

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РФ
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования

ПЕНЗЕНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

Факультет
физико-математических
и естественных наук

Кафедра
«Общая биология и биохимия»

Направление подготовки 06.03.01 Биология

Профиль подготовки Биохимия

Форма обучения очная

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА

на тему:

**«ИССЛЕДОВАНИЕ ТОПОГРАФИИ ПОВЕРХНОСТИ
БИОЛОГИЧЕСКИХ И СИНТЕТИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ ДЛЯ
ХИРУРГИИ МЕТОДОМ АТОМНО-СИЛОВОЙ МИКРОСКОПИИ»**

Студент

 Тимирбаева Юна Денисовна

Руководитель

 Кручинина А.Д.

Нормоконтролер

 Кручинина А.Д.

Работа допущена к защите (протокол заседания кафедры от 15.06.19 № 16)

Заведующий кафедрой

 Карпова Г.А.

Работа защищена с отметкой отлично

(протокол заседания ГЭК от 15.06.19 № 8)

Секретарь ГЭК

 Клыченков С.В.

Пенза, 2019

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	3
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	6
1.1 Характеристика и области применения атомно-силовой микроскопии	6
1.2 Принцип действия и основные режимы работы атомно-силового микроскопа в воздушной среде	8
1.3 Обзор биологических и синтетических материалов для хирургии	16
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	21
2.1 Материалы исследования	21
2.2 Методы исследования.....	22
2.2.1 Методы исследования поверхностных свойств материалов	22
2.2.2 Методы исследования физико-механических свойств материалов.....	22
2.2.3 Метод атомно-силовой микроскопии	23
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ.....	28
3.1 Результаты исследования поверхностных свойств материалов.....	28
3.2 Результаты исследования физико-механических свойств материалов	30
3.3 Результаты атомно-силовой микроскопии	32
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	45
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	45
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	47

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность работы. Атомно-силовая микроскопия (АСМ) – один из мощных современных методов исследования морфологии поверхности и локальных свойств поверхности с высоким пространственным разрешением. За последние годы своего существования метод АСМ получил множество различных воплощений: микроскопы превратились в сложные многофункциональные аналитические инструменты как для исследования топографии, пространственного распределения приповерхностных силовых полей (магнитных, электрических), температуры, емкостных и адгезионных свойств поверхности, так и для модификации поверхности материалов. Метод открыл широкие возможности для комплексного изучения морфологии и различных характеристик поверхности материалов, в том числе для хирургии, и стал источником новой информации при решении традиционных задач кристаллографии и физики кристаллов [39].

С развитием тканевой инженерии одним из перспективных направлений для костной пластики является создание клеточных графтов из биodeградируемых материалов в сочетании с донорскими клетками, способных восстанавливать поврежденный орган или ткань. Однако для успешной индукции остеогенеза в месте имплантации необходимо создать высокую начальную концентрацию клеток, поэтому возникает необходимость поиска адекватного носителя для закрепления трансплантируемых клеток в организме реципиента. Среди материалов, разрабатываемых и исследуемых применительно к этим задачам, - полигидроксиалканоаты (ПГА), линейные полиэфиры микробиологического происхождения, являются наиболее перспективными. ПГА представляют большой интерес для ортопедии в связи с их высокой биосовместимостью, медленной биodeградацией и механической прочностью. Однако остается не ясным как химический состав, структура, свойства полимеров

(кристалличность, механическая прочность, температурные характеристики, скорости биораспада), свойства поверхности различных форм на основе полимера могут повлиять на рост и адгезию остеобластов.

Актуальность представленной работы обусловлена с одной стороны важностью и новизной объектов исследования, интенсивно изучающихся многими научными коллективами в связи с интересом к их фундаментальным характеристикам и перспективами практического применения в современных технологиях. С другой стороны — с новизной развиваемых экспериментальных методик нанодиагностики поверхности материалов с различной степенью упорядоченности структуры и строением рельефа методом атомно-силовой микроскопии. Атомно-силовые микроскопы сейчас становятся одними из самых востребованных и доступных приборов для исследований в самых различных областях науки, вооруженность ими неуклонно возрастает. Поэтому основополагающим в работе рассматривается не просто получение адекватного изображения, но и осознанный его анализ.

Целью работы является исследование поверхностных, физико-механических свойств и морфологии поверхности методом атомно-силовой микроскопии форм на основе полимеров полигидроксиалканоата.

1. Дать характеристику метода атомно-силовой микроскопии, области применения, принцип действия и основные режимы работы
2. Подготовить обзор биологических и синтетических материалов для хирургии
3. Провести исследование поверхностных свойств материала полигидроксиалканоата
4. Провести исследование физико-механических свойств материалов
5. Провести исследование топографии поверхности экспериментальных образцов на основе полигидроксиалканоатов методом атомно-силовой микроскопии

Выпускная квалификационная работа написана на 51 листе, содержит 16 рисунков, 3 таблицы и список литературы на русском и английском языках из 50 источников.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Характеристика и области применения атомно-силовой микроскопии

Атомно-силовая микроскопия (АСМ) – это один из методов сканирующей зондовой микроскопии (СЗМ), при котором получается трехмерное изображение поверхности материала. Разрешение полученного изображения может быть вплоть до атомного.

У методов СЗМ есть общая черта, это острая игла с радиусом при вершине приблизительно 10 нм и сканирующий механизм (сканер). Этот сканер может перемещать зонд в трех измерениях над образцом. Сканирование производится с точностью в сотые доли нанометра.

Методы СЗМ возможно разделить (условно) на три группы:

- сканирующая туннельная микроскопия (СТМ). В данном методе характерной особенностью является небольшое напряжение ($\sim 0,01 \dots 10$ В) между зондом и образцом. Туннельный ток, возникающий в зазоре зависит от свойств и конфигурации атомов на поверхности исследуемого образца [4].

- атомно-силовая микроскопия. Здесь регистрируют силы, возникающие между образцом и зондом. Зонд находится на конце консольной балки, жесткость которой известна.

- ближнепольная оптическая микроскопия (БОМ). В данном случае зондом является оптический волновод (световолокно). Этот волновод сужается в конце (обращенном к образцу), до диаметра меньше длины волны света [1].

АСМ имеет большое преимущество перед СТМ, так как с помощью нее можно изучать разного рода материалы, не только проводящие.

Атомно-силовая микроскопия была изобретена в 1986 году Г. Биннингом, К. Куэйтом и К. Гербером. Принцип действия АСМ основан на

измерении электрических сил межатомного взаимодействия зонда с исследуемой поверхностью. Энергия взаимодействия Ван-дер-Ваальса между двумя атомами, находящимися на расстоянии r друг от друга, аппроксимируется потенциалом Леннарда-Джонса [42].

В ходе детектирования рельефа поверхности образца игла зонда находится над его поверхностью. В качестве зонда используется наноразмерное остриё, располагающееся на конце упругой консоли, называемой кантилевером. Зонд совершает относительно образца построчное сканирование. Сила, действующая на зонд со стороны поверхности, приводит к изгибу консоли. Тем самым появление возвышенностей или впадин на поверхности образца приводит к изменению силы, действующей на зонд, а значит, и изменению величины изгиба кантилевера. Ход зонда регистрируется оптическими методами с помощью лазера и четырехсекционного фотоприемника. Таким образом, регистрируя величину изгиба, можно сделать вывод о рельефе поверхности.

Оптическая система АСМ настраивается таким образом, чтобы лазерное излучение попадало строго на свободный край кантилевера, а отраженное излучение попадало в фоточувствительную область фотодиода. В таком случае разность токов вида $\Delta I_z = (\Delta I_1 + \Delta I_2) - (\Delta I_3 + \Delta I_4)$ окажется пропорциональной изгибу кантилевера под действием силы, действующей по нормали к поверхности образца. Комбинация разностных токов вида $\Delta I_l = (\Delta I_1 + \Delta I_4) - (\Delta I_3 + \Delta I_2)$ характеризует изгиб консоли под действием латеральных сил.

Одним из наиболее важных блоков в схеме АСМ является система обратной связи. Эта система синхронизирована с системой отклонения кантилевера от его первоначального положения. Рабочая точка положения «кантилевер – образец» задается заранее, и на протяжении всего процесса измерений система обратной связи поддерживает данный уровень независимо от рельефа поверхности. Сигнал, характеризующий величину

отработки системы связи, является полезным сигналом детектирования и отображает топографию поверхности. В итоге информация о рельефе поверхности формируется в виде точечного 2D или 3D изображения, на котором цвет той или иной точки отображает ее высоту. Чем светлее оттенок точки, тем выше она находится от поверхности образца.

Развитие методов АСМ привело к созданию еще нескольких методик, позволяющих изучать электрофизические и магнитные свойства поверхности. К данным методам можно отнести электросиловую микроскопию, сканирующую емкостную микроскопию, магнитно-силовую микроскопию, метод зонда Кельвина, метод измерения сопротивления растекания, АСМ-литографию.

1.2 Принцип действия и основные режимы работы атомно-силового микроскопа в воздушной среде

Работа атомно-силового микроскопа (АСМ) основывается на наблюдении сил межатомного взаимодействия, которые возникают во время сканирования между атомами кантилевера и атомами поверхностью образца.

Кантилевер – прямоугольное основание, имеющее размеры примерно $1,5 \times 3,5 \times 0,5$ мм, а также выступающая из него балка (это и есть кантилевер) шириной примерно 0,03 мм и длиной от 0,1 до 0,5 мм. Верхняя сторона балки является зеркальной (может быть напылен слой алюминия), это необходимо для использования оптической системы контроля деформации кантилевера. На свободном конце балки размещается игла, взаимодействующая с исследуемым образцом. В зависимости от изготовления игла может иметь разную форму [11, 13]. Радиус острия иглы промышленных кантилеверов может находиться в пределах от 5 до 90 нм, а лабораторных – от 1 нм. Качество и точность изображений могут зависеть от различных свойств, например от физических и химических. Зачастую, зонды изготавливают из

Si, SiO₂ и Si₃N₄, также есть зонды, имеющие различное химическое покрытие [3].

Во время сканирования консоль кантилевера может отклоняться от равновесного положения, это обусловлено взаимодействием иглы кантилевера с поверхностью образца. Это отклонение зависит от рельефа. Система детектирования посылает в систему управления сигнал, пропорциональной величине отклонения кантилевера. Система управления перемещает образец в вертикальном направлении таким образом, дабы вернуть образец и зонд в равновесное положение. Измерение рельефа образца регистрируют за счет силового взаимодействия. Притягивающие силы (сил Ван-дер-Ваальса) начинают действовать когда зонд приближается к поверхности образца, чем ближе зонд, тем больше силы. Сила притяжения будет возрастать, но, если атомы зонда и образца приблизятся настолько, что электронные оболочки будут перекрываться, то появится отталкивающая электростатическая сила. Если продолжать сближать атомы, то электростатические силы отталкивания экспоненциально возрастают, что повлечет ослабление силы притяжения. Эти силы уравниваются при расстоянии между атомами около 0,2 нм [3, 38].

Адсорбционный слой на поверхности исследуемого образца оказывает серьезное влияние на взаимодействия зонда и образца. В случае проведения исследований на воздухе поверхность образца покрывается слоем атомов. Он состоит из различных компонентов воздуха, например, воды и веществ, оседающих на образец при изготовлении или транспортировке в камеру АСМ. Этот слой оказывает большое влияние на разрешающую способность микроскопа.

Адсорбционный слой заставляет притягиваться зонд к образцу из-за капиллярного притяжения [14]. Этот эффект наблюдается и при отведении образца. В данных условиях на экспериментальной кривой $F(R)$ может отображаться гистерезис, это обусловлено тем, что сила зонда -

образец различается при приближении зонда и его отводе. Из-за этого проведение исследований может затрудниться [6].

То как зонд будет взаимодействовать с образцом будет зависеть от формы острия зонда. На зонд с большим радиусом сильнее будет действовать сила капиллярного взаимодействия, т.к. у него больше площадь соприкосновения с адсорбционным слоем. Также большое влияние на величину сил взаимодействия между зондом и образцом оказывает материал данного образца. На разных материалах адсорбционный слой может образовываться по-разному. Если материалы накапливают статическое электричество, это тоже оказывает влияние на зависимость $F(R)$ [6].

Изображение рельефа поверхности образца получается вследствие регистрации небольших деформаций упругой консоли кантилевера. Для регистрации деформации кантилевера оптические методы.

