

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ТОМСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ (НИ ТГУ)
САЕ Институт «Умные материалы и технологии»
Автономная магистерская программа
«Трансляционные химические и биомедицинские технологии»

ДОПУСТИТЬ К ЗАЩИТЕ В ГЭК
Руководитель ООП
д-р физ.-мат. наук, профессор
И.А. Курзина
« 6 » июня 2018 г.



МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ

РАЗРАБОТКА МЕТОДА ПОЛУЧЕНИЯ БИОСОВМЕСТИМОГО
КОМПОЗИЦИОННОГО МАТЕРИАЛА С ВЫСОКОЙ ПОРИСТОСТЬЮ НА ОСНОВЕ
СОПОЛИМЕРА ЛАКТИД-ГЛИКОЛИД И ГИДРОКСИАПАТИТА

по основной образовательной программе подготовки магистров
направление подготовки 04.04.01 – Химия

Березовская Анна Андреевна

Научный руководитель ВКР
д-р физ.-мат. наук, профессор
И.А. Курзина
И.А. Курзина
подпись
« 6 » июня 2018 г.

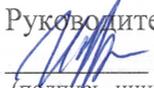
Научный консультант
д-р хим. наук, профессор
Л.А. Хайнрих
Л.А. Хайнрих
подпись
« 6 » июня 2018 г.

Автор работы
студент группы № 28609
А.А. Березовская
подпись

Национальный исследовательский Томский государственный университет
Химический факультет
САЕ Институт «Умные материалы и технологии»
Автономная магистерская программа

УТВЕРЖДАЮ

Руководитель ООП

 И.А. Курзина
(подпись, инициалы, фамилия)

«23» 10 2017 г.

ЗАДАНИЕ НА МАГИСТЕРСКУЮ ДИССЕРТАЦИЮ

магистранту Березовской Анне Андреевне группа 28609
(фамилия, имя, отчество)

Направление 04.04.01 «Химия»

Магистерская программа «Трансляционные химические и биомедицинские технологии»

Тема магистерской диссертации: Разработка метода получения биосовместимого композиционного материала с высокой пористостью на основе сополимера лактид-гликолид и гидроксиапатита

Утверждена на заседании Академического совета программы «Трансляционные химические и биомедицинские технологии» протокол № 3 от «23» октября 2017 г.

Научный руководитель магистерской диссертации И.А. Курзина, д.ф-м.н., профессор, директор САЕ Институт «Умные материалы и технологии»
(инициалы, фамилия, степень, звание, должность)

Научная проблема Разработка метода получения биосовместимого композиционного материала с высокой пористостью на основе сополимера лактид-гликолид и гидроксиапатита

Цель и задачи исследования

Цель: установить влияние содержания порообразователя на состав и структуру композиционных материалов на основе ГА и СЛГ, физико-химические, поверхностные, биологические свойства.

Задачи:

- 1) Получить композиционные материалы на основе пористой керамики ГА, пропитанной раствором СЛГ с различной макропористостью, достигаемой добавлением различного содержанием порообразователя на этапе получения керамики ГА (50%, 25%, 10% масс. порообразователя – NaCl);
- 2) Исследовать элементный и фазовый состав композиционных материалов;
- 3) Исследовать поверхностные характеристики композитов (микро- и мезопористость, удельная поверхность, смачиваемость, шероховатость, поверхностная энергия);
- 4) Оценить биомиметические свойства полученных композитов в модельном растворе SBF;
- 5) Провести тест материалов на цитотоксичность, исследовать биосовместимость материалов;

Объекты исследования гидроксиапатит, сополи(лактид-гликолид), керамические композиционные материалы на основе ГА и СЛГ.

Методы исследования РФЭС, ИК, СЭМ, РФА, трилометрическое титрование, определение краевого угла смачивания, определение параметра R_a (шероховатость), низкотемпературная адсорбция азота, индикаторный метод Гаммета.

Методы проверки достоверности результатов сравнение результатов с литературными данными.

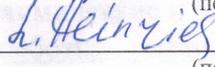
Ожидаемые результаты исследования новые полимерные композиционные материалы на основе ГА и СЛГ и исследованные поверхностные и характеристики полученных материалов, первичный тест на биосовместимость материалов.

Организация, совместно с которой выполняется работа Лаборатория полимеров и композиционных материалов НИ ТГУ, Лаборатория физики наноструктурных функциональных материалов, Институт физики прочности и материаловедения СО РАН, Лаборатория трансляционной клеточной и молекулярной биомедицины.

Этапы работы:

Наименование этапа	Сроки выполнения
Отбор, анализ литературы, патентный поиск	02.10.2017 – 05.11.2017
Эксперимент и обсуждение результатов	06.11.2017 – 19.04.2018
Написание и оформление работы	20.04.2018 – 20.05.2018
Допуск к защите на кафедре	28.05.2018 – 03.06.2018
Рецензирование	04.06.2018 – 08.06.2018
Защита	06.2018

Руководитель магистерской диссертации  д.ф.-м.н., профессор, И.А. Курзина
(подпись, степень, звание, инициалы, фамилия)

Научный консультант  д.х.н., профессор Л. Хайнрих
(подпись, степень, звание, инициалы, фамилия)

С заданием ознакомлен, магистрант «23» сентября 2017 г. 
(дата) (подпись студента)

В соответствии с п. 3.2 «*Регламента размещения текстов выпускных квалификационных работ в электронной библиотеке Научной библиотеки ТГУ*» выпускная квалификационная работа размещается в репозитории с изъятием некоторых разделов, в соответствии с решением правообладателя.

Руководитель ООП



И.А. Курзина

РЕФЕРАТ

Ключевые слова: полимеры, сополимер лактид-гликолид, керамика, гидроксиапатит, композиционные материалы, пористость, биосовместимость.

Магистерская диссертация посвящена разработке способа получения биосовместимых композиционных материалов медицинского назначения на основе гидроксиапатита (ГА) и сополимера лактид-гликолид и исследованию их поверхностных, физико-химических и биологических свойств.

Объектами исследования являлись гидроксиапатит, сополимер лактид-гликолид и керамические композиционные материалы на их основе.

Для изучения свойств полученных образцов использованы методы: ИК-спектроскопия, рентгенофазовый анализ, сканирующая электронная микроскопия, рентгеновская фотоэлектронная спектроскопия, определение пористости низкотемпературной адсорбции азота по методу БЭТ, а также метод оценки биологической активности в растворе SBF и тест на жизнеспособность макрофагов с индикатором Alamar Blue.

В результате проделанной работы разработан новый способ получения композитов, исследованы композиты с соотношениями ГА:СЛГ (95:5, 93:7, 83:17), подобрано оптимальное соотношение компонентов, исследован ряд поверхностных, физико-химических и биологических свойств композитов, таких как состав, морфология, удельная поверхность, пористость, биоактивность и цитотоксичность материалов.

Магистерская диссертация содержит 66 страниц, включает 29 рисунков, 24 таблицы, 77 литературных ссылок.

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	6
1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР	7
1.1 Химический состав и строение костной ткани	7
1.1.1 Химический состав костной ткани	7
1.1.2 Клетки костной ткани.....	8
1.1.3 Естественная регенерация костной ткани	11
1.2 Особенности имплантации костной ткани.....	13
1.2.1 Классификация материалов для костной имплантации.....	13
1.2.2 Биоактивная керамика на основе гидроксиапатита, ее применение	17
1.2.3 Биоразлагаемые полимеры, их применение.....	18
1.2.4 Разработка пористых материалов для замены костной ткани.....	20
1.3 Характеристики материалов для костной имплантации.....	23
1.3.1 Биологические характеристики.....	23
1.3.2 Поверхностные свойства.....	25
1.3.3 Морфология поверхности	26
1.3.4 Механические характеристики.....	27
2. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ	29
2.1 Приборы, реактивы и оборудование.....	29
2.3 Техника безопасности	30
2.4 Краткая характеристика объектов исследования	31
2.5 Синтез исходных компонентов и композитов на их основе	31
2.2 Методы исследования свойств композитов и исходных компонентов	32
2.2.1 Методы идентификации состава композиционных материалов.....	33
2.2.2 Исследования поверхностных свойств.....	35
2.2.3 Исследование цитотоксических свойств композиционных материалов...40	
3. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	45
3.1 Идентификация состава	45

3.2 Исследование пористых характеристик	45
3.3 Исследование поверхностных свойств	45
3.2 Исследование биомиметических свойств в растворе SBF.....	45
3.5 Оценка жизнеспособности макрофагов в присутствии материалов.....	45
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	60
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ И ЛИТЕРАТУРЫ.....	61

ПЕРЕЧЕНЬ УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ГА – гидроксиапатит

СЛГ – сополи(лактид-гликолид)

SBF – Simulated Body Fluid, раствор искусственной межтканевой жидкости

К1 – композиционный материал с соотношением ГА:СЛГ 95:5

К2 – композиционный материал с соотношением ГА:СЛГ 93:7

К3 – композиционный материал с соотношением ГА:СЛГ 83:17

К1 ГА – керамический ГА каркас с 10% пористости

К2 ГА – керамический ГА каркас с 25% пористости

К3 ГА – керамический ГА каркас с 50% пористости

ВВЕДЕНИЕ

Ожидаемая продолжительность жизни человека резко возросла с момента открытия антисептиков, антибиотиков, развития гигиены и вакцинации. Поскольку средний возраст населения развитого мира постоянно увеличивается, существует большая и растущая потребность в материалах для замены больных и поврежденных тканей. В настоящее время существует два возможных метода лечения заболеваний костей, для которых применяется замена твердых тканей (Рисунок 1).

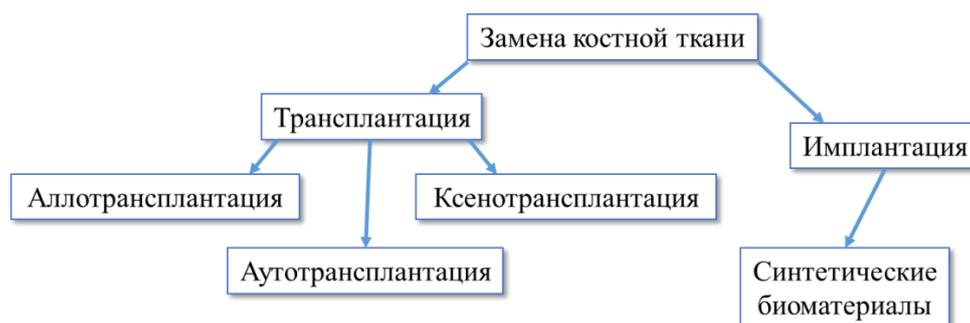


Рисунок 1. Методы замены костной ткани

Хотя аутоотрансплантат предпочтительнее, он имеет ограниченный запас и не обладает механической целостностью. Альтернативными источниками твердых тканей являются другие люди (аллотрансплантация) или животные (ксенотрансплантация). Аллотрансплантаты и ксенотрансплантаты подходят по механическим и структурным характеристикам, но повышают риск передачи болезни и иммунологической реакции организма. Поэтому существует потребность в разработке синтетических биоматериалов для замены костной ткани. Поскольку минеральный компонент кости состоит в основном из солей фосфата кальция, кальций-фосфатные материалы стали широко использоваться в качестве заменителей костей [1]. Материалы фосфатов кальция являются osteoconductive, т.е. могут стимулировать локальное формирование кости. Введение полимерной составляющей позволяет улучшить биосовместимость материалов, их поверхностные и механические свойства.

Цель работы заключается в установлении влияния содержания порообразователя на состав и структуру композиционных материалов на основе ГА и СЛГ, исследовании физико-химических, поверхностных, биологических свойств.

1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

1.1 Химический состав и строение костной ткани

Биологические твёрдые ткани являются минерально-органическими композитами со сложной микроструктурой. При разработке новых материалов для изготовления медицинских имплантатов важно знать физические, химические и механические свойства естественной кости, потому что они дают необходимые количественные ориентиры.

1.1.1 Химический состав костной ткани

Кость – это живая ткань, состоящая преимущественно из минерального (неорганического) материала и белка (органического материала). Биологический компонент включает клетки, жиры, природные полимеры, такие как полисахариды, коллаген и полифосфаты [2]. Основными составляющими кости являются: минералы фосфата кальция (~70 мас.%), коллаген (~22 мас.%), вода (~ 8 мас.%) [3, 4].

