



*На правах рукописи*

**МАЛАФЕЕВ**

**Константин Вадимович**

**РАЗРАБОТКА БИОДЕГРАДИРУЕМЫХ НАНОКОМПОЗИТОВ ИЗ  
ПОЛИЛАКТИДА ДЛЯ ХИРУРГИЧЕСКИХ ШОВНЫХ НИТЕЙ**

03.01.02 – Биофизика

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание учёной степени

кандидата технических наук

Санкт-Петербург

2021

Работа выполнена в Федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого» (ФГАОУ ВО «СПбПУ»).

**Научный руководитель:**

**Юдин Владимир Евгеньевич** - доктор физико-математических наук, доцент, профессор Высшей школы биомедицинских систем и технологии, заведующий лабораторией «Полимерные материалы для тканевой инженерии и трансплантологии» ФГАОУ ВО «СПбПУ».

**Официальные оппоненты:**

**Жуковский Валерий Анатольевич**, доктор технических наук, доцент, профессор кафедры наноструктурных, волокнистых и композиционных материалов им. А.И. Меоса Санкт-Петербургского государственного университета промышленных технологий и дизайна

**Блинова Миральда Ивановна**, кандидат биологических наук, доцент, заведующая лабораторией клеточных биотехнологий Института цитологии Российской академии наук

**Ведущая организация:** Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт синтетических полимерных материалов им. Н.С. Ениколопова Российской академии наук

Защита состоится «**22**» декабря **2021** г. в 15:00 на заседании диссертационного совета **У.03.01.02** федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого» (195251, г. Санкт-Петербург, ул. Политехническая, 29) по адресу: г. Санкт-Петербург, ул. Хлопина 11, корп. 1, Высшая школа биомедицинских систем и технологий, ауд. 209.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте [https://www.spbstu.ru/science/the-department-of-doctoral-studies/defences-calendar/the-degree-of-candidate-of-sciences/malafeev\\_konstantin\\_vadimovich/](https://www.spbstu.ru/science/the-department-of-doctoral-studies/defences-calendar/the-degree-of-candidate-of-sciences/malafeev_konstantin_vadimovich/) ФГАОУ ВО «Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого».

Автореферат разослан: « \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2021 г.

Учёный секретарь диссертационного совета,  
кандидат физико-математических наук



Забродская Яна Александровна

### **Актуальность темы исследования**

Создание биорезорбируемых нитей для медицинского применения является актуальной задачей современной науки о биоматериалах [И. П. Добровольская и др., 2016]. Помимо применения в медицине в качестве шовного хирургического материала, нити могут использоваться для получения различных стентов и сеток. Однако, сегодняшние реалии требуют наличия новых свойств у биоматериалов таких как выход лекарственных средств, регулирование срока резорбции, антибактериальность, улучшенные механические характеристики и т. д. [Nicolae, Grumezescu, 2019]. Исследование материалов такого типа осложняется условиями его эксплуатации в живом организме, а именно в сложной биофизической и биохимической системе. Существуют различные способы придания полимерным нитям требуемых свойств: разработка новых химических соединений, химическая или физическая модификация уже готовых материалов и создание композиционных материалов, которые содержат несколько веществ различной природы.

Шовные хирургические материалы должны обладать биосовместимостью, отсутствием негативного влияния на живые ткани как самих материалов, так и продуктов их распада, также нити должны иметь хорошие манипуляционные свойства и соответствовать нормативам ГОСТ 31620-2012 [Ивлев В.В., 2014].

Одним из наиболее предпочтительных методов получения нитей для медицинского применения является расплавный [Gupta, 1997]. Данный метод заключается в том, что гранулы термопластичного полимера при повышенных температурах переходят в вязкотекучее состояние, перемешиваются, и расплав, выходящий через фильеру с круглым отверстием, охлаждается и наматывается в виде волокна на катушки приемного устройства. Его главными преимуществами являются высокая технологичность, а также отсутствие растворителей, которые могут быть токсичными для живых организмов.

На сегодняшний день наиболее перспективным классом материалов для медицинского применения являются композиционные материалы. Широкие возможности по варьированию их свойств делают создание композиционных материалов актуальным направлением современной науки. Однако, в биомедицинской сфере при создании композитов есть некоторые ограничения, связанные с необходимостью использования биосовместимых наполнителей, отсутствием токсичных растворителей и т. д. В статьях, например [Elahi и др., 2013; Hutmacher и др., 2001; Tuzlakoglu, Reis, 2009] описаны свойства и способы получения композиционных биодegradуемых нитей для биомедицинских целей. Тем не менее, в них мало освещены

вопросы влияния наполнителей и условий имплантации на скорость резорбции образцов в живом организме, влияния нитей на заживление различных видов живых тканей.

### Степень разработанности темы исследования

Получение шовных нитей по расплавному методу широко используется различными научными группами. Очень часто в качестве объектов исследования выступают нити на основе полилактида (ПЛА) с различными биорезорбируемыми наполнителями [Aouat и др., 2018; Ghosh, Vasanthan, 2006]. Несмотря на это, до сих пор существует недостаток данных о влиянии модификации наполнителей на структуру и свойства полимерных биоматериалов (антибактериальную активность, скорость биорезорбции). Мало публикаций с исследованиями в области *in vivo* тестов, устанавливающих влияние условий имплантации и типа наполнителя на скорость биорезорбции полимерных материалов. В медицинской практике есть потребность в разработке новых биodeградируемых материалов с электропроводящими свойствами, которые могут найти применение при разработке элементов мягкой биоэлектроники или кондуитов для регенерации периферических нервов [Li, Wang, Yin, 2018]. Исследования в данных областях могут расширить знания о взаимодействии композиционных биоматериалов с живым организмом, и разработать новые полимерные материалы для медицинского применения.

### Цели и задачи

Целью данной работы являлось установление влияния условий *in vivo* на скорость биорезорбции нитей в зависимости от их химической природы, структуры и композиционного состава, а также оценка их клинической эффективности при использовании в качестве шовных хирургических нитей.

Поставленные задачи исследования:

1. И  
изучение влияния химического состава и структуры ненаполненных прототипов хирургических нитей на скорость их биорезорбции *in vivo*.
2. У  
установление влияния хитиновых наночастиц различных типов на скорость биорезорбции *in vivo* и физико-механические свойства прототипов хирургических нитей на основе полилактида.
3. О  
оценка биологической активности прототипов хирургических ПЛА нитей с добавлением наночастиц серебра в зависимости от их структуры и концентрации наполнителя.

4. У  
становление влияния типа наполнителя на процесс образования послеоперационного рубца при ушивании мышечной ткани прототипами композиционных хирургических нитей на основе ПЛА.
5. О  
ценка возможности применения электропроводящих композиционных нитей на основе ПЛА и углеродных нановолокон в биомедицинской сфере.

### Научная новизна

- Впервые показано, что модификация хитиновых нановолокон полиэтиленгликолем и добавление их в количестве 5 масс.% увеличивает скорость *in vivo* биорезорбции ПЛА нитей, а также способствует увеличению их механической прочности.
- Впервые показано, что введение 1 масс.% Повиаргола для получения композитов по расплавному методу обеспечивает антибактериальную активность против *Staphylococcus aureus* у полифиламентных биорезорбируемых нитей на основе ПЛА, а также приводит к увеличению механической прочности биорезорбируемых мононитей на 20%.
- П  
оказано, что прототипы хирургических нитей на основе композитов из ПЛА с добавлением 1 масс.% Повиаргола и 5 масс.% ХН-ПЭГ не приводят к осложнениям при ушивании мышечной ткани в районе белой линии живота, а также способствуют формированию более эластичного рубца.
- У  
величение скорости биорезорбции композиционной ПЛА нити в месте удержания послеоперационного рубца происходит в результате механодеструкции шовной нити и активной реакции организма на воспалительные процессы и полиферацию клеток.
- Показана возможность использования разработанных биорезорбируемых электропроводящих нитей на основе ПЛА и УНВ в биосенсорах, а также в качестве кондукторов для регенерации периферических нервов.

### Теоретическая и практическая значимость работы

- П  
рименение метода дифференциальной сканирующей калориметрии для оценки степени биорезорбции прототипов хирургических полимерных нитей позволило установить влияние их химического состава, надмолекулярной структуры и природы наполнителя на скорость биорезорбции.