При работе с атомно-силовым микроскопом важно точно знать рабочее расстояние между зондом и образцом, приближать зонд к образцу с высокой точностью. Это осуществляют при помощи манипуляторов – сканирующих элементов (сканеров). Сканеры изготавливаются из пьезоэлектриков. Это материалы, обладающие пьезоэлектрическими свойствами. Пьезоэлектрики имеют свойство менять размеры при приложении к ним электрического поля. Пьезокерамика изготавливается при спекании кристаллических сегнетоэлектриков в виде порошка. Поляризация керамики возникает при нагреве выше температуры Кюри (для большинства пьезокерамик это температура менее 300°C), после чего медленно охлаждают в довольно сильном электрическом поле. Вследствие этого пьезокерамика имеет наведенную поляризацию. В СЗМ широко применяются трубчатые пьезоэлементы в виде полых тонкостенных цилиндров.

Пьезокермика имеет недостатки, отрицательно влияющие на сканирование.

Основные факторы, приводящие к неточностям при измерениях расстояний в СЗМ:

1. Нелинейность пьезоэлектрических свойств. При сильных управляющих полях деформация-сложная функция внешнего электрического поля.

2. Ползучесть (или крип – от англ. creep) пьезокерамики – запаздывание реакции на изменение величины управляющего электрического поля. Вследствие данного явления в СЗМ изображениях может наблюдаться искажение в геометрии. Сильно это видно при выводе сканера в точку для проведения локальных измерений, а также на начальных этапах сканирования. Для борьбы с данным явлением применяются временные задержки, которые позволяют скомпенсировать запаздывание сканера.

3. Гистерезис пьезокерамики – неоднозначность зависимости удлинения от направления изменения электрического поля. Для предотвращения искажений АСМ изображений, регистрацию информации во время сканирования рельефа образцов производят только на одной из ветвей зависимости $\Delta Z = f(V)$.

4. Термодрейф – из-за изменения температуры окружающей среды или нагрева каких-либо рабочих частей АСМ может возникать нестабильность положения иглы кантилевера над поверхностью образца. Как известно, нагрев твердого тела приводит к возникновению термоупругих деформаций. Для того, чтобы уменьшить термодрейф применяются термостатирование измерительных головок АСМ, также вводят в конструкцию головок термокомпенсирующие элементы.

5. Увеличение поперечных размеров. Зонд имеет значительные размеры по сравнению с масштабом изучаемого рельефа образца. Из-за этого необходимо учитывать форму зонда. Так же может возникать деформация образца из-за зонда [3].

Между режимами работы кантилевера есть несколько принципиальных отличий. В одной случае зонд может касаться поверхности исследуемого образца, в другом случае нет. По этой причине можно классифицировать режимы: контактный (при котором зонд и образец испытывают отталкивающие силы межатомного взаимодействия), бесконтактный (притягивающие силы) и полуконтактный. Так же кантилевер может совершать механические колебания или не совершать. Следовательно, режимы так же можно разделить на статический (кантилевер не совершает колебаний) и динамический (кантилевер колеблется вдоль вертикальной оси z).

Статический режим

Данный режим подразделяется на два метода. Разделение это происходит по формированию данных о рельефе. Первый метод – постоянной высоты. В нем данные об изгибах консоли непосредственно используются для того, чтобы сформировать рельефа поверхности образца. Во втором, методе постоянной силы, деформацию консоли кантилевера используют как входной параметр для системы обратной связи. Эта система поддерживает величину этого отклонения постоянной.

Метод постоянной силы.

Система обратной связи в данном методе нужна, чтобы поддерживать постоянную величину деформации кантилевера при сканировании. Силу зонд-образец за счет вертикальных перемещений сканера (вдоль оси z) с образцом также поддерживается постоянной. Вследствие чего, вертикальные перемещения сканера отражают рельеф поверхности образца.

Практически со всех случаях можно использовать этот режим. Вероятности удара зондом об образец гораздо меньше, если сравнивать этот метод с методом постоянной высоты. К сожалению, скорость сканирования ограничена скоростью реакции системы обратной связи.

Метод постоянной высоты

Основание кантилевера во время проведения сканирования поддерживается на постоянной высоте z_{cp} над образцом. В каждой точке регистрируется деформация консоли Δz . Этот изгиб пропорционален силе зонд-образец. Так отклонение зонда отображает рельеф поверхности образца. Обратная связь здесь выключена. Этот метод можно применять лишь при исследовании образцов с малым перепадом высот (менее 1 нм). С другой стороны, этот метод очень хорош, когда нужна высокая скорость при сканировании, т.е. когда нужно проводить исследования в реальном времени с быстро протекающими процессами [1].

Динамический режим

В динамическом режиме присутствуют механические колебания консоли кантилевера. Эта частота должна быть приближена к резонансной в пределах 30...300 кГц. Амплитуда несколько нанометров. Резонансной частота зависит от внешней силы. Следовательно, амплитуда изменяется, потому что меняется также Ван-дер-Ваальсова сила. Притягивающая сила, которая при этом возникает дает приращение к амплитуде упругих колебаний консоли и уменьшает величину резонансной частоты, когда колеблющийся зонд приближается к образцу. Если и дальше двигать зонд ближе к возникнет отталкивающая сила. Она будет менять характеристики механических колебаний консоли, такие как амплитуда колебаний и величина резонансной частоты в противоположную сторону. Во время проведения сканирования образца в данном режиме система обратной связи АСМ сохраняет постоянной либо амплитуду, либо резонансную частоту консоли при помощи передвижения зонда и образца вверх или вниз. Полученные данные о движениях сканера будут использованы для формирования изображения с рельефом поверхности. Для этого в данном методе можно использовать не только данные о перемещениях сканера, но и данные об изменениях в процессе сканирования, такие как амплитуда или частота колебаний консоли. Регистрация изменений амплитуды или частоты

дает возможность оценить упругие свойства поверхности исследуемого образца и их величины.

Контактный режим

В данном режиме, игла кантилевера АСМ касается поверхности образца. Кривая межатомного взаимодействия в области отталкивания резко возрастает. Отталкивающая сила настолько велика, и поэтому может уравновесить даже очень большую силу, приложенную к зонду для того чтобы сблизить их с образцом. Это означает, что какой бы величины не была сила, приближающая зонд, ей все равно не удастся сблизить их с образцом, но может возникнуть деформация консоли кантилевера. Но скорее деформироваться может сам образец. В контактном режиме отталкивающая сила межатомного взаимодействия уравновешивается другими силами. А именно капиллярной или изгибной (консольной). Величина и знак изгибной силы зависит от жесткости и отклонений консоли. Изгибная сила – переменная, а капиллярная постоянная. Давят на поверхность образца обе эти силы. Самый большой недостаток данного режима – соприкосновение зонда и поверхности. Такое взаимодействие может спровоцировать поломку зонда или разрушение поверхности мягких объектов [6].

Бесконтактный режим

В бесконтактном режиме упор сделан на притягивающие Ван-дер-Ваальсовы силы между зондом и поверхностью исследуемого образца. Расстояние между зондом и поверхностью обычно примерно 5...10 нм. Данный метод предполагает использование более жесткой консоли. Это нужно для того, чтобы зонд не прилип к поверхности образца во время сканирования (на очень малом расстоянии). Но есть и минус очень жесткая консоль будет отклоняться меньше, при малых силах. Для предотвращения этого используется довольно чувствительная схема для детектирования. В данном режиме работы очень важную роль играет сила адгезии. Если сравнить изображения одного образца, полученного бесконтактным и контактном методом при наличии влаги на поверхности образца, то получим

совершенно разные картины. Из-за того, что контактный метод как бы проникает через слой влаги его картина будет более точной. А в бесконтактном зонд будет исследовать поверхность влаги.

Полуконтактный динамический режим

Для проведения измерений наиболее часто используют этот режим колебаний балки кантилевера. Также можно обозначить его как прерывисто-контактный. Консоль с зондом раскачивается генератором механических колебаний (пьезокерамическим генератором, расположенном в месте крепления кантилевера, или магнитным полем). Большую часть периода колебаний зонд никак не взаимодействует с исследуемым образцом. В тот момент, когда зонд соприкасается с поверхностью образца амплитуда колебаний и фаза консоли меняются. Как правило, консоль раскачивают на частоте близкой к резонансной и амплитудой порядка 10...100 нм. Обратную связь нужно поддерживать исходя из амплитуды колебаний или по параметру отклонения фазы колебаний кантилевера относительно первичного сигнала. В нижнем полупериоде колебаний зонд касается поверхности образца, что соответствует области отталкивания на графике зависимости силы межатомного взаимодействия от расстояния (рисунок 2). Из-за касания в нижней точке локальная жесткость поверхности исследуемого образца начинать играть большую роль в изменении амплитуды и фазы колебаний консоли кантилевера. При сканировании в данном методе система обратной связи поддерживает постоянной амплитуду колебаний кантилевера чуть меньше, чем резонансная. Рельеф поверхности вырисовывается при перемещении сканера с образцом по оси z. Также при сканировании образца в каждой точке регистрируют изменение фазы колебаний кантилевера. Его записывают как распределение фазового контраста, то есть распределения значения упругости материала образца по площади поверхности сканирования. Полуконтактный метод позволяет измерять в процессе сканирования распределение вязкости и упругости, электрических и магнитных доменов.

1.3 Обзор биологических и синтетических материалов для хирургии

Круг материалов, используемых в медицине, весьма широк и включает материалы природного и искусственного происхождения, среди которых – металлы, керамики, синтетические и естественные полимеры, различные композиты [15, 16]. Материалы, предназначенные для контакта со средой живого организма и используемые для изготовления медицинских изделий и устройств, получили название «биоматериалы». Несмотря на значительные успехи, достигнутые в биоматериаловедении к настоящему моменту, такие материалы все еще остродефицитны, и пока не удалось создать субстанции, полностью совместимые с живым организмом [30, 33, 34].

Одно из основных требований, предъявляемых к материалам медицинского назначения, они должны быть биологически совместимыми с живым организмом. Это материалы, которые при вживлении в организм и пребывая в нем длительное время, не вызывают негативных реакций в нем.

Перспективными соединениями для реконструктивной хирургии костной ткани является коллаген, который составляет до 90% органического вещества кости [21]. Коллаген – это фибриллярный белок, составляющий основу соединительной ткани организма и обеспечивающий ее прочность и эластичность [22]. В костной ткани представлен только коллаген типа I, который имеет меньше поперечных связей, чем в других видах соединительной ткани. В качестве материала для костной пластики используют как нативный коллаген, так и денатурированный, в виде желатина. Очевидными достоинствами коллагена как природного полимера для костной пластики являются: отсутствие иммунной, аллергической, воспалительной реакции на имплантацию [36]. К главным недостатками коллагена следует отнести скорость его биорезорбции так как она значительно выше, чем восстановления костной ткани, хотя это устраняется введением сшивок между полипептидными цепями, а также плохие механические свойства. Однако коллаген не подходит для восстановления

больших костных дефектов, как самостоятельный материал, и в настоящее время разработан ряд коммерческих биокompозитных материалов на основе коллагена и гидроксиапатита (фирмы «Collagen Corp.», «Palo Alto», США) преимущественно только для стоматологии.

Природные материалы на основе хитина и хитозана распространены в костной пластике благодаря биосовместимости, биорезорбируемости, высокой сорбционной емкости и умеренным антибактериальным свойствам. Хитин – природное соединение, полимер, построенный из остатков N-ацетил- β -D- глюкозамина связанных между собой(1 $\rightarrow$ 4) гликозидными связи. Его получают извлечением из панцирей морских ракообразных, насекомых и губок.

Хитозан – линейный полисахарид, производный хитина, который получают в результате ферментативного N-деацетилирования. Основными преимуществами хитина и хитозана является легкость переработки в разные типы клеточных носителей, такие как гранулы, гели, микрочастицы, наночастицы, нановолокна; пористая структура с взаимосвязанными порами, способность стимулировать остеогенез [5, 7, 8, 37].

Однако, получение хитозана это трудоемкий и затратный процесс комплексного очищения от белковой и минеральной составляющей панциря членстоногих, при этом процесс не совершенен, требует улучшений. Еще одним недостатком является ограниченная растворимость в органических растворителях. Хитозан не обладает хорошими механическими свойствами, что ограничивает его использование как самостоятельного материала для клеточных носителей. Однако, химические модификации хитозана и применение его в качестве композитов с другими природными и синтетическими полимерами направлены на преодоления этого ограничения [12, 17, 18].

Биокерамика – большой класс неорганических неметаллических материалов. По химическому составу делится на две группы: фосфаты кальция и другие материалы, включающие в том числе циркониевую

керамику, стабилизированную иттрием, и алюминиевую керамику, силикаты и фосфаты, относящиеся к стеклами кристаллическим стеклам (стеклокерамике) [19].