Твердость и жесткость кости обеспечивают фосфаты кальция в виде кристаллического гидроксиапатита и аморфного фосфата кальция с небольшим количеством включенных ионов, таких как CO_3^{2-} , Mg^{2+} , Fe^{2+} , Na^+ , K^+ и F^- , Cl^- . Иногда могут быть найдены некоторые специфические тяжелые металлы, например, Ba^{2+} , S^{2+} , Pb^{2+} . Среди этих второстепенных ионов наиболее важны карбонаты (7,4 мас.%), натрий (0,9 мас.%) и магний (0,72 мас.%). Соотношение в кости кристаллической структуры и аморфной зависит от многих факторов, таких как возраст человека, здоровье и др. Кристаллы гидроксиапатита представляют собой иглы длиной до 60 нм, шириной около 20 нм и толщиной до 5 нм. В костной ткани гидроксиапатит имеет примеси ионов F^- , Mg^{2+} , Na^+ и др. Апатит костной ткани – всегда кальций-дефицитный и содержит карбонат-группы. Минеральные компоненты, присутствующие в кости и гидроксиапатите, приведены в Таблице 1.1 [5].

Таблица 1.1 – химический состав человеческой кости и гидроксиапатита

Состав	Неорганическая компонента кости, масс %	Гидроксиапатит
Кальций	34,8	39,6
Фосфор	15,2	18,5
Са/Р мол.	1,71	1,67
Натрий	0,9	-
Магний	0,72	-
Калий	0,03	-

CO_3^{2-}	7,4	-
Фтор	0,03	-
Хлор	0,13	-
$\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$	0,07	-

Коллагены в составе костной ткани представляют собой волокнистые белки, состоящие из макромолекул тропоколлагена [6]. Коллаген обеспечивает прочность и эластичность костной ткани. В костной ткани коллаген расположен в виде микроволокон, которые образуются путём агрегации микрофибрилл. Первичная структура коллагена представляет собой повторяющуюся последовательность триад аминокислот, одна из которых всегда глицин, вторую позицию занимает лизин или пролин, а третью – любая другая аминокислота [7]. Микроскопические коллагеновые волокна имеют толщину 80-100 нм и 100-2000 нм в диаметре [8]. Другие органические материалы, типа белков, полисахаридов, липидов и т.д., представлены в малых количествах.

Механические качества костей обеспечиваются физико-химическим единством органических и неорганических веществ, а также архитектурой костной ткани. Преобладание в кости органических веществ обеспечивает ей большую упругость, эластичность. При изменении соотношения в сторону преобладания неорганических веществ кость становится ломкой, хрупкой.

1.1.2 Клетки костной ткани

Костные клетки играют важную роль в поддержании и ремоделировании структуры кости. В матрице кости имеется пять типов костных клеток (Рисунок 1.1). Костные клетки включают остеобласты, остеокласты, остециты, клетки-предшественники остеобластов (стволовые стромальные клетки красного костного мозга, периваскулоциты кровеносных сосудов микроциркуляторного русла, клетки надкостницы и др.) и выстилающие клетки кости (КВК неактивные остеобласты) [1, 9]. Остеобласты, остеокласты и КВК представлены на поверхности кости, однако остециты инкапсулированы в неорганический матрикс.

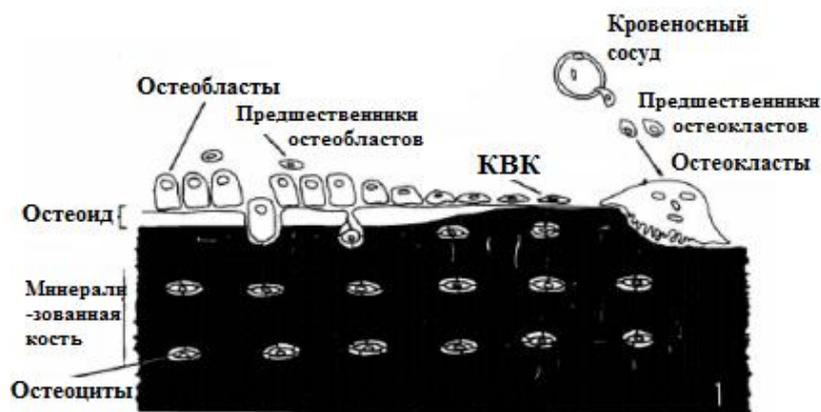


Рисунок 1.1 – Схема локализации клеток костной ткани в кости [10]

Костные клетки – остеоциты, находятся в лакунах, распределенных по всему основному веществу. Лакуны соединяются между собой тонкими канальцами, содержащими отростки остеоцитов. Через эти канальцы проходят кровеносные сосуды. От каждой лакуны отходит наподобие лучей много тонких канальцев, содержащих цитоплазму (отростки остеоцитов), которые могут соединяться с центральным гаверсовым каналом, с другими лакунами или тянуться от одной костной пластинки к другой.

Остеобласты. Остеобласты образуются из мезенхимальных стволовых клеток, изначально плюрипотентных, которые могут также дифференцироваться в клетки мышечной, хрящевой и фиброзной ткани, а также в адипоциты. Вероятно, имеются клетки предшественники, которые могут далее дифференцироваться только в остеобласты. Эти клетки предшественники остеобластов присутствуют в надкостнице и строме костного мозга.

Остеобласты функционально и морфологически гетерогенны. Они имеют рецепторы для факторов (паратиреоидный гормон (ПТГ), кальцитриол, глюкокортикоиды, половые гормоны, соматотропин и тиреотропин, интерлейкин-1, фактор некроза опухоли альфа, простагландины, инсулиноподобные факторы роста, трансформирующий фактор роста бета, факторы роста фибробластов), которые влияют на ремоделирование кости, и сами продуцируют много регуляторов роста кости.

Как только продукция остеобластами коллагеновых и неколлагеновых белков завершается, некоторые остеобласты внедряются в толщу матрикса и становятся остеоцитами. Остеобласты и остеоциты соединяются друг с другом многими клеточными отростками, которые лежат в канальцах в пределах кости. Этот синцитий взаимосвязанных клеток вероятно важен для ощущения механических сил. Большинство остеобластов либо остается на поверхности кости и рассредоточивается в виде расплюснутых клеток, либо подвергается запрограммированной клеточной смерти

(апоптозу). Остеобласты сохраняют соединения с остеоцитами, которые могут быть необходимы для передачи сигналов активации во время ремоделирования.

Остеоциты представляют собой зрелые остеобласты в костной матрице и считаются ответственными в том числе за поддержание остеобластов [4]. Каждый остеоцит образуется из остеобласта путем комплексного изменения формы и активности. Функция остеоцитов спорна, но, скорее всего, они действуют как механический и метаболический насос для костного лимфатического потока, регулятор минерализации, что позволяет костям реагировать на применение приложенных нагрузок [2].

Остеокласты – это крупные многоядерные клетки, которые резорбируют кость, растворяя соли и разрушая матрикс. Активные остеокласты обычно имеют от 2 до 5 ядер, но могут иметь и больше. Они богаты цитоплазмой, имеют множество аппаратов Гольджи и много митохондрий и лизосом. Активно резорбирующие остеокласты крепко прикреплены к кости зоной мембраны, которая относительно лишена субклеточных частиц. Эта область называется "чистой" зоной, хотя лучший термин – зона "изоляции"; так как она как бы герметизирует область действия ферментов. Вторая (внутренняя) зона – наиболее обширная, богатая цитоплазматическими выростами (гофрированная каемка), является областью абсорбции и секреции гидролитических ферментов, где имеет место резорбция кости. В том месте, где остеокласт соприкасается с костным веществом, образуется лакуна. Часто наблюдаются группы остеокластов, которые либо располагаются на поверхности лакун Хоушипа, либо образуют туннели в кортикальной кости, формируя гаверсовы каналы. Продолжительность жизни остеокластов может составлять от 3 до 4 недель, затем они теряют ядро апоптозом и становятся неактивными. Остеокласты связаны с моноцитарно-макрофагальными клетками и образуются из гранулоцитов – макрофагальных колониобразующих единиц. Макрофагальный колониестимулирующий фактор необходим для начала дифференциации остеокластов. Клетки предшественники остеокластов присутствуют в костном мозге, селезенке, и в небольшом количестве в циркуляции. Во время развития предшественники остеокластов вероятно мигрируют в кость из экстрамедуллярных участков гемопоэза [11].

Клетки-предшественники остеобластов дифференцируются из клеток, присутствующих в костном мозге или индуцирующем агенте, способном образовывать кость. Они расположены в надкостнице и костном мозге [12]. Из клеток остеопрогенитор дифференцируются остеобласты и остеоциты [2].

Выстилающие клетки костной ткани представляют собой плоские мезенхимальные клетки, которые инактивируют линию поверхности кости. Они содержат наибольшую

долю мембран во взрослом скелете, отделяют костные жидкости от промежуточных жидкостей и регулируют минеральный гомеостаз. КВК также рассматриваются как поддерживающие клетки для остеоцитов [9].

1.1.3 Естественная регенерация костной ткани

В костной ткани в течение всей жизни человека происходит непрерывное ремоделирование костной ткани, представляющее собой взаимосвязанные процессы разрушения и созидания.

Цикл ремоделирования кости начинается с активации, опосредованной клетками остеобластного происхождения. Активация может включать остеоциты, "обкладочные клетки" (отдыхающие остеобласты на поверхности кости), и преостеобласты в костном мозге. Точно ответственные клетки остеобластного происхождения не были полностью определены. Эти клетки подвергаются изменениям формы и секретируют коллагеназу и другие ферменты, которые лизируют белки на поверхности кости; они также выделяют фактор, который назван остеокласт дифференцирующим фактором (ОДФ).

Последующий цикл ремоделирования состоит из трех фаз: резорбция, реверсия и формирование (Рисунок 1.2) [11].

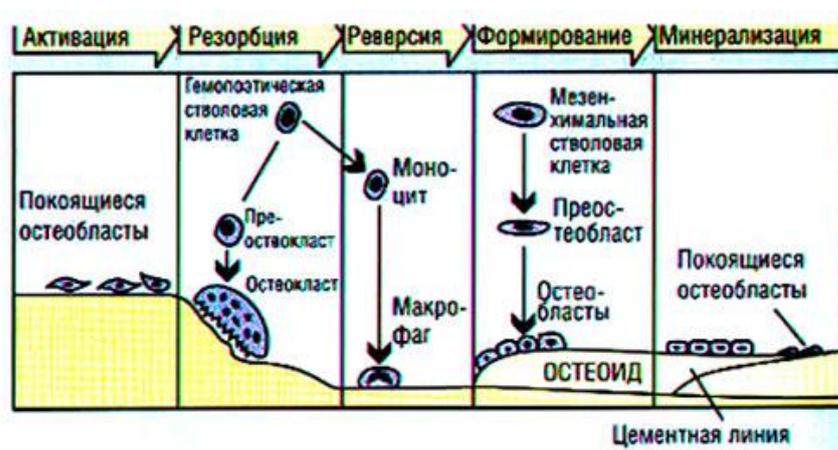


Рисунок 1.2 – Цикл ремоделирования кости [13]

Резорбция кости

Резорбция костной ткани связана с активностью остеокластов, которые являются фагоцитами для кости. Энзимы из остеокластов растворяют органический матрикс, а кислоты растворяют костные соли. Остеокласты регулируются ПТГ; увеличение ПТГ вызывает увеличение количества и активности остеокластов, и таким образом, увеличение костной резорбции; снижение ПТГ производит обратный эффект. Постоянный обмен костных солей обеспечивает ремоделирование кости для поддержания прочности ее на

протяжении жизни. Остеокластическая резорбция может начинаться с миграции частично дифференцированных моноклеарных преостеобластов к поверхности кости, которые затем сливаются с образованием крупных многоядерных остеокластов, которые требуются для резорбции кости. Остеокласты удаляют минералы и матрикс до ограниченной глубины на трабекулярной поверхности или в пределах кортикальной кости; в результате пластинки остеона разрушаются и на его месте образуется полость. Пока неясно, что останавливает этот процесс, но вероятно могут вовлекаться высокие местные концентрации кальция или веществ, высвобождаемых из матрикса.

Реверсия кости

После завершения остеокластической резорбции имеется фаза реверсии, во время которой моноклеарные клетки (МК), возможно моноцитарно/макрофагального происхождения, появляются на поверхности кости. Эти клетки готовят поверхность для новых остеобластов, чтобы начать образование кости (остеогенез). Слой богатого гликопротеидами вещества откладывается на резорбированной поверхности, так называемая "цементирующая линия", к которой могут приклеиваться новые остеобласты. Остеопонтин может быть ключевым белком в этом процессе. Клетки на месте реверсирования могут также обеспечивать сигналы для дифференциации и миграции остеобластов.

Образование кости

Фаза формирования продолжается до полного замещения резорбированной кости и пока полностью не сформируется новая костная структурная единица. Когда эта фаза завершена, поверхность покрывается сглаженными выравнивающими клетками, и имеется длительный период отдыха с небольшой клеточной деятельностью на поверхности кости, пока новый цикл ремоделирования не начинается. Основные этапы образования кости представлены на Рисунке 1.3.



