

А. А. Ольхов (к.т.н., зав.лаб.)^а, А. Г. Филатова (к.х.н., н.с.)^б, А. Л. Жулькина (н.с.)^а,
А. Л. Иорданский (д.х.н., гл.н.с.)^а, А. А. Бурмистров (м.н.с.)^б

СИНТЕЗ И СТРУКТУРА УЛЬТРАТОНКИХ ВОЛОКОН ПОЛИ-(3-ГИДРОКСИБУТИРАТА) С НАНОЧАСТИЦАМИ ОКСИДОВ КРЕМНИЯ И ТИТАНА, ПОЛУЧЕННЫХ МЕТОДОМ ЭЛЕКТРОФОРМОВАНИЯ

Федеральный исследовательский центр химической физики имени Н.Н. Семенова РАН,

^а лаборатория диффузионных явлений в полимерных системах,

^б лаборатория фотохимии полимеров

119991, г. Москва, ул. Косыгина, 4, тел. (495) 9397434; e-mail: aolkhov72@yandex.ru

A. A. Ol'khov, A. G. Filatova, A. L. Zhul'kina, A. L. Iordanskiy, A. A. Burmistrov

SYNTHESIS AND STRUCTURE OF ULTRA THIN FIBERS POLY-(3-HYDROXYBUTYRATE) WITH NANOPARTICLES OF SILICON AND TITANIUM OXIDES OBTAINED BY ELECTROSPINNING

Semenov Institute of Chemical Physics

4, Kosygina Str., 119991, Moscow, Russia; ph. (495) 9397434; e-mail: aolkhov72@yandex.ru

Исследованы матриксы на основе нановолокон поли-(3-гидроксibuтирата) (ПГБ), полученные методом электроформования. Анализ спектров ЭПР показал, что волокна ПГБ имеют различные по степени организации межкристаллитные области. Добавление в полимерное волокно наночастиц диоксида кремния и титана приводит к замедлению процессов кристаллизации полимера и снижению энергии активации фазового перехода плавления поли-(3-гидроксibuтирата). При этом формируется волокно диаметром около 1 мкм с максимальными физико-механическими характеристиками. Наибольшее влияние на рост живых клеток на матриксах оказывает диаметр волокна, который определяет плотность упаковки нетканого материала и его пространственную морфологию (количество узлов зацеплений и переплетений). На основе нановолокон поли-(3-гидроксibuтирата) разработана конструкция искусственного биорезорбируемого имплантата ахиллова сухожилия крысы, которая обеспечивает условия эффективного формирования в тканевом дефекте прочного и морфологически оформленного регенерата связки.

Ключевые слова: диоксид кремния; диоксид титана; искусственные биорезорбируемые имплантаты; матриксы для тканевой инженерии; надмолекулярная структура; наночастицы; поли-(3-гидроксibuтират); ультратонкие волокна; электроформование.

The article presents research-based scaffolds of nanofibers of poly (3-hydroxybutyrate) (PHB) fibers obtained by electrospinning. We used the following methods: EPR, DSC, SEM, physical and mechanical testing, the dynamics of growth of mesenchymal stem cells, implantation nonwoven in rats. EPR shown that PHB fibers are different in degree of organization intercrystalline area. Nanoparticles of silicon dioxide and titanium dioxide leads to slow crystallization process of the polymer and reduce the activation energy of the melting phase transition. This forms a fiber diameter of about 1 micron and maximum physical and mechanical properties. The greatest influence on the growth of living cells on scaffolds has a fiber diameter. This indicator measures the packing density of the nonwoven fabric and its spatial morphology (the number of links and the interlacing points). On the basis of nanofibers of poly (3-hydroxybutyrate) has been developed design of artificial bioresorbable implant rat Achilles tendon, which provides conditions for effective formation in the tissue defect lasting and morphologically issued regenerate ligament.

Key words: artificial bioresorbable implants; electrospinning; matrices for tissue engineering; poly-(3-hydroxybutyrate), nanoparticles; silicon dioxide; supramolecular structure; titanium dioxide; ultra-thin fibers.

Дата поступления 03.10.19

В настоящее время одним из эффективных методов формирования нетканых нановолокнистых матриц и элементов искусственных имплантатов на основе биополимеров для использования в тканевой инженерии и травматологии является электростатическое формирование полимерного раствора (ЭФВ) ^{1–3}. Этот метод позволяет получать волокнистые нетканые материалы с большой удельной площадью поверхности, что создает условия для свободной миграции и пролиферации клеток в трехмерном пространстве матрикса, а, соответственно, и высокий уровень интеграционной способности материала в живых тканях организма ⁴.

Среди биополимеров медицинского применения лидируют полиоксикапроаты (ПОА), из которых наиболее интенсивно исследуемым полимером является поли(3-гидроксibuтират) (ПГБ) ^{5, 6}. Этот биополимер, получаемый биотехнологическим путем, обладает такими перспективными свойствами, как высокий уровень биосовместимости ^{7–9} и способность к биоразложению в живых тканях без образования токсических продуктов ^{10–12}. В связи с этим, ПГБ широко исследуется в настоящее время и используется для разработки целого ряда изделий медицинского назначения для хирургии, стоматологии, кардиохирургии, ортопедии и других областей ^{13, 14}.

На физико-механические, диффузионные свойства и кинетику окислительной, фотоокислительной и биорезорбции в организме волокнистых матриц оказывает влияние величина среднего диаметра моноволокна и его молекулярная и надмолекулярная структура ⁷. Диаметр получаемых методом ЭФВ волокон зависит от таких параметров, как концентрация вещества в исходном растворе, скорость испарения растворителя, напряжение, расстояние от капилляра до формирующегося слоя, электропроводность, вязкость, температура и др. ⁴. Поэтому получение на выходе волокон определенной морфологии является одной из основных проблем, актуальной и на сегодняшний день.

Однако в случае ПГБ изменение технологических параметров электроформования (электропроводность, производительность, вязкость формовочного раствора) практически не влияет на диаметр ультратонких волокон ^{15, 16}, следовательно, практически неизменными останутся структура и свойства нетканого материала на основе ПГБ.

Известно, что введение наноразмерных добавок различной природы в кристаллизующиеся полимеры приводит к существенному изменению морфологии кристаллической фазы и, соот-

ветственно, получению изделий с заданными геометрическими параметрами и комплексом эксплуатационных характеристик ^{15, 17–19}.

Таким образом, целью настоящей работы являлось изучение влияния наноразмерных частиц диоксида титана и кремния на структуру и свойства ультратонких волокон ПГБ.