Стеклокерамика применяется в меньшей степени и классифицируется на биоактивное стекло (состоящее преимущественно из 24,5 % Na_2O , 24,5 % CaO , 45,0 % SiO_2 , 6 % P_2O_5) и биоактивную стеклокерамику. Изделия на основе биостекла и стеклокерамика при имплантации в кость не капсулируются, а находятся в непосредственном контакте с костной тканью [23]. Биологическая активность этих материалов объясняется образованием апатитового слоя на поверхности биостекла в биологической среде. Способность регенерации костной ткани определяется составом биостекла, что продемонстрировано на крысах с дефектом свода черепа в исследовании [27]. На мировом рынке представлены следующие материалы на основе биостекла и биокерамики: «Biogran», «Perio Glas», «Vitoss», «Interpore-200», «Interpore-500», «Calcitite- 2040», «Ostrich NR» (США), «Ceros-80» (Швейцария), «Ospro-vit 1,2» (Германия), «БАК-1000», «Гидроксияпол», «Биальгин» (Россия), «Bioapatite» (Франция) [6, 25]. К сожалению, ограничивающим фактором в использовании биоактивных стекол является их низкая прочность, что не позволяет их использовать для создания крупных нагружаемых изделий. Не давние исследования показали, что данная проблема решается за счет оптимизации состава и условий переработки материала [32]. Следующими ограничивающими факторами являются хрупкость, ударная вязкость.

Полиметилметакрилат – прозрачный термопластик его плотность около 1,17-1,30 г/см³, имеет хорошую ударную прочность выше, чем стекла и полистирола, растворяется во многих органических растворителях, его биостабильность превосходит большинство других пластмасс, таких как полистирол и полиэтилен. Также полиметилметакрилат имеет хорошую совместимость с тканями человека. В ортопедической хирургии, данный полимер используется в качестве костного цемента для

прикреплении имплантатов и реконструкции утраченной кости. Недостатком данного костного цемента является то, что происходит нагрев до 82,5°C и при установке, это может вызвать тепловой некроз смежных тканей [9, 49].

Полимерный материал политетрафторэтилен (ПТФЭ) обладает потенциалом в области биомедицины благодаря высокой гибкости и упругости, химической инертности, высокой термической стабильностью, низкой теплопроводностью, а также био- и гемосовместимостью [1,26]. Следует отметить такие недостатки ПТФЭ в качестве имплантационного материала, как его низкие гидрофильные свойства, низкую адгезию клеток организма и полное отсутствие способности устанавливать связь с клетками костной ткани и обеспечивать остеоинтеграцию без образования соединительнотканной прослойки [3, 20]. Однако в литературе встречаются работы, в которых данные недостатки решены с помощью модификации конструкций из ПТФЭ путем нанесения на них покрытия из различных материалов [29].

В настоящее время важная роль в инженерии костной ткани отведена полимерным материалам, способным к биodeградации – природным полиэфирам молочной, гликолевой и других кислот.

Одними из первых стали использовать биodeградируемые синтетические биоматериалы на основе полимеров монокарбоновых кислот – молочной (полилактиды) и гликолевой (полигликолиды), а также и продукты их сополимеризации [6].

Полилактид – биodeградируемый, термопластичный, алифатический полиэфир, который может быть получен ферментативным брожением сахаров или химическим синтезом. Лактид обладает оптической активностью и может существовать в виде стереоизомеров L-лактида, D-лактида и рацемических форм LD-лактида. L-лактид применяют в тех случаях, когда требуется высокая механическая прочность и ударная вязкость, например как материал для различных ортопедических изделий. Следует отметить и

недостатки данного полимера, что продукт его распада (молочная кислота) вызывает локальное закисление. При применении данного материала не исключены местные воспалительные и остеолитические реакции.

В последнее время внимание исследователей стали привлекать биополимеры гидроксипроизводных алкановых кислот (полигидроксиалканоаты), полученные в условиях биотехнологического биосинтеза [10, 31]. Скорость биорезорбции данных полимеров *in vivo* существенно ниже, чем у известных биоразрушаемых биоматериалов (полилактида, полигликолида), а прочностные характеристики выше, и имеется принципиальная возможность использования этих полиэфиров для длительно текущей регенерации крупных и сложных костных дефектов и повреждений [6, 25].

За последние годы, полигидроксиалканоаты используются для разработки многочисленных конструкций в различных областях медицины, включая шовный материал, шовные крепежные детали, костные пластины и их системы, хирургические сетки, заплатки, стропы, ортопедические штифты, стенты, управляемые устройства регенерации тканей, клапаны вен, связки и сухожильные трансплантаты, заменители костные дюбеля, перевязочный и кровоостанавливающий материал. [42].

Многочисленные исследования показали, что материал на основе полигидроксиалканоатов способствует новообразованию костной ткани, а также деградирует со скоростью адекватно приближенной к росту новой ткани, постепенно замещается ею, обеспечивая нормальное протекание репаративного остеогенеза [2].

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Материалы исследования

В работе использовали образцы высокоочищенных ПГА различного химического состава, полученные в Федеральном государственном учреждении науки «Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства».

Группа 1 – гомополимер поли-3-гидроксibuтират (ПЗГБ)

Группа 2 – сополимер поли-3-гидроксивалерата (ПЗГВ)

Группа 3 – поли-3-гидроксигексаноата (ПЗГГ)

Группа 4 – поли-4-гидроксibuтирата (П4ГБ)

На основе высокоочищенных образцов ПГА были получены изделия разной формы: пленочные матриксы, 3D-пористые и прессованные матриксы.

Микроструктуру поверхности пленок исследовали на автоматизированном ACM SOLVER NEXT [24, 35].

Пленочные матриксы были получены методом полива 2% раствора полимера в хлороформе (0,4г навески полимера/20мл растворителя) на обезжиренную поверхность чашек Петри. Высушивали пленки в беспылевом боксе-ламинаре (Labconco, США) при комнатной температуре в течение нескольких суток.

Пористые матриксы получали с использованием метода выщелачивания. Кусочки сахара ($0,5 \times 0,5 \times 0,5$ см) пропитывали 3% раствором полимера в хлороформе, далее высушивали, при комнатной температуре. После испарения растворителя образцы промывали в дистиллированной воде до полного удаления сахарозы.

Для получения прессованных матриксов образцы высокоочищенного ПГА измельчали на лабораторной мельнице. Методом холодного прямого прессования на лабораторном автоматизированном

прессе Carver Auto Pellet 3887 («Carver», США) при условиях силы равной 8000 F, получали таблетированные формы.

2.2 Методы исследования

2.2.1 Методы исследования поверхностных свойств материалов

Свойства поверхности пленочных образцов: краевой угол, поверхностная энергия, дисперсная составляющая, полярная составляющая, рассчитывали с помощью прибора для измерения краевых углов DSA-25E (Krüss, Германия), с использованием программного обеспечения DSA-4 для Windows. Для изучения свойства поверхности на вырезанную из пленочных образцов полоску (1 × 4 см) поочередно наносили капли жидкости с разной полярностью (вода, дийодметан). Момент взаимодействия жидкости и поверхности фиксировали на видеокамеру, и далее обрабатывался в программном обеспечении. Для каждой поверхности проводили не менее 5 измерений; рассчитывали краевой угол, поверхностную энергию, дисперсную составляющую, полярную составляющую, смачивание, определяли среднее значение и стандартное отклонение.

2.2.2 Методы исследования физико-механических свойств материалов

Физико-механические исследования на прочность и деформацию проводили с помощью универсальной электромеханической испытательной машине Инстрон 5565 (Великобритания). Измеряли модуль Юнга (МПа), предел прочности (МПа), нагрузку при разрушении (Н) и деформацию при разрушении (%).

2.2.3 Метод атомно-силовой микроскопии

Микроструктуру поверхности пленок исследовали на полностью автоматизированном АСМ для научных исследований SOLVER NEXT.

Основным преимуществом данного АСМ над другими является его максимальная автоматизация, которая обеспечивается 14ю высокоточными шаговыми двигателями, управляющими всеми подвижными частями микроскопа. Кроме того, такие операции как наведение лазера на кантилевер, позиционирование образца, точный подвод и настройка рабочих параметров происходит автоматически.



Рисунок 1. Общий вид АСМ SOLVER NEXT

Особенностью SOLVER NEXT является наличие двух встроенных измерительных головок (СТМ и АСМ) с автоматической настройкой в рабочем положении [28]. Конструкция также предусматривает установку дополнительных измерительных головок для жидкостных и наносклерометрических измерений. Встроенный оптический видеомикроскоп имеет моторизованную фокусировку и трансфокатор. Выбор зоны наблюдения также моторизован.

На рисунке 2 показаны основные элементы измерительного блока SOLVER NEXT [41].

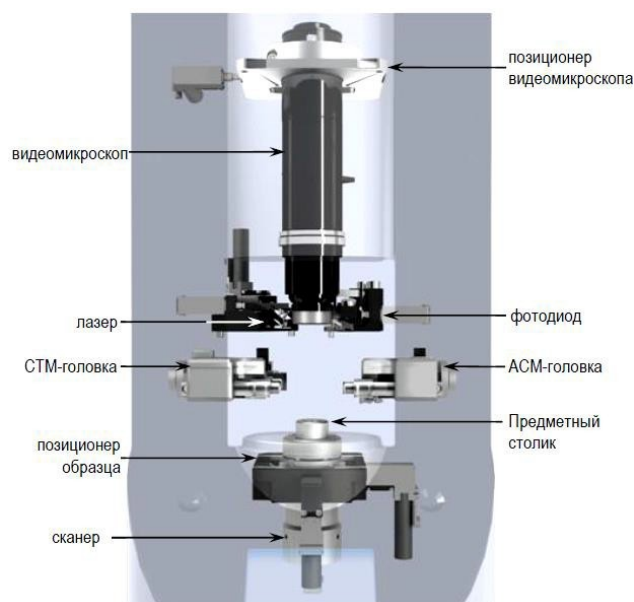


Рисунок 2. Основные элементы измерительного блока SOLVER NEXT

Исследуемый образец, закрепленный на металлической подложке, устанавливается на держатель образца. Держатель образца, в свою очередь, закреплен на пьезотрубке сканера. Система позиционирования позволяет перемещать образец в плоскости ХУ для выбора участка исследования, а также в вертикальном направлении, для подвода к зонду.

Зондовые датчики для АСМ (рисунок 3) являются крайне важными инструментами измерения, поэтому необходимо особо тщательно подбирать их строго под конкретные цели.

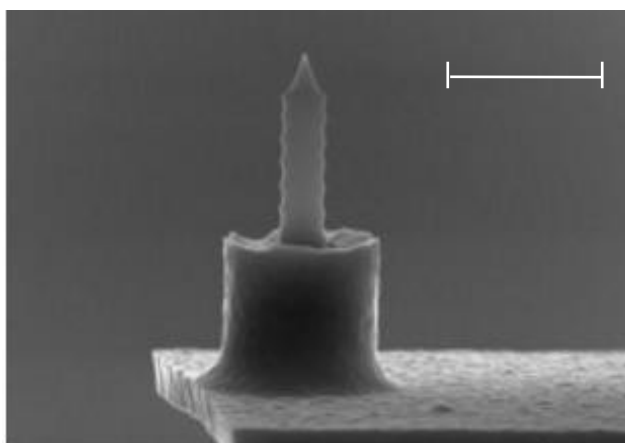


Рисунок 3. Зондовый датчик при увеличении

В данной работе был использован зондовый датчик компании НТ-МДТ серии DCP 01. Название серии означает, что острие зонда покрыто алмазным напылением (diamond coated). Именно такими зондовыми датчиками удастся достовернее всего исследовать самую твердую поверхность – поверхность алмаза [40, 43, 44]. Задняя сторона зонда покрыта слоем золота толщиной 30 - 40 нм, для обеспечения высокой степени отражения лазерного излучения от кантилевера, его размеры составляют $3,6 \times 1,6 \times 0,4$ мм, а высота илы достигает 15 мкм [46, 47, 48, 50].