Рисунок 1.3 – Шаги кальцификации кости

Стадии цикла моделирования имеют различную продолжительность. Резорбция вероятно продолжается приблизительно две недели. Фаза реверсии может длиться до четырех или пяти недель, в то время как фаза формирования может продолжаться в течение четырех месяцев до тех пор, пока новая структурная единица полностью не сформируется.

1.2 Особенности имплантации костной ткани

1.2.1 Классификация материалов для костной имплантации

В современной медицине в качестве материалов для медицинских имплантатов используют биосовместимые полимеры, металлы и сплавы, керамику и композиционные материалы (Рисунок 1.4, Таблица 1.2).



Рисунок 1.4 – Материалы для восстановления костной ткани

Полимеры

Полимеры являются удобными материалами для биомедицинского применения и используются в сердечно-сосудистых устройствах для замены и пролиферации различных мягких тканей. Существует большое количество полимерных материалов, которые могут быть использованы в качестве имплантатов. Нынешнее их применение включает в себя сердечные клапаны, искусственные сердца, сосудистые трансплантаты, грудные протезы, стоматологические материалы [14], контактные и интраокулярные линзы [15], покрытия для медицинских изделий, хирургические материалы тканевые клеи [16] и т.д. Состав, структура и строение макромолекул определяют свойства полимеров [17]. Кроме того, универсальность в применении позволяет изготавливать полимеры с различной структурой и составом в соответствии с физико-химическими, межфазными и биомиметическими свойствами для удовлетворения конкретной цели. Преимущества полимерных биоматериалов перед другими классами материалов: легкость изготовления, простота вторичной переработки, заданные механические и физические свойства, приемлимая стоимость [18].

Металлы

Металлические имплантаты имеют огромное клиническое значение в медицинской области уже долгое время. Металлы и сплавы, которые используются в качестве медицинских материалов, включают нержавеющую сталь, титан и его сплавы, кобальтохромовые сплавы, алюминиевые сплавы, ниобий-циркониевые и вольфрамовые тяжелые сплавы. Быстрый рост и развитие в области биоматериалов создал возможность для разработки многих медицинских изделий из металла, таких как зубные имплантаты, черепно-лицевые пластины и винты, части искусственного сердца, кардиостимуляторы, клапаны, устройства для фиксации костей, стоматологические материалы [17].

Хотя есть и другие классы материалов, из которых могут быть получены биоматериалы, инженеры предпочитают металлы в качестве основы для разработки необходимых материалов. Основными критериями при отборе металлических материалов для биомедицинского применения являются их отличная биосовместимость, подходящие механические свойства, хорошая коррозионная стойкость и низкая стоимость [19].

По сравнению с полимерами, металлы имеют более высокие конечную прочность на разрыв и модуль упругости, но более низкую деформацию на разрыв. По сравнению с керамикой, металлы имеют более низкие прочность и упругость при более высоких деформациях на разрыв [20].

В биологической среде, когда металл на основе биоматериала имплантируется, поверхность материала может деградировать с выделением некоторых побочных продуктов. Вследствие этого процесса происходят взаимодействия между металлической поверхностью имплантата и клетками и тканями. Этот фактор стимулирует современных исследователей к изучению свойств поверхности металлических изделий с целью разработки биосовместимых материалов [17].

Композиционные материалы

Композиты конструкционных медицинских материалов содержат два или более физических и/или химических равномерно распределенных составляющих, которые имеют отличные физические свойства, от тех, которые они проявляют по отдельности. Композиционные материалы имеют одну непрерывную объемную фазу под названием «матрица» и одну или более дисперсные фазы – армирующий наполнитель, который, как правило, имеет отличные от матрицы механические/биологические свойства. Композиты обладают уникальными свойствами и, как правило, прочнее, чем любой из отдельных материалов, из которых они изготовлены, следовательно, применяются к некоторым сложным проблемам, где необходимо врастание ткани. В последние годы научные исследования сфокусированы на разработке различных биомедицинских композиционных материалов, потому что могут быть отличной альтернативой заменяемым тканям [21].

Композиты с пористой структурой, полученные из комбинаций частиц биостекла и биоразлагаемых полимеров, с механическими свойствами, близкими к губчатой кости могут быть использованы как материал для имплантатов [22].

Основным преимуществом композиционных биоматериалов является то, что, хотя по отдельности металлы или керамические материалы имеют недостатки, такие как низкая биосовместимость и коррозия для металлов, хрупкость и низкая прочность на разрыв для керамических материалов, композитные материалы обеспечивают альтернативный

маршрут для улучшения многих нежелательных свойств гомогенных материалов (металлов или керамики).

Керамика

Керамика – другой класс материалов, применяемый для проектирования биоматериалов. Использование керамики мотивируется её инертностью в организме, возможностью её формования с различной пористостью, высокой прочностью на сжатие, и отличными характеристиками износа. Керамика используется в качестве частей опорно-двигательного аппарата, протезов бедра, колени, искусственных костных имплантатов, стоматологических и ортопедических имплантатов, сердечные клапанов, и покрытий для повышения биосовместимости металлических имплантатов. Хотя керамика используется для проектирования биоматериалов, она гораздо менее предпочтительна, чем металлы или полимеры из-за её хрупкости и низкой прочности на растяжение. Тем не менее, биокерамика фосфатов, широко применяется как биоматериалы с высокой биосовместимостью и интеграцией костной ткани, так она наиболее близка по составу к минеральной части костей [23, 24].

Таблица 1.2 – Классы материалов, которые используются для разработки биоматериалов, их преимущества и недостатки [25]

Класс материалов	Преимущества	Недостатки
Полимеры (нейлон, силиконы, тефлон)	Эластичность Легкость изготовления	Низкая прочность Деформация со временем
Металлы (титан, кобальтохромовые сплавы, нержавеющие стали, золото)	Жёсткость Прочность Пластичность	Высокая плотность Низкая коррозионная устойчивость
Композиты различного состава	Возможность задать свойства (индивидуальные, спец. предназначенные) Прочность	Сложность изготовления
Керамика (оксид алюминия, углерод, гидроксиапатит)	Биосовместимость Инертность Высокая прочность на сжатие	Хрупкость Высокий модуль упругости Сложность изготовления Низкая усталостная стойкость

1.2.2 Биоактивная керамика на основе гидроксиапатита, ее применение

Гидроксиапатит $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ – минерал из группы апатита (Рисунок 1.5). Белый кристаллический порошок, имеет низкую растворимость в воде. Разрушается при нагреве свыше $1100\text{ }^\circ\text{C}$.



Рисунок 1.5 – Структура гидроксиапатита (а), свойства ГА (б)

Гидроксиапатит является основной минеральной составляющей костей (около 50 % от общего веса кости) и зубов (96 % в эмали). Бывает синтетического и природного происхождения. В медицине синтетический гидроксиапатит используется как наполнитель, замещающий части утерянной кости (в травматологии и ортопедии, хирургии кисти), и как покрытие имплантатов, способствующее нарастанию новой кости. В стоматологии гидроксиапатит применяется в зубных пастах, как элемент реминерализующий и укрепляющий зубную эмаль (Рисунок 1.6) [26].

Из всех материалов, которые можно использовать для имплантации, наиболее перспективна керамика на основе гидроксиапатита (Рисунок 1.5), по химическому и фазовому составу аналогичная минеральной компоненте костной ткани [27].



Рисунок 1.6 – Применение ГА в медицине

Керамика на основе фосфата кальция может быть изготовлена с применением различных технологий, выбор которых зависит от требований к микроструктуре и свойствам материала.

При этом использование гидроксиапатитной керамики для замещения дефектов кости связано с определенными сложностями, поскольку керамическим имплантатам трудно придать требуемую форму для точного заполнения дефекта, обеспечив при этом плотное прилегание имплантата к костной ткани, необходимое для образования соединения между ними *in vivo*.

Однако, несмотря на то, что керамика из гидроксиапатита биосовместима, основным её недостатком является хрупкость.

1.2.3 Биоразлагаемые полимеры, их применение

До недавнего времени основное внимание исследователей было сосредоточено на синтезе инертных по отношению к окружающей среде полимеров, не теряющих со временем своих эксплуатационных свойств, т.е. обладающих высокой биоустойчивостью – способностью материала противостоять комплексному воздействию окружающей среды и тканей, сохраняя при этом свои исходные физико-химические, механические и биологические, а также функциональные свойства.

Противоположным биоустойчивости свойством является биодegradация. Биодegradация – процесс дegradации нежизнеспособных материалов при контакте с живыми тканями, клетками и биологическими жидкостями. Полимер считается биоразлагаемым, если вся его масса разлагается в почве или воде за период в шесть месяцев.

С ростом количества полимерных отходов в мире более актуальной стала проблема производства биоразлагаемых полимеров, способных в достаточно короткий срок дegradировать до углекислого газа и воды. Такие полимеры применяются для производства пищевой и строительной упаковки, одноразовой посуды, пакетов и мешков.

Другое перспективное направление для применения биоразлагаемых материалов, которое активно развивается в последнее время – это изделия и системы медицинского назначения. Большинство медицинских изделий должны функционировать в организме только ограниченное время.

Большинство биоразлагаемых пластмасс относятся к классу полиэфигов, хотя некоторые производятся из других материалов (Таблица 1.3), таких как, например, модифицированный крахмал [28, 29].

Таблица 1.3 – Классификация биоразлагаемых полимеров по виду сырья для их получения

Сырье	Биоразлагаемые полимеры
Возобновляемое, животного происхождения Белки, жиры, грибы, полисахариды, получаемые с помощью бактерий	Кератин, фиброин, коллаген, эластин, воски, ацетотологлицериды, пуллулан, эльсинан, алифатические полиэфиры природного происхождения (РНА, РНВ, РНV) и синтетические (PLA)
Возобновляемое, растительного происхождения	Крахмал, целлюлоза, агар, пектин
Невозобновляемое, нефтехимического происхождения	Полиуретаны, полиэстрамиды, полиэфирамиды, ААС, ароматические полиэфиры (PCL, PBC, mPET, PEC)
Смешанное	Полиэффиры

Полилактид и полигликолид – биоразлагаемые, биосовместимые, термопластичные, алифатические полиэфиры, мономерами которых являются молочная и гликолевая кислоты. Свойства зависят от стереохимического состава. Область применения включает в себя упаковочные материалы (в том числе сельскохозяйственного и строительного назначения), элементы внутренней отделки автомобилей, материалы и биокomпозиты медицинского назначения [30]. Полилактид является одним из лучших

материалов в области 3D печати, производства экологически чистой биоразлагаемой упаковки, одноразовой посуды, средств личной гигиены. Биоразлагаемые пакеты из ПЛ используются крупных торговых сетях. Ввиду своей биосовместимости, полилактид широко применяется в медицине, для производства хирургических нитей и штифтов, а также в системах доставки лекарств [31, 32].

Сополимер лактида и гликолида

Полимеры на основе лактида и гликолида нашли мировое применение в медицине благодаря своей биосовместимости и способности разлагаться в живом организме без образования токсичных соединений.

Биоразложение происходит преимущественно посредством гидролиза эфирных связей. Сначала снижается молекулярная масса (ММ) полимера, затем начинается унос продуктов деградации. В организме такие полимеры деградируют до молочной и гликолевой кислот, которые являются нормальными метаболитами и не оказывают токсического воздействия на организм. Скорость гидролиза зависит от размера и гидрофильности полимерного материала, степени кристалличности, pH и температуры среды и других факторов. Быстрее разлагаются полимеры с более низкой ММ, большей гидрофильностью и меньшей кристалличностью.

Скорость биоразложения полилактида недостаточно велика. Возможность контролировать скорость биодеструкции дает введение сомономера и синтез сополимеров различного состава на основе лактида и гликолида.

В таких сополимерах сочетаются свойства обоих полимеров. варьирование структуры макромолекулы и молекулярной массы позволяет получать целый диапазон свойств [33].

1.2.4 Разработка пористых материалов для замены костной ткани

При изготовлении материалов для замены костной ткани применяется большое разнообразие методов и иногда их сочетание. Создавать сложные архитектуры с контролируемыми свойствами сложно с использованием классических методов получения пористой керамики. Появление проектируемой 3D-печати значительно повысило точность и воспроизводимость изготовления материалов, благодаря возможности контролировать микро- и макропористость и их структурные характеристики. К традиционным способам изготовления пористых материалов относят добавление порообразователя с последующим вымыванием, вспенивание, эмульгирование с последующей сублимационной сушкой, разделение фаз и электроспиннинг. Традиционные методы изготовления пористых

материалов в целом обеспечивают ограниченный контроль размера пор, геометрии и взаимозависимости, однако отличаются простотой и дешевизной (Таблица 1.4) [34].