- П  
 удем добавления ХН-ПЭГ в ПЛА матрицу удалось достигнуть увеличения механической прочности композиционных нитей на 25%, их соответствия нормативам ГОСТ 31620-2012 по прочности в простом узле и сокращения времени биорезорбции *in vivo* до 6 месяцев.
- П  
 оказана возможность применения препарата Повиаргол в качестве наполнителя для получения композиционных нитей на основе ПЛА с улучшенными прочностными характеристиками и антибактериальной активностью.
- И  
 спользование композиционных нитей с добавлением ХН-ПЭГ и Повиаргола в качестве шовного материала для ушивания мышечных тканей не осложняет процесс заживления раны, способствует образованию рубца, состоящего из коллагеновых пучков разной толщины, что делает рубец более эластичным.
- У  
 становлено, что электропроводящие нити на основе ПЛА и УНВ, обладают стабильными электропроводящими свойствами при циклических нагрузках и в процессе имплантации *in vivo*, поэтому могут быть использованы для создания биосенсоров или кондуитов для регенерации периферических нервов.

### **Методология и методы исследования**

Основой методологии диссертационной работы является системный подход к получению и исследованию биodeградируемых нитей биомедицинского назначения, полученных расплавленным методом, а также анализ литературы, описывающий современное состояние области медицинского материаловедения. Для оценки физико-механических и эксплуатационных свойств материалов были использованы следующие методики с использованием современного лабораторного оборудования: термогравиметрический анализ (Iris Netzsch TG 209 F1, Германия), дифференциальная сканирующая калориметрия (Netzsch DSC 204 F1Phoenix, Германия), сканирующая электронная микроскопия (Carl Zeiss Supra-55, Германия), рентгеноструктурный анализ (Bruker D2 PHASER, Германия), исследования краевого угла смачивания (Kruss DSA30, Германия), исследование электропроводности нитей, методы исследования механических свойств (Instron 5943, Великобритания) нитей как в буфере, моделирующем среду живого организма, так и без него. Антибактериальные свойства были исследованы с помощью *in vitro* тестов. Для исследования скорости биорезорбции нитей были проведены опыты *in vivo* на белых крысах.

### **Положения, выносимые на защиту:**

1. Скорость биорезорбции *in vivo* нитей из ПЛА с добавлением 5 масс.% хитиновых нанофибрилл, модифицированных ПЭГ, увеличивается за счет растворения ПЭГ в биологической среде организма.
2. Увеличение механической прочности мононитей и антибактериальная активность против *S. Aureus* нитей с полифиламентной структурой на основе LD-ПЛА достигается при добавлении 1 масс.% Повиаргола.
3. Формирование эластичного рубца при ушивании мышечной ткани можно достичь при использовании нитей на основе LD-ПЛА с добавлением 1 масс.% Повиаргола и 5 масс.% ХН-ПЭГ.
4. Стабильные электропроводящие свойства нитей при циклических нагрузках и в процессе имплантации *in vivo* достигаются при добавлении 5 масс.% УНВ в LD-ПЛА, что может позволить их использовать для создания биосенсоров или кондуитов для регенерации периферических нервов.
5. Скорость биорезорбции нити определяется сочетанием нескольких факторов: химической структуры полимера, надмолекулярной структуры нити, типом вводимых наполнителей и наличия механических нагрузок в процессе имплантации.

#### **Личный вклад автора**

Лично автором были выполнены анализ и обобщение имеющихся литературных данных по теме диссертационного исследования, поставлены цели и задачи работы, определение оптимальных режимов получения прототипов композиционных шовных хирургических нитей, исследование их структурных и физико-механических свойств, ассистирование во время операций *in vivo* и также забор образцов исследования степени их биорезорбции и тканей для гистологического анализа.

#### **Достоверность результатов**

Достоверность полученных результатов подтверждается их согласованностью, использованием комплекса современных взаимодополняющих физико-химических методов исследования, анализа и статистической обработки полученных результатов и согласованностью полученных данных с имеющимися на данный момент литературными источниками.

#### **Апробация результатов диссертационного исследования**

Основные результаты диссертационной работы были представлены на школе-конференции с международным участием для молодых ученых «Макромолекулярные нанообъекты и полимерные нанокомпозиты» (г. Москва, 2015, 2018 г.), международной конференции «The International Symposium on Biopolymers (ISBP)» (г. Мадрид, Испания, 2016 г.), международной конференции «30th Annual Conference of the European Society for

Biomaterials» (г. Дрезден, Германия, 2019 г.), международной конференции для молодых ученых «Modern problems of polymer science», (г. Санкт-Петербург 2015, 2017, 2018, 2019 г.), международная конференция со школой молодых ученых «Физика – наукам о жизни» (г. Санкт-Петербург, 2019), международный форум «Наука будущего – наука молодых» (г. Казань, 2016, г. Нижний Новгород, 2017, г. Сочи, 2019), международная конференция «2021 Conference of Russian Young Researchers in Electrical and Electronic Engineering», (г. Санкт-Петербург, 2021) По материалам диссертации опубликовано 7 статей в рецензируемых журналах, входящих в базу данных Web of Science и SCOPUS, из которых 6 статей в журналах из перечня ВАК, 13 тезисов докладов.

### **Структура и объем диссертации**

Диссертационная работа изложена на 192 страницах и содержит 78 рисунков, 20 таблиц и 218 источников литературы. Структура работы включает введение, литературный обзор, объекты и методы, пять глав результатов исследований и их обсуждения, заключение и список литературы.

### **Содержание работы**

**Во введении** обоснована актуальность темы работы, сформулированы цели и задачи исследования, показана научная новизна и практическая значимость работы, сформулированы положения, выносимые на защиту, а также приведена информация об апробации результатов диссертационного исследования.

**В первой главе** описано развитие такого раздела науки, как медицинское материаловедение, подробно рассмотрены биофизические процессы, проходящие при имплантации биоматериалов в живой организм. Сделан обзор применяемых на сегодняшний день биорезорбируемых полимерных материалов на основе ПЛА, полигликолида (ПГА) и их смесей, а также наполнителей для создания биокompозитов. Рассмотрены перспективы применения биокompозитов при разработке хирургических нитей с прогнозируемым сроком резорбции, антибактериальными свойствами, а также при разработке материалов в сфере мягкой биоэлектроники и кондуитов для регенерации периферических нервов.

**Во второй главе** приведено описание применяемых в данной работе биосовместимых полимеров и наполнителей для получения биорезорбируемых нанокомпозитов расплавленным методом. При подборе полимерной матрицы для получения прототипов хирургических шовных нитей использовались: поли (L-лактид) (L-ПЛА) марки PL18 100% L-лактид (Purac, Нидерланды) и поли L, D-полилактид (LD-ПЛА) марки 2003D смесь L- и D- лактидов в соотношении 96/4 (Nature Works, США), сополимер лактида и гликолида (ПЛА/ПГА) с соотношением 82/18 PLG8218 (Purac, Нидерланды) и 100% полигликолид (ПГА) PG S (Purac, Нидерланды). В качестве наполнителей использовались наночастицы хитина (ХН),



изготовленные компанией Mavi Sud s.r.l. (Италия). Индивидуальные ХН шириной ~20 нм и длиной 600-800 нм обладают анизотропной структурой. Также использовались ХН, модифицированные полиэтиленгликолем (ХН-ПЭГ), в виде сферических частиц светло-коричневого цвета диаметром от 1 до 10 мкм. Для придания антибактериальных свойств прототипам хирургических шовных нитей в качестве наполнителя использовался серебросодержащий бактерицидный препарат Повиаргол производства СКТБ «ТЕХНОЛОГ» (Россия). Данный препарат представляет собой высокодисперсное серебро в виде наночастиц диаметром 1-4 нм, стабилизированных поливинилпирролидоном. Размер частиц Повиаргола варьируется от 2 до 16 мкм, в которых содержание наночастиц серебра составляет ~8%. Для получения электропроводящих нитей на основе биополимерных нанокомпозитов использовался наполнитель в виде углеродных нановолокон (УНВ) VGCF™-Н фирмы Showa Denko (Япония). Данные нановолокна получены газофазовым методом и имеют диаметр ~ 150 нм, длину ~ 5 мкм, удельное электрическое сопротивление  $10^{-6}$  Ом·м.