Также в качестве АСМ выступал микроскоп фирмы NT-MDT. Для понимания требований по работе данного прибора необходимо также знать его технические характеристики, ведь несоблюдение, к примеру, параметров исследуемого образца (его максимальный вес, размер и нагрев), может привести к неисправности устройства и повреждению его рабочих блоков. Технические характеристики представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Технические характеристики C3M Solver Next ($M \pm m$, $n=3$)

Измерительная система	
Встроенные измерительные головки	АСМ, СТМ
Сменные измерительные головки	жидкостная, наносклерометрическая
Система регистрации изгибов кантилевера	автоматизированная настройка
Длина волны лазера системы регистрации	850 нм
Образец	
Размер образца до	$\varnothing 20 \times 10$ мм
Диапазон позиционирования по ХУ	5×5 мм
Способ позиционирования	автоматизированный, с привязкой к видеоизображению
Минимальный шаг	0.3 мкм

позиционирования	
Вес образца до	40 г
Нагрев образца до	150 °С
Система сканирования	
Тип сканирования	образцом
Область сканирования	100×100×10 мкм (± 10 %) 2.2×2.2×10 мкм (± 10 %) (в режиме высокого разрешения)
Относительная погрешность измерений линейных размеров: в плоскости XY по оси Z	не более 1 % (не более 0.1 % с датчиками обратной связи) не более 5 %
Нелинейность сканирования в плоскости XY (с датчиками обратной связи)	не более 0.1 %
Шум (СКО в полосе 1 ÷ 200 Гц) в плоскости XY	не более 0.3 нм (типично 0.2 нм) не более 0.001 нм (в режиме высокого разрешения)
Шум (СКО в полосе 10 ÷ 1000 Гц) по оси Z:	не более 0.04 нм (не более 0.02 нм в режиме высокого разрешения)
Видеомикроскоп	
Диапазон позиционирования	5×5 мм
Шаг позиционирования	0.3 мкм
Разрешение	2 мкм
Поле зрения	3.4 ÷ 0.53 мм
Габариты и вес	
Габариты измерительного блока	Габариты измерительного блока 321×214×480 мм
Вес	30 кг
Параметры электропитания	

Напряжение	110/220 В
Потребляемая мощность	не более 400 Вт

Условия эксплуатации

Для размещения АСМ требуется помещение общей площадью не менее 6 кв. м, с классом чистоты не хуже 8 (по ГОСТ Р ИСО 14644-1-2002).

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

3.1 Результаты исследования поверхностных свойств материалов

Важным показателем, который характеризует биологическую совместимость и оказывает влияние на адгезию и жизнеспособность клеток, является гидрофильно/гидрофобный баланс поверхности материалов. Результаты определения свойств поверхности полимерных пленок (смачиваемости и энергетических характеристик поверхности), которые получены на базе измеренных контактных углов, представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Свойства поверхности пленочных матриц из ПГА

Состав	Краевой угол (вода), град	Поверхностная энергия, мН/м	Дисперсная составляющая, мН/м	Полярная составляющая, мН/м
П(ЗГБ)	$73,4 \pm 1,37$	$39,5 \pm 0,93$	$48,4 \pm 0,74$	$4,4 \pm 0,36$
П(ЗГБ/П4Г Б) 90/10 мол. %	$56,1 \pm 1,10$	$57,4 \pm 2,44$	$42,4 \pm 0,39$	$6,8 \pm 0,25$
П(ЗГБ/ЗГВ) 89,9/10,1 мол. %	$64,4 \pm 1,6$	$43,2 \pm 1,41$	$47,5 \pm 0,80$	$4,5 \pm 0,74$

Величина краевого угла смачиваемости водой поверхности пленки из сополимера П(ЗГБ/4ГБ) была ниже, чем у пленки из П(ЗГБ) $73,4 \pm 1,37^\circ$, и составила $56,1 \pm 1,10^\circ$; у П(ЗГБ/ЗГВ) – $64,4 \pm 1,6^\circ$. Поверхностная энергия также важная характеристика, способная влиять на поведение клеток и взаимодействие полимерного материала с тканями макроорганизма. В ходе исследования пленочного материалов из ПГА различного химического состава показано, что наиболее низкие значения поверхностного натяжения и полярной составляющей характерны для гомополимера (39,5 и 4,8 мН/м соответственно), имеющих по этому показателю самую низкую гидрофильность (таблица 2). У сополимера П(ЗГБ/4ГБ) эти значения выше: соответственно 57,4 и 6,8 мН/м.

3.2 Результаты исследования физико-механических свойств материалов

Физико-механические характеристики: модуль Юнга (модуль упругости, если на заготовку из известного материала воздействовать некой силой, то материал начинает сопротивляться этому действию: сжиматься, растягиваться или изгибаться. Способность к такому противостоянию можно оценить и выразить математически), предел прочности, нагрузка при разрушении и деформация при разрушении пленочных матриц, представлены в таблице 3.

Таблица 3– Физико-механические характеристики пленочных матриц из ПГА

Состав мол. %	Модуль Юнга, МПа	Предел прочности, Мпа	Нагрузка при разрушении, Н	Деформация при разрушении, %

П(ЗГБ)	$1502,11 \pm 12,45$	$11,63 \pm 2,04$	$14,0 \pm 1,9$	$1,36 \pm 0,37$
П(ЗГБ/П4ГБ) 90/10 мол.%	$1184,45 \pm 10,7$	$25,34 \pm 2,6$	$11,0 \pm 2,14$	$10,6 \pm 1,2$
П(ЗГБ/ЗГВ) 89,9/10,1 мол.%	$1370 \pm 11,7$	$33,12 \pm 3,7$	$14,0 \pm 4,03$	$12,4 \pm 3,0$

Согласно полученным результатам, Модуль Юнга практически в 1,5 раза был выше у пленок из гомополимера П(ЗГБ) по сравнению с сополимерными из П(ЗГБ/4ГБ). При этом предел прочности у сополимерных изделий был выше практически в два раза, а показатель деформации при разрушении – выше на порядок, то есть пленки из П(ЗГБ/4ГБ) и П(ЗГБ/ЗГВ) выдерживают наибольшее механическое напряжение, что, очевидно, связано со структурой сополимеров и их свойствами, прежде всего, сниженной кристалличностью.

3.3 Результаты атомно-силовой микроскопии

Рассмотрим снимки матриц, представленных на рисунке 7.

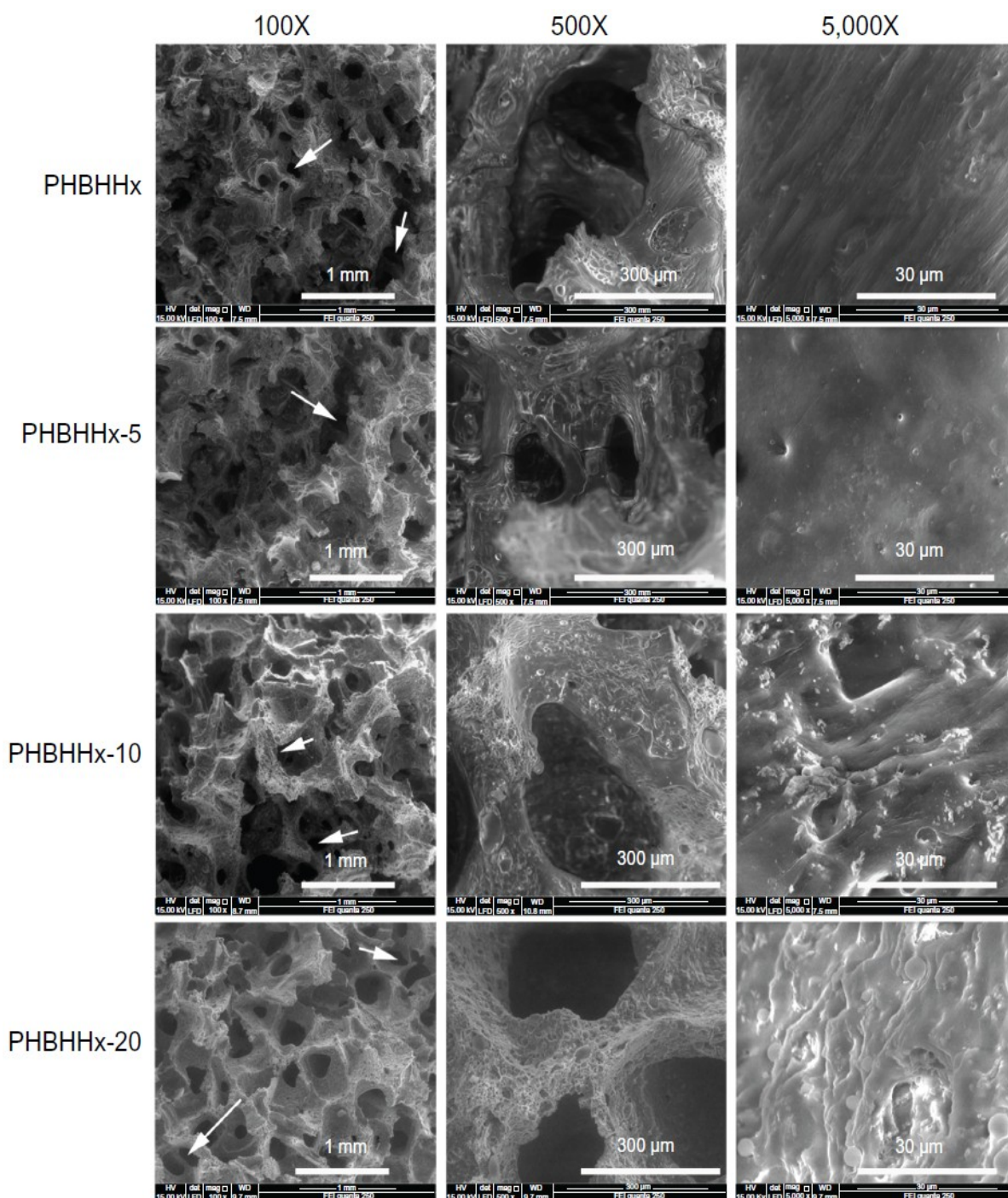


Рисунок 7. Результаты сканирующей электронной микроскопии чистого ПЗГБ (поли-3-гидроксibuтирата) и пористого ПЗГБ (поли-3-гидроксibuтирата) с кремнистыми мезоструктурами

При сканировании чистого ПЗГБ (поли-3-гидроксибутирата) и пористого ПЗГБ (поли-3-гидроксибутирата) с кремнистыми мезоструктурами (рисунок 8) было выявлено, что содержание кремнистой мезоструктурированной ячеистой пены не оказывает существенного влияния на размер пор и взаимосвязи между порами (белые стрелки).

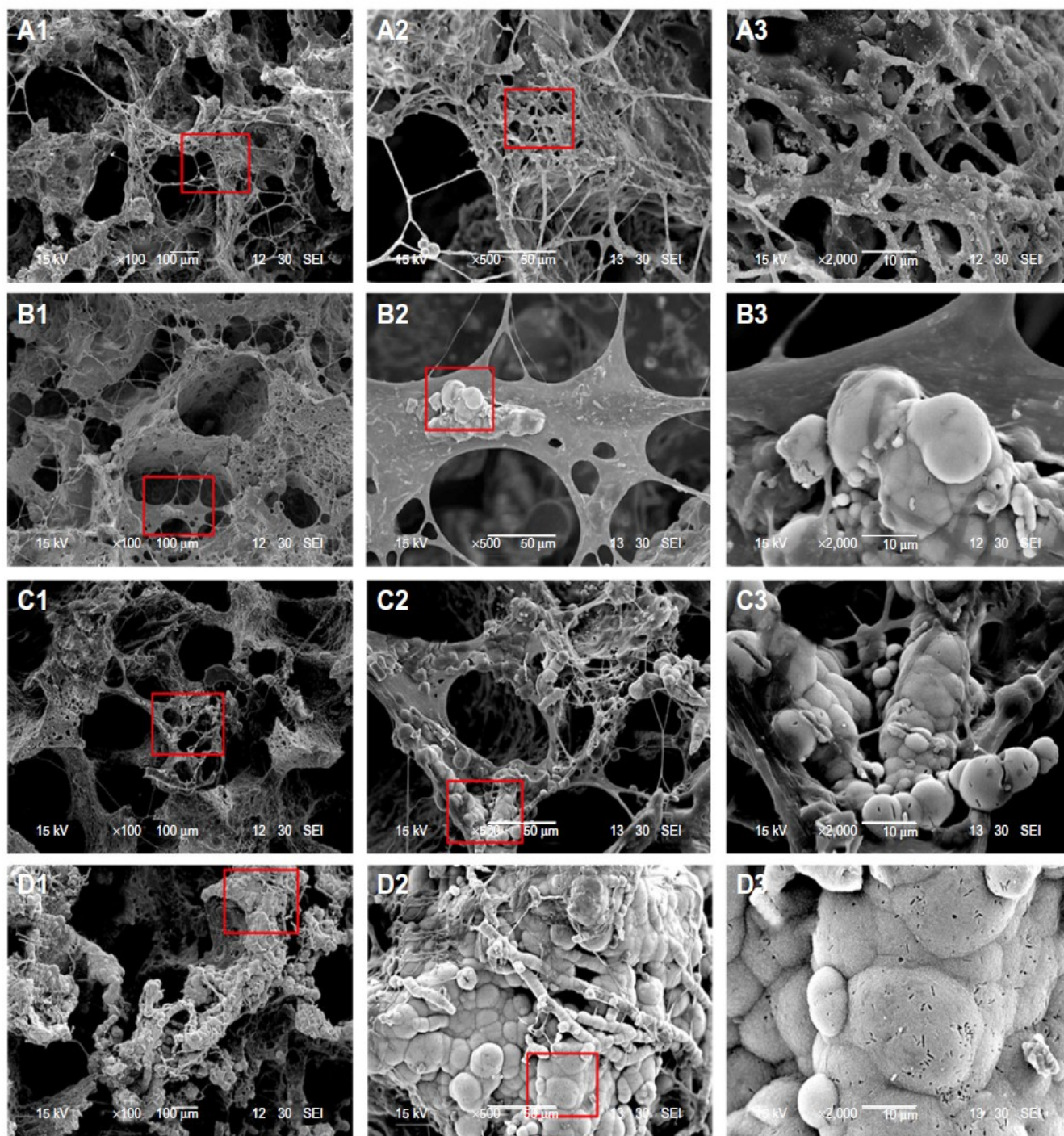


Рисунок 8. Результаты атомно-силовой микроскопии матрикса после погружения в моделируемую жидкость

Никаких очевидных изменений не было видно на поверхности ПЗГБ (А1–А3). На поверхности РНВННх-5 (В1–В3) образовалось несколько частиц. Многие шаровидные частицы образовались на поверхности РНВННх-10 и РНВННх-20 (С1–С3 и D1–D3 соответственно). Красная площадь представляет собой площадь увеличения.