Таблица 1.4 – Сравнение методов получения пористых материалов

Способ изготовления	Принцип действия	Преимущества
Отливка раствора с последующим удалением растворителя / частичное выщелачивание / вымывание растворимого порообразователя	В этой методике используются порообразователи – вещества, которые могут быть диспергированы в несформованный материал и впоследствии растворены после формирования структуры, что приводит к образованию пор [35].	<ul style="list-style-type: none"> • Относительно простые методы, позволяющие создавать материалы с регулярной пористостью, контролируемым составом и размером пор.
Вспенивание	Метод создает пористую структуру за счет зарождения и роста пузырьков газа, диспергированных по всему полимеру [36].	<ul style="list-style-type: none"> • Устраняет использование химических растворителей
Эмульгирование с последующей сублимационной сушкой	Метод заключается в замораживании полимерного раствора, что приводит к образованию кристаллов растворителя, окруженных полимерными агрегатами. Затем с понижением давления до уровня ниже равновесного давления пара замороженного растворителя, растворитель подвергается сублимации газ из твердой фазы. Когда растворитель полностью сублимируется, остается сухой полимерный каркас со взаимосвязанной пористой структурой [37].	<ul style="list-style-type: none"> • Не требует использования твердого порообразователя
Разделение фаз	При растворении некоторых полимеров, таких как поли-L-лактид, в растворителе, он может стать термодинамически неустойчивым при низкой температуре и спонтанно разделиться на обогащенную	<ul style="list-style-type: none"> • Отсутствует стадия вымывания порообразователя • Хорошо сочетается с другими методами

	полимером и обогащенную растворителем фазу. Растворитель, который находится в обогащенной растворителем фазе, затем удаляется путем экстракции, выпаривания или сублимации. Это создает пористый каркас, так как удаление растворителя оставляет поры в полимерной матрице [38].	
Электроспиннинг	Метод использует внешнее приложенное электрическое поле для вытягивания заряженных нитей полимерных растворов или полимерных расплавов в виде тонких струй из капиллярной трубки в коллекторную пластину [39].	<ul style="list-style-type: none"> • Получаемые материалы имеют большую площадь поверхности, подходящую для прикрепления клеток • Простая и недорогая техника
3D-печать	<p>Методы послойного создания физического объекта по цифровой 3D-модели [40, 41]:</p> <ul style="list-style-type: none"> – стереолитография; – выборочное лазерное спекание/сплавление; – моделирование методом наплавления; – микроэкструзия; – и др. 	<ul style="list-style-type: none"> • Получают сложные трехмерные структуры с высоким разрешением, контролируемым размером пор и морфологией во всем объеме материала, что благоприятно сказывается на интеграции с сосудистой системой организма. • В зависимости от используемой техники, клетки могут быть включены в материал непосредственно при изготовлении.

К потенциальным ограничивающим факторам при выборе того или иного метода изготовления материала для замены костной ткани могут относиться [38]:

1. Факторы, связанные с ограничением использования органических растворителей:

- Использование органических растворителей препятствует включению клеток и биомолекул непосредственно в материал;
- Используемые органические растворители могут быть токсичными для клеток.

2. Факторы, связанные с контролем свойств получаемых структур:

- Неконтролируемая пористость (нерегулярная пористость, малый размер пор, закрытая пористость);
- Ограниченные механические свойства;
- Трудно включить точную микроархитектуру в конструкции.

3. Экономически обусловленные факторы:

- Длительное время обработки;
- Высокие затраты на оборудование.

4. Нежелательное изменение свойств материала при изготовлении:

- Негативное влияние высокого давления на включение клеток непосредственно в материал;
- Температурно-лабильные материалы могут быть денатурированы во время этапа прессования.

1.3 Характеристики материалов для костной имплантации

Идеальный материал для замены костной ткани обладает биосовместимостью, биоразлагаемостью, аналогичными натуральной кости, в которую он должен быть имплантирован, механическими свойствами и развитой структурой, облегчающей клеткам жизнедеятельность и циркуляцию в ней, что позволит с течением времени заменить имплантат новой костной тканью.

1.3.1 Биологические характеристики

Под биоматериалами подразумевают нежизнеспособный материал, предназначенный для контакта с живой тканью для выполнения функций медицинского назначения. Требования, предъявляемые к биоматериалам, различаются, в зависимости от области их применения. Однако общие требования включают в себя биологическую совместимость, стабильность функциональных свойств и возможность стерилизационной обработки [42].

Биосовместимость – это обеспечение желаемой реакции живых тканей на нежизнеспособные биоматериалы. Биосовместимым является материал, который обладает способностью вырабатывать соответствующий отклик хозяина при специфическом его использовании. Биосовместимость – это не полное отсутствие токсичности или иных отрицательных свойств, а требование того, чтобы материал при имплантации вел себя адекватным образом, позволяющим выполнить поставленную задачу.

Основные свойства биосовместимых материалов:

- а) биоматериалы не должны вызывать местной воспалительной реакции;
- б) биоматериалы не должны оказывать токсического и аллергического действия на организм;
- в) биоматериалы не должны обладать канцерогенным действием;
- г) биоматериалы не должны провоцировать развитие инфекции;
- д) биоматериалы должны сохранять функциональные свойства в течение предусмотренного срока эксплуатации;
- е) биосовместимые материалы и устройства действуют или функционируют гармонично и согласованно при нахождении в организме или контакте с биологическими жидкостями, не вызывая заболевания или болезненных реакций.

С точки зрения взаимодействия с костной тканью, биоматериалы разделены на: биотолерантные, биоинертные и биоактивные (Рисунок 1.7) [43].

Биотолерантные материалы характеризуются включением в кость через механизм дистантного остеогенеза (процесс регенерации костной ткани вокруг имплантата). От костной ткани такие материалы отделены прорастающим фиброзным слоем. К биотолерантным материалам относят метакрилаты, витамины, сплавы хрома, кобальта, молибдена.

Биоинертные материалы почти не взаимодействуют с окружающими тканями, не вызывают образования выраженного фиброзного слоя и стимуляцию остеогенеза. При этом кость может формироваться в непосредственной близости от поверхности имплантата. Биоинертные материалы представлены преимущественно диэлектриками, что препятствует проявлению электрохимических и гальванических явлений вокруг имплантата, и включают в себя металлокерамику из оксида титана, ванадия, циркония, алюминиевую керамику, титан, углерод. Никакой материал, имплантируемый в организм, не может считаться полностью инертным.

Биоактивные материалы подразумевают взаимодействие с биологическими системами. В случае костных имплантатов это соединение материала с окружающей его костью за счет присутствия свободного кальция и фосфата на поверхности материала. Такие биоактивные материалы за счет остеоинтеграции способны выступать каркасом для роста костной ткани или стимулировать рост кости – то есть способствовать остеоиндукции и остеокондукции. К биоактивным материалам относят кальций-фосфатную керамику, стекло, стеклянные керамики [28].



Рисунок 1.7 – Применение в медицине биосовместимых материалов и изделий

1.3.2 Поверхностные свойства

Инородные материалы при контакте с кровью способны вызывать коагуляцию крови или тромбообразование. Сопrotивляемость биоматериала образованию тромбов называется тромборезистентностью. А сам аспект взаимодействия материала с кровью называется гемосовместимостью и является одним из важных аспектов биологической совместимости [44].

Существует несколько подходов к рассмотрению вопроса гемосовместимости.

Согласно одному из них, гемосовместимость следует рассматривать во взаимосвязи с явлениями, происходящими на поверхности раздела фаз. Характеристиками материала в таком случае является целый ряд физико-химических свойств, среди которых можно назвать поверхностное натяжение, свободную поверхностную энергию, шероховатость поверхности, гидрофильность.

Согласно второму подходу, важной характеристикой поверхности является ее заряд. Модель основана на том, что на любой абиотической поверхности происходит адсорбция протеинов крови. Природа адсорбированного слоя протеинов зависит от величины и разности потенциалов, которая появляется на поверхности. Чем больше

положительный потенциал поверхности по отношению к крови, тем вероятнее тромбообразование.

Существует множество способов повышения биосовместимости материала модификацией поверхности [25, 44]:

- а) получение биоидентичных поверхностей путем обработки эндотелиальными клетками или белками;
- б) модификация поверхности гепарином, коллагеном, хитозаном и т.д.;
- в) ингибирование клеточной активации поверхностных микродоменов;
- г) покрытие поверхности биосовместимыми полимерами;
- д) модификация поверхности с гидрофильным слоем.

1.3.3 Морфология поверхности

Материалы для замены костной ткани

Согласно классификации IUPAC, к макропорам относятся поры со средним диаметром > 50 нм, к микропорам – поры с диаметром < 2 нм, к мезопорам – поры промежуточного размера 2-50 нм.

Размер остеобластов – костеобразующих клеток – составляет 15-20 мкм, однако из литературы известно, что для свободной циркуляции клеток костной ткани в кости и их жизнедеятельности диаметр макропор должен достигать 200 мкм [45]. Поэтому особый интерес представляют пористые материалы, по своей структуре максимально приближенные к костной ткани. Открытая пористая структура может обеспечить миграцию клеток и прорастание сосудов в процессе интеграции материала с костной тканью [27]. В зависимости от применения имплантата, может требоваться совершенно различная степень пористости материала (Рисунок 1.8).

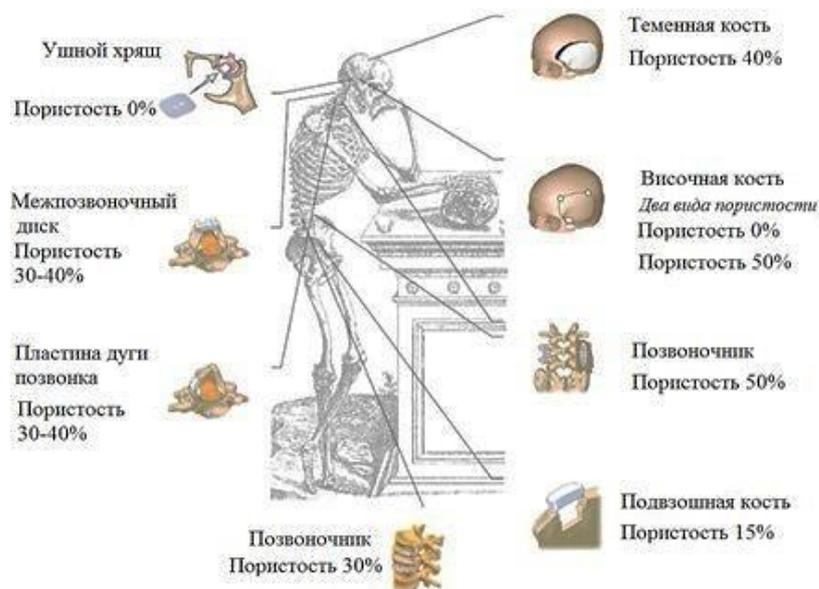


Рисунок 1.8 – Пористость различных костей организма человека [46]

Пористость структуры гидроксиапатитной керамики может достигаться различными способами:

- а) на стадии синтеза гидроксиапатита: по твердофазной реакции между бруситом и карбонатом кальция за счет выделения CO_2 и воды в процессе синтеза;
- б) на стадии формования: добавление выгорающих органических/полимерных добавок или неорганических добавок с низкими температурами плавления с последующим обжигом.

1.3.4 Механические характеристики

Кость является твердым телом, для которого основными свойствами являются прочность и упругость. Прочность кости – это способность противостоять внешней разрушающей силе. Количественно прочность определяется пределом прочности и зависит от макро- и микроскопической конструкции и состава костной ткани. Что касается макроскопической конструкции, то каждая кость имеет специфическую форму, позволяющую выдерживать наибольшую нагрузку в определенной части скелета. Упругость кости – это свойство приобретать исходную форму после прекращения воздействия факторов внешней среды. Таким образом, механические свойства кости – прочность и упругость – обусловлены оптимальной комбинацией содержащихся в ней органических и неорганических веществ [11].

Ряд характеристик для материалов, используемых для замены костной ткани, был обобщен в работе Rahaman et al. [47] и изложен ниже:

- Высокая прочность, модуль упругости, вязкость разрушения и устойчивость к усталости для поддержания механической надежности при сопротивлении деформации под нагрузкой;
- Высокая коррозионная стойкость для биоинертности и биосовместимости *in vivo*;
- Высокая твердость, обеспечивающая долговременную износостойкость.

Хотя некоторые керамические материалы обладают превосходными свойствами с точки зрения их биосовместимости, они часто не соответствуют механическим требованиям, которые делают их пригодными для развития костной ткани [48]. Керамика является хрупкой, что объясняется высокопрочными ионными связями. Керамическим материалам не свойственна пластическая деформация, как, например, металлам, поэтому, при возникновении трещины, она будет разрастаться до разрушения материала [46]. В различных работах для достижения необходимых механических характеристик керамические материалы армируют введением полимерных волокон, включением частиц [46], нановолокон [49], углеродных нанотрубок [50, 51]. В то же время степень биоактивности напрямую зависит от объемной доли, размера, формы и локализации наполнителя.

2. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

2.1 Приборы, реактивы и оборудование

Для получения ГА использовали растворы кальция азотнокислого четырехводного, аммония фосфорнокислого двузамещенного, этилового спирта, а также водного раствора аммиака и дистиллированную воду.

Для определения растворимости гидроксиапатита и содержания солей кальция и магния в растворе SBF (Simulated Body Fluid) во время SBF-исследования использовали раствор трилона Б. Ионная сила ($I = 0,1$) поддерживалась хлоридом натрия [52], реактивы, использованные для приготовления раствора SBF вынесены в Таблицу 2.5 в главе 2.2.2. Для исследования диффузионных характеристик образцов использовали родамин В. Для определения поверхностной энергии применяли этиленгликоль и дистиллированную воду. Для проведения теста на цитотоксичность применяли индикатор Alamar Blue. Растворы индикаторов, примененные для исследования кислотно-основных центров поверхности образцов по методу Гаммета вынесены в Таблицу 2.6 в разделе 2.2.2. Реактивы и их марки по степени чистоты приведены в Таблице 2.1.

Таблица 2.1 – Перечень используемых реактивов и их марки по чистоте

Реактив	Марка чистоты	Стандарты
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	ХЧ	ГОСТ 4142-77
$(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$	ХЧ	ГОСТ 3772-7
NH_4OH (конц. раствор)	ЧДА	ГОСТ 3760-79
$\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$	ХЧ	ГОСТ 18300-87
Трилон Б	ЧДА	ГОСТ 1678-64
NaCl	ЧДА	ГОСТ 2540-87
Родамин В	ХЧ	CAS Number 81-88-9

Для синтеза исходных компонентов (ГА, СЛГ) и получения композитов использовали следующее оборудование и приборы:

Весы электронные ВСТ – 150/5, мешалку магнитная ММ-5, СВЧ-печь Samsung MW712BR, сушильный шкаф СНОЛ-3,5, Вакуумный шкаф MEMMERT, встряхиватель WU-4, роторный испаритель Heidolph Advance, ультразвуковая ванна Yaxun YX 2100.

Для исследования свойств и характеристик исходных компонентов и композитов использовали следующее оборудование и приборы:

ИК-Фурье спектрометр Agilent Cary 630 FTIR, дифрактометр XRD-6000, жидкостной хроматограф Agilent 1200 с рефрактометрическим детектором, сканирующий электронный микроскоп Hitachi TM3000 с приставкой для рентгеновского микроанализа, Профилометр 296, спектрофотометр UVmini1240 SHIMADZU, инструмент для измерения контактного угла смачивания OEG Optic, Elektronik & Geratetechnik, анализатор удельной площади поверхности Micromeritics 3Flex, дегазатор VacPrep 061, диффузионная ячейка Франца Perme Gear.

2.3 Техника безопасности

При работе в лаборатории необходимо соблюдать следующие правила [53]:

1. Рационально строить свою работу.
2. Все работы вести точно и аккуратно.
3. Работать следует быстро, но без спешки, которая неизбежно приводит к порче поставленного опыта.
4. Соблюдать все меры предосторожности при работе с ядовитыми, взрывоопасными и огнеопасными веществами.

Титрование

Нужно помнить несколько правил, относящихся к титрованным растворам.

1. Титрованные растворы должны быть по возможности свежими. Длительное хранение их не должно допускаться. Для каждого раствора есть свой предельный срок хранения.
2. Титрованные растворы при стоянии изменяют свой титр, поэтому их следует периодически проверять.
3. Все колбы с титрованными растворами должны иметь чёткую надпись с указанием вещества, нормальности, поправки, времени изготовления раствора и даты проверки титра.

Работа с электрическими приборами

1. При эксплуатации приборов и аппаратов следует руководствоваться инструкциями и правилами, изложенными в их техническом паспорте и руководстве по эксплуатации.
2. В процессе эксплуатации аппаратуры должна быть исключена возможность её падения. Запрещается прикасаться к движущимся, вращающимся и нагретым частям используемого оборудования.

3. Все электрические приборы должны быть заземлены, если отсутствие заземления не предусмотрено их конструкцией. По возможности следует избегать использования удлинителей.

4. Электроплитки, муфельные печи и иные электронагревательные приборы должны быть размещены на термоизолирующем материале.

5. Недопустимо оставлять во включённом состоянии без присмотра электронагревательные приборы, за исключением тех, что по своему назначению и конструкции предназначены для круглосуточной работы.

2.4 Краткая характеристика объектов исследования

В качестве объектов исследования были выбраны гидроксиапатит, сополимер лактид-гликолид и композиты на их основе.

Гидроксиапатит $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ относится к классу апатитов, имеющих общий состав $\text{M}_{10}(\text{ZO}_4)_6\text{X}_2$. Белый кристаллический порошок, имеет низкую растворимость в воде. Разрушается при нагреве свыше 1100°C [54].

Сополимер лактид-гликолид (СЛГ) – твердое белое вещество, получаемое сополимеризацией гликолида и L-лактида, растворим в хлороформе и ряде других органических растворителей при комнатной температуре и нерастворим в воде. Соотношение лактид:гликолид ~80:20. Сополимер легко образует пленки из растворов, а также волокна из расплава или раствора. СЛГ не токсичен и не вызывает тканевой реакции отторжения, а продукты его биодеструкции не накапливаются в жизненно важных органах [55].

2.5 Синтез исходных компонентов и композитов на их основе

В подразделе описаны методики синтеза композиционных материалов и исходных компонентов.

Синтез гидроксиапатита осуществляли жидкофазным методом с использованием СВЧ-излучения при $\text{pH} \sim 11$ [56].

Сополимер лактид-гликолид получали методом ионной полимеризации с раскрытием цикла из L-лактида и гликолида [57].

Композиты получали по собственной методике.

2.2 Методы исследования свойств композитов и исходных компонентов

Физико-химические методы анализа основаны на проведении реакций, конец которых определяется с помощью приборов, поэтому эти методы называются также инструментальными. Известно несколько десятков физико-химических методов анализа.

Методы классифицируются по характеру взаимодействия вещества с полем, излучением или потоком частиц: дифракционные методы основаны на рассеянии излучения или потока частиц без изменения их энергии, т.е. на упругом рассеянии (рентгенография; электронография; нейтронография); спектроскопические методы – исследование зависимости интенсивности поглощения или испускания излучения от частоты или длины волны (спектроскопия поглощения видимого и УФ-диапазона; инфракрасная спектроскопия; спектроскопия электронного парамагнитного и ядерного магнитного резонанса); электронно-микроскопические методы основаны на взаимодействии вещества с электронным лучом (просвечивающая и сканирующая электронная микроскопия) [58].

Физико-химические методы анализа, опираются на общие законы физики и химии. Специфичность свойств веществ, характер реакций и особенности изучаемых систем находят отражение в величинах параметров уравнений. Это придает физико-химическим методам универсальность, позволяющую применять одни и те же приборы для исследования разнообразных соединений.

Биологические методы анализа – методы качественного обнаружения и количественного определения неорганических и органических соединений, основанные на применении живых организмов в качестве аналитических индикаторов. Живые организмы всегда обитают в среде строго определенного химического состава. Если нарушить этот состав, например, исключив из питательной среды определяемый компонент или введя его дополнительно, организм через некоторое время подаст соответствующий сигнал. В биологических методах анализа устанавливаются связи характера и (или) интенсивности ответного сигнала с количеством определяемого компонента. В качестве индикаторов применяются микроорганизмы, водоросли и высшие растения, водные беспозвоночные и позвоночные животные, насекомые, черви, а также ткани, различные органы и системы теплокровных. Питательная среда может быть естественной, искусственной или синтетической.

Ответный сигнал индикаторного организма на нарушение химического состава среды может быть самым разнообразным: изменение характера поведения, интенсивности роста, скорости метаморфоза, состава крови, биоэлектрической активности органов и

тканей, нарушение функций органов пищеварения, дыхания, размножения, патологоанатомического изменения организма, летальный исход. При применении микроорганизмов в качестве аналитических индикаторов исследуемый компонент можно определять по характеру и интенсивности пигментации и люминесценции, динамике накопления биомассы, диаметру зоны угнетения роста микробов, изменению электропроводности растворов, рН, по качественному составу и интенсивности газообмена и др. Все изменения оценивают визуально или измеряют с помощью приборов. Как правило, биологические методы анализа отличаются высокой чувствительностью и избирательностью определения биологически активных веществ [59].

2.2.1 Методы идентификации состава композиционных материалов

Инфракрасная спектроскопия

Инфракрасная спектроскопия (ИК) — раздел спектроскопии, изучающий взаимодействие инфракрасного излучения с веществами. Аналитически полезная область распространяется от 3600 см^{-1} примерно до 300 см^{-1} . ИК спектры отличаются большой индивидуальностью, что и определяет их ценность при идентификации и изучении строения соединений. Кроме того, поглощение характерно для отдельных групп атомов, его интенсивность прямо пропорционально их концентрации. Метод широко применяется в различных областях химии для установления структуры соединений. Для регистрации спектров используют классические спектрофотометры и фурье-спектрометры. В качестве источника для ИК-спектроскопии применяются тела, излучающие непрерывный спектр, приближающийся к излучению абсолютно черного тела [60, 61].

ИК-спектры снимали на ИК-Фурье спектрометре Nicolet 5700 с приставкой НПВО с Ge-кристаллом в диапазоне $4000\text{--}500\text{ см}^{-1}$.

Фазовый рентгеноструктурный анализ

Фазовый рентгеноструктурный анализ (РФА) базируется на том, что каждая фаза имеет свою кристаллическую решетку с определенными параметрами. На рентгенограмме каждой фазе соответствует своя система линий. Интенсивность линий определяется количеством фазы, а угловое положение — системой отражающих плоскостей решетки и межплоскостными расстояниями.

Качественный рентгенофазовый анализ заключается в идентификации кристаллических фаз на основе присущих им значений межплоскостных расстояний и соответствующих интенсивностей линий рентгеновского спектра.

Количественный анализ заключается в определении количества тех или иных фаз в смеси; определении средних размеров кристаллов, зерен в образце, функции распределения их по размерам, по анализу профиля линий; изучении внутренних напряжений – проведении анализа профиля дифракционных линий и сдвига положения этих линий; изучении текстур, т.е. характера преимущественной ориентации кристаллитов. Количественный рентгеновский фазовый анализ основан на зависимости интенсивности дифракционного отражения от содержания i с соответствующей фазы в исследуемом объекте.

Анализ проводили на дифрактометре XRD-6000 по методу порошка. Условия проведения анализа: напряжение 40 кВ, скорость 5 град./мин.

Гель-проникающая хроматография

Гель-проникающая хроматография (ГПХ) – это метод разделения по молекулярным массам, определения средних молекулярных масс и молекулярно-массовых распределений (ММР). Разделение полимерных молекул основано на различных объемах внутри пористых частиц геля, которые доступны молекулам растворенного вещества разного размера [62].

Анализ проводили на жидкостном хроматографе Agilent 1200 с рефрактометрическим детектором. Калибровка проводилась по полистирольным стандартам. В качестве элюента применяли хлороформ.

Рентгеновская фотоэлектронная спектроскопия

Биомиметические свойства композитов оценивали в модельном *SBF*-растворе. Образцы выдерживали в *SBF*-растворе при 37°C в течение 28 дней, ежедневно измеряя суммарную концентрацию ионов кальция и магния и обновляя раствор по методике, предложенной в статье Kokubo [63]. Морфологию поверхности композитов наблюдали с применением сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) на приборе Hitachi TM – 3000.

2.2.2 Исследования поверхностных свойств

Исследование мембранных свойств на диффузионной ячейке Франца

Исследование мембранных свойств композитов проводили на диффузионной ячейке Франца с родамином В. Концентрацию родамина В определяли на спектрофотометре UVmini1240 SHIMADZU. Для построения калибровочной прямой использовали концентрации растворов родамина В, предложенную в статье [64], были выбраны концентрации, представленные в Таблице 2.2, в качестве рабочего использовали раствор №4. Полученный калибровочный график и уравнение прямой представлены на Рисунке 2.3.

