma_L}.$$

(3)

Для каждой матрицы было выполнено не менее шести измерений; рассчитывается среднее значение и стандартное отклонение.

Механические характеристики матриц определяли на универсальной электромеханической испытательной машине Instron 5565-5KN (Instron, Великобритания). Были исследованы следующие параметры: модуль Юнга (модуль упругости) (МПа), предел прочности при разрыве (МПа) и относительное удлинение при разрыве (%).

2.3 Эмбриональные фибробласты мыши линии NIH 3T3

Клетки культивировали в CO₂-инкубаторе (Innova CO-48, New Brunswick Scientific, США) в гумидной атмосфере 5% CO₂ при 37,7°C. Для

приготовления питательной среды использовали стандартную среду DMEM, 10% эмбриональную телячью сыворотку и 5% раствор антибиотика-антимиотика (пенициллин, стрептомицин).

Трипсин использовали для удаления клеток с поверхности флаконов с культурами, титр суспензии определяли с использованием камеры Горяева (соотношение жизнеспособных и мертвых клеток оценивали после окрашивания трипановым синим) и клетки высевали со скоростью 5×10^4 клеток на образец пленки.

2.4 Исследование биосовместимости полученных плёночных образцов *in vitro*

Оценку биосовместимости образцов *in vitro* проводили согласно стандартам ГОСТ Р ИСО 10993-2009. Потенциальную цитотоксичность полученных матриков оценивали в постоянной клеточной линии эмбриональных фибробластов мыши NIH 3T3. В качестве контроля приняли поверхность культуральных планшетов из полистирола (0-контроль) и пленки без модификации (1-контроль). Жизнеспособность культивируемых клеток оценивали в МТТ-тесте. Метод основан на способности митохондриальных дегидрогеназ восстанавливать 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразол бромид до формазана и говорит об активности митохондрий клеток. Стерильные матриксы помещали в лунки 96-луночного планшета, высевали клетки в концентрации 5×10^4 в 100 мкл питательной среды на одну лунку, доводили питательной средой содержимое каждой лунки до 200 мкл. Инкубировали в течение 3 дней. Затем вносили в каждую лунку 50 мкл рабочего раствора МТТ и 950 мкл полной среды DMEM, предварительно отобрав культуральную среду. Через четыре часа заменяли среду на DMSO. После полного растворения кристаллов формазана переносили раствор в 96-луночный планшет и проводили измерение оптической плотности при длине волны 550 нм на микропланшетном

фотометре Bio-Rad 680 (Bio-Rad LABORATORIES Inc, США). Количество клеток оценивали по калибровочному графику.

2.5 Статистическая обработка

Все эксперименты с клетками проводились в шести повторностях, остальные в трех. Измерения толщины пленок проводились в пяти разных местах на полученных больших литых пленках. Статистический анализ проводился с использованием Microsoft Exel 2016 и Statistica 6.0. Результаты были представлены как среднее арифметическое \pm стандартное отклонение. Достоверность различий в средних значениях проверяли с помощью дисперсионного анализа и t-критерия Стьюдента при уровне значимости $p = 0,05$.

3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Из текста выпускной квалификационной работы изъяты, с 46 по 51 страницу, результаты интеллектуальной деятельности, которые имеют потенциальную коммерческую научную ценность в силу неизвестности их третьим лицам.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Освоен процесс заливки 3% ПЗГБВ10 в дихлорметане на обезжиренную поверхность для получения тонких гомогенных пленок.
2. Разработаны способы получения химически чистых образцов ПГА С. Euthrophus B-10646 был разработан.
3. Поверхность образцов пленки ПГА была модифицирована с помощью угольного лазера с увеличением гидрофильности поверхности.
4. Модификация поверхности пленок ПЗГБВ10 CO_2 в сфокусированном режиме с векторным направлением регулярных линий на 1 мм повышает адгезионные свойства пленок к линейным фибробластам мыши, что делает этот метод обработки перспективным для биоинженерии мягких тканей с использованием ПГА.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ПГА – полигидроксиалкоат
TCP – трикальцийфосфат
PLA – полимолочная кислота
PGA – полигликолевая кислота
PLGA – сополимер
ПММА – полиметилметакрилат
ГЭМА – гидроксиэтилметакрилат
ИОЛ – интраокулярная линза
РС – роговичные сегменты
ОУМА – олигоуретанметакрилат
DMEM – Dulbecco's Modified Eagle Medium
DMSO – dimethyl sulfoxide (диметилсульфоксид)
CO₂ – двуокись углерода (углекислый газ).