При исследовании синтезированного ПЗГБ были рассмотрены 4 образца, полученные на основе высокоочищенных образцов ПГА разной формы: пленочные матриксы, 3D-пористые и прессованные матриксы. Измерения морфологии поверхности проводились на атомно-силовом микроскопе Solver-NEXT с использованием зонда с алмазным покрытием DCP 01.

Образец №1 (Прессованный матрикс)

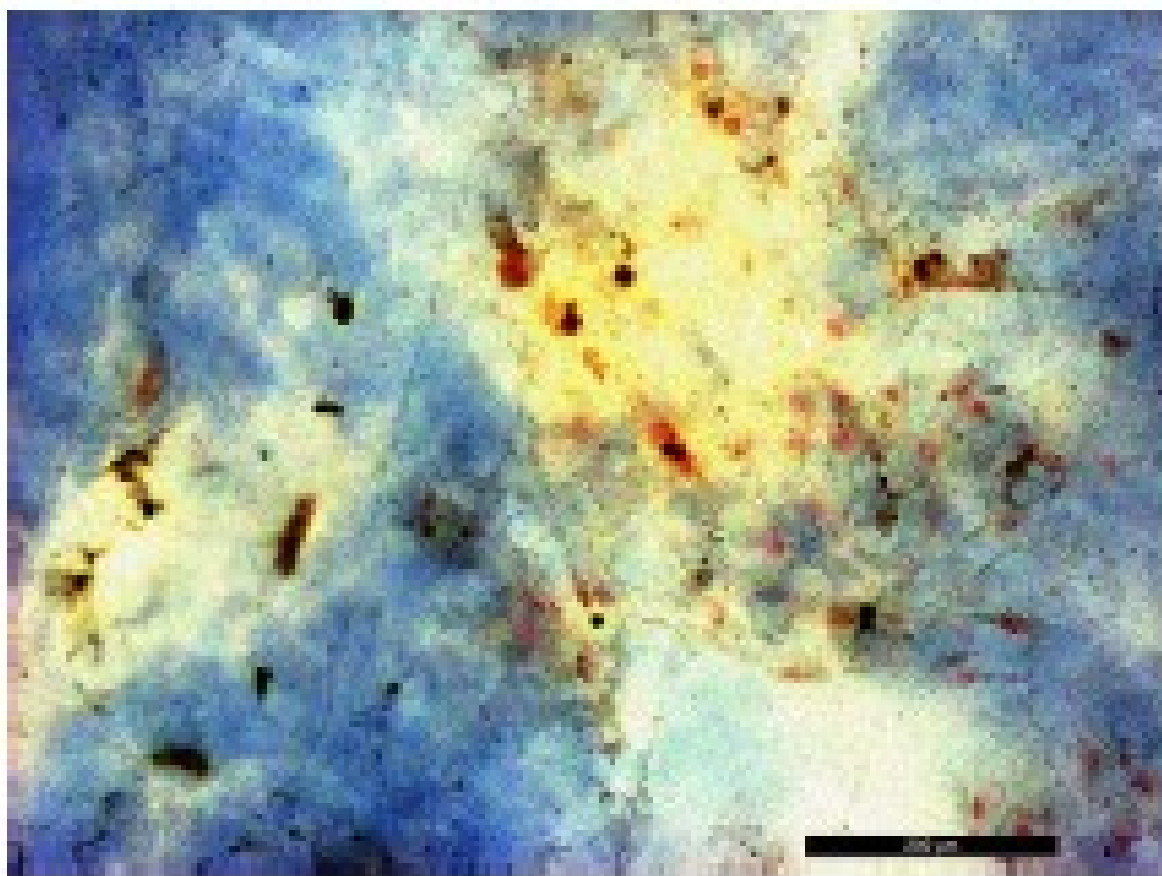


Рисунок 9. Прессованный матрикс

Первым исследовали прессованные матрицы размерами 3х3 мм. На поверхности наблюдаются явные следы прессованных частиц. Также на изображениях присутствовали различные «светлые точки» разного размера – это всякого рода загрязнения поверхности (пылинки).

На рисунке 10 представлен профиль поверхности прессованного матрикс. При его рассмотрении можно заметить волнообразные бугры с чередующимися размерами от 3х до 7 мкм.

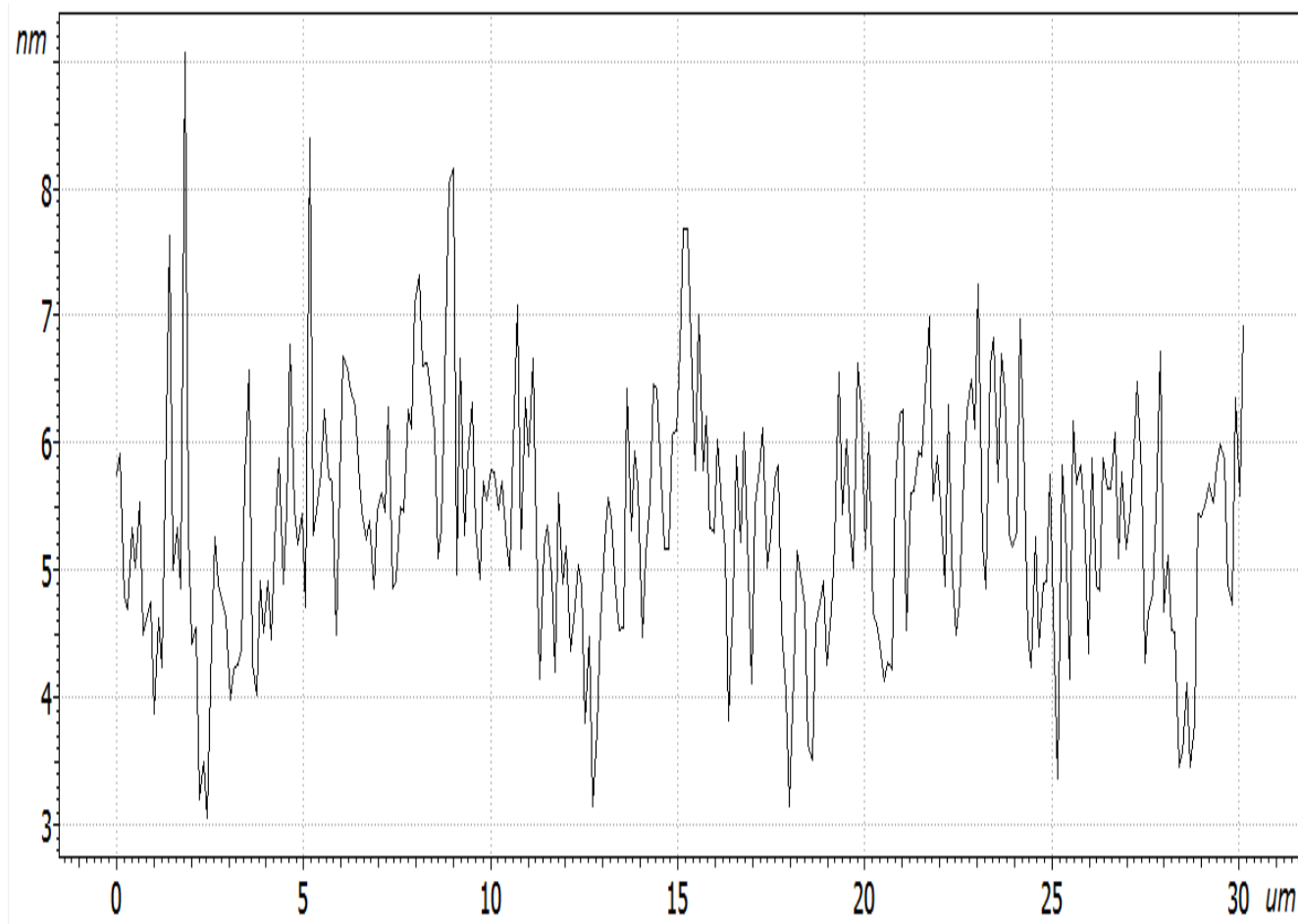


Рисунок 10. Профиль поверхности 1

Эти бороздки представляют собой не что иное, как прессованные частицы, которые были обнаружены и на рисунках. Таким образом, можно оценить приблизительные размеры частиц.

Далее в программе Image Analysis Р9 производилась последующая математическая оценка морфологии исследуемого образца.

В данной программе имеется возможность оценки более 20 различных параметров структуры. Все рассчитываемые параметры входят в ГОСТ 25142-82 и ISO4287-1:1984 [45]. Основными статистическими характеристики морфологии являются: среднеарифметическая шероховатость S_a (нм), средняя квадратичная шероховатость S_q (нм) и средняя высота по пяти самым высоким и пяти самым низким точкам поверхности S_z (нм).

Метод Roughness Analysis, встроенный в программу Image Analysis предназначен для анализа шероховатости поверхности.

С помощью данного метода возможно:

- вычислить основные статистические параметры исходной 2D-функции,
- построить гистограмму распределения значений функции (Histogram),
- построить график кривой распределения значений функции (Peak Distribution).

Стоит отметить, что Roughness Analysis работает в двух режимах: без выделения и с выделением областей на исходном 2D-изображении.

На рисунке 11 изображена гистограмма плотности распределения значений исходной 2D-функции (в нашем случае величина шероховатостей).