Материалы и методы исследования

В работе использовали поли(3-гидроксibuтират) (ПГБ) с молекулярной массой 300 и 460 кДа фирмы BIOMER (Германия) в виде порошка, полученного методом микробиологического синтеза, хлороформ и процессинговые добавки для увеличения электропроводности формовочного раствора: муравьиная кислота и тетрабутиламмониййодид (производства России). Все реактивы класса химической чистоты «ХЧ». В качестве модифицирующих добавок взяли: диоксид титана двух модификаций (η -TiO₂) со средним размером частиц 60 нм и удельной поверхностью 100 м²/г и (TiO₂ – анатаз) со средним размером частиц 28 нм и удельной поверхностью 171 м²/г, которые были получены на кафедре физики и химии твердого тела МИТХТ ²⁰ и нанокристаллический кремний состава nc-Si/защитная оболочка (SiO₂) со средним диаметром частиц 5–7 нм (диаметр ядра кремния 1.5–3.5 нм) и удельной поверхностью 260–300 м²/г ^{17–19}. Наноразмерные модификации диоксида титана со структурой анатаза и η -TiO₂ синтезированы сульфатным способом из двух исходных реагентов (TiO)SO₄·xH²SO₄·yH₂O (I) и (TiO)SO₄·2H₂O (II) ²⁰. Отличительной чертой η -TiO₂ является то, что его структура производна от структуры анатаза с удвоением параметра элементарной ячейки ^{15, 21}.

ЭФВ нановолокон на основе ПГБ осуществляли с помощью лабораторной капиллярной установки ^{2, 4}. Формование проводили при динамической вязкости раствора 9 Пз (0.9 Па·с), удельной объемной электропроводности $\sim 10^{-3}$ (Ом·м)⁻¹, объемном расходе формовочного раствора (10⁻¹²)·10⁻⁵ г/сек, напряжении электрического поля 10–11 кВ, расстоянии между электродами 18 см, диаметр капилляра 0.1 мм.

Распределение волокон ПГБ по диаметрам исследовано методами световой и электронной микроскопии с помощью оптического микроскопа МБИ-6 и сканирующего электронного микроскопа Hitachi TM-1000. Теплофизические характеристики волокон на основе ПГБ исследованы с помощью дифференциального сканирующего калориметра Perkin Elmer

Puris 6 DSC (США). Прочность волокнистых материалов из ПГБ изучена на разрывной машине РМ-3-1 по ТУ 25.061065-72 на образцах размером 4×1 см, вырезанных из нетканого волокнистого материала, формовавшегося в течение 1.5 ч, по формуле $L = \left(F \cdot \frac{l_0}{m} \right) \cdot 100$, где F — разрывное усилие, Н; l_0 — начальная длина образца между зажимов, м; m — масса образца между зажимов, г.

Молекулярную подвижность изучали микронзондовым методом ЭПР. В качестве зонда использовали стабильный нитроксильный радикал 2,2,6,6-тетраметилпиперидин-1-оксил (ТЕМПО). Радикал вводили в волокнистый материал из паров при температуре 250 °С до концентрации, не превышающей 10^{-3} моль/л. Регистрацию спектров ЭПР проводили в отсутствие насыщения, что проверяли по зависимости интенсивности сигнала от мощности микроволнового поля. Значения времени корреляции вращения зонда (τ) оценивали из спектров ЭПР. Время корреляции определяли по формуле²⁶: $\tau = \Delta H^+ (\sqrt{I^+ / I} - 1) 6.65 \cdot 10^{-10}$, где ΔH^+ — ширина компоненты спектра, расположенной в слабом поле, I^+ / I — интенсивности компонент в слабом и сильном поле, соответственно. Ошибка в определении τ составляла $\pm 5\%$.

Для оценки биосовместимости полимерных матриц использовали метод культивирования клеток на поверхности матриц. Были использованы мезенхимальные стволовые клетки (МСК) из жировой ткани человека (Биолот, Россия). Клетки культивировались в среде DMEM (Dubecco's Modified Eagle Medium, Invitrogen, США) с повышенным содержанием глюкозы (4.5 г/л), содержащей 10% эмбриональной телячьей сыворотки (ЭТС), 100 МЕ/мл пенициллина и 100 мкг/мл стрептомицина (Invitrogen, США). Клетки инкубировались при 37 °С в атмосфере, содержащей 5% CO₂, среда менялась каждые три дня. Фибробласты снимали с подложки раствором трипсина-версена (0.05% трипсин и 0.02% версен в фосфатно-солевом буфере (ФСБ)) (Serva, Germany) и подсчитывали с помощью камеры Горяева. По восемь образцов каждого матрикса размером 5×5 мм помещали в лунки 96-луночного планшета и клеточную суспензию наносили сверху на каждый образец из расчета 5000 клеток на матрикс. Планшеты инкубировали 1, 3, 4, 8 суток. Выживаемость и пролиферацию клеток контролировали с помощью теста, основанного на реакции преобразования нерастворимой соли тетразолиума в растворимую

мую окрашенную соль формазана, осуществляемой активными митохондриальными ферментами клеток (XTT Cell Proliferation Kit, Biological Industries, Израиль). Измерения проводили на планшетном спектрофотометре Zenyth 3100 Microplate Multimode Detector (Anthos Labtec Instruments GmbH, Австрия) при длине волны 450 нм против 620 нм. Количество живых клеток определяли по стандартной калибровочной прямой для теста ХТТ⁷.

Исследование регенерационного потенциала разрабатываемых сухожильных имплантатов проводили на модели тотального дефекта ахиллова сухожилия 1 у лабораторных крыс породы Wistar, который создавали иссечением ахиллова сухожилия от икроножной мышцы 2 и от пяточного бугра 3 (рис. 1).



Рис. 1. Экспериментальный дефект ахиллова сухожилия у крыс: 1 — тотальный дефект ахиллова сухожилия; 2 — икроножная мышца; 3 — пяточный бугор.

В исследование включено 10 животных, у каждого из которых дефект правого ахиллова сухожилия замещали имплантатом, а левого — хирургическими нитями (контроль).

Для приготовления формовочного раствора с оптимальными технологическими параметрами: электропроводности, вязкости, молекулярной массы полимера, концентрации полимера нами был ранее проведен цикл научно-исследовательских работ, результаты которых опубликованы в статьях^{22–24}.

Результаты и их обсуждение

Было установлено, что процесс ЭФВ стабильно протекает в области концентраций ПГБ в формовочном растворе от 4 до 9 % мас. при средней вязкости от 2 до 18 Пз. (0.2–1.8 Па·с)^{15, 22}; оптимальная молекулярная масса ПГБ составляла 460 кДа; электропроводность формовочного раствора колебалась в области 10^{-3} (Ом·м)¹.