Термические свойства материалов исследовались с помощью методов термогравиметрического анализа (ТГА) и дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК). Надмолекулярная структура полимеров, наполнителей и композиционных материалов на их основе (нитей) исследовалась с помощью сканирующей электронной микроскопии и рентгеноструктурного анализа. Механические свойства нитей определялись при их растяжении до разрыва на воздухе при н.у. и в жидкости (фосфатный буфер, рН=7,4, 37°C). Полученные прототипы хирургических шовных нитей исследовались на соответствие ГОСТ 31620-2012 по прочности в простом узле. Антимикробная активность биodeградируемых нанокомпозитов оценивалась при контакте с *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 и *Klebsiella pneumoniae* ATCC 33495 в жидкой питательной среде (мясопептонный бульон). Эксперимент проводился на базе Научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии имени Р.Р. Вредена (Санкт-Петербург). Опыты по биорезорбции *in vivo* и ушивании мышечных тканей проводились на белых крысах на базе Российского научного центра радиологии и хирургических технологий имени академика А.М. Гранова (Санкт-Петербург). Гистологические исследования проводились на базе Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова (Санкт-Петербург).

**Третья глава** посвящена изучению влияния биологической среды на скорость биорезорбции нитей в зависимости от их химической природы и надмолекулярной структуры. В первую очередь, с помощью методов термогравиметрического анализа (ТГА) и дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК) были подобраны режимы формования нитей по расплавному методу. На рис. 1 представлены ТГА и ДСК кривые для LD-ПЛА.

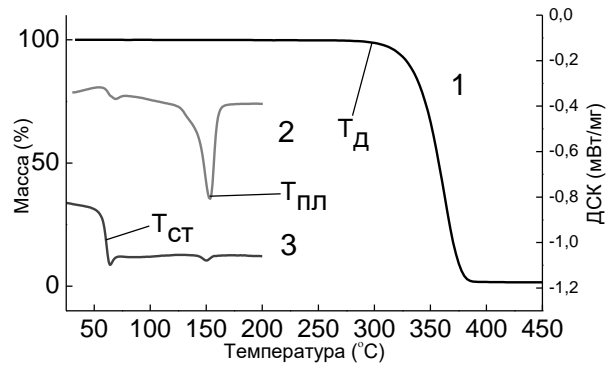


Рис. 1. ТГА и ДСК кривые LD-ПЛА: 1 – термограмма ТГА;  
2 – термограмма ДСК (1 сканирование); 3 – термограмма ДСК (2 сканирование).

С помощью метода ТГА устанавливается температура начала термодеструкции полимера ( $T_d$ ), которая определяет верхний температурный диапазон работы с полимером. Видно (рис. 1, кр. 1), что  $T_d = 315^\circ\text{C}$  для LD-ПЛА. С помощью метода ДСК определяются температуры фазовых и релаксационных переходов полимера (рис. 1, кр. 2 и 3): температура плавления ( $T_{пл}$ ) – для установления рабочего диапазона температур переработки полимера расплавленным методом и температура стеклования ( $T_{ст}$ ) – для определения режимов высокотемпературной ориентационной вытяжки. Согласно ТГА и ДСК данным, температура переработки LD-ПЛА должна составлять  $200\text{-}220^\circ\text{C}$ , а ориентационной вытяжки –  $60\text{-}70^\circ\text{C}$ . Таким же образом были подобраны режимы переработки для остальных биорезорбируемых полимерных матриц различной химической природы (перечислены на стр. 8, вторая глава), на основе которых были получены прототипы хирургических шовных нитей.

Механические испытания на растяжение и по определению прочности в простом узле показали, что прототипы хирургических нитей на основе LD-ПЛА со степенями вытяжки в 4 и 6 раз, ПЛА/ПГА и ПГА со степенью вытяжки в 4 раза обладают физико-механическими свойствами, которые отвечают требованиям к хирургическим шовным материалам по ГОСТ 31620-2012.

Эксперимент по исследованию биорезорбции *in vivo* проводился на белых крысах. Образцы неориентированных нитей и нитей с ориентационной вытяжкой в 4 и 6 раз имплантировали в брюшную полость и подкожно жировую клетчатку спины и контролировали их механические и термические свойства, а также надмолекулярную структуру на разных сроках имплантации. Для неориентированных нитей основным методом контроля скорости биорезорбции был ДСК. На рис. 2 и 3 представлены ДСК кривые нитей на основе LD-ПЛА и ПГА на разных сроках имплантации. Видно (рис. 2), что LD-ПЛА сохраняет вид кривой ДСК и значения температур переходов на протяжении 12 месяцев эксперимента *in vivo*. Однако, для ПГА нитей (рис. 3) пик плавления на кривой ДСК сдвинулся влево по оси абсцисс, а также

потерял свою форму уже через 2 недели имплантации, что свидетельствует о снижении молекулярной массы ПГА.

Хирургический шовный материал считается «неработающим» если его прочность снизилась более чем на 50% от изначальной. При исследовании механических свойств ориентированных нитей было показано, что скорость биорезорбции нитей одинакова в брюшной полости и подкожно жировой клетчатке.

Наибольшая скорость резорбции обладают нити из ПГА: через неделю эксперимента они теряют 20% от изначальной прочности, в середине второй недели теряет 50% прочности, а к концу второй недели они уже трудно идентифицируются и обладают прочностью 20 МПа. На рис.4 представлено сравнение изменения прочности нитей из LD-ПЛА и ПЛА/ПГА. Видно, что нити из LD-ПЛА сохраняют прочность выше 50% от изначальной до 9 месяцев имплантации, тогда как нить из сополимера ПЛА/ПГА теряет 50% прочности к 6 месяцу имплантации, что демонстрирует значимое влияние ПГА на ускорение биорезорбции нитей.

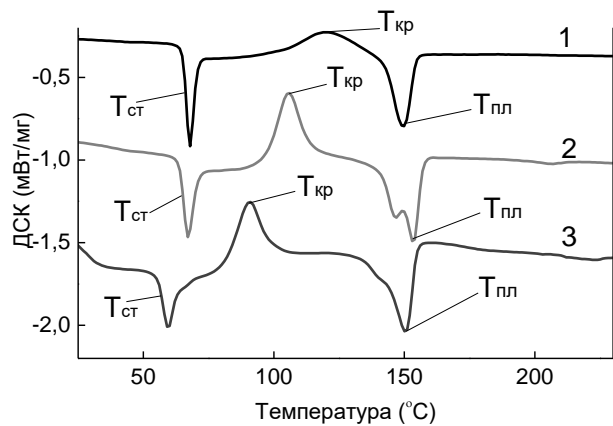


Рис. 2. ДСК кривые неориетированных нитей на основе LD-ПЛА с разным сроком экспозиции в подкожной клетчатке *in vivo*: 1 – 1 месяц, 2 – 6 месяцев, 3 – 12 месяцев.

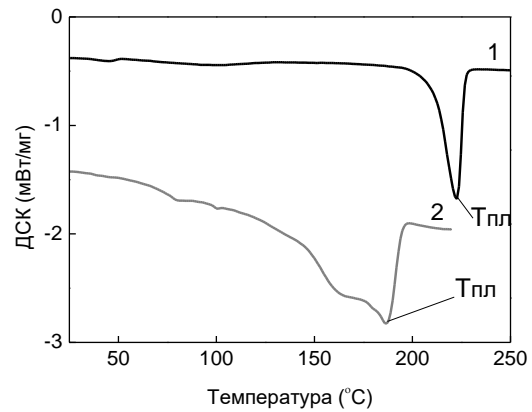


Рис. 3. ДСК кривые неориетированных нитей на основе ПГА с разным сроком экспозиции в подкожной клетчатке *in vivo*: 1 – исходная нить, 2 – 2 недели

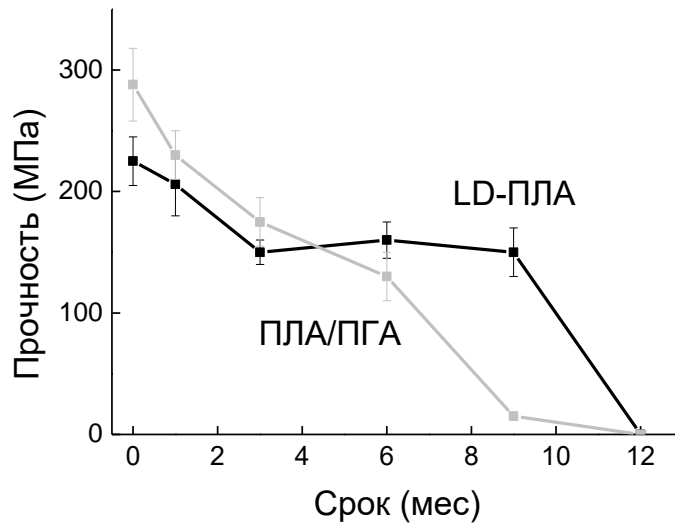


Рис. 4 Сравнение значений прочности ориентированных нитей на разных этапах эксперимента *in vivo*