Таблица 2.2 – Концентрации раствора родамина В для построения калибровочной прямой

№	C, мг/л	Abs
1	13	0,004
2	9,1	0,028
3	6,5	0,146
4	3,9	0,816
5	0,65	1,294
6	0,13	1,603
7	0,013	2,005

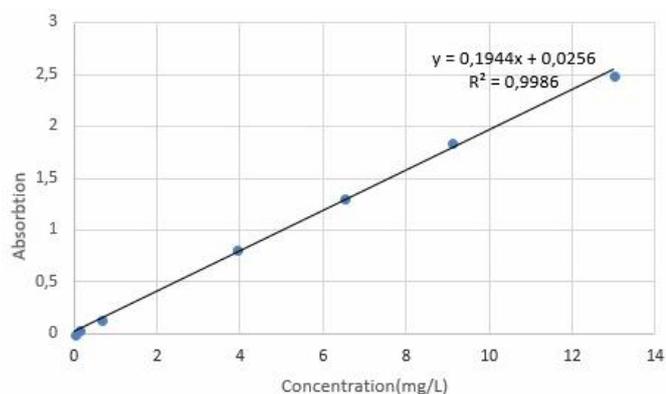


Рисунок 2.3 – калибровочный график родамина В

Низкотемпературная адсорбция

Низкотемпературная адсорбция основана на различной способности компонентов газа адсорбироваться на твердых поглотителях. Метод позволяет определить удельную поверхность и распределение пор по размерам. Удельную поверхность выражают

отношением общей поверхности пористого или диспергированного тела к его массе или, что реже, единице объема [65].

Самое широкое распространение для измерения площади поверхности твердых материалов имеет метод Брунауэра-Эммета-Теллера или БЭТ. Метод использует уравнение БЭТ (1):

$$\frac{1}{\left(\left(\frac{P_0}{P}\right)-1\right)} = \frac{1}{W_m \cdot C} + \frac{C-1}{W_m \cdot C} \cdot \left(\frac{P}{P_0}\right) \quad (1)$$

где W – вес газа, адсорбированного при относительном давлении P/P_0 , W_m – вес адсорбированного вещества, образующего покрывающий всю поверхность монослой, C – константа БЭТ.

Анализ проводили на анализаторе удельной площади поверхности Micromeritics 3Flex, в качестве газа использовали азот. Дегазацию проводили на дегазаторе VacPrep 061. Условия проведения дегазации: $t = 2$ ч, $T = 130$ °C, $P = 1$ атм.

Определение шероховатости поверхности контактным методом

Оценка шероховатости поверхности проводилась контактным методом при помощи профилометра. Профилометр представляет собой чувствительный датчик, оборудованный тонкой, остро заточенной алмазной иглой, с так называемой, ощупывающей головкой. Алмазная игла прижимается и перемещается параллельно исследуемой поверхности. В местах возникновения микронеровностей возникают механические колебания измерительной головки иглы. Эти колебания передаются в датчик, преобразующий механическую энергию колебания в электрический сигнал, который усиливается преобразователем и измеряется. Записанные параметры этого сигнала в точности повторяют неровности на шероховатой поверхности детали [66].

Определение шероховатости поверхности ГА, полимера и композитов проводили на Профилометре 296.

Определение поверхностной энергии и оценка гидрофильности образцов методом лежащей капли

Краевой угол смачивания θ является характеристикой гидрофильности (гидрофобности) поверхности. Он определяется как угол между касательной, проведенной к поверхности смачивающей жидкости, и смачиваемой поверхностью твердого тела (Рисунок 2.4), при этом θ всегда отсчитывается от касательной в сторону жидкой фазы.

Касательную проводят через точку соприкосновения трех фаз: твердой фазы (мембраны), жидкости (дистиллированная вода) и газа (воздух) [67].

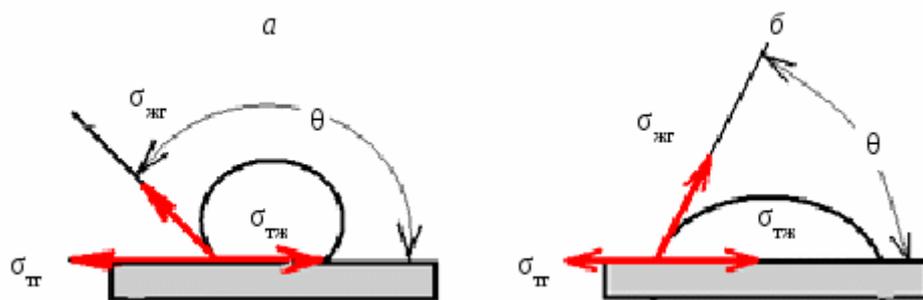


Рисунок 2.4 – Краевой угол смачивания: а) капля не смачивает поверхность; б) капля смачивает поверхность

Измерение угла смачивания проводили на Surfens contact angle measuring instrument (universal) OEG Optic, Electronik & Geratetechnik. В качестве жидкости использовали воду [68, 69], константы для жидкостей были представлены в Таблице 2.3.

Поверхностную энергию образцов определяли по модели Оуэнса-Вендта-Рабел-Кэлби, для чего измеряли краевые углы смачивания образцов двумя различными жидкостями (вода, этиленгликоль) и подставляли их в уравнение Юнга-Дюпре:

$$\cos \theta = \frac{\sigma_{ТВ} - \sigma_{ТВ-ж}}{\sigma_{ж}} \quad (2),$$

где $\sigma_{ТВ}$ – поверхностное натяжение на границе твёрдая поверхность – газ; $\sigma_{ТВ-ж}$ – поверхностное натяжение на границе жидкость-твёрдая поверхность; $\sigma_{ж}$ – поверхностное натяжение на границе жидкость-газ.

Из уравнения Юнга-Дюпре получаем уравнение Оуэнса Вендта:

$$\sigma_{ТВ-ж} = \sigma_{ТВ} + \sigma_{ж} - 2(\sqrt{\sigma_{ТВ}^D \cdot \sigma_{ж}^D} + \sqrt{\sigma_{ТВ}^P \cdot \sigma_{ж}^P}), \quad (3)$$

где σ^D – дисперсионная и σ^P – полярная составляющие поверхностной энергии.

Модель метода Оуэнса-Вендта-Рабел-Кэлби:

$$\frac{\sigma_{ж} \cdot (\cos \theta + 1)}{2 \cdot \sqrt{\sigma_{ж}^D}} = \frac{\sqrt{\sigma_{ж}^P}}{\sqrt{\sigma_{ж}^D}} \cdot \sqrt{\sigma_{ТВ}^P} + \sqrt{\sigma_{ТВ}^D} \quad (4).$$

Таблица 2.3 – Поверхностное натяжение тестовых жидкостей и значения его полярной и дисперсионной составляющих [70]

Тестовая жидкость	$\sigma_{ж}$, мДж/м ²	$\sigma_{ж}^P$, мДж/м ²	$\sigma_{ж}^d$, мДж/м ²
Вода	72,2	50,2	22,0
Глицерин	64,0	30,0	34,0

Исследование в растворе SBF

Для оценки биологической активности образцов определяли способность композитов формировать кальций-фосфатный слой на своей поверхности *in vitro* по методике, предложенной Kokubo. [63, 71].

Сканирующая электронная микроскопия

Сканирующая электронная микроскопия (СЭМ) – разновидность электронной микроскопии. Метод позволяет изучать поверхностную структуру объекта, исследовать размеры и форму зерен, распределение фаз и частиц по размерам и распределение по площади поверхности химических элементов, дает возможность получения объемного изображения объекта в широком диапазоне увеличений [72].

Метод основан на зондировании исследуемой поверхности сфокусированным пучком электронов и регистрации излучения, возбужденного этим пучком. Для формирования изображения используется детектирование различных сигналов, включая вторичные электроны, обратно рассеянные электроны, рентгеновское излучение и ток через образец. Двумерная карта снимаемого сигнала и представляет собой изображение поверхности [73].

Исследование микроструктуры образцов часто сопровождается рентгеноспектральным микроанализом (РСМА), позволяющим получить информацию об элементном составе образца. Рентгеноспектральный микроанализ основан на детектировании характеристического рентгеновского излучения, генерируемого в зоне взаимодействия первичного пучка ускоренных электронов с образцом. Характерной особенностью метода является локальность – максимальная область возбуждения составляет 1 мкм [74].

Анализ проводили на сканирующем электронном микроскопе Hitachi TM3000.

Исследование кислотно-основных центров по методу Гаммета

В основе индикаторного метода Гаммета лежит процесс адсорбции на поверхности образца серии кислотно-основных индикаторов, охватывающих достаточно широкую область значений рКа (Рисунок 2.5). Адсорбция носит избирательный характер в соответствии с принципом комплементарности кислотно-основных свойств взаимодействующей пары, в данном случае молекулы индикатора и ФГ поверхности. В качестве кислотно-основных индикаторов используют слабые органические кислоты и основания, у которых отличаются между собой окраски молекулярной и ионной форм

вследствие таутомерных перегруппировок при диссоциации индикатора: $\text{Hind} \leftrightarrow \text{H}^+ + \text{Ind}^-$

При взаимодействии водного раствора индикатора с поверхностью твердого тела происходит частичная адсорбция индикатора на определенных активных центрах, в результате чего происходит изменение интенсивности его окраски, которое можно зафиксировать. Это позволяет охарактеризовать количество активных центров адсорбции данного типа.

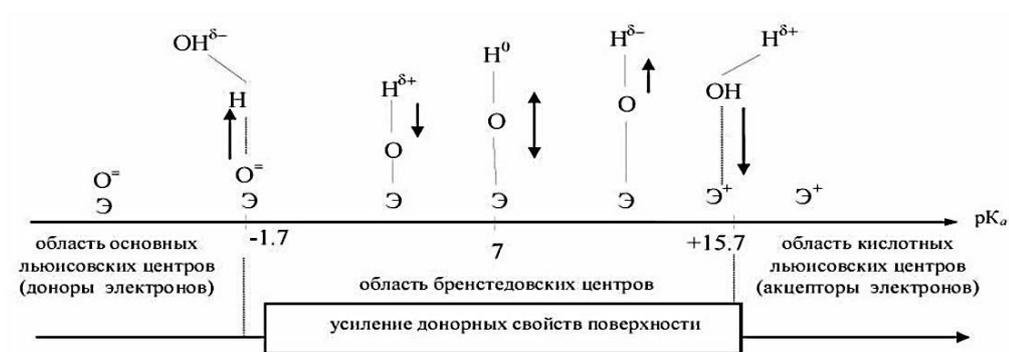


Рисунок 2.5 – Кислотно-основная схема гипотетической поверхности твердого оксида [75]

Для исследования кислотно-основных центров применяли растворы индикаторов, приведенных в Таблице 2.6:

Таблица 2.6 – Кислотно-основные индикаторы для определения функциональных центров по методу Гаммета

№	Название	λ_{max} , нм	№	Название	λ_{max} , нм
0	2,4-динитроанилин	360	13	п-нитрофенол	360
1	о-нитроанилин	410	14	Бромтимоловый синий	430
2	кристаллический фиолетовый	580	15	Феноловый красный	430
4	бриллиантовый зеленый	610	16	Тимоловый синий	430
6	м-нитроанилин	340	17	Пирокатехин	430
7	метильный оранжевый	460	18	Нильский голубой	640
8	бромфеноловый синий	590	19	Пропеолин	440

10	хризоидин	430	20	Индигокармин	610
11	бромкризоловый пурпурный	540	22	м-динитробензол	315
12	метиловый красный	430			

2.2.3 Исследование цитотоксических свойств композиционных материалов

Анализ с индикатором Alamar Blue разработан сравнительно недавно, применяется для оценки жизнеспособности клеток и их метаболической активности. Alamar Blue является проверенным индикатором жизнеспособности клеток. Анализ основан на том, что при попадании в живую клетку активный компонент индикатора резазурин преобразуется в резорурфин – вещество, которое обладает яркой флуоресценцией в красной области (Рисунок 2.6). Таким образом, метод позволяет провести сравнительный анализ жизнеспособности клеток количественно оценить жизнеспособность клеток [76].



Рисунок 2.6 – Принцип действия индикатора Alamar Blue

Оценку жизнеспособности клеток иммунной системы после инкубирования на поверхности исследуемых материалов проводили по методике [77].

3. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

3.1 Идентификация состава

В подразделе описаны результаты идентификации химического, фазового и элементного состава исходных компонентов и композиционных материалов методами ГПХ, РФА, ИК-спектроскопии, гравиметрии, РФЭС, РСМА.

3.2 Исследование пористых характеристик

В подразделе обсуждаются результаты определения пористых характеристик и морфологии поверхности методами СЭМ, низкотемпературной адсорбцией азота по методу БЭТ, методом гидростатического взвешивания, определением коэффициента диффузии на диффузионной ячейке Франца компонентов и композиционных материалов в процессе их получения.

3.3 Исследование поверхностных свойств

В подразделе обсуждаются характеристики поверхности композитов и исходных компонентов, полученные при определении параметра среднеквадратичного отклонения профиля Ra, определении распределения функциональных центров на поверхности материалов по методу Гаммета, определении гидрофильности поверхности по краевому углу смачивания θ , расчете поверхностной энергии.