На рис. 2. показано влияние концентрации ПГБ в формовочном растворе на средний диаметр волокна. Диаметр волокна вычисляли по микрофотографиям с использованием метода сканирующей электронной микроскопии (вставка на рис. 2). Видно, что с ростом концентрации ПГБ (а соответственно, вязкости раствора), диаметр волокна почти линейно растет.

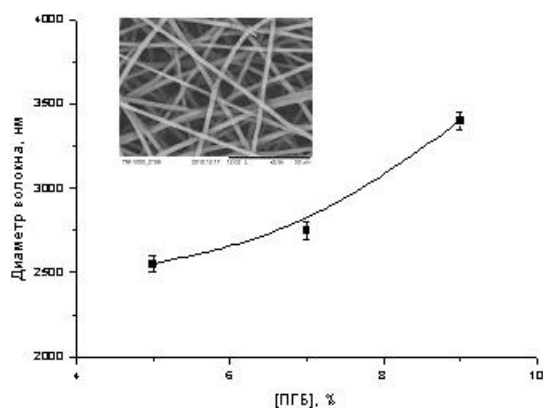


Рис. 2. Зависимость среднего диаметра волокна от концентрации ПГБ в растворе. На вставке изображение волокнистого материала, полученного методом СЭМ.

Было установлено, что молекулярная масса ПГБ и производительность процесса электроформования практически не оказывают влияние на величину среднего диаметра волокна. Установлено, что наиболее высокими механическими характеристиками обладают нетканые волокнистые материалы на основе ПГБ с молекулярной массой 460 кДа^{15, 22–24}. Данный эффект связан, по всей видимости, с кинетикой кристаллизации ПГБ в процессе формирования моноволокна (соотношение аморфной и кристаллической фазы, наличие плотных и более разрыхленных участков в аморфной области). По данным ДСК, степень кристалличности исходного ПГБ (порошок) составляла 69%, а волокнистого материала из 7% раствора — 73%.

Отметим, что в случае биомедицинского применения волоконных материалов, например, при создании пористых матриц для клеточной инженерии или искусственных биорезорбируемых протезов различных связей, возможность регулирования диаметра волокна от микронного до наноразмерного уровня приводит к различной динамике роста и развития клеток и, как следствие, регулированию процесса резорбции полимерного материала¹⁴. Возможность регулировать геометрию ультратонкого волокна путем изменения физико-химических характеристик раствора описывается в ряде недавних публикаций²⁵. В нашем

случае при работе с раствором ПГБ мы выбрали 7%-ный формовочный раствор ПГБ в хлороформе как базовый вариант, что, прежде всего, связано с хорошей воспроизводимостью физико-химических характеристик и геометрии волокон, полученных из этого раствора, поэтому последующие исследования были проведены на их основе, а также на основании проведенных экспериментов по определению физико-механических характеристик и среднего диаметра волокон. На основании полученных экспериментальных данных мы выбрали для дальнейших исследований ПГБ с молекулярной массой 460 кДа, напряжение на электроде 10–11 кВ.

В ходе дальнейшей работы мы исследовали влияние диаметра волокна на скорость роста модельных мезенхимальных стволовых клеток (МСК) на поверхности формируемых нетканых волокнистых материалов. Данные представлены на рис. 3.

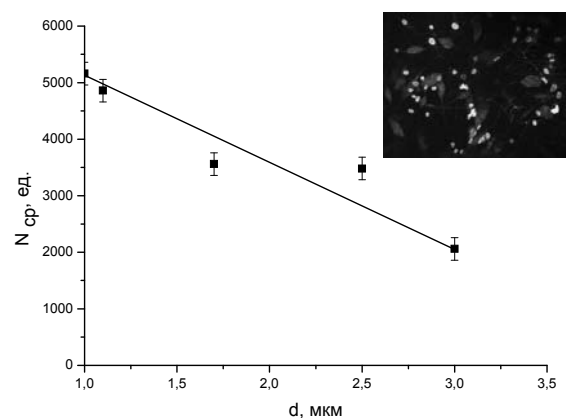


Рис. 3. Зависимость усредненного за 8 суток количества клеток МСК от среднего диаметра волокон ПГБ, культивированных на волокнистых нетканых матриксах. На вставке изображение поверхности нетканого волокнистого материала с колониями МСК (светлые пятна на снимке).

На рис. 3 видно, что с ростом диаметра волокон среднее количество клеток уменьшается. Наивысшее значение показателя регистрируется при диаметрах волокон около 1 мкм. На основе таких волокон формируется нетканый материал с максимальной плотностью упаковки волокон. При этом формируется наиболее переплетенная пространственная структура матрикса с огромным количеством узлов зацеплений и переплетений волокон. Как видно из вставки на рис. 3, клеточные колонии располагаются преимущественно на узлах зацеплений и переплетений волокон. Таким образом, формируется нетканый волокнистый матрикс с оптимальной морфологией для использования в клеточной инженерии.

В процессе электроформования раствор полимера подвергается действию гидростатического и электростатического полей, которые вытягивают каплю раствора на капилляре в волокно^{2, 4}. При этом ориентация волокна сопровождается уплотнением структуры, которое приводит к вытеснению растворителя из объема полимера и фазовому переходу формовочного раствора в волокно с одновременным образованием кристаллической структуры, ориентированной вдоль направления растягивающей силы.

Наличие различных по плотности участков в межкристаллитных (аморфных) областях волокна нами было обнаружено методом ЭПР. Спектры ЭПР матриц, сформированных на основе ультратонких волокон ПГБ, представляют суперпозицию двух индивидуальных спектров, принадлежащих радикалам с различными временами корреляции, которые характеризует молекулярную подвижность в менее плотных и в более плотных аморфных областях полимера. Наличие, по крайней мере, двух времен корреляции радикала в аморфной области волокнистых матриц ПГБ свидетельствует о гетерогенном строении межкристаллических областей полимера и согласуется с современной двухфазной моделью аморфного состояния кристаллизующихся полимеров, применяемой к частично кристаллизующимся полиэфирам, таким как ПГБ, полилактид, полиэтилентерефталат и др.²⁶. Способность ПГБ к кристаллизации в поле действия растягивающих напряжений (так называемая «ориентационная кристаллизация») является определяющей в формировании надмолекулярной структуры. Важным следствием ориентационной кристаллизации является конформационное превращение макромолекул, приводящее к изменению свободной энергии и, соответственно, изменению условий фазового перехода, то есть равновесной температуры кристаллизации²⁷. При этом возможно образование компактной укладки макромолекулярных цепей ПГБ при формировании моноволокна с малыми диаметрами (менее 1 мкм), которые оптимальны при создании матриц для клеточной инженерии.