**Четвертая глава** посвящена оценке влияния хитиновых наполнителей на механические свойства и скорость биорезорбции нитей из LD-ПЛА. На основе полимерной матрицы LD-ПЛА были получены и исследованы прототипы хирургических шовных нитей с добавлением наночастиц хитина двух типов: исходных (ХН) и модифицированных полиэтиленгликолем (ХН-ПЭГ). Модификация ПЭГ проводилась для избегания агрегирования и улучшения качества диспергирования хитиновых наночастиц в LD-ПЛА матрице. В результате механических испытаний было показано, что добавление ХН не оказывает влияния на механические свойства нитей со степенью ориентационной вытяжки  $\lambda = 4$ , а также снижает прочность нитей с  $\lambda = 6$ . Однако, повышение концентрации ХН-ПЭГ прямо пропорционально влияет на рост прочности нитей с  $\lambda = 4$ . При степени вытяжки  $\lambda = 6$  максимальное значение прочности (420 МПа) достигается при концентрации ХН-ПЭГ, равной 5 масс.%. Кроме того, такая нить получилась единственной, соответствующей ГОСТ 31620–2012 по прочности в простом узле.

В результате механических испытаний на воздухе при н.у. и в фосфатном буфере (рН=7,4) при температуре 37°C было показано, что добавление ХН и ХН-ПЭГ в концентрациях 1 и 5 масс.% стабилизируют механические свойства ориентированных LD-ПЛА нитей (табл. 1). У ненаполненных LD-ПЛА нитей значения прочности снижаются примерно на 20% в жидкой среде, тогда как при добавлении ХН и ХН-ПЭГ падение прочности составляет максимум 10%.

Таблица 1. Сравнение механических свойств композитных нитей на основе ПЛА с добавлением хитиновых наночастиц со степенью вытяжки 6 раз в зависимости от среды.

Образец	Среда	Прочность, МПа
LD-ПЛА	Воздух	165±5

Образец	Среда	Прочность, МПа
	Буфер	135±5
LD-ПЛА+1%ХН	Воздух	180±10
	Буфер	170±10
LD-ПЛА+5%ХН	Воздух	130±7
	Буфер	125±5
LD-ПЛА+1%ХН-ПЭГ	Воздух	117±3
	Буфер	107±3
LD-ПЛА+5%ХН-ПЭГ	Воздух	159±5
	Буфер	145±5

При исследовании биорезорбции неориентированных композитных нитей *in vivo* было отмечено, что на скорость биорезорбции сильнее всего влияет добавление ХН-ПЭГ. Это подтверждается микрофотографиями СЭМ, представленными на рис. 5.

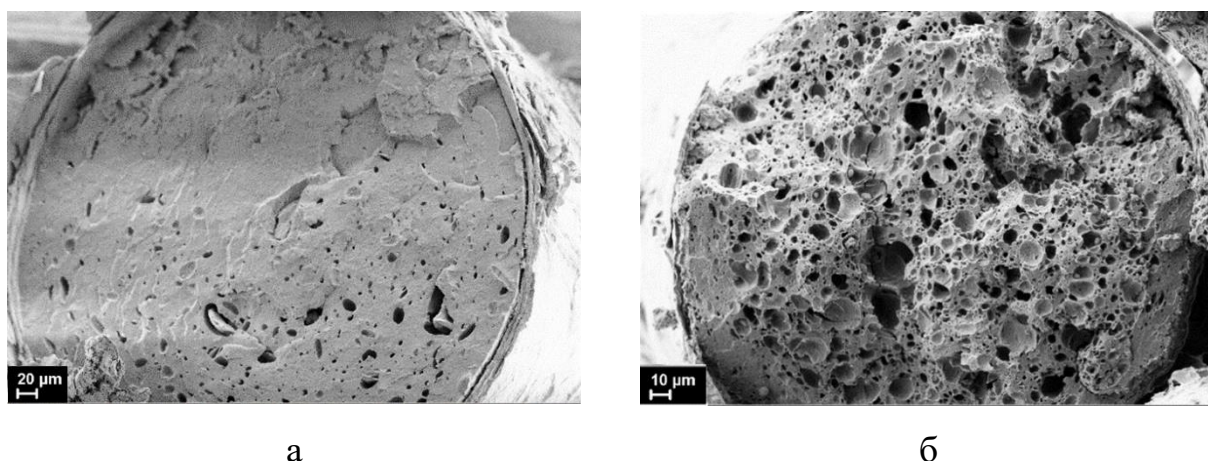


Рис. 5. СЭМ фотографии крио-сколов неориентированных нитей на основе ПЛА+5%ХН (а) и ПЛА+5% ХН-ПЭГ (б) через 12 месяцев имплантации

Видно (рис. 5), что после 12-ти месяцев имплантации в образце нити с добавлением ХН образовались поры вокруг агрегатов наполнителя, тогда как поверхность крио-скола образца нити с добавлением ХН-ПЭГ полностью усеяна порами размером от 1 до 10 мкм, что совпадает с размером наполнителя. Образование пор происходит из-за растворения ПЭГ в жидкой среде. Анализ ДСК ориентированных нитей также подтверждает увеличение скорости биорезорбции нитей с добавлением ХН-ПЭГ. На рис. 6 представлены ДСК кривые нитей из LD-ПЛА с содержанием 5 масс.% ХН-ПЭГ.

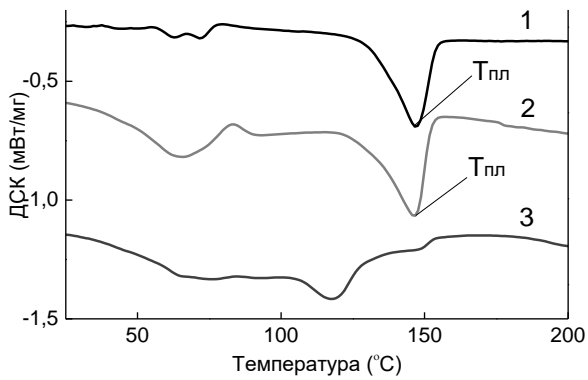


Рис. 6. ДСК кривые ориетированных образцов нитей со степенью вытяжки в 4 раза на основе LD-ПЛА+5масс.%ХН-ПЭГ на разных сроках эксперимента *in vivo*: 1 – исходное; 2 – 6 месяцев; 3 – 12 месяцев

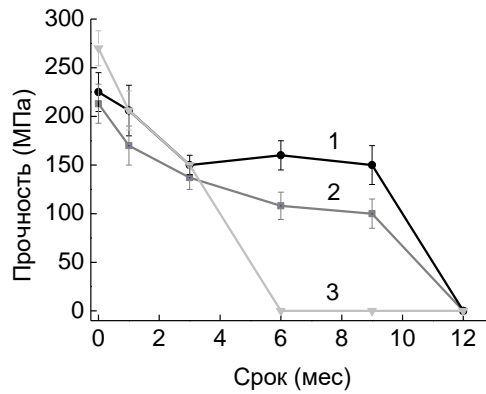


Рис. 7. Зависимость прочности композитных нитей со степенью ориентационной вытяжки в 4 раза в зависимости от типа наполнителя и срока имплантации: 1 – LD-ПЛА; 2 – LD-ПЛА+5 масс.% ХН; 3 – LD-ПЛА+5 масс.% ХН-ПЭГ

Видно, что кривая ДСК этого образца сохраняет свой вид через 6 месяцев имплантации, однако уже к 12 месяцу, кривая потеряла свою первоначальную форму, пики сложно различимы, что свидетельствует о сильной потере молекулярной массы LD-ПЛА. Результаты механических испытаний ориетированных нитей с добавлением хитиновых наночастиц представлены на рис. 7. Результаты, представленные на рис. 7, показывают, что добавление хитиновых наночастиц обоих типов влияет на скорость биорезорбции ориетированных нитей. Наибольшей скоростью биорезорбции обладают нити с 5 масс.% ХН-ПЭГ, уже к 3 месяцам имплантации нить теряет 50% от начальной прочности, а к 6 месяцам испытать ее уже не удастся. Такое повышение скорости биорезорбции скорее всего связано с наличием ПЭГ в наполнителе, который является водорастворимым. Растворение ПЭГ влечет за собой появление пор внутри нити и как следствие увеличение площади контакта материала со средой организма животного.