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Байтукалов, Т.А. Регенерирующая активность и антибактериальное действие низкомолекулярного хитозана / Т. А. Байтукалов, О. А. Богословская, И. П. Ольховская и др. // Изв. РАН. Сер. биол. - 2005. - № 6. - С. 659-663.
2. Бонарцев, А. П. и др. Поли-3-оксибутират и биополимерные системы на его основе / А. П. Бонарцев и др. // Биомедицинская химия. – 2011. – Т. 57. – №. 4. – С. 374-391.
3. Волова, Т. Г. Полиоксиалканоаты (ПОА) – биоразрушаемые полимеры для медицины: науч. изд. / Т. Г. Волова, В. И. Севастьянов, Е. И. Шишацкая. - Новосибирск: Издательство СО РАН, 2003. – 330 с.
4. Дорожкин, С.В. Биоматериалы: Обзор рынка / С. В. Дорожкин, С. Агатопоулус // Химия и жизнь.- 2002. - № 2. - С.
5. Деев, Р. В. Клеточные технологии в травматологии и ортопедии: пути развития / Р. В. Деев, А. А. Исаев, А. Ю. Кошиш // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. – 2007. – Т. 2. – №. 4. – С. 18-30.
6. Залепугин, Д. Ю. и др. Получение пористых полимерных материалов с использованием диоксида углерода в сверхкритическом состоянии / Д. Ю. Залепугин и др. // Сверхкритические флюиды: Теория и практика. – 2006. – Т. 1. – №. 2. – С. 36-48.
7. Нудьга, Л.А. Получение хитозана, его производных и исследование их свойств: автореф. канд. хим. наук. / Нудьга Людмила Александровна. - 1979. –20 с.
8. Рафиков, С. Р. Введение в физико-химию растворов полимеров / С. Р. Рафиков, В. П. Будтов, Ю. Б. Монаков. – Москва: Наука, 1978. – 328 с.
9. Севастьянов, В. И. Биосовместимые материалы: учебное пособие / В. И. Севастьянов. – Москва : ООО “Издательство “Медицинское информационное агентство, 2011. – 544 с.

- 10.Севастьянов, В. И. Биосовместимые материалы / В. И. Севастьянов, М. Т. Кирпичникова. – Москва : «МИА», 2011.
- 11.Тагер, А. А. Физико-химия полимеров: учебное пособие для хим. фак. ун-тов / А. А. Тагер; под ред. А. А. Аскадского. – Москва : Научный мир, 2007. – 573 с.
- 12.Хенч, Л. Биоматериалы, искусственные органы и инжиниринг тканей / Л. Хенч, Д. Джонс. - Москва : Техносфера, 2007. - 301 с.
- 13.Хитин и хитозан: Получение, свойства и применение / под ред. К.Г. Скрябина, Г.А. Вихоревой Г.А., В.П. Варламова. – Москва : Наука, 2002. - 368 с.
- 14.Полимеры в биологии и медицине / под ред. М. Джэнкинс. М.: Научный мир, 2011. 256 с.
- 15.Akutsu, T. Polyurethane artificial heart valves in animals / T. Akutsu, B. Dreyer, W. J. Kolff // Journal of applied physiology. – 1959. – Т. 14, №. 6. – С. 1045- 1048.
16. Altman, L. K. Who goes first?: the story of self-experimentation in medicine / L. K. Altman. – Univ of California Press, 1987.
- 17.Bastioli, C. Handbook of Biodegradable Polymers / C. Bastioli. - Rapra Technology Limited, 2005. - 552 с.
- 18.Carew, E. O. et al. Properties of materials / E. O. Carew et al. // Biomaterials science: an introduction to materials in medicine. – Oxford : Elsevier Academic Press, 2004. – С. 23-32.
19. Central Venous Catheters, Edited by Helen Hamilton and Andrew R. Bodenham 2009 John Wiley & Sons, Ltd. ISBN: 978-0-470-01994-8
20. Chan, C.-M. Direct Observation of the Growth of Lamellae and Spherulites by AFM / C.-M.Chan, L. Li // Advances in Polymer Science.–2005.– Vol.188.– P. 1-41.
21. Chan, R. T. H. et al. Poly (ethylene glycol)- modulated cellular biocompatibility of polyhydroxyalkanoate films / R. T. H. Chan et al. // Polymer International. – 2013. – Т. 62. – №. 6. – С. 884-892.