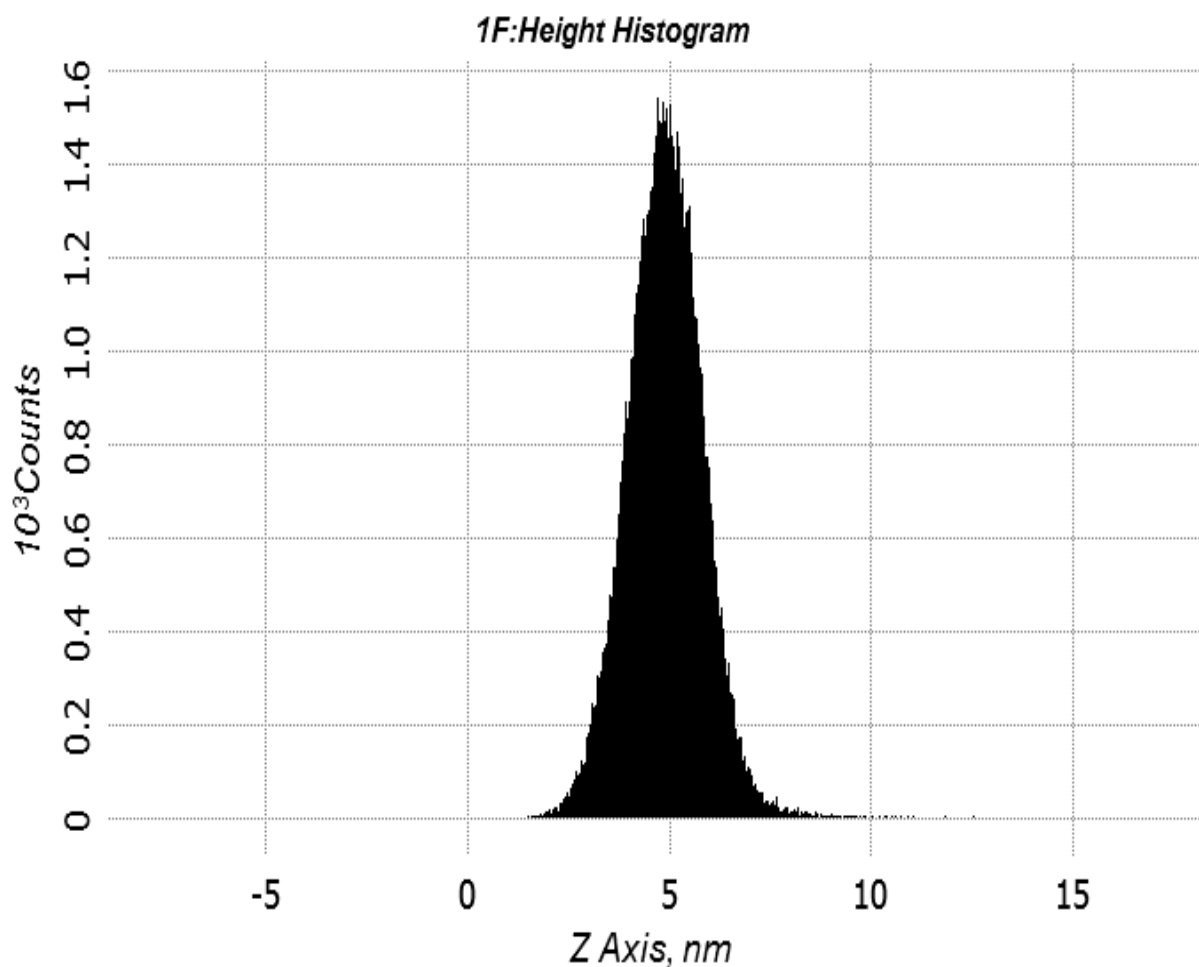


Рисунок 11. Распределение величины шероховатости поверхности для образца 1

В поле под гистограммой отображается значение длины частичного интервала, Histogram step, соответствующее установленному числу частичных интервалов. В нашем случае Histogram step = 0,0376 нм. Из данных гистограммы видно, что средняя величина шероховатости составляет примерно 5 нм.

В этом же диалоговом окне на панели Statistic Parameters отображаются в виде таблицы результаты расчета основных статистических параметров для исходной 2D-функции.

Образец 2 (Прессованный матрикс)

Следующий образец 2 (рисунок 12) также представляет собой прессованные матриксы 3х3 мм. На данном образце также видны следы частиц.

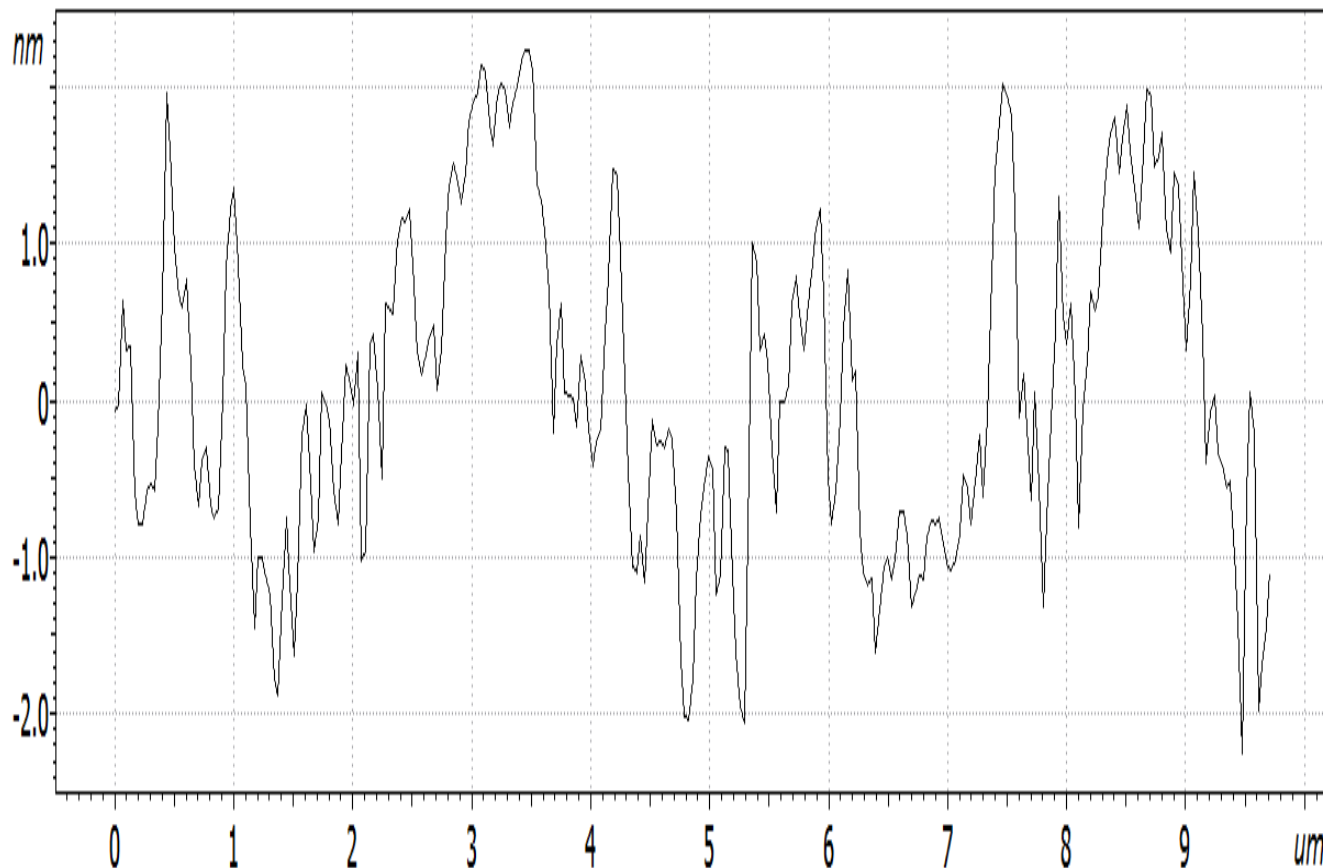


Рисунок 12. Профиль поверхности прессованного матрикса

По проанализированной гистограмме распределения высот шероховатостей, было выяснено, что средняя шероховатость лежит в пределах 5 нм, Histogram step = 0,0165 нм. По статистическим параметрам образца 2 $S_a = 0,92$ нм и $S_z = 9,906$ нм.

Образец 3 (3D-пористый матрикс)

Образец 3 представляет собой пластину размерами 3х3 мм с заметными порами: голубой участок (рисунок 13).

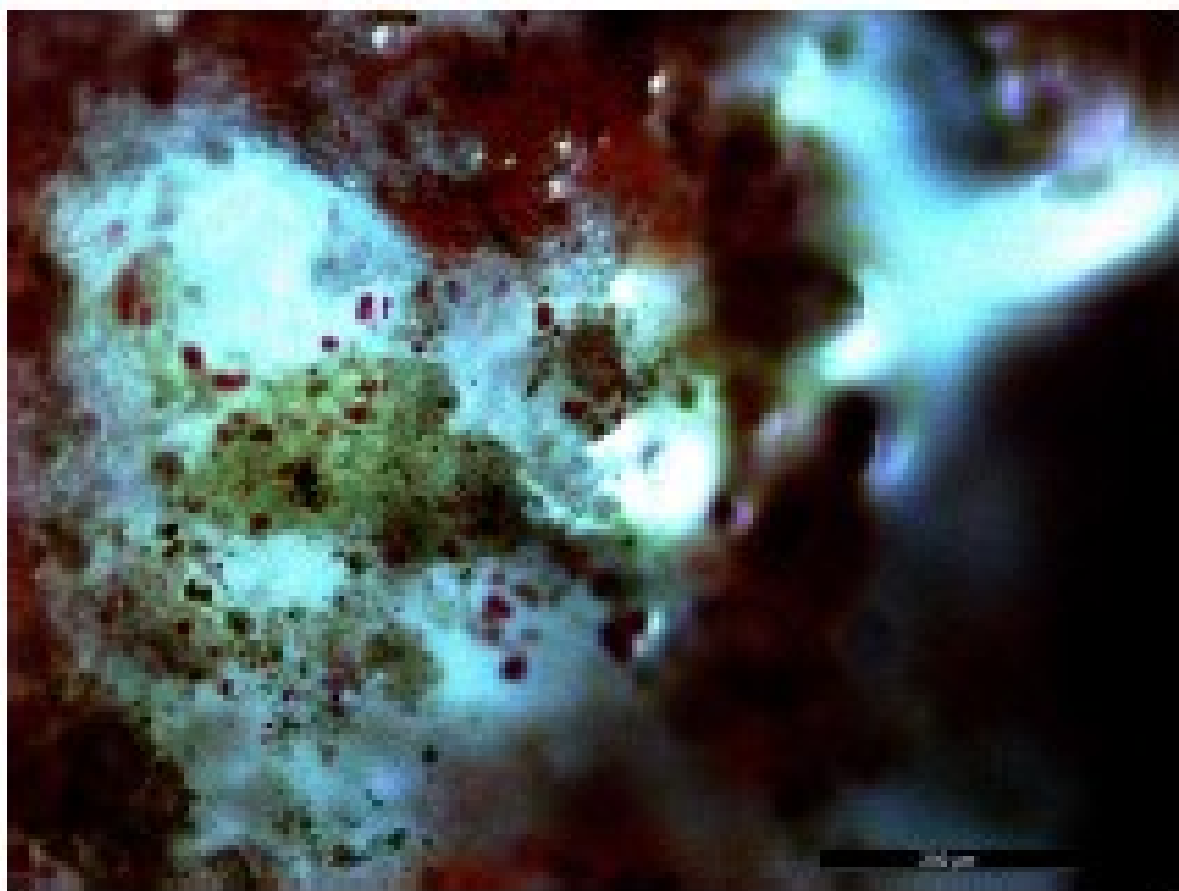


Рисунок 13. 3D-пористый матрикс

У данного образца отчетливо видны поры. Данного рода структура могут говорить о соблюдении технологического процесса создания данного образца.

На рисунке 14 представлен 3D-скан и профиль поверхности 3D-пористого матрикса, на котором отчетливо видна пора структуры в виде сужающейся воронки размером 191 нм.