**В пятой главе** проведена оценка биологической активности прототипов хирургических нитей с добавлением наночастиц серебра в зависимости от их структуры и концентрации наполнителя. На основе LD-ПЛА матрицы и Повиаргола, который представляет собой высокодисперсное серебро, стабилизированное поливинилпирролидоном, были получены два типа композиционных хирургических нитей: мононити с диаметром от 150 до 400 мкм и полифиламентные нити, состоящие из 10 элементарных нитей диаметром 60 мкм. Механические испытания показали, что добавление 1 масс.% Повиаргола приводит к увеличению механической прочности на 20% нитей со степенью вытяжки  $\lambda = 6$ . Также, данная нить соответствует нормативам ГОСТ 31620-2012 по прочности в простом узле и поэтому она

была выбрана в качестве шовной нити для проведения теста *in vivo* (глава 6). При исследовании влияния модельной биологической среды (испытания на воздухе при н.у. и в фосфатном буфере при температуре 37°C, pH=7,4) на механические свойства прототипов хирургических нитей с добавлением наночастиц серебра было показано, что в жидкой среде предел текучести неориентированных нитей снижается в три раза, а модуль упругости в два раза (рис.8).

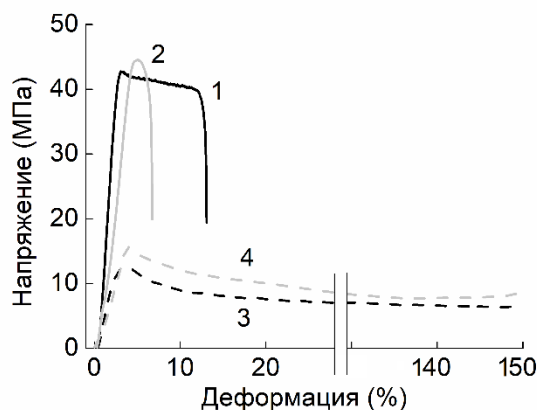


Рис. 8. Диаграммы растяжения неориентированных нитей на воздухе и в буферном растворе при температуре 37°C: 1 – LD-ПЛА (воздух), 2 – LD-ПЛА+5% Повиаргол (воздух), 3 – LD-ПЛА (буфер), 4 – LD-ПЛА+5% Повиаргол (буфер)

Исследование антибактериальной активности двух типов нитей (мононить и полифиламентная нить) на основе LD-ПЛА с добавлением Повиаргола проводилось по схеме, представленной на рис. 9. Проверяться антибактериальная активность против двух типов бактерий: *Staphylococcus aureus* и *Klebsiella pneumoniae*.

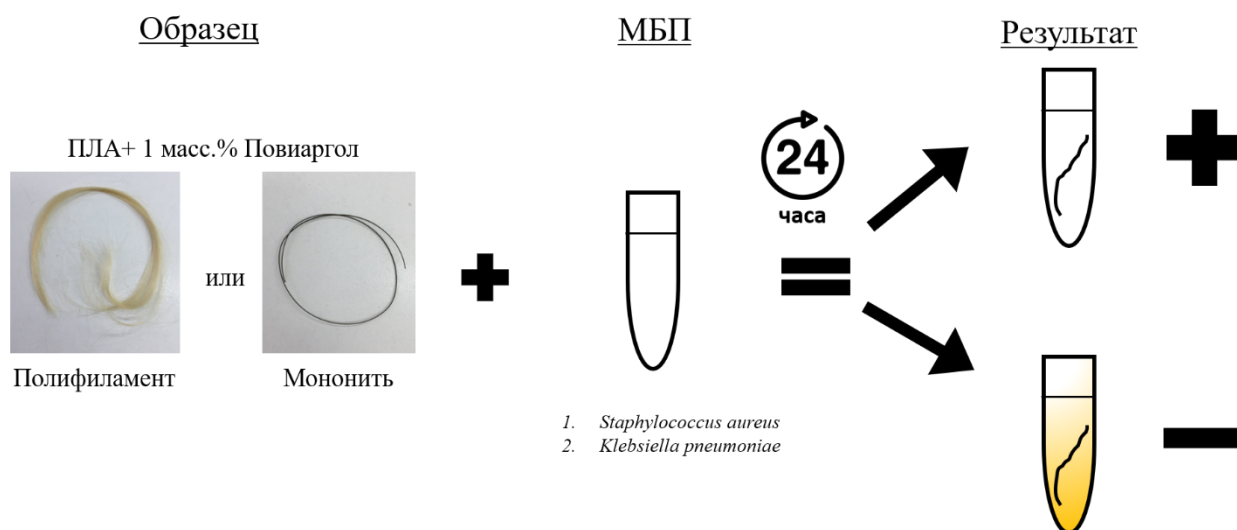


Рис. 9. Схема изучения антибактериальной активности нитей

Из результатов, представленных в таблице 2, видно, что антибактериальной активностью против *Staphylococcus aureus* обладают только полифиламентные нити с содержанием 1 масс.% Повиаргола. Напротив, образцы монопнитей с концентрациями Повиаргола до 20 масс.% не проявили антибактериальную активность в данном эксперименте, что, вероятно, обусловлена разными технологическими условиями получения поли- и монофиламентных нитей.

Таблица 2. Антибактериальная активность образцов композиционных нитей в отношении типовых штаммов микроорганизмов в различных концентрациях.

Образец	Вид бактерий			
	<i>Staphylococcus aureus</i>		<i>Klebsiella pneumoniae</i>	
Разведение, КОЕ/мл	$1 \cdot 10^6$	$1 \cdot 10^7$	$1 \cdot 10^6$	$1 \cdot 10^7$
LD-ПЛА+1% Повиаргол монопнить	-	-	-	-
LD-ПЛА+10% Повиаргол монопнить	-	-	-	-
LD-ПЛА+20% Повиаргол монопнить	-	-	-	-
LD-ПЛА+1% Повиаргол полифиламент	+	+	-	-

Для того, чтобы выяснить причины различия антибактериальной активности композиционных нитей различной структуры было проведено исследование поверхности образцов с помощью сканирующей электронной микроскопии. Микрофотографии представлены на рисунке 10.

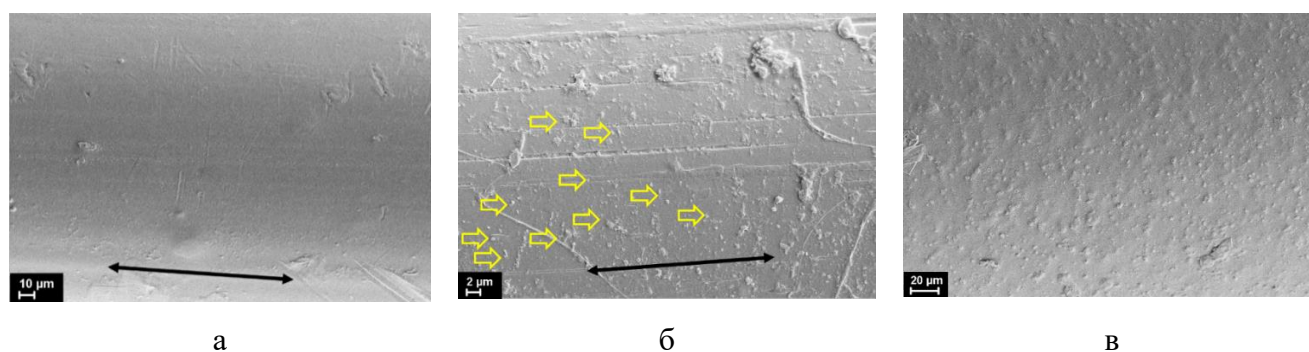


Рис. 10. СЭМ поверхности нитей с различным содержанием Повиаргола: а - LD-ПЛА+1%Повиаргол монопнить; б - LD-ПЛА+1%Повиаргол полифиламент; в - LD-ПЛА+10%Повиаргол монопнить. Желтым помечены частицы Повиаргола.