При сравнении рис. 2 и рис. 3 видно, что изменение технологических параметров ЭФВ не позволяет нам получить волокна с диаметрами около 1 мкм. Поэтому требуется введение структурных модификаторов в полимерный раствор. Для формирования однородной мелкокристаллической структуры в кристаллизующиеся полимеры вводят малые концентрации наноразмерных твердых дисперсных частиц с

полярными группами на поверхности. Наиболее распространенными частицами для модификации надмолекулярной структуры полимеров являются диоксиды титана (титановые белила) и кремния (кремнезем или белая сажа).

В дальнейшей работе мы изучали влияние малой концентрации наноразмерных частиц различной химической природы (диоксид титана в двух модификациях и диоксид кремния) на параметры надмолекулярной структуры волокон ПГБ. Для исследования кристаллической структуры был использован метод ДСК. Для исследования структуры аморфной фазы в волокнах нами был использован метод микрозондовой ЭПР спектроскопии, позволяющей оценить не только динамические характеристики движения сегментов, но и различия в плотностях аморфной фазы, рассматриваемой как комбинацию более и менее упорядоченных областей.

Наноразмерные частицы вводили в раствор полимера в количестве 0.1% (в пересчете на твердый полимер) с использованием ультразвуковой ванны и микроволнового излучения непосредственно перед ЭФВ. Введение малых концентраций наночастиц, как мы предполагали, повлияет на кинетику кристаллизации ПГБ и тем самым изменит надмолекулярную структуру получаемых ультратонких волокон. При этом должны измениться как диаметр волокна, так и его стойкость к факторам внешней среды.

Как видно из табл. 1, введение в формовочный раствор наноразмерных частиц диоксидов кремния и титана привело к уменьшению среднего диаметра волокна по сравнению с исходным значением в 2–3 раза. При этом показатели физико-механических свойств выросли в 1.5–3 раза. Наименьший диаметр и наивысшие физико-механические показатели наблюдались у волокнистых материалов, модифицированных наночастицами диоксида кремния.

Таблица 1
Зависимость среднего диаметра и механических характеристик волокон ПГБ, содержащих наночастицы кремния и диоксида титана

Образец	d_{cp}	L_p	ϵ_p
Волокно ПГБ	2750	586	19
Волокно ПГБ с TiO_2 (анатаз)	1100	1500	80
Волокно ПГБ с $\eta-TiO_2$	1400	1000	32
Волокно ПГБ с nc-Si	850	1795	31

d_{cp} – средний диаметр, нм; L_p – разрывная длина, м; ϵ_p – относительное удлинение, %;

Если сравнивать между собой параметры волокон, содержащих две различные модификации наночастиц диоксида титана, то наименьший диаметр и более высокие физико-механические свойства имеют волокна, содержащие частицы диоксида титана в форме анатаза. Это, несомненно, связано с их более высокой удельной поверхностью (меньшим размером частиц) по сравнению с η -TiO₂.

Таким образом, при введении малых количеств наноразмерных частиц диоксидов кремния и титана, нам удалось получить волокна ПГБ необходимого диаметра (около 1 мкм), которые можно успешно использовать для изготовления нетканых волокнистых матриксов для клеточной инженерии.

При исследовании волокнистых материалов методом дифференциальной сканирующей калориметрией (табл. 2) оказалось, что температура плавления ПГБ в присутствии наночастиц практически не изменяется, а температура кристаллизации в модифицированных волокнах падает на 5–7 °С. При этом степень кристалличности полимера практически не меняется. Более высокие значения температуры начала термодеструкции волокон с наночастицами по сравнению с исходными волокнами указывают на наличие адгезионного взаимодействия полярных групп ПГБ с поверхностью частиц диоксидов кремния и титана с образованием водородных связей.

Таблица 2

Теплофизические характеристики волокон ПГБ, содержащих наночастицы, и температуры начала термодеструкции и термоокислительной деструкции

Образец	$T_{пл}$	$T_{кр}, ^\circ\text{C}$	$\chi, \%$	$E_{пл}$	$T'_{нач}$
Волокно ПГБ	177	74	73	0.75	231
Волокно ПГБ с TiO ₂ (анатаз)	178	68	72	0.55	243
Волокно ПГБ с η -TiO ₂	177	69	72	0.65	239
Волокно ПГБ с nc-Si	179	67	71	0.6	240

$T_{пл}$ — температура плавления, °С; $T_{кр}$ — температура кристаллизации, °С; χ — степень кристалличности (ДСК), %; $E_{пл}$ — энергия активации плавления, МДж/К; $T'_{нач}$ — температура начала термодеструкции, °С.

Сопоставляя данные физико-механических и калориметрических испытаний, можно констатировать, что добавление в полимерное волокно наночастиц, обладающих высокой удельной поверхностью и химической активностью^{21, 46}, приводит к замедлению процессов кристаллизации полимера-матрицы и к снижению энергии активации фазового перехода плавления кри-

сталлической фазы ПГБ. Объяснение этому явлению может быть следующее. Исследуемые наночастицы имеют большую удельную поверхность, на которой располагаются атомы кислорода, являющиеся активными центрами химического взаимодействия с различными органическими молекулами^{20, 28–30}, в том числе полимерами, в структуре которых имеются полярные группы, в нашем случае — ПГБ, содержащий карбонильные и гидроксильные группы³¹. В результате адсорбционного взаимодействия макромолекул ПГБ с наночастицами в процессе формирования структуры волокна происходит существенное замедление процесса кристаллизации. В процессе электроформования замедление кристаллизации тем сильнее, чем ниже концентрация растворителя и выше кратность вытяжки полимерных цепей в волокне, которая приводит одновременно к уплотнению структуры аморфной фазы. С ростом степени ориентации тормозятся процессы релаксации (дезориентации) макромолекул ПГБ, и в отвержденном волокне фиксируется неравновесная структура с вытянутыми проходными цепями в межкристаллитных областях (аморфная фаза). Такая структура характеризуется высокими физико-механическими характеристиками, что мы и наблюдаем (табл. 1).

Такие показатели дисперсных частиц, как степень дисперсности, химическая природа и величина удельной поверхности оказывают влияние на формирование надмолекулярной структуры волокна. Именно различиями в этих структурно-химических показателях можно объяснить разницу в теплофизических, физико-механических параметрах, стойкости к термо- и фотоокислительной деструкции модифицированных волокнистых материалов на основе ПГБ, подробно описанные в нашей работе³². Было показано, что модифицированные волокна обладают большей стойкостью к термодеструкции и термоокислительной и фотоокислительной деструкции.

Как видно по результатам культивации МСК на поверхности полимерных матриксов с помощью теста ХТТ (табл. 3), рост клеток на образцах нетканых материалов с модифицирующими наноразмерными добавками максимален уже на 3 сутки по сравнению с волокнистыми материалами без добавок.