- 22.Chen, M.K. Small bowel tissue engineering using small intestinal submucosa as a scaffold / M.K. Chen, S.F. Badylak // J Surg Res. - 2001. - V. 99. - P. 352-8.
- 23.Chen, Q. Progress and challenges in biomaterials used for bone tissue engineering: bioactive glasses and elastomeric composites / Q. Chen, Z. Chenghao, T. George // Progress in Biomaterials.- 2012.- V. 1.- No.2.- P. 1-22.
24. Chen, X. D. et al. Thy-1 Antigen Expression by Cells in the Osteoblast Lineage / X. D. Chen et al. // Journal of Bone and Mineral Research. – 1999. – T. 14. – №. 3. – C. 362-375.
- 25.Coelho, M. J. Human bone cell cultures in biocompatibility testing. Part II: effect of ascorbic acid, β -glycerophosphate and dexamethasone on osteoblastic differentiation / M. J. Coelho, M. H. Fernandes // Biomaterials. – 2000. – T. 21. – №. 11. – C. 1095-1102.
- 26.Dadsetan, M. Cell behavior on laser surface-modified polyethylene terephthalate in vitro / M. Dadsetan, H. Mirzadeh, N. Sharifi-Sanjani et al. // J. Biomed. Mater. Res. – 2001. – V. 57. - P. 183–189.
27. Dawes, E. A. The role and regulation of energy reserve polymers in micro-organisms / E. A. Dawes, P. J. Senior // Advances in microbial physiology. – 1972. – T. 10. – C. 135-266.
- 28.Duan, B. Customized Ca-P/PHBV nanocomposite scaffolds for bone tissue engineering: design, fabrication, surface modification and sustained release of growth factor / B. Duan, M. Wang // Journal of the Royal Society, Interface / the Royal Society.- 2010.- V. 7.- P. S615 – S629.
29. Dunn, A. S. The influence of polymer blend composition on the degradation of polymer/hydroxyapatite biomaterials / A. S. Dunn, P. G. Campbell, K. G. Marra //Journal of Materials Science: Materials in Medicine. – 2001. – T. 12. – №. 8. – C. 673-677.
30. Friedenstein, A. J. Bone marrow osteogenic stem cells: in vitro cultivation and transplantation in diffusion chambers / A. J. Friedenstein, R. K.

- Chailakhyan, U. V. Gerasimov //Cell proliferation. – 1987. – T. 20. – №. 3. – C. 263-272.
31. Ge Z., Jin Z., Cao T. Manufacture of degradable polymeric scaffolds for bone regeneration / Z. Ge, Z. Jin, T. Cao //Biomedical Materials. – 2008. – T. 3. – №. 2. – C. 022001.
32. Goodwin, H. S. et al. Multilineage differentiation activity by cells isolated from umbilical cord blood: expression of bone, fat, and neural markers / H. S. Goodwin et al. // Biology of Blood and Marrow Transplantation. – 2001. – T. 7. – №. 11. – C. 581 - 588.
33. Hollander, D. A. Extensive traumatic soft tissue loss: reconstruction in severely injured patients using cultured hyaluronan-based three-dimensional dermal and epidermal autografts / D.A. Hollander, C. Soranzo, S. Falk et al. // J. Trauma. - 2001. – V. 50. - P. 1125–1136.
34. Hutmacher, D. W. Mechanical properties and cell cultural response of polycaprolactone scaffolds designed and fabricated via fused deposition modeling / D. W. Hutmacher, T. I. Z. Schantz, W. N. Kee et al. //Journal of Biomedical Materials Research. – 2001. – T. 55. – №. 2. – C. 203-216.
35. Hutmacher, D. W. Scaffolds in tissue engineering bone and cartilage / D. W. Hutmacher //Biomaterials. – 2000. – T. 21. – №. 24. – C. 2529-2543.
36. Jaleh, B. Hydrophilicity and morphological investigation of polycarbonate irradiated by ArF excimer laser / B. Jaleh, P. Parvin, N. Sheikh et al. // Nucl. Instrum. Methods B.- 2007. – V. 265. - P. 330–333.
37. Jendrossek, D. Microbial degradation of polyesters: a review on extracellular poly (hydroxyalkanoic acid) depolymerases / D. Jendrossek // Polymer degradation and stability. – 1998. – T. 59. – №. 1. – C. 317-325.
38. Kang, S. W. Surface modification with fibrin/hyaluronic acid hydrogel on solid-free form-based scaffolds followed by BMP-2 loading to enhance bone regeneration / S. W. Kang, J. S. Kim // Bone. -V. 48.- No.2.- P. 298-306.
39. Khorasani, M.T. Laser induced surface modification of polydimethylsiloxane as a super-hydrophobic material. / M.T. Khorasani, H.