Видно, что при концентрации 1 масс.% Повиаргола поверхность монопнити имеет гладкую форму (рис. 10а), тогда как поверхность элементарной нити из полифиламента усеяна



частицами Повиаргола (рис. 10б) и, соответственно, серебра. При повышении концентрации Повиаргола до 10 масс.% (рис. 10в) на поверхности мононити были обнаружены частицы наполнителя, но покрытые полимерной оболочкой, что ограничивает проявление антибактериальной активности у данных образцов вплоть до частичной биорезорбции ПЛА.

При исследовании скорости биорезорбции образцов нитей *in vivo* было показано, что добавление Повиаргола влияет на биорезорбцию неориентированных нитей схожим образом с ХН-ПЭГ. То есть, в первую очередь, происходит растворение стабилизатора (поливинилпирролидона) в наполнителе, что влечет за собой увеличение площади поверхности образца и формирование пористой структуры (рис. 11). При механических испытаниях (рис. 12) ориентированных нитей из LD-ПЛА с добавлением 5 масс.% Повиаргола было показано, что 5 масс.% Повиаргола увеличивает скорость биорезорбции прототипов хирургических нитей в 3 раза по сравнению с ненаполненной ПЛА нитью и уже к 3 месяцам теряет 50% прочности.

**В шестой главе** представлены результаты *in vivo* теста, который заключался в исследовании полученных ранее нитей в качестве шовного материала для ушивания прямых мышц живота крысы в области белой линии. Для данного эксперимента были выбраны три вида нити, прочность в узле которых соответствуют нормативам ГОСТ 31620-2012, а именно: LD-ПЛА, LD-ПЛА+5 масс.% ХН-ПЭГ и LD-ПЛА+1 масс.% Повиаргол. Качество образующегося рубца оценивалось с помощью гистологических методов.

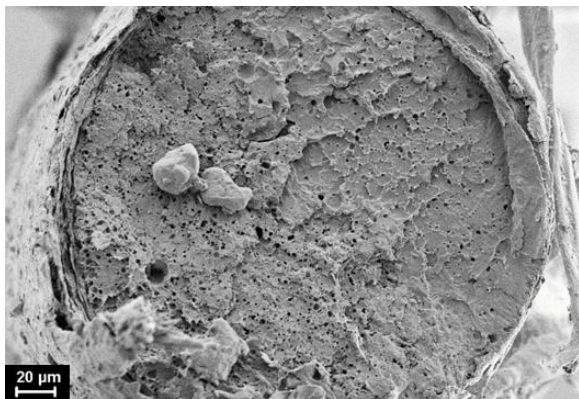


Рис. 11. СЭМ поверхности крио-скола неориентированной нити на основе LD-ПЛА с добавлением 5 % Повиаргола через 6 месяцев имплантации

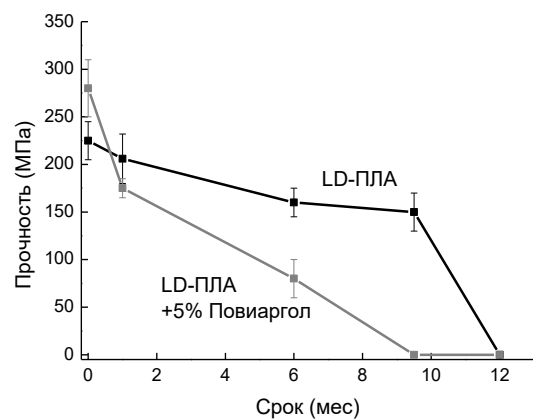


Рис. 12. Сравнение зависимостей прочности нитей со степенью вытяжки в 4 раза от срока имплантации *in vivo*

Было показано, что исследуемые нити на основе LD-ПЛА не осложняют процесс образования рубцовой ткани. Во всех случаях состояние раны через 7 дней после нанесения соответствует 1–2 стадиям формирования рубца, через 4 недели мы наблюдаем уже гиалиновую

(завершающую) стадию формирования рубца [Адаскевич, Мяделец, 2021; Stolzenburg-Veeser L., Golubnitschaja O., 2018]. На рис. 13 представлено макроскопическое и микроскопическое сравнение сформированных рубцов за 4 недели эксперимента.

При ушивании раны нитью на основе LD-ПЛА на сроке, равном 4 неделям, визуально отмечается, что рубец сформировался, а морфологический анализ свидетельствует о снижении воспалительной реакции. Коллагеновых нитей стало больше по сравнению с предыдущими сроками. Что касается скорости биорезорбции, то стоит отметить, что нить визуализируется на всех этапах эксперимента и она пальпировалась при вырезании фрагмента мышечной ткани.

При использовании нити с добавлением 5 масс. % ХН-ПЭГ через 4 недели видно, что рубец полностью сформирован, визуально очагов воспаления не видно. Гистологически подтверждается, что воспалительный процесс по сравнению с предыдущим сроком начинает затухать, клеток воспалительного ряда (лимфоцитов, макрофагов и ГМКИТ) становится значительно меньше. Сосудов немного, они запустевшие. Коллаген представлен толстыми и тонкими пучками, которые практически полностью заполняют место рубца. Через 4 недели нить также сложно идентифицировать с помощью пальпации во фрагменте вырезанной ткани.

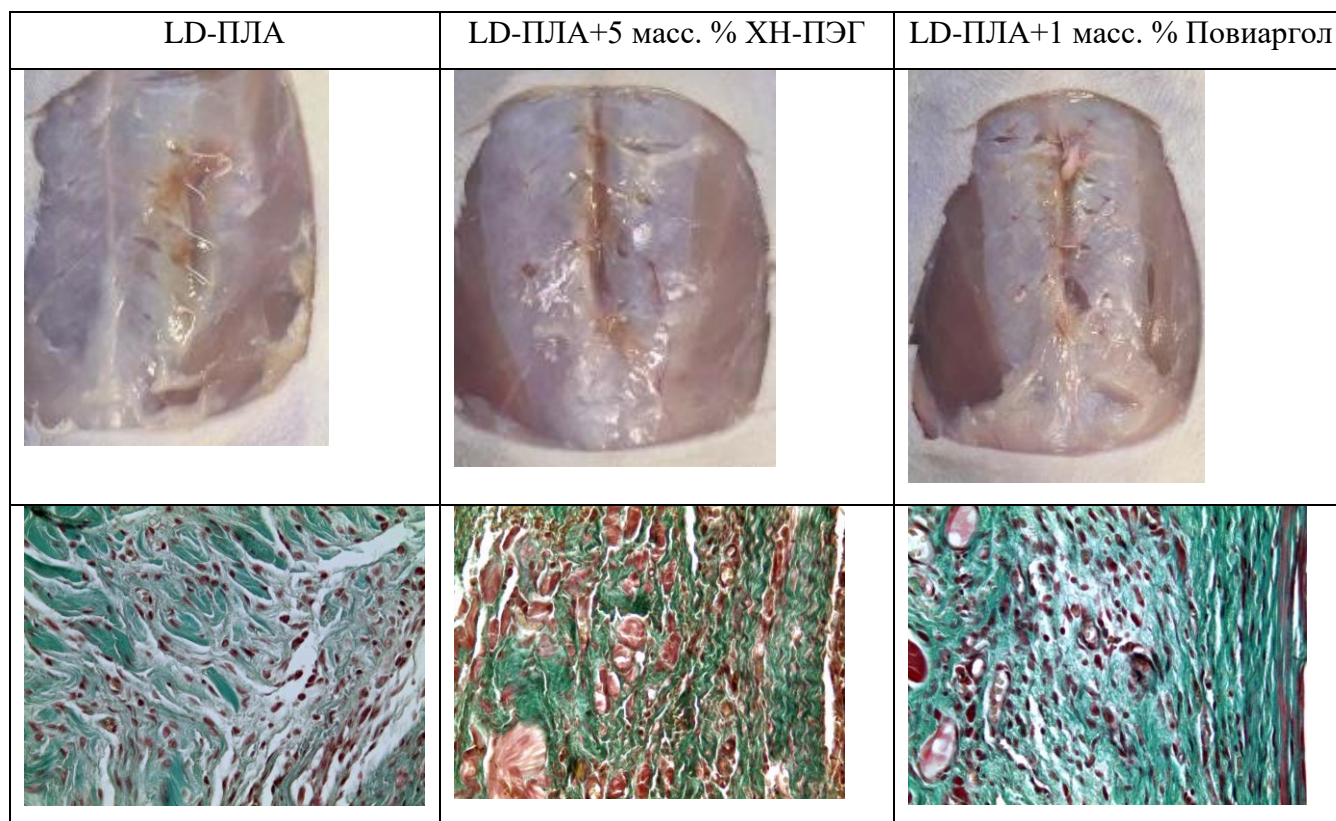


Рис. 13. Макро и микроскопическое сравнение сформированного рубца через 4 недели эксперимента. Окраска по методу Массона. Об. x10, ок. x40. Зеленым цветом окрашены коллагеновые пучки