Наибольшую биосовместимость, которая была оценена по интенсивности роста клеток, продемонстрировали матриксы, приготовленные с добавлением наноразмерного кремния. Именно эти матриксы обладают наименьшим диаметром нитей и, соответственно, более высокими физико-химическими характеристиками.

Таблица 3

**Данные по динамике роста мезенхимальных
стволовых клеток (МСК) для различных
образцов на основе ПГБ**

Образец	Количество клеток в мл, 10 ³	
	24 ч	72 ч
ПГБ волокна	40	148
ПГБ волокна TiO ₂ (анатаз)	30	175
ПГБ волокна с η -TiO ₂	65	235
ПГБ волокна с nc-Si	75	245

Следовательно, матриксы, полученные методом электроформования формовочных растворов ПГБ, модифицированных наночастицами кремния и диоксида титана, могут быть рекомендованы для выращивания МСК с перспективой применения их в тканевой инженерии и травматологии (искусственные биорезорбируемые имплантаты связок) ^{33, 34}.

На основе полученных нетканых материалов с требующимся диаметром волокна и морфологией были изготовлены искусственные имплантаты соединительных тканей и проведены биологические испытания для установления факта ожидаемой высокой биорезорбции и ускоренного образования регенерата собственных соединительных тканей организма. Конструкция имплантата описана в нашем патенте ³⁵.

Установленный в ране биополимерный имплантат демонстрировал высокую степень гидрофильности, быстро и равномерно пропитываясь кровью. В послеоперационном периоде активность животных ничем не ограничивалась, и они демонстрировали функциональную адекватность пластического замещения сухожилия, активно и полноценно пользуясь оперированными конечностями. Через 5 недель эксперимента животные выводились из опыта.

Работа выполнена при финансовой поддержке РЭУ им. Г.В. Плеханова.

Литература

1. Greiner A., Wendorff J.H. Functional Self-Assembled Nanofibers by Electro-spinning // *Adv. Polym. Sci.*— 2008.— №219.— Pp.107-171.
2. Filatov Y., Budyka A., Kirichenko V. Electro-spinning of Micro- and Nanofibers: Fundamentals in Separation and Filtration Processes.— New York: Begell House Inc, 2007.— 404 p.
3. Kulkarni A., Bambole V.A., Mahanwar P.A. Electrospinning of polymers, their modeling and applications // *Polymer-Plastics Technology and Engineering*.— 2010.— V.49, №5.— Pp.427-441.
4. Филатов Ю.Н. Электроформование волокнистых материалов (ЭФВ-процесс).— М.: Нефть и Газ, 1997.— 298 с.
5. Ludwig E.M., Leonard M., Marroqui S., Wheeler T.R., Findlay K., Downie J.A., Poole P.S. Role of Polyhydroxybutyrate and Glycogen as Carbon Storage Compounds in Pea and Bean Bacteroids

References

1. Greiner A., Wendorff J.H. [Functional Self-Assembled Nanofibers by Electro-spinning]. *Adv. Polym. Sci.*, 2008, no.219, pp.107-171.
2. Filatov Y., Budyka A., Kirichenko V. [Electro-spinning of Micro- and Nanofibers: Fundamentals in Separation and Filtration Processes]. New York: Begell House Inc, 2007. 404 p.
3. Kulkarni A., Bambole V.A., Mahanwar P.A. [Electrospinning of polymers, their modeling and applications]. *Polymer-Plastics Technology and Engineering*, 2010, vol.49, no.5, pp.427-441.
4. Filatov Yu.N. *Elektroformovanie voloknistykh materialov (EFV-protsess)* [Electroforming of fibrous materials (EPI process)]. Moscow: Neft' i Gaz Publ., 1997, 298 p.
5. Ludwig E.M., Leonard M., Marroqui S., Wheeler T.R., Findlay K., Downie J.A., Poole P.S. [Role of Polyhydroxybutyrate and Glycogen as Carbon

В опытных наблюдениях, в отличие от контроля, к 5-й неделе эксперимента образовался прочный соединительно-тканый регенерат 7, надежно зафиксировавший икроножную мышцу 2 к пяточному бугру 3 до потери натяжения опорных нитей 4 с полноценным функционально-анатомическим замещением утраченного ахиллова сухожилия. Без применения нановолоконного компонента регенерация живой ткани не осуществлялась (рис. 4).

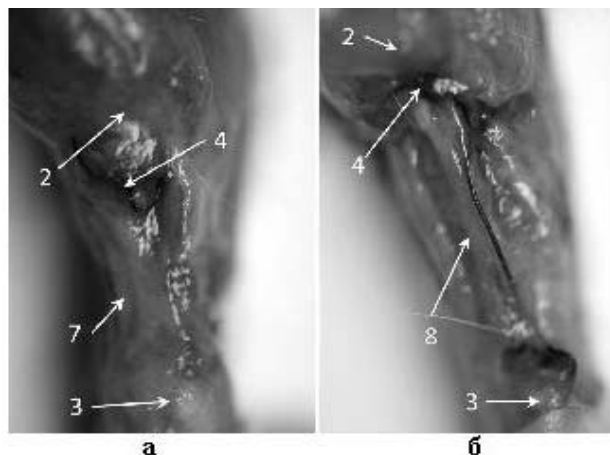


Рис. 4. Регенераты ахилловых сухожилий через 5 недель после операции: а — опыт; б — контроль: 2 — икроножная мышца; 3 — пяточный бугор; 4 — полиамидные нити с прорезавшимися узловыми швами; 7 — морфофункционально адекватный регенерат в опытных наблюдениях; 8 — атрофичный регенерат в контроле.

Таким образом, нетканый волокнистый материал на основе модифицированного ПГБ показал себя как эффективный кондуктор регенерации соединительной ткани (в данном случае — ахиллова сухожилия).

// Molecular Plant-Microbe Interactions (MPMI).— 2005.— V.18, №1.— Pp.67-74.