3.2 Исследование биомиметических свойств в растворе SBF

В подразделе обсуждаются результаты оценки резорбируемости композитов *in vitro*, оценки биомиметических свойств композитов и ГА каркасов в растворе SBF.

3.5 Оценка жизнеспособности макрофагов в присутствии материалов

В подразделе обсуждаются результаты оценки цитотоксичности композитов и исходных компонентов тестом с индикатором Alamar Blue и их сходение с результатами, полученными при расчете поверхностной энергии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Разработан новый метод получения композиционных полимерно-керамических материалов с сетью взаимосвязанных макропор до 70 мкм с макропористостью 32-37 об%, включающий две ключевые стадии: 1) получение пористой гидроксиапатитной керамики в качестве керамического каркаса с использованием NaCl в качестве порообразователя; 2) пропитку пористой гидроксиапатитной керамического каркаса раствором полимера (СЛГ) с обработкой УЗ.

2. За счет взаимодействия между ГА и СЛГ на границе раздела фаз в композиционных материалах происходит формирование новых функциональных центров различной концентрации (Бренстедовские кислотных и основных центров) за счет уменьшения соотношения Са/Р в композитных материалах относительно чистого ГА. Это коррелирует с высокой поверхностной энергией образца К2 по отношению к композитам с другими соотношениями ГА и СЛГ, что связано с островковым типом покрытия ГА полимером, характерным только для композита К2.

3. Установлена зависимость скорости роста кальций-фосфатного слоя на поверхности материалов при 37 °С в модельном SBF-растворе от состава материалов: ГА1 > ГА2 > ГА3 > К1 > К2 > К3. Установлено, что на скорость роста кальций-фосфатного слоя влияет количество гидроксиапатита на поверхности, которое уменьшается в таком же порядке. Суммарная концентрация ионов Са²⁺ в насыщенных растворах уменьшающаяся в ряду композитов от К1 к К3, что объясняется затруднением диффузии растворителя к ГА через слой СЛГ.

4. Проведены исследования по влиянию состава композитных материалов на функциональные характеристики. Установлено, что в присутствии СЛГ, К1 и К2 первичные моноцитарные макрофаги показывают высокую жизнеспособность, что демонстрирует потенциальную востребованность исследуемых материалов для дальнейших биомедицинских исследований.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ И ЛИТЕРАТУРЫ

1. LeGeros, R. Z. Calcium phosphate-based osteoinductive materials // *Chem. Rev.* – 2008. – № 108. – P. 4742-4753.
2. Ravaglioli A. Bioceramics: materials, properties, applications. / A. Ravaglioli, A. Krajewski. – New York. : Springer Science & Business Media, 2012. – 422 с.
3. Suchanek W. Processing and properties of hydroxyapatite-based biomaterials for use as hard tissue replacement implants / W. Suchanek, M. Yoshimura // *J. Mater. Res.* – 1998. – № 13. – P. 94-117.
4. Principles of bone biology / Eds. J. P. Bilezikian, L. G. Raisz, G. A. Rodan. – San Diego. : Academic Press, 2002. – V. 1-2.
5. Dorozhkin S. V. Calcium orthophosphates. // *J. Mater. Sc.* – 2007. – № 42. – P. 1061-1095.
6. Hancox N. M. Biology of bone / N. M. Hancox. – Cambridge. : Cambridge University Press, 1972. – P. 18-35.
7. Березов Т. Т. Биологическая химия: Учебник / Т. Т. Березов, Б. Ф. Коровкин. – 3-е изд. – М. : Медицина, 1998. – 704 с.
- 8 Dorozhkin S. V. Biological and medical significance of calcium phosphates / S. V. Dorozhkin, M. Epple // *Angew. Chem. Int. Ed.* – 2002. – № 41. – P. 3130-3146.
9. Miller S. C. The bone lining cell: A distinct phenotype? // *Calcif. Tissue. Int.* – 1987. – № 41 – P. 1-5.
10. Mark Jr. S. C. 1988. Bone cell biology: The regulation of development, structure, and function in the skeleton / Jr. S. C. Mark, S. N. Popoff // *Am. J. Anat.* – 2008. – V. 183 – P. 1-4.
11. Болезни суставов : руководство для врачей / под ред. В. И. Мазурова. – СПб. : СпецЛит, 2008. – 379 с.
12. Vaughan J. The physiology of bone / J. Vaughan. – third edition. – Oxford. : Oxford Science Publications, 1981. – P. 288.
13. В. И. Струков. Актуальные проблемы остеопороза: Монография / В. И. Струков – Пенза : Ростра, 2009. – 342 с.
14. Isa Z. M Dental implants: biomaterial, biomechanical and biological considerations/ Z. M. Isa, I. A. Hobkirk // *Annal Dent Univ Malaya.* – 2000. – V. 7 – P. 27-35.
15. Anselme K. Osteoblast adhesion on biomaterials, review // *Biomaterials.* – 2000. – V. 21. – P. 67-81.
16. Mehdizadeh M. Design strategies and applications of tissue bioadhesives. / M. Mehdizadeh, J. Yang. // *Macromol Biosci.* – 2013. – V. 13 – P. 71-88.

-
17. A Roadmap of Biomedical Engineers and Milestones / edited by Prof. Kara S. – Rijeka. : InTech, 2012. – P. 240.
 18. Anderson J. M. Biological responses to materials // Annu Rev Mater Res. – 2001. – V. 31 – P. 81-110.
 19. Niinomi M. Recent metallic materials for biomedical applications // Metal Mater Trans. – 2002. – V. 33 – P. 77-86.
 20. Silver F. H. Biomaterials science and biocompatibility / F. H. Silver, D. L. Christiansen. – New York. : Springer-Verlag, 1999. – P. 330.
 21. Iftekhar A. Biomedical composites. In: Standard handbook of biomedical engineering and design [Chapter 12] / A. Iftekhar. – New York. : McGraw-Hill Companies; 2004. – P. 12.1-12.17.
 22. Dorozhkin S. V. Biocomposites and hybrid biomaterials based on calcium orthophosphates // Biomater. – 2011. – V. 1 – P. 3-56.
 23. Vallet-Regí' M. Ceramics for medical applications. // J Chem Soc Dalton Trans. – 2001. – V. 2: - P. 97-108.
 24. Bermejo R. High failure resistance layered ceramics using crack bifurcation and interface delamination as reinforcement mechanisms / R. Bermejo., R. Danzer // Eng Fract Mech. – 2010. – V. 77 – P. 26-35.
 25. Kulinets I. Biomaterials and their applications in medicine / I. Kulinets // Regulatory Affairs for Biomaterials and Medical Devices. – 2015. – P. 1-10.
 26. Карлов А. В. Системы внешней фиксации и регуляторные механизмы оптимальной биомеханики. / А. В. Карлов, В. П. Шахов. – Томск : STT, 2001. – 480 с.
 27. Sin, L. E. Polylactic Acid: PLA Biopolymer Technology and Applications / L. T. Sin, A. R. Rahmat, W. A. W. A. Rahman. – Elsevier Inc., 2012. – 341 p.
 28. Биоматериалы, биосовместимость, биodeградация, терминология, определения и классификация [Электронный ресурс] / medbe.ru. – URL: <http://medbe.ru/materials/biomekhanika-i-biosovmestimost/biomaterialy-biosovmestimost-biodegradatsiya-terminologiya-opredeleniya-i-klassifikatsiya> (дата обращения: 03.03.2018).
 29. Керницкий В. И. Биополимеры – дополнение, а не альтернатива / В. И. Мовсесян, Н. А. Жир // Твердые бытовые отходы. – 2015. – №1. – С. 26-31.
 30. Биоразлагаемые полимеры в центре внимания [Электронный ресурс] / Аналитический портал химической промышленности. – URL: http://www.newchemistry.ru/letter.php?n_id=1164 (дата обращения: 13.04.2018).

-
31. Штильман М. И. Полимеры медико-биологического назначения. – М. : Академкнига, 2006. – 400 с.
32. Uhrich K.E. Polymeric system for controlled drug release // *Chemistry Reviews*. – 1999. – Vol. 99. – P. 3181–3198.
33. Kricheldorf H. R. Polylactones / H. R. Kricheldorf, B. Febner // *Biomacromolecules*. – 2002. – V.3.
34. Turnbull G. 3D bioactive composite scaffolds for bone tissue engineering / G.Turnbull et al. // *Bioactive Materials*. – 2018. – V. 3. – P. 278-314.
35. Liao C.-J. Fabrication of porous biodegradable polymer scaffolds using a solvent merging/particulate leaching method / C.-J. Liao, et al. // *J. Biomed. Mater. Res*. – 2002. – V. 59 – P. 676-681.
36. Dehghani F. Engineering porous scaffolds using gas-based techniques / F. Dehghani, N. Annabi // *Curr. Opin. Biotechnol*. – 2011. – V. 22. – P. 661-666.
37. Whang K. A novel method to fabricate bioabsorbable scaffolds / K. Whang, et al. // *Polymer*. – 2005. – V. 36 – P. 837-842.
38. Hollister S.J. Porous scaffold design for tissue engineering // *Nat. Mater*. – 2005 – V. 4. – P. 518-524.
39. Huang Y. Electrodeposition of porous hydroxyapatite/calcium silicate composite coating on titanium for biomedical applications / Y. Huang, et al. // *Appl. Surf. Sci*. – 2013. – V. 271 – P. 299-302.
40. A.-V. Do, et al., 3D printing of scaffolds for tissue regeneration applications // *Adv. Healthc. Mater*. - 2015. – V. 4. – P. 1742-1762.
41. Y. Xia, et al., Selective laser sintering fabrication of nano-hydroxyapatite/ poly-ε-caprolactone scaffolds for bone tissue engineering applications // *Int. J. Nanomed*. - 2015. – V. 8. - P. 4197-4213.
42. Биомедицинское материаловедение / С. П. Вихров [и др.]. – М. : Горячая линия-Телеком, 2006. – 383 с.
43. Литвиненко В. Н. Материалы лекции по дисциплине «Материаловедение и биосовместимые материалы» // *Биомедицинская инженерия и электроника*. – 2015. – №3.
44. Манабу С. Полимеры медицинского назначения: пер. с яп. / С. Манабу. – М. : Медицина, 1981. – 248 с.
45. Simske S. J. Porous materials for bone engineering / S. J. Simske, R. A. Ayers, T. A. Bateman // *Material Science Forum*/ – 1997. – V. 250 – P. 151-182.

-
46. Dorozhkin S. V. Calcium orthophosphate bioceramics // *Ceramics International*. – 2015. – V. 41. – P. 13913-13966.
47. Rahaman MN et al. Ceramics for prosthetic hip and knee joint replacement. *J Am Ceram Soc* 2007;90(7):1965–88.
48. Scholz M.-S. et al. The use of composite materials in modern orthopaedic medicine and prosthetic devices: A review // *Composites Science and Technology*. – 2011. – V. 71. – P. 1791-1803.
49. Ayres CE et al. Nanotechnology in the design of soft tissue scaffolds: innovations in structure and function. *Wiley Interdiscipl Rev: Nanomed Nanobiotechnol* 2009;2(1):20–34
50. Shi X et al. Fabrication of porous ultra-short single-walled carbon nanotube nanocomposite scaffolds for bone tissue engineering. *Biomaterials* 2007;28(28):4078–90.
51. Mekaël P et al. Characterization of carbon nanotube reinforced polymer scaffold for bone tissue engineering. *Microsc Microanal* 2010;16(Suppl. 2):1032–3.
52. Отто М. Современные методы аналитической химии : в 2 т. / М. Отто. – М. : Техносфера, 2003. – Т. 1 – 416 с.
53. Воскресенский П. И. Техника лабораторных работ / П. И. Воскресенский. – М. : Химия, 1973. – 717 с.
54. Баринов С. М. Биокерамика на основе фосфатов кальция / С. М. Баринов, В. С. Комлев. – М. : Наука, 2005. – 204 с.
55. Holten C. H. Lactic acid; properties and chemistry of lactic acid and derivatives // *Verlag Chemie*. – 1971. – P. 566.
56. Пат. 2507151 РФ, МПК C01B 25/32, C01B 33/00, H05B 6/64. Способ получения кремниймодифицированного гидроксиапатита с использованием свч-излучения / Коротченко Н. М., Рассказова Л. А.; заявитель и патентообладатель НИ ТГУ. – опубл. 20.02.14, Бюл. № 5. – 4 с.
57. New materials based on polylactide modified with silver and carbon ions/ I. A. Kurzina [et al] // *AIP Conference proceedings*. – 2015. – V. 1688. – P. 030033-1–030033-7.
58. Гордон А. Спутник химика. Физико-химические свойства, методики, библиография (справочник) / А. Гордон, Р. Форд. – М. : Мир, 1976. – 541 с.
59. Золотов Ю. А. Основы аналитической химии : в 2 т. / Ю. А. Золотов. – 3-е изд. – М. : Высшая школа, 2004. – Т. 1. – 505 с.
60. «Биологические методы анализа»: Рубенчик Л. И., Микроорганизмы - биологические индикаторы. К., 1972