Третьим образцом для исследования в качестве шовного хирургического материала были композиционные нити на основе LD-ПЛА с добавлением 1 масс.% Повиаргола. На 4-й неделе стоит отметить, что визуально рубец сформирован, а воспалительный процесс еще сохраняется. Морфологический анализ также свидетельствует о сохранении воспалительного процесса на уровне 2 недели эксперимента. В соединительнотканном рубце выявляются единичные макрофаги и ГМКИТ. Сосуды немногочисленны и полнокровны. Коллагеновых волокон очень много, они формируют пучки различной толщины, заполняющие воспалительный очаг. Поведение нити с добавлением 1 масс. % Повиаргола в плане биорезорбции похоже на нить с добавлением 5 масс.% ХН-ПЭГ, она также перестала визуализироваться и пальпироваться уже на 4 неделе эксперимента. Можно предположить, что процессы биорезорбции данных нитей схожи и помимо растворения ПЭГ и ПВП эти процессы могут ускорять механические напряжения, возникающие в местах контакта нитей с живой тканью.

**Седьмая глава** посвящена разработке электропроводящих нитей на основе LD-ПЛА и углеродных нановолокон для их возможного применения, помимо шовных материалов, в качестве биосенсоров, а также кондуитов для регенерации периферических нервов. Поэтому, на первом этапе исследовалось влияние концентрации УНВ и степени ориентационной вытяжки композиционных нитей из LD-ПЛА на значения их удельного объемного электрического сопротивления (рис. 14).

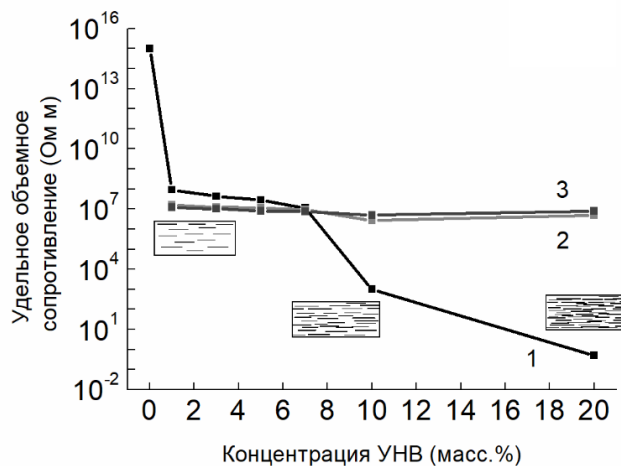


Рис. 14. Зависимость удельного объемного сопротивления от концентрации наполнителя и степени ориентационной вытяжки композиционной нити на основе LD-ПЛА:

1 – неориентированные нити; 2 – ориентированные в 4 раза; 3 – ориентированные в 6 раз нити.

Видно (рис. 14), что изменение удельного объемного электрического сопротивления носит пороговый характер. При концентрации УНВ от 1 до 7 масс.% образуется перколяционная сетка, способствующая снижению объёмного сопротивления композиционной

нити на 7 порядков величины по сравнению с ненаполненными LD-ПЛА нитями ( $\rho_v = 10^{15}$  Ом·м). При дальнейшем увеличении концентрации до 10 масс.% сопротивление неориентированных нитей снижается еще на четыре порядка до  $10^3$  Ом·м, а при 20 масс.% УНВ до значений  $10^0$  Ом·м. На рис. 14 схематично изображены варианты образования перколяционного кластера при разных концентрациях. Для ориентированных образцов нитей независимо от концентрации УНВ и степени ориентационной вытяжки (4 или 6 раз) значения удельного объемного электрического сопротивления нити находятся на уровне  $10^7$  Ом·м. Данный эффект может быть связан с тем, что при ориентационной вытяжке LD-ПЛА происходит разрыв части проводящих цепочек без возможности образования новых.

При исследовании механических свойств нитей было показано, что добавление УНВ до 20 масс.% не влияет заметно на прочность нитей: прочность неориентированных нитей составляет ~ 60 МПа, при  $\lambda=4$  прочность нити ~ 250 МПа, а при  $\lambda=6$  прочность нити достигает 330 МПа. Испытания в простом узле показали, что композиционные нити со степенью ориентационной вытяжки в 4 раза обладают прочностью на 20% выше, чем ненаполненные нити. Для биорезорбируемых композитов при степени вытяжки  $\lambda=6$  прочность в узле снижается в среднем на 60% по сравнению с ненаполненными нитями. Такое различие в изменении прочности в простом узле можно объяснить тем, что с увеличением степени вытяжки в нити накапливается количество микродефектов, которые при сложной деформации оказывают заметное влияние на прочность нити.

Одним из важных параметров, определяющих долговечность биосенсоров, а также кондуитов для регенерации нервов, является стабильность электропроводящих свойств в биологической среде. На рис. 15 приведены результаты исследования стабильности электропроводящих свойств нитей при длительных нагрузках в фосфатном буфере (рН=7,4, 37°C). Эксперимент показал, что удельное объемное электрическое сопротивление остается на исходном уровне после 24 часов воздействия циклической нагрузки равной 50% от разрывной (рис 15).

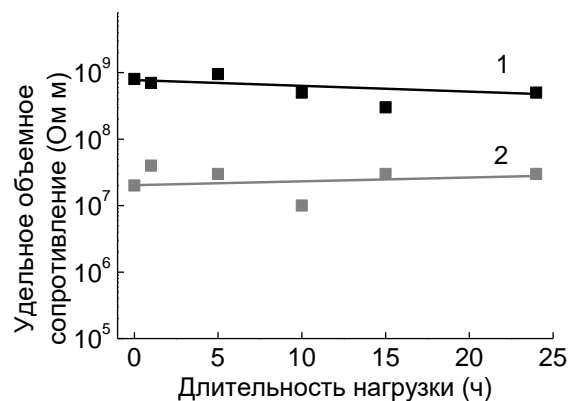


Рис. 15. Зависимость удельного объемного сопротивления нитей из LD-ПЛА с добавлением УНВ со степенью ориентационной вытяжки в 6 раз от времени приложения циклической нагрузки в 50% от разрывной: 1 – LD-ПЛА+1 масс.% УНВ, 2 – LD-ПЛА+10 масс.% УНВ

При изучении скорости биорезорбции было выяснено, что из-за плохой адгезии вокруг частиц УНВ образуются полости, которые в свою очередь снижают прочность неориентированной нити. При исследовании ориентированных нитей этот эффект был подтвержден и к 6-му месяцу имплантации нить теряет 50% исходной прочности, а к 9-му месяцу композиционная нить практически полностью теряет свою прочность, тогда как прочность ненаполненной нити к этому времени сохраняется на уровне 6 месяцев (рис. 16).

К 12 месяцам различия в надмолекулярной структуре наполненной и ненаполненной нитей становятся наиболее заметными, что подтверждается СЭМ микрофотографиями криосколов (рис. 17) композиционной LD-ПЛА нити, наполненной УНВ. Образец этой нити обладает рыхлой структурой и наблюдается дефрагментация образца. Тем не менее, в рамках исследования биорезорбции было подтверждено, что нить LD-ПЛА, наполненная УНВ, сохраняет электропроводящие свойства после 12 месяцев имплантации *in vivo*, не смотря на заметные следы её разрушения.