6. Bonartsev A.P., Iordanskii A.L., Bonartseva G.A. and Zaikov G.E. Biodegradation and Medical Application of Microbial Poly (3-Hydroxybutyrate) // Journal of the Balkan tribological association.— 2008.— V.14, №3.— Pp.359-395.
7. Жаркова И.И., Староверова О.В., Воинова В.В., Андреева Н.В., Шушкевич А.М., Склянчук Е.Д., Кузьмичева Г.М., Беспалова А.Е., Акулина Е.А., Шайтан К.В., Ольхов А.А. Биосовместимость матриц для тканевой инженерии из поли-3-оксибутирата и его композитов, полученных методом электроформования // Биомедицинская химия.— 2014.— Т.60, вып.5.— С.553-560.
8. Ol'khov A.A., Pankova Yu.N., Kosenko R.Yu., Gol'dshtrakh M.A., Markin V.S., Iordanskii A.L. Controlled-Release Matrixes for Drugs Based on Polyamide-Polyhydroxybutyrate Compositions // Pharmaceutical Chemistry Journal.— 2018.— V.52, №1.— Pp.77-83.
9. Ольхов А.А., Иорданский А.Л., Власов С.В., Косенко Р.Ю., Симонова Ю.С., Заиков Г.Е. Матрицы контролируемого высвобождения фурацилина на основе пленок полигидроксibuтирата, модифицированного шунгитом. // Энциклопедия инженера-химика.— 2012.— №7.— С.17-21.
10. Бонарцев А.П., Иорданский А.Л., Бонарцева Г.А., Босхомджиев А.П., Заиков Г.Е. Биодegradация, биосовместимость и биомедицинское применение поли(3-оксибутирата) // Пластические массы.— 2010.— №3.— С.6-23.
11. Жаркова И.И., Бонарцев А.П., Босхомджиев А.П., Ефремов Ю.М., Багров Д.В., Махина Т.К., Мышкина В.Л., Иванов Е.А., Воинова В.В., Яковлев С.Г., Зернов А.Л., Филатова Е.В., Андреева Н.В., Бонарцева Г.А., Шайтан К.В. Влияние модификации поли-3-оксибутирата полиэтиленгликолем на жизнеспособность клеток, культивируемых на полимерных пленках // Биомедицинская химия.— 2012.— Т.58, №5.— С.579-591.
12. Mergaert J., Webb A., Anderson C., Wouters A., Swings J. Microbial degradation of poly(3-hydroxybutyrate) and poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) in soils // Appl. Environ. Microbiol.— 1993.— V.59, №10.— С.3233-3238.
13. Loh X.J., Goh S.H., Li J. Hydrolytic degradation and protein release studies of thermogelling polyurethane copolymers consisting of poly[(R)-3-hydroxybutyrate], poly(ethylene glycol), and poly(propylene glycol) // Biomaterials.— 2007.— V.28, №28.— Pp.4113-4123.
14. Староверова О.В., Шушкевич А.М., Кузьмичева Г.М., Ольхов А.А., Воинова В.В., Ольхов А.А., Жаркова И.И., Шайтан К.В., Склянчук Е.Д., Гурьев В.В. Волокнистые матрицы для ткане-инженерных конструкций из поли-3-гидроксibuтирата и его композитов // Технологии живых систем.— 2013.— Т.10, №8.— С.74-79.
15. Староверова О.В., Ольхов А.А., Кузьмичева Г.М., Доморошина Е.Н., Власов С.В., Филатов Ю.Н. Ультратонкие волокна на основе биополимера полигидроксibuтирата (ПГБ), модифицированные наноразмерными модификациями диоксида титана // Вестник МИТХТ им. М.В. Ломоносова.— 2011.— Т.6, №6.— С.120-127.
- Stor-age Compounds in Pea and Bean Bacteroids]. *Molecular Plant-Microbe Interactions (MPMI)*, 2005, vol.18, no.1, pp.67-74.
6. Bonartsev A.P., Iordanskii A.L., Bonartseva G.A. and Zaikov G.E. [Biodegradation and Medical Application of Microbial Poly (3-Hydroxybutyrate)]. *Journal of the Balkan tribological association*, 2008, vol.14, no.3, pp.359-395.
7. Zharkova I.I., Staroverova O.V., Voinova V.V., Andreeva N.V., Shushkevich A.M., Sklyanchuk E.D., Kuz'micheva G.M., Bespalova A.E., Akulina E.A., Shaitan K.V., Ol'khov A.A. *Biosovmestimost' matriksov dlia tkanevoi inzhenerii iz poli-3-oksibutirata i ego kompozitov, poluchennykh metodom elektroformovaniya* [Biocompatibility of electro-spun poly (3-hydroxybutyrate) and its composites scaffolds for tissue engineering]. *Biomeditsinskaia khimiya* [Biomedical Chemistry], 2014, vol.60, no.5, pp.553-560.
8. Ol'khov A.A., Pankova Yu.N., Kosenko R.Yu., Gol'dshtrakh M.A., Markin V.S., Iordanskii A.L. [Controlled-Release Matrixes for Drugs Based on Polyamide-Polyhydroxybutyrate Compositions]. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 2018, vol.52, no.1, pp.77-83.
9. Ol'khov A.A., Iordanskii A.L., Vlasov S.V., Kosenko R.Yu., Simonova Yu.S., Zaikov G.E. *Matritsy kontroliruemogo vysvobozhdeniya furatsilina na osnove plenok poligidroksibutirata, modifitsirovannogo shungitom*. [Matrices for the controlled release of furatsilin based on films of poly-hydroxybutyrate modified with schungite]. *Entsiklopediya inzhenera-khimiika* [Encyclopedia of Chemical Engineer], 2012, no.7, pp.17-21.
10. Bonartsev A.P., Iordanskii A.L., Bonartseva G.A., Boskhomdzhiyev A.P., Zaikov G.E. *Biodegradatsiya, biosovmestimost' i biomeditsinskoe primeneniye poli(3-oksibutirata)* [Biodegradation, biocompatibility and biomedical use of poly (3-hydroxybutyrate)]. *Plasticheskie massy* [Plastics], 2010, no.3. pp.6-23.
11. Bonartsev A.P., Boskhomdzhiyev A.P., Efremov Yu.M., Bagrov D.V., Makhina T.K., Myshkina V.L., Ivanov E.A., Voinova V.V., Yakovlev S.G., Zernov A.L., Filatova E.V., Andreeva N.V., Bonartseva G.A., Shajtan K.V. *Vliyanie modifikatsii poli-3-oksibutirata polietilenglikolem na zhiznesposobnost' kletok, kul'tiviruemyykh na polimernyykh plenkakh* [The effect of the modification of poly-3-hydroxybutyrate with polyethylene glycol on the viability of cells cultured on polymer films]. *Biomeditsinskaia khimiya* [Biomedical Chemistry], 2012, vol.58. no.5. pp.579-591.
12. Mergaert J., Webb A., Anderson C., Wouters A., Swings J. [Microbial degradation of poly(3-hydroxybutyrate) and poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) in soils]. *Appl. Environ. Microbiol.* 1993, vol.59, pp.3233-3238.
13. Loh X.J., Goh S.H., Li J. [Hydrolytic degradation and protein release studies of thermogelling polyurethane copolymers consisting of poly[(R)-3-hydroxybutyrate], poly (ethylene glycol), and poly (propylene glycol). *Biomaterials*, 2007, vol.28, no.28, pp.4113-4123.
14. Staroverova O.V., Shushkevich A.M., Kuz'micheva G.M., Ol'khov A.A., Voinova V.V., Ol'khov A.A., Zharkova I.I., Shajtan K.V., Sklyanchuk E.D., Gur'ev V.V. *Volknistyye matriksy dlya tkane-inzhenernykh konstruksiy iz poli-3-gidroksibutirata i ego kompozitsiy*