- Mirzadeh, P.G. Sammes // Radiat. Phys. Chem. 1996. – V. 47. - P. 881–888.
- 40.Khorasani, M.T. BHK cells behaviour on laser treated polydimethylsiloxane surface / M.T. Khorasani, H. Mirzadeh // Colloids Surf B.- 2004.- V. 35.- P. 67–71.
- 41.Khorasani, M.T. Laser surface modification of polymers to improve biocompatibility: HEMA grafted PDMS, in vitro assay – III / M.T. Khorasani, H. Mirzadeh, P.G. Sammes // Radiat. Phys. Chem.- 1999.- V.55.- P. 685–689.
- 42.Klawitter, J. J. et al. An evaluation of bone growth into porous high density polyethylene //Journal of biomedical materials research. – 1976. – T. 10. – №. 2. – C. 311 -323.
- 43.Liu, X. Biomimetic nanofibrous gelatin/apatite composite scaffolds for bone tissue engineering / X. Liu, L. Smith, J. Hu et al. // Biomaterials.- 2009. - V. 30. - No.12.- P. 2252-2258.
- 44.Li X.Y., Jin L.J., McAllister T.A., et al. // J. Agric. Food Chem.- 2007. - V. 55. - P. 2911–2917.
- 45.Misra, S. K. et al. Polyhydroxyalkanoate (PHA)/inorganic phase composites for tissue engineering applications / S.K. Misra et al. // Biomacromolecules. – 2006. – T. 7. – №. 8. – C. 2249-2258.
- 46.Park, J. K., Kim T. H. Biochip and method for patterning and measuring biomaterial of the same / J. K. Park, T. H. Kim // CIIA. – 2002.
- 47.Reyes, J. et al. Pediatric intestinal transplantation: historical notes, principles and controversies / J. Reyes et al. // Pediatr Transplant. - 2002.- V. 6.- P. 193-207.
- 48.Rosa, D. S. et al. The effect of the M w of PEG in PCL/CA blends / D.S. Rosa et al. //Polymer testing. – 2005. – T. 24. – №. 5. – C. 542-548.
- 49.Slepička, P. Controlled biopolymer roughness induced by plasma and excimer laser treatment / P. Slepička, I. Michaljaničová, V. Švorčík // eXPRESS Polym. Lett. -2013.-V.7.- P. 950-958

- 50.Tiaw, K.S. Laser surface modification of poly(ϵ -caprolactone) (PCL) membrane for tissue engineering applications / K.S. Tiaw, S.W. Goh, M. Hong et al. // Biomaterials. - 2005.- V.26.- P. 763–769.
- 51.Viville, P. Excimer laser-induced surface modifications of biocompatible polymer blends / P.Viville, S. Beauvois, G. Lambin et al. // Appl. Surf. Sci.- 1996.-V. 96–98.-P. 558–562.
- 52.Wang, Y. Porous poly (lactic-co-glycolide) microsphere sintered scaffolds for tissue repair applications / Y. Wang, X. Shi // Materials Science and Engineering C. - 2009. - V. 29. - No.8. - P. 2502-2507.
- 53.Williams, J.M. Bone tissue engineering using polycaprolactone scaffolds fabricated via selective laser sintering / J.M. Williams, A. Adewunmi, R.M. Schek et al. // Biomaterials.- 2005.- V.26.- P. 4817–4827.
- 54.Yu, F. In vitro cell response to a polymer surface micropatterned by laser interference lithography / F. Yu, F. Mücklich, P. Li, H. Shen et al. // Biomacromolecules.- 2005.- V.6.- P. 1160–1167.
- 55.Zhang, L. The role of tissue engineering in articular cartilage repair and regeneration / L. Zhang, J. Hu, K. A. Athanasiou // Crit Rev. Biomed. Eng. – 2009. – Vol. 37, № 1–2. – P. 1–57.

Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение
высшего образования
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»
Институт фундаментальной биологии и биотехнологии
Кафедра медицинской биологии

УТВЕРЖДАЮ
Заведующий кафедрой
Шишакова Е. И. Шишакская
«06» 07 2020 г.

БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА

06.03.01 – Биология

ОЦЕНКА БИОСОВМЕСТИМОСТИ ПОЛИМЕРНЫХ МАТЕРИАЛОВ

Научный руководитель *Шишакова Е. И.* профессор, д.б.н. Е.И. Шишакская
подпись, дата

Выпускник *Хомушкин А. В.* Х. В. Хомушкин
подпись, дата

Красноярск 2020