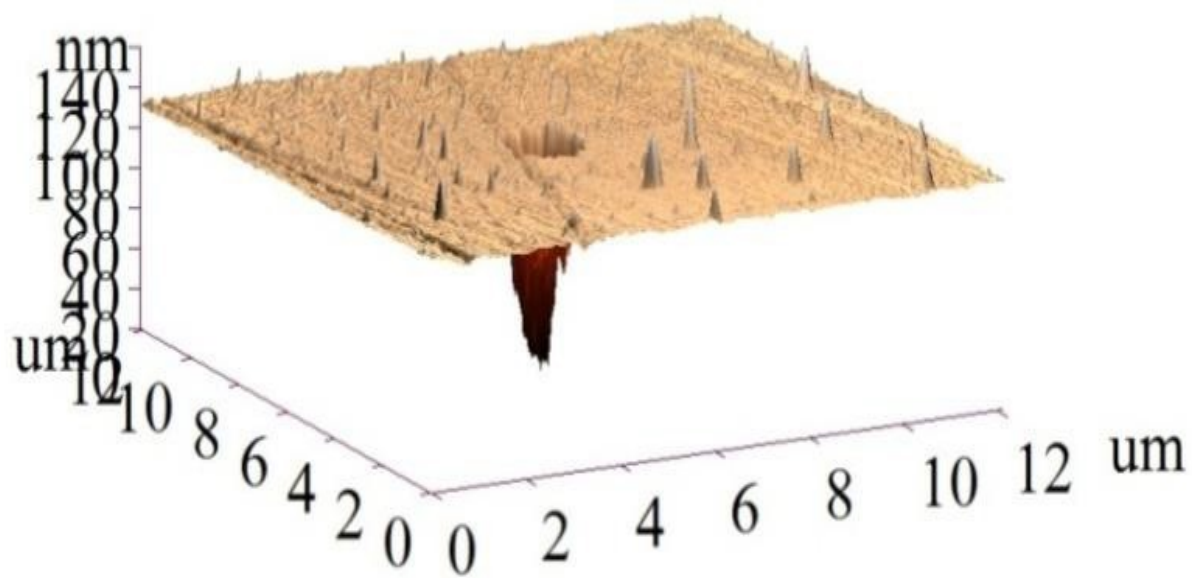
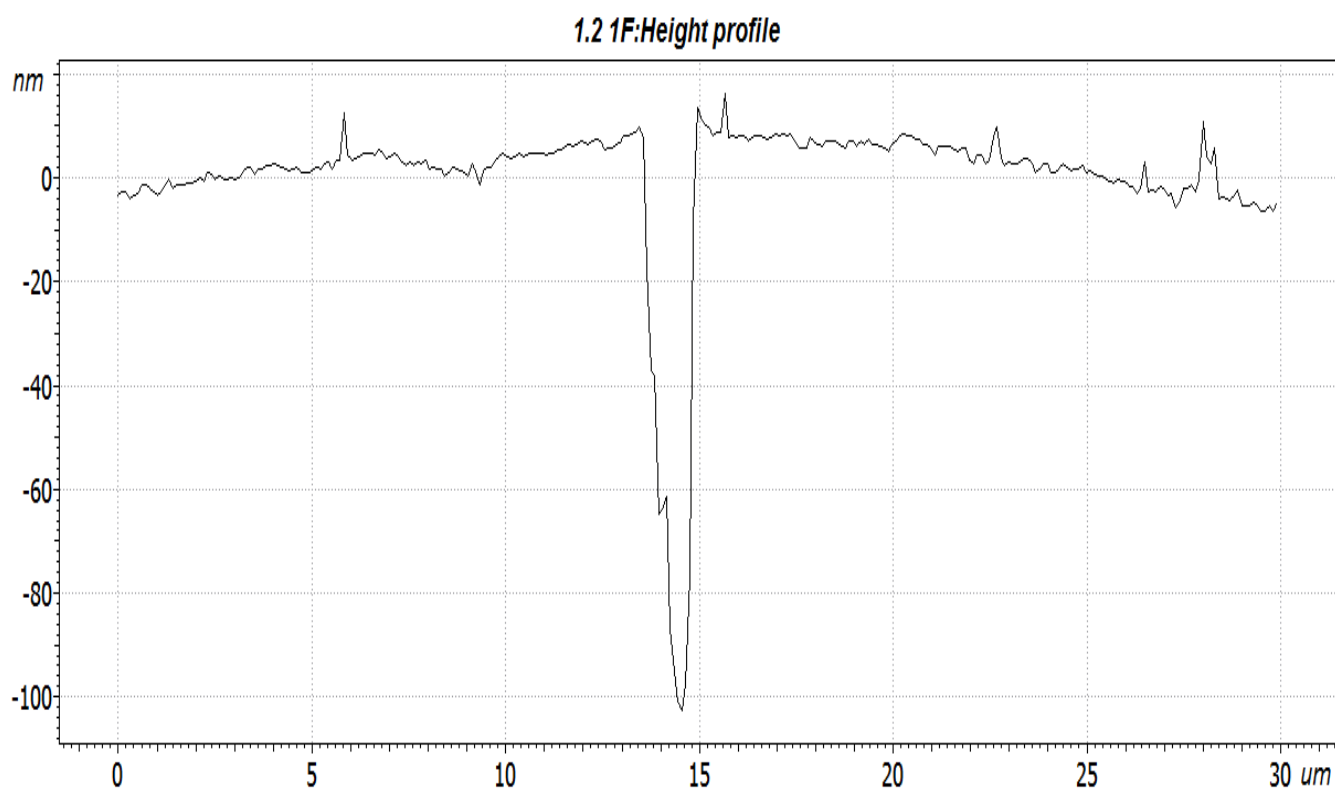


Рисунок 14. 3D-скан и профиль поверхности 3D-пористого матрикса

Для данного образца для определения статистических параметров выбиралась область скана без поры, чтобы распределения гистограммы давали нам информацию о средней шероховатости поверхности без учета поры (рисунок 15).

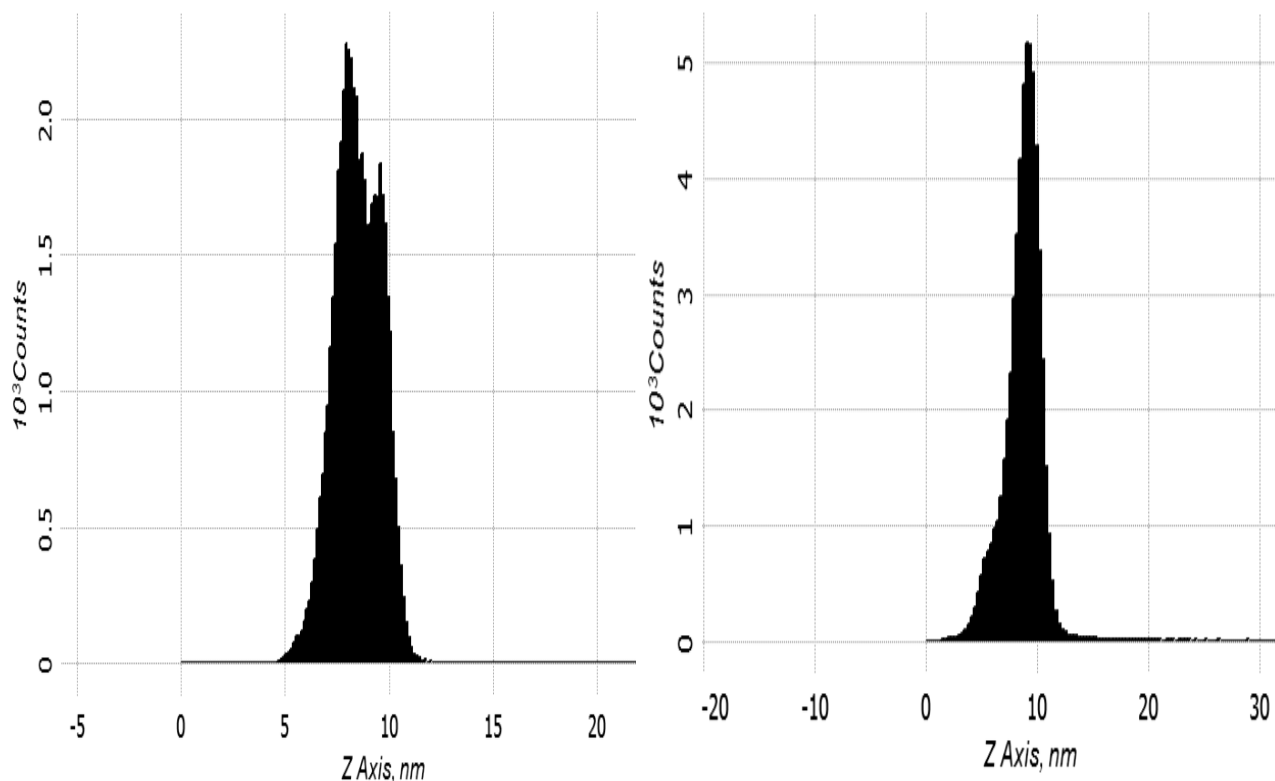


Рисунок 15. Распределение величины шероховатости поверхности на двух участках около поры

По сравнительным данным гистограмм можно сделать вывод, что средняя величина шероховатости в непористой области различна и составляет порядка 7 нм и 9 нм.

Образец 4 (Пленочный матрикс)

Данный образец представлял собой пленочный матрикс.

На образце отчетливо видно различие в шероховатостях областей: выделяются более гладкие участки и области, в которых интенсивнее выражены неровности.

Сравнивая профили поверхности в разных областях (рисунок 16), а также оценивая полученные гистограммы распределения высот в каждом секторе (12 нм и 7 нм) можно также подтвердить, что морфология областей отличается.

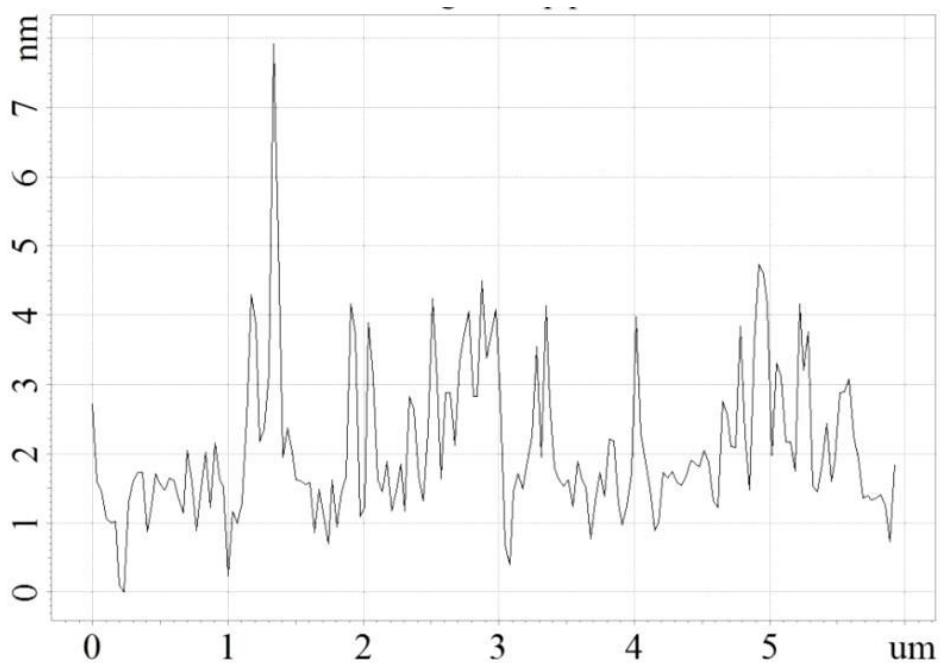


Рисунок 16 а. Профиль поверхности области 1

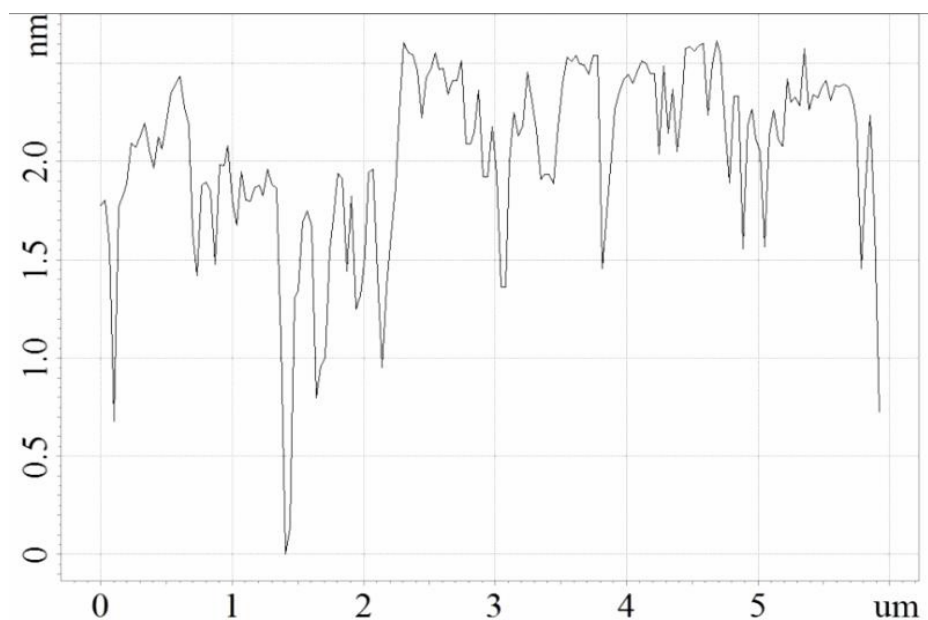


Рисунок 16б. Профиль поверхности области 2

Полученные результаты доказывают, что применение АСМ в исследовании топографии поверхности синтетических материалов, является перспективным методом, для получения углубленной информации.

Также остаются нерешенными целый ряд методологических проблем АСМ. В качестве наиболее общих и важных проблем можно указать следующие:

1. Метрологические проблемы АСМ, связанные с измерениями в воздушной среде и получением количественных характеристик рельефа поверхности исследуемых объектов с учетом их морфологических особенностей и типом проводимости.
2. Проблема влияния аппаратурных и методических факторов на результаты измерений, распознавания артефактов и повышения достоверности изображений, полученных в различных режимах АСМ.
3. Проблема интерпретации результатов АСМ-исследований с учетом особенностей формирования контраста изображений в различных методиках для объектов с разной степенью сложности морфологии поверхности исследуемого объекта.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В процессе выполнения данной работы были исследованы свойства новых синтетических материалов для хирургии на основе полигидроксиалканоатов.

При выборе метода диагностики исследуемых структур важно было учитывать прецизионность и достоверность получаемых результатов. В качестве методик для исследования материалов для хирургии применялся метод атомно-силовой микроскопии.

При анализе морфологии исследованных структур особое внимание обращалось на степень шероховатости исследуемой поверхности. Также было проведено сравнение морфологии различных ПЗГБ матриц.

Проведенное исследование позволяет качественно и количественно характеризовать свойства перспективного материала для хирургии.