16. Ol'khov A.A., Staroverova O.V., Kuzmicheva G.M., Domoroshina E.N., Filatov Yu.N., Filatov I.Yu., Vlasov S.V., Iordanskii A.L., Shibryaeva L.S., Tertishnaya Yu.V., Bonartseva G.A., Bonartsev A.P., Zaikov G.E. Nanostructured polymers and nanochemistry: research progress.— Torun: IMPIB, Institute for Engineering of Polymer Materials and Dyes, 2012.— Pp.25-36.
17. Патент РФ №2411613. Способ получения нанокристаллического кремния, обладающего яркой устойчивой фото-люминесценцией /Ищенко А.А., Дорофеев С.Г., Кононов Н.Н., Ольхов А.А. // Б.И.— 2011.— №4.
18. Патент РФ №2491227. Способ получения биодegradируемых частиц нанокремния для *in vivo* применения / Ищенко А.А., Баграташвили В.Н., Кононов Н.Н., Дорофеев С.Г., Ольхов А.А. // Б.И.— 2013.— №24.
19. Ольхов А.А., Румянцев Б.М., Гольдштрах М.А., Стороженко П.А., Ищенко А.А., Заиков Г.Е. Полимерные композиционные материалы на основе полиэтилена и нанокристаллического кремния // Все материалы. Энциклопедический справочник.— 2014.— №1.— С.13-27.
20. Лучинский Г.П. Химия титана.— М.: Химия, 1971.— 472 с.
21. Кузьмичева Г.М., Савинкина Е.В., Оболенская Л.Н., Белогорохова Л.И., Маврин Б.Н., Чернобровкин М.Г., Белогорохов А.И. Получение, характеристика и свойства наноразмерных модификаций диоксида титана со структурами анатаза и η -TiO₂ // Кристаллография.— 2010.— Т.55, №5.— С.919-924.
22. Ольхов А. А., Староверова О. В., Филатов Ю. Н., Кузьмичева Г. М., Иорданский А. Л., Заиков Г. Е. Исследования структуры и свойств ряда нановолокнистых биоматериалов на основе поли(3-гидроксibuтирата) // Энциклопедия инженера-химика.— 2013.— №7.— С.32-38.
23. Ol'khov A.A., Staroverova O.V., Iordanskii A.L., Zaikov G.E. Morphology of electrospun nanofibres of polyhydroxybutyrate // AIP Conf. Proc.— 2014.— V.1599.— Pp.558-561.
24. Ольхов А.А., Карпова С.Г., Иорданский А.Л., Староверова О.В., Роговина С.З., Берлин А.А. Влияние прокатки на структуру волокнистых материалов на основе поли(3-гидроксibuтирата), полученных электроформованием // Химические волокна.— 2014.— №5.— С.50-57.
25. Rutledge G.C., Fridrikh S.V. Formation of Fibers by Electrospinning //Advanced Drug Delivery Reviews.— 2007.— V.59, №14.— Pp.1384-1391.
26. Di Lorenzo M.L., Gazzano M., Righetti M.C. The role of the rigid amorphous fraction on cold crystallization of poly(3-hydroxybutyrate) // Macromolecules.— 2012.— V.45.— Pp.5684-5691.
27. Ориентационные явления в растворах и расплавах полимеров / под. ред. Малкина А.Я., Папкова С.П.— М.: Химия, 1980.— 280 с.
28. Ищенко А.А., Фетисов Г.В., Асланов Л.А. Нанокремний: свойства, получение, применение, методы исследования и контроля.— М.: Физматлит, 2011.— 648 с.
29. Рыбалтовский А.О., Баграташвили В.Н., Ищенко А.А., Минаев Н.В., Кононов Н.Н., Дорофеев С.Г., Крутикова А.А., Ольхов А.А. *tov* [Fibrous matrices for tissue-engineering structures made of poly-3-hydroxybutyrate and its composites]. *Tekhnologii zhivyykh system* [Living Systems Technologies], 2013, vol.10, no.8, pp.74-79.
15. Staroverova O.V., Ol'khov A.A., Kuz'micheva G.M., Domoroshina E.N., Vlasov S.V., Filatov Yu.N. *Ul'tratonkie volokna na osnove biopolimera poligid-roksibutirata (PGB), modifizirovannye nanorazmernymi modifikatsiyami dioksida titana* [Ultrathin fibers based on the biopolymer of polyhydroxybutyrate (PHB), modified with nanoscale modifications of titanium dioxide]. *Vestnik MITKhT im. M.V. Lomonosova* [Bulletin of the Moscow Institute of Fine Chemical Technology named M.V. Lomonosov], 2011, vol.6, no.6, pp.120-127.
16. Ol'khov A.A., Staroverova O.V., Kuzmicheva G.M., Domoroshina E.N., Filatov Yu.N., Filatov I.Yu., Vlasov S.V., Iordanskii A.L., Shibryaeva L.S., Tertishnaya Yu.V., Bonartseva G.A., Bonartsev A.P., Zaikov G.E. [Nanostructured polymers and nanochemistry: research progress]. Torun, Institute for Engineering of Polymer Materials and Dyes, 2012, pp.25-36.
17. Ischenko A.A., Dorofeev S.G., Kononov N.N., Ol'khov A.A. *Sposob polucheniya nanokristallicheskogo kremniya, obladajushchego yarkoj ustoychivoj fotolyuminestsentsiei* [A method of producing nanocrystalline silicon having bright stable photoluminescence]. Patent RF, no.2411613, 2011.
18. Ischenko A.A., Bagratashvili V.N., Kononov N.N., Dorofeev S.G., Ol'khov A.A. *Sposob polucheniya biodegradiruemykh chastits nanokremniya dlya in vivo primeneniya* [Method for producing biodegradable nanosilicon particles for *in vivo* use]. Patent RF, no.2491227, 2013.
19. Ol'khov A.A., Rumynceva B.M., Gol'dshtrakh M.A., Storozhenko P.A., Ischenko A.A., Zaikov G.E. *Polimernye kompozitsionnye materialy na osnove polietilena i nanokristallicheskogo kremniya* [Polymer composite materials based on polyethylene and nanocrystalline silicon]. *Vse materialy. Enciklopedicheskii spravochnik* [All materials. Encyclopedic Reference], 2014, no.1, pp.13-27.
20. Luchinskii G.P. *Khimiya titana* [Chemistry of titanium], Moscow, Khimiya Publ., 1971.— 472 p.
21. Kuz'micheva G.M., Savinkina E.V., Obolenskaya L.N., Belogorokhova L.I., Chernobrovkin M.G., Mavrin B.N., Belogorokhov A.I. [Synthesis, characterization, and properties of nanoscale titanium dioxide modifications with anatase and η -TiO₂ structures]. *Crytallography Reports*, 2010, vol.55, no.5, pp.866-871.
22. Ol'khov A. A., Staroverova O. V., Filatov Yu. N., Kuz'micheva G. M., Iordanskii A. L., Zaikov G. E. *Issledovaniya struktury i svoystvo ryada nanovoloknistykh biomaterialov na osnove poli(3-gidroksibutirata)* [Studies of the structure and properties of a number of nanofiber biomaterials based on poly (3-hydroxybutyrate)]. *Entsiklopediya Inzhenera-Khimika* [Encyclopedia of Chemical Engineer], 2013, no.7, pp.32-38.
23. Ol'khov A.A., Staroverova O.V., Iordanskii A.L., Zaikov G.E. [Morphology of electrospun nanofibres of polyhydroxybutyrate]. *AIP Conf. Proc.*, 2014, vol.1599, pp.558-561; doi: 10.1063/1.4876902.
24. Ol'khov A.A., Karpova S.G., Iordanskii A.L., Staroverova O.V., Rogovina S.Z., Berlin A.A. *Vliyanie prokatki na strukturu voloknistykh materialov na osnove poli(3-gidroksibutirata), poluchennykh elektroformovaniem* [The effect of rolling on the structure