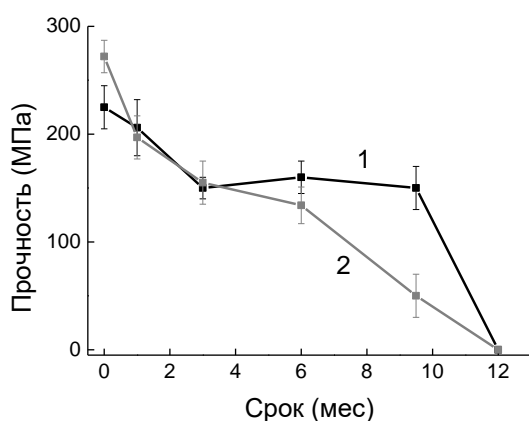


Рис. 16. Зависимость прочности нитей с ориентационной вытяжкой в 6 раз на основе LD-ПЛА (1) и LD-ПЛА с добавлением 5 масс.% УНВ (2) от времени имплантации



Рис. 17. Крио-скол нити на основе LD-ПЛА+5 масс.% УНВ со степенью ориентационной вытяжки  $\lambda=4$  через 12 месяцев имплантации

## Заключение

1. Оптимальной полимерной матрицей для создания прототипов композиционных хирургических шовных нитей является LD-ПЛА, так как мононити на его основе

обладают прочностью в узле, соответствующей нормативам ГОСТ 31620-2012, а также достаточным сроком биорезорбции *in vivo* для его регулирования.

2. Модификация хитиновых нанофибрилл полиэтиленгликолем позволяет увеличить скорость *in vivo* биорезорбции в биологической среде организма нитей из LD-ПЛА за счет набухания и растворения ПЭГ. Прототип хирургической шовной нити с содержанием 5 масс. % ХН-ПЭГ соответствует нормативам ГОСТ 31620-2012.
3. Препарат Повиаргол может использоваться в качестве наполнителя для получения композитов по расплавному методу. Прототипы шовных хирургических нитей из LD-ПЛА, содержащие 1 масс. % Повиаргола, имеющие структуру мононити, обладают увеличенной на 20% механической прочностью, в случае полифиламентной структуры нити обладают антибактериальной активностью против *Staphylococcus aureus*.
4. Прототипы хирургических нитей на основе LD-ПЛА с добавлением 1 масс.% Повиаргола и 5 масс. % ХН-ПЭГ не приводят к осложнениям при ушивании мышечной ткани в районе белой линии живота, а также способствуют формированию более эластичного рубца.
5. Добавление УНВ в LD-ПЛА позволило получить биорезорбируемые электропроводящие нити, которые обладают стабильными электропроводящими свойствами при циклических нагрузках, а также после имплантации в живой организм. Одними из возможных сфер применения данных нитей являются создание биосенсоров или кондуитов для регенерации периферических нервов.

## Список опубликованных работ

### Статьи в рецензируемых изданиях

1. М  
alafeev K. V. et al. Synthesis and properties of fibers prepared from lactic acid–glycolic acid copolymer //Polymer Science, Series A. – 2017. – Т. 59. – №. 1. – С. 53-57. (*Scopus*)
2. М  
alafeev K. V. et al. Synthesis and properties of fibers based on polylactide stereocomplexes //Russian Journal of Applied Chemistry. – 2017. – Т. 90. – №. 7. – С. 1021-1029. (*Scopus*)
3. М  
alafeev K. V. et al. Production of Monofilaments from Polylactide Melt: Structure, Properties, and Biocompatibility //Fibre Chemistry. – 2017. – Т. 48. – №. 6. – С. 456-461. (*Scopus*)
4. М  
oskalyuk O. A., **Malafeev, K. V.**, Yudin, V. E., Kamalov, A. M., & Ivankova, E. M. Electric

Conductive and Mechanical Properties of Fibers Based on Polylactide and Carbon Nanofiber //Fibre Chemistry. – 2020. – Т. 52. – №. 3. – С. 191-195. (*Scopus*)

5. M  
alafeev K. V. et al. Study of Physicomechanical Properties of Composite Fibers Based on Polylactide and Modified Chitin Nanofibrils //Polymer Science, Series A. – 2020. – Т. 62. – №. 3. – С. 249-259. (*Scopus*)
6. M  
alafeev K. V. et al. The Influence of Biodegradable Dispersed Fillers Obtained by Spray Drying on the Mechanical Properties of Polylactide Fibers //Nanotechnologies in Russia. – 2020. – Т. 15. – №. 7. – С. 456-465. (*Scopus*)
7. M  
alafeev, K. V., Moskalyuk, O. A., Yudin, V. E., Morganti, P., Ivan'Kova, E. M., Popova, E. N., & Elokhovskii, Y. U. (2017). Biodegradable polylactide/chitin composite fibers: Processing, structure, and mechanical properties. J. Appl. Cosmetol, 35, 163-173. (*Scopus*)

## Тезисы

1. M  
**alafeev K.V.**, Moskalyuk O.A., Popova E.N., Elokhovskiy V.Y., Ivan'kova E.M., Yudin V.E., Osmolovskaya O.M. «Creation of suture materials based on polylactide and of their mechanical properties»// 11<sup>th</sup> International Saint Petersburg Conference of Young Scientists «Modern problems of polymer science» 9-12 ноября, 2015.
2. **Malafeev K.V.**, Moskalyuk O.A., Popova E.N., Elokhovskiy V.Y., Yudin V.E. «Bio-mechanical properties of Poly (lactic acid) filaments processed by melt spinning» ISBP 2016, 15<sup>th</sup> International Symposium on Biopolymers, Мадрид, Испания, 26-29 сентября, 2016.
3. **Malafeev K.V.**, Moskalyuk O.A., Yudin V.E., Popova E.N., Elokhovskiy V.Y., Ivan'kova E.M., «Composite monofilaments based on poly(lactic acid) and chitin nanofillers»// 13<sup>th</sup> International Saint Petersburg Conference of Young Scientists «Modern problems of polymer science», Санкт-Петербург, 13-16 ноября, 2017.
4. **Малафеев К.В.**, Москалюк О.А., Попова Е. Н., Елоховский В.Ю., Юдин В.Е. «Исследование биодegradации композитов на основе полилактида с помощью тестов *in vitro*»// Форум с международным участием «Неделя науки СПбПУ 2017», Санкт-Петербург.
5. **Malafeev K.V.**, Moskalyuk O.A., Popova E.N., Elokhovskiy V.Y., Ivan'kova E.M., Yudin V.E. «Mechanical properties of composite monofilaments based on poly (lactic acid) and Poviargol»// 14<sup>th</sup> International Saint Petersburg Conference of Young Scientists «Modern problems of polymer science» 12-14 ноября, 2018.
6. **Малафеев К.В.**, Москалюк О.А., Попова Е. Н., Елоховский В.Ю., Юдин В.Е., Моргант П. «Исследование механических свойств мононитей на основе полилактида и наночитина, модифицированных полиэтиленгликолем»// VII Бакеевская всероссийская конференция «Макромолекулярные нанообъекты и полимерные нанокомпозиты», Москва, 7-12 октября, 2018.

7. **Малафеев К.В.**, Москалюк О.А., Юдин В.Е., Морганти П. «Исследование механических свойств ориентированных моноплетей на основе полилактида и наночастиц хитина»// XXI Международный научно-практический форум «SMARTEX – 2018», Иваново, 26-28 сентября, 2018.
8. **Malafeev K.V.**, Moskalyuk O.A., Popova E.N., Elohovskiy V.Y., Ivan'kova E.M., Yudin V.E. «Influence of biodegradable nanofillers of different types on properties of PLA-based composite fibers» // ESB 2019 Дрезден, Германия, 9-13 сентября 2019.
9. **Малафеев К.В.**, Москалюк О.А., Попова Е. Н., Иванькова Е.М., Елоховский В.Ю., Юдин В.Е. «Исследование влияния модификации хитиновых наночастиц на физико-механические свойства полилактидных композитных волокон». III Международная конференция со школой молодых ученых «Физика – наукам о жизни». Санкт-Петербург, 14-18 октября 2019.
10. **Malafeev K.V.**, Moskalyuk O.A., Popova E.N., Ivan'kova E.M., Yudin V.E., Suslov D.N., Popova A.A. «Study of biodegradation of various polylactide-based fibers using the *in vivo* test»// 15<sup>th</sup> International Saint Petersburg Conference of Young Scientists «Modern problems of polymer science», Санкт-Петербург, 28-31 октября, 2019.
11. **Malafeev K.V.**, Moskalyuk O.A., Popova E.N., Ivan'kova E.M., Yudin V.E., Kamalov A.M. «Influence of VGCF Concentration on Properties of Biodegradable Fibers Based on Poly (Lactide Acid) »// IEEE Conference of Russian Young Researchers in Electrical and Electronic Engineering 2021, Санкт-Петербург, 26-29 января, 2021. (*Scopus*)