Для дальнейшего развития данного направления исследования необходимо получить более детальную информацию о свойствах исследуемых материалов с применением более широкого спектра аналитических методов (оптические, электронно-зондовые, рентгеновские, ионно-зондовые и т.д.).

По результатам исследования можно сделать следующие выводы:

1. Метод атомно-силовой микроскопии возможно использовать для оценки шероховатости поверхности синтетических материалов на основе полигидроксиалканоата
2. Установлено, что новые сополимеры П(ЗГБ/П4ГБ) обладают более высокой гидрофильностью, чем ПГЗБ, следовательно адгезия и жизнеспособность остеобластов на данных сополимерах выше.
3. Установлено, что полученные образцы сополимеров П(ЗГБ/П4ГБ) обладают высоким пределом прочности и деформации при разрушении, которые являются крайне важными показателями материалов в ортопедии.

4. Проанализированная морфология исследованных объектов показывает высокую степень подготовки поверхности, большинство образцов относятся к высокому классу чистоты поверхности.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АСМ – атомно-силовая микроскопия

ПГА - полигидроксиалканоат

СЗМ - сканирующая зондовая микроскопия

БОМ - ближнепольная оптическая микроскопия

СТМ - сканирующая туннельная микроскопия

ПТФЭ – политетрафторэтилен

HLA – человеческие лейкоцитные антигены

МНС – главный комплекс гистосовместимости

ГКГС - главный комплекс гистосовместимости

РОТ - реакция отторжения трансплантата

ГОСТ - межгосударственный стандарт

ПЗГБ - поли-3-гидроксибутирата

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Винокур А. А., Дьяков В. Е., Алуханян О. А., Сравнительное исследование физико-механических свойств новых заплат из политетрафторэтилена // Кубанский научный медицинский вестник. 2010. №. 8. С. 1-7.
2. Влияние мезенхимальных стромальных клеток костного мозга и жировой ткани человека на эффективность вооотановления неврологического дефицита в модели черепно-мозговой травмы у крыс / Е. В. Половников, В. В. Ступак, А. Г. Самохин, И. А. Васильев, О. Б. Добрякова, Е. Я. Шевела, Е. Р. Черных // Бюллетень восточно-сибирского научного центра СО РАМН. 2012. №. 3. С. 301-304.
3. Волова Т.Г., Шишацкая Е.И., Миронов П.В. Материалы для медицины, клеточной и тканевой инженерии [Электронный ресурс]: учеб. пособие. Красноярск: СФУ, 2009.
4. ГОСТ 8.593-2009 ГСИ. Микроскопы сканирующие зондовые атомно-силовые. Методика проверки. Введ. 2010-11-01. М., 2000. 8 с.
5. ГОСТ 2789-73. Шероховатость поверхности. Параметры и характеристики (с Изменениями №1,2). Введ. 1975-01-01. М., 1980. 7 с.
6. ГОСТ 25142-82. Шероховатость поверхности. Термины и определения (с Изменениями №1). Введ. 1983-01-01. М., 2017. 20 с.
7. Зубков В.И. Диагностика полупроводниковых наногетероструктур методами спектроскопии адмиттанса: монография. СПб.: Элмор, 2007. 167 с.
8. Зубков В.И. Методы диагностики структур нанoeлектроники и фотоники : учеб. пособие / СПб.: Изд-во СПбГЭТУ «ЛЭТИ», 2015. 120 с.
9. Имплантационные материалы и остеогенез. Роль биологической фиксации и остеointеграции в реконструкции кости /

Н. А. Корж, Л. А. Кладченко, С. В. Малышкина, И. Б. Тимченко // Ортопед., травматол. и протезир. 2005. № 4. С. 118–127.

10. Исследование пленочных матриц из резорбируемых полигидроксиполлактоидов различного химического состава *in vivo*: реакция тканей и кинетика биоразрушения/ Е. И. Шишацкая, Е. Д. Николаева, А. В. Горева, К. Д. Бриггс, Т. Г. Волова, Э. Д. Синкс // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. 2012. №. 1. С. 73–80.

11. Кирилова И. А., Садовой М. А., Подорожная В. Т. Сравнительная характеристика материалов для костной пластики: состав и свойства // Хирургия позвоночника. 2012. №. 3. С. 72–83.

12. Клеточные технологии в травматологии и ортопедии / Р.В. Деев, А.А. Исаев, А. Ю. Кочиш, Р. М. Тихилов // Травматология и ортопедия России. 2007. №. 46. С. 18–30.

13. Королев С.Б., Абраменков А.Н. Новая медицинская технология подготовки костных трансплантатов для костной пластики // Мат-лы II Московского Междунар. конгр. травматологов и ортопедов, 2011. 213 с.

14. Костно-пластические биоматериалы и их физико-механические свойства / И. А. Кирилова, В. Т. Подорожная, Е. В. Легостаева, Ю. П. Шаркеев, П. В. Уваркин, А. М. Аронов // Хирургия позвоночника. 2010. № 1. С. 81–87.

15. Костные имплантаты на основе скаффолдов и клеточных систем в тканевой инженерии (обзор) / Е. В. Загайнова, В. Н. Баграташвили, П. С. Тимашев, Д. С. Кузнецова // Современные технологии в медицине. 2014. №. 4. С. 201–212.

16. Культивирование мультипотентных мезенхимных стромальных клеток костного мозга на носителях из резорбируемого Биопластотана / Е.И. Шишацкая, Е.Д. Николаева, А.А. Шумилова, А.В. Шабанов, Т.Г. Волова // Гены и клетки. 2013. №. 1. С. 57–65.

17. Лябин М. П., Семенов П. С. Совершенствование технологии получения хитозана // Вестник Волгоградского государственного университета. Серия 11. Естественные науки. 2011. №. 9. С. 447 - 451.
18. Музыченко П. Ф. Проблемы биоматериаловедения в травматологии и ортопедии // Травма. 2012. №. 1. С. 94-98.
19. Новые материалы для реконструктивной черепно-челюстнолицевой хирургии и онкологии / И. В. Решетов, Д. В. Штанский, Е. А. Левашов, М. М. Филюшин, В. Н. Васильев, С. С. Сухарев //Онкохирургия. 2011. №. 3. С. 12-20.
20. Новый тип тканеинженерной конструкции на основе политетрафторэтилена с наноструктурированным многофункциональным биосовместимым нерезорбируемым покрытием / А. С. Григорьян, Е. В. Киселёва, Д. В. Штанский, М. Р. Филонов, Т. К. Хамраев, А. К. Топоркова, Ш. Фаркашди // Гена и клетки. 2010. № 3. С. 71-76.
21. Перспективы использования углеродных нанотрубок в качестве каркасного материала в инженерии биологических тканей / И. И. Бобринецкий, Р. А. Морозов, А. С. Селезнёв, Р. Я. Подчерняева, О. А. Лопатина // Гены и клетки. 2011. №1. С. 85 –90.
22. Разработка биоматериалов для остеопластики на основе коллагена костной ткани / С. Ю. Иванов, Е. В. Ларионов, А. М. Панин В. М. Кравец, С. И. Анисимов, Д. Н. Володина // Институт стоматологии. 2005. №. 29. С. 108-111.
23. Рожнова О. М., Павлов В. В., Садовой М. А. Биологическая совместимость медицинских изделий на основе металлов, причины формирования патологической реактивности (обзор иностранной литературы) // Бюллетень сибирской медицины. 2015. №. 4. С. 110-118.
24. C3M Solver Next, Руководство по эксплуатации. М. НТ-МДТ, 2011. 253 с.

25. Сравнительное исследование клеточных носителей, полученных из резорбируемых полигидроксиалканоатов различного химического состава / Е.Д. Николаева, Е.И. Шишацкая, К.Е. Мочалов, Т.Г. Волова, Э.Д. Сински // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. 2011. №. 4. С. 54–63.
26. Сравнительное исследование структуры и цитотоксичности политетрафторэтилена после ионного травления и ионной имплантации / Д. В. Штанский, Н. А. Глушанкова, Ф. В. Кирюханцев-Корнеев, А. Н. Шевейко, А. А. Сигарев // Физика твердого тела. 2011. №. 3. С. 593-597.
27. Трансплантация аутологичных мезенхимальных стволовых клеток на деминерализованном костном матриксе при пластике ложных суставов и костных дефектов / Е.А. Щепкина [и др.]. М.: Мат. III Всероссийского симп. с межд. уч.: "Актуальные вопросы тканевой и клеточной трансплантологии", 2007. С. 113-120.
28. Тревис Дж. LabVIEW для всех. М.: ДМК Пресс; Прибор Комплект, 2005. 10 с.
29. Чупрунов Е.В., Хохлов А.Ф., Фадеев М.А. Основы кристаллографии. М.: ФМ, 2004. 500 с.
30. Шипунова И. Н., Петинати Н. А., Дризе Н. И. Влияние гидрокортизона на мультипотентные мезенхимные стромальные клетки человека // Клеточные технологии в биологии и медицине. 2013. №. 1. С. 42–46.
31. Шишацкая Е. И., Волова Т. Г. Полигидроксиалканоаты как матрикс в клеточных технологиях // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. 2010. №. 3. С. 13-14.
32. Шумилова А. А. Потенциал биоразрушаемых полигидроксиалканоатов в качестве костнопластических материалов. Красноярск: Сибирский Федеральный Университет, 2015. 145 с.

33. Шумилова А. А., Шишацкая Е. И. Материалы для восстановления костной ткани // Журнал СФУ. Биология. 2014. №. 2. С. 209-221.
34. Эппле М. Биоматериалы и биоминерализация. Томск: Ветер, 2007. 165 с.
35. Agilent Technologies Impedance Measurements Handbook: A guide to Measurement Technology and Techniques. Agilent Technologies, 2006. P. 214.
36. Biocom-patibility of chemical-vapor-deposited diamond / L. Tang, C. Tsai, W.W. Gerberich, L. Kruckeberg, D.R. Kania // Biomaterials. 1995. № 16. P. 483-488.
37. Carranza M. C., Martinez J. M. C., Huerta L. A. B., Gaytan J. E. W. Process for the production of purified, synthetic calcium borate // US Patent № US5869014A, 9.02.1999.
38. Characterization of electronic properties of natural type IIb diamonds / V.I. Zubkov, A.V. Solomnikova, J.E. Post, E. Gaillou, J.E. Butler // Diamond and Related Materials. 2017. № 72. P. 87.
39. Crystal growth and characterization of HPHT diamond from a phospho-rus-carbon system / Yu. Pal'yanov, I. Kupriyanov, A. Khokhryakov, Yu. Borzdov, V. Gusev, J. Van. Royen // Diam. Relat. Mater. 2003. №. 12. P. 1510-1516.
40. FEM simulations and experimental studies of the temperature field in a large diamond crystal growth cell / L. Zhan-Chang, J. Xiao-Peng, H. Guo-Feng, H. Mei-Hua, L. Yong, Y. Bing- Min // Chinese Physics B. 2013. № 1. P. 14701–14706.
41. Goodwin D.G., Butler J. E. In Theory of Diamond Chemical Vapor Deposition (Eds M APrelas, G Popovici, L K Bigelow). New York: V. Dekker, 1998. P. 527.
42. Hazen R. M. The diamond makers. Cambridge University Press, 1999. P. 244.

43. Large Colorless HPHT Synthetic Diamonds from New Diamond Technology / A. Katrusha, K. Soe Moe, P. Johnson, W. Wang // *Gems & Gemology*. 2015. № 3. P. 25.
44. Nitrogen and potential n-type dopants in diamond / S. A. Kajihara, A. Antonelli, J. Bernholc, R. Car // *Physical Review Letters*. 2010. № 66. P. 195- 201.
45. Parfenova I. I., Reshanov S. A., Rastegaev V. P. Solubility of impurities in silicon carbide during vapor growth // *Inorganic materials*. 2002. №. 5. P. 476-481.
46. Simya H., Toda N., Satoh S. Goniometric and topographic characterization of synthetic IIa diamonds // *Journal of Physics D: Applied physics*. 2005. № 38. P. 61-66.
47. Simya H., Toda N., Satoh S. Growth Rate of high-quality large diamond crystals. *Growth*, 2002. P. 1281 –1285.
48. Sumiya H., Toda N., Satoh S. Growth rate of high-quality large diamond crystals // *Journal of Crystal Growth*. 2002. № 237–239. P. 1281–1285.
49. The pressure-temperature phase and transformation diagram for carbon; updated through / F. P. Bundy, W. A. Bassett, M. S. Weathers, R. J. Hemley, H. K. Mao, A. F. Goncharov // *Carbon*. 1996. №. 2. P. 141- 153.
50. Zhu H., Pearson K., Kim J. R. The production of synthetic diamond // (2012) US Patent № US2012/0192785A1, 2.08.2012.