Лазерно-индуцированные эффекты в спектрах комбинационного рассеяния нанокристаллического кремния // Российские нанотехнологии. — 2012. — Т.7, №7-8. — С.96-101.

30. Серхачева Н.С., Яшина Н.В., Прокопов Н.И., Гайнанова А.А., Кузьмичева Г.М., Доморошина Е.Н., Садовская Н.В., Прокудина Н.А., Гervальд А.Ю. Бактерицидные свойства наноразмерных оксидов цинка (II) и титана (IV) разной природы и нанокомпозитов с их участием на основе полистирола // Российские нанотехнологии. — 2016. — Т.11, №1-2. — С.91-100.
31. Iordanskii A.L., Olkhov A.A., Kamaev P.P., Wasserman A.M. Water transport phenomena in green and petrochemical polymers. Differences and similarities. // *Desalination*. — 1999. — №126. — Pp.139-145.
32. Ольхов А.А., Староверова О.В., Бонарцев А.П., Жаркова И.И., Склянчук Е.Д., Иорданский А.Л., Роговина С.З., Берлин А.А., Ищенко А.А. Структура и свойства ультратонких волокон поли-(3-гидроксibутирата), модифицированных наночастицами кремния и диоксида титана // Все материалы. Энциклопедический справочник. — 2014. — №12. — С.2-13.
33. Патент РФ №2543377. Нановолокнистый полимерный материал /Ольхов А.А., Староверова О.В., Иорданский А.Л., Филатов Ю.Н., Ищенко А.А., Симонов-Емельянов И.Д. // Б.И. — 2015. — №6.
34. Ольхов А.А., Склянчук Е.Д., Аббасов Т.А., Акатов В.С., Фадеева И.С., Фадеев Р.С., Фесенко Н.И., Староверова О.В., Гумаргалиева К.З., Филатов Ю.Н., Иорданский А.Л., Гурьев В.В. Регенерационный потенциал нановолоконного сухожильного имплантата из полигидроксibутирата // Технологии живых систем. — 2015. — Т.12, №2. — С.3-11.
35. Патент РФ №2561830. Способ повышения регенерационного потенциала имплантатов для восстановительной хирургии соединительной ткани / Склянчук Е.Д., Ольхов А.А., Акатов В.С., Гурьев В.В., Иорданский А.Л., Филатов Ю.Н., Аббасов Т.А., Фадеева И.С., Староверова О.В., Склянчук О.Г. // Б.И. — 2015. — №25.
- of fibrous materials based on poly (3-hydroxybutyrate) obtained by electroforming]. *Kimicheskije volokna* [Chemical fibers], 2014, no.5, pp.50-57.
25. Rutledge G.C., Fridrikh S.V. [Formation of Fibers by Electrospinning]. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2007, vol.59, no.14, pp.1384-1391.
26. Di Lorenzo M.L., Gazzano M., Righetti M.C. [The role of the rigid amorphous fraction on cold crystallization of poly(3-hydroxybutyrate)]. *Macromolecules*, 2012, no.45, pp.5684-5691.
27. *Orientatsionnye yavleniya v rastvorakh i rasplavakh polimerov* [Orientational phenomena in solutions and polymer melts]. Ed. Malkin A.Ya, Papkov S.P. Moscow, Khimiya Publ., 1980, 280 p.
28. Ischenko A.A., Fetisov G.V., Aslanov L A. *Nano-kremniy: svoistva, poluchenie, primeneniye, metody issledovaniya i kontrolya* [Nanosilicon: properties, preparation, application, research and control methods]. Moscow, Fizmatlit Publ., 2011, 648 p.
29. Rybaltovskii A.O., Bagratashvili V.N., Minaev N.V., Ishchenko A.A., Krutikova A.A., Ol'khov A.A., Kononov N.N., Dorofeev S.G. [Laser-induced effects in raman spectra of nanocrystalline silicon]. *Nanotechnologies in Russia*, 2012, vol.7, no.7-8, pp.421-427.
30. Serkhacheva N.S., Prokopov N.I., Gaynanova A.A., Kuz'micheva G.M., Domoroshchina E.N., Gervald A.Y., Yashina N.V., Sadovskaya N.V., Prokudina N.A. [Bactericidal properties of nanoscale zinc(II) and titanium (IV) oxides of different nature and their nanocomposites with polystyrene]. *Nanotechnologies in Russia*, 2016, vol.11, no.1-2, pp.99-109.
31. Iordanskii A.L., Ol'khov A.A., Kamaev P.P., Wasserman A.M. [Water transport phenomena in green and petrochemical polymers. Differences and similarities]. *Desalination*, 1999, no.126, pp. 139-145.
32. Ol'khov A.A., Staroverova O.V., Bonarcev A.P., Zharkova I.I., Sklyanchuk E.D., Iordanskii A.L., Rogovina S.Z., Berlin A.A., Ischenko A.A. *Struktura i svoistva ul'tratonkikh volokon poli-(3-gidroksibutirata), modifitsirovannykh nanochastitsami kremniya i dioksida titana*. [Structure and properties of ultrafine poly-(3-hydroxybutyrate) fibers modified with silicon and titanium dioxide nanoparticles]