-
61. Смит А. Прикладная ИК-спектроскопия: пер. с англ. / А. Смит. – М. : Мир, 1982. – 382 с.
62. Пентин Ю. А. Физические методы исследования в химии / Ю. А. Пентин, Л. В. Вилков. – М. : Мир, 2003. – 683 с.
63. Рабек Я. Экспериментальные методы в химии полимеров : в 2 ч. / Я. Рабек. – М. : Мир, 1983. – Ч. 1. – 384 с.
64. Kokubo T. How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity / T. Kokubo, H. Takadama // *Biomaterials*. – 2006. – V. 27 – P. 2907–2915.
65. Contri R. V. Skin penetration and dermal tolerability of acrylic nanocapsules: Influence of the surface charge and a chitosan gel used as vehicle / R.V.Contri et al. // *Int. Journ. of Pharm.* – 2016. – V. 507 – P. 12-20.
66. Фенелонов В. Б Адсорбционные методы измерения общей и парциальной поверхности гетерогенных катализаторов и / В. Б. Фенелонов, В. Н. Пармон // *Промышленный катализ в лекциях. Вып. 3 / А.С. Носков.* – М. : Калвис, 2006. – С. 77-119.
67. Способы и методы измерения шероховатости поверхности [Электронный ресурс] / Штангель.РФ. – URL: http://www.штангель.рф/info/articles/Izmerenie_sherohovatosti.htm (дата обращения: 17.04.2018).
68. Измер. краевого угла смач. пов-ти мембран мет. растек. капли и прикрепл. пузырька [Электронный ресурс] / Южный мембранный центр. – URL: <http://mtc.kubsu.ru/Method4.html> (дата обращения: 07.04.2018).
69. Лабораторные работы и задачи по коллоидной химии : под ред. Ю. Г. Фролова, А. С. Гродского. – М. : Химия, 1986. – 216 с.
70. Особенности оценки смачивания полимерных поверхностей / Миронюк А. В. [и др.] // *Технологии органических и неорганических веществ.* – 2014. – С. 23–26.
71. Fowkes, F.M. Adhesion of edible oils to food contact surfaces / F.M. Fowkes, C.Y. Sun, C.J. Oss, R.J. Good // *J. of American Oil Chemists' Society.* – 1998. – 75. – № 4. – P. 447-454.
72. Biomedical production of implants by additive electro-chemical and physical processes / Bartolo P. [и др.] // *CIRP Annals - Manufacturing Technology.* – 2012. – V. 61, Issue 2. – P. 635-655.
73. Введение в физику поверхности: пер. с англ. / К. Оура [и др.]. – М. : Наука, 2006. - 490 с.

74. Зеер Г. М. Применение сканирующей электронной микроскопии в решении актуальных проблем материаловедения / Г. М. Зеер, О. Ю. Фоменко, О. Н. Ледяева // *Journal of Siberian Federal University*. – 2009. – № 2. – С. 287-293.

75. Мир физики и техники. Сканирующая электронная микроскопия и рентгеноспектральный микроанализ в примерах практического применения / М. М. Криштал [и др.]. – М. : Техносфера, 2009. – 208 с.

76. Теория и практика определения кислотно-основных свойств поверхности твердых тел методом рН-метрии: учебное пособие / К. В. Иконникова [и др.]. – Томск : Изд-во Томского политехнического университета, 2014. – 99 с.

77. Rampersad S. N. Multiple Applications of Alamar Blue as an Indicator of Metabolic Function and Cellular Health in Cell Viability Bioassays // *Sensors*. – 2012. – V. 12, № 9. – P. 12347–12360.

78. Al-Nasiry, S. The use of Alamar Blue assay for quantitative analysis of viability, migration and invasion of choriocarcinoma cells. / S. Al-Nasiry et al. // *Hum Reprod*. – 2007. – V. 22. – P. 1304- 1309.

ОТЗЫВ
руководителя магистерской диссертации

Тема магистерской диссертации Разработка метода получения биосовместимого композиционного материала с высокой пористостью на основе сополимера лактид-гликолид и гидроксиапатита

Автор Березовская Анна Андреевна
(фамилия, имя, отчество)

Факультет Химический, САЕ Институт «Умные материалы и технологии»

Направление подготовки 04.04.01 «Химия»

Магистерская программа «Трансляционные химические и биомедицинские технологии»

Руководитель магистерской диссертации

И.А. Курзина, к.ф.-м.н., доцент, профессор кафедры физической и коллоидной химии ТГУ
(инициалы, фамилия, степень, звание, должность)

Оценка соответствия требованиям ФГОС ВО подготовленности автора магистерской диссертации

Требования к профессиональной подготовке	Соответствует	Не соответствует
Умеет выполнять критический анализ информации, полученной в результате изучения различных информационных источников (периодических изданий, монографий, информационных баз данных и др.) по тематике научной работы	+	
Способен формулировать цели и задачи работы на основе анализа литературных данных, выбирать методы исследования, составлять план экспериментальной работы	+	
Владеет экспериментальными методами синтеза и анализа соединений на основе полученных знаний в избранной области химии и биомедицины	+	
Способен провести обработку результатов исследования, в том числе математическую, представить результаты исследований и дать рекомендации по их практическому применению	+	

Характеристика отношения студента к выполнению работы:

При выполнении диссертационной работы Березовская Анна проявила себя целеустремленным исследователем, способным формулировать и решать поставленные задачи на высоком теоретическом и практическом уровне. Березовская Анна всегда выполняла работу с большой ответственностью, серьезностью и старательностью, самостоятельно проводила синтез исходных компонентов и композиционных материалов и провела аналитический обзор литературных источников отечественных и зарубежных авторов. Её отличительной способностью является трудолюбие, инициативность в работе, потребность в совершенствовании своих знаний и умений.

Заключение

магистерская диссертация Березовской Анны Андреевны соответствует требованиям,
(фамилия, имя, отчество магистранта)

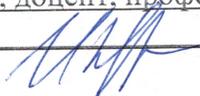
предъявляемым к магистерским диссертациям, и заслуживает оценки « отлично »,

а её автор Березовская А.А. присуждения степени «магистр».

(фамилия, инициалы)

Научный руководитель И.А. Курзина, к.ф-м.н., доцент, профессор кафедры физической и коллоидной химии ТГУ 14.06.18

(инициалы, фамилия, степень, звание, должность, дата)



РЕЦЕНЗИЯ НА МАГИСТЕРСКУЮ ДИССЕРТАЦИЮ

Тема магистерской диссертации Разработка метода получения биосовместимого композиционного материала с высокой пористостью на основе сополимера лактид-гликолид и гидроксиапатита

Автор Березовская Анна Андреевна
(фамилия, имя, отчество)

Факультет Химический, САЕ Институт «Умные материалы и технологии»

Направление подготовки 04.04.01 «Химия»

Магистерская программа «Трансляционные химические и биомедицинские технологии»

Рецензент С.И. Твердохлебов, к.ф.-м.н., Доцент Научно-образовательного центра Б.П.

Вейнберга Томского политехнического университета.

(инициалы, фамилия, степень, звание, должность)

ОЦЕНКА МАГИСТЕРСКОЙ ДИССЕРТАЦИИ

№ п/п	Показатели	5	4	3	2	*
1.	Актуальность и обоснованность выбора темы работы	*				
2.	Степень полноты обзора литературных источников по теме работы	*				
3.	Соответствие используемых экспериментальных (расчетных) методов поставленной задаче	*				
4.	Использование в работе знаний по общим и специальным дисциплинам		*			
5.	Качество и полнота обсуждения полученных результатов	*				
6.	Четкость и последовательность изложения		*			
7.	Аргументированность и конкретность выводов работы	*				
8.	Оригинальность и новизна полученных результатов	*				
9.	Качество оформления работы			*		

* – не оценивается (трудно оценить)

Отмеченные достоинства: Магистерская диссертация Березовской А.А. выполнена на актуальную тему и посвящена разработке метода получения биосовместимого композиционного материала с высокой пористостью на основе сополимера лактид-гликолид и гидроксиапатита и исследованию его свойств. Содержание выпускной квалификационной работы показывает, что автор глубоко изучила различные источники по теме исследования. Работа выполнена согласно заданию, грамотно, компактно. Материал изложен последовательно. Исследование является важным и актуальным направлением современной химии, биологии и медицины. В работе использованы физико-химические методы анализа, первичные исследования в условиях *in vitro*. Сформулированные в работе выводы достаточно обоснованы и могут быть использованы в практической деятельности.

Отмеченные недостатки: Существенных недостатков в дипломной работе не выявлено.

Заключение

магистерская диссертация Березовской Анны Андреевны соответствует требованиям,
(фамилия, имя, отчество магистранта)
предъявляемым к магистерским диссертациям, и заслуживает оценки «отлично», а её
автор Березовская А.А. присуждения степени «магистр».

(фамилия, инициалы)

Рецензент С.И. Твердохлебов, к.ф.-м.н., Доцент Научно-образовательного центра Б.П.

Вейнберга Томского политехнического университета. 14.06.18

(инициалы, фамилия, степень, звание, должность, дата)



Содован ознанието Березовская А.А.
14.06.18 А

Отчет о проверке на заимствования №1

Автор: annberezza@ya.ru / ID: 3120901

Проверяющий: (annberezza@ya.ru / ID: 3120901)


Отчет предоставлен сервисом «Антиплагиат»- <http://www.antiplagiat.ru>

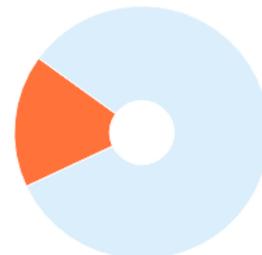
ИНФОРМАЦИЯ О ДОКУМЕНТЕ

№ документа: 23
 Начало загрузки: 16.06.2018 08:50:12
 Длительность загрузки: 00:00:02
 Имя исходного файла: ВКР Березовская АА 2018
 Размер текста: 2794 кБ
 Символов в тексте: 114730
 Слов в тексте: 13198
 Число предложений: 972

ИНФОРМАЦИЯ ОБ ОТЧЕТЕ

Последний готовый отчет (ред.)
 Начало проверки: 16.06.2018 08:50:14
 Длительность проверки: 00:00:01
 Комментарии: не указано
 Модули поиска:

ЗАИМСТВОВАНИЯ	ЦИТИРОВАНИЯ	ОРИГИНАЛЬНОСТЬ
16,75% 	0% 	83,25% 



Заимствования — доля всех найденных текстовых пересечений, за исключением тех, которые система отнесла к цитированиям, по отношению к общему объему документа.
 Цитирования — доля текстовых пересечений, которые не являются авторскими, но система посчитала их использование корректным, по отношению к общему объему документа. Сюда относятся оформленные по ГОСТу цитаты; общепотребительные выражения; фрагменты текста, найденные в источниках из коллекций нормативно-правовой документации.

Текстовое пересечение — фрагмент текста проверяемого документа, совпадающий или почти совпадающий с фрагментом текста источника.

Источник — документ, проиндексированный в системе и содержащийся в модуле поиска, по которому проводится проверка.

Оригинальность — доля фрагментов текста проверяемого документа, не обнаруженных ни в одном источнике, по которым шла проверка, по отношению к общему объему документа.

Заимствования, цитирования и оригинальность являются отдельными показателями и в сумме дают 100%, что соответствует всему тексту проверяемого документа.

Обращаем Ваше внимание, что система находит текстовые пересечения проверяемого документа с проиндексированными в системе текстовыми источниками. При этом система является вспомогательным инструментом, определение корректности и правомерности заимствований или цитирований, а также авторства текстовых фрагментов проверяемого документа остается в компетенции проверяющего.

№	Доля в отчете	Доля в тексте	Источник	Ссылка	Актуален на	Модуль поиска	Блоков в отчете	Блоков в тексте
[01]	6,07%	6,07%	Збирання	http://lektsii.net	24 Мая 2016	Модуль поиска Интернет	17	17
[02]	0%	6,07%	Лашутин С.В., 27.05.01 г.	http://lektsii.net	24 Мая 2016	Модуль поиска Интернет	0	17
[03]	1,59%	1,59%	Биоматериалы, биосовмест...	http://medbe.ru	06 Апр 2016	Модуль поиска Интернет	8	8

Еще источников: 17
 Еще заимствований: 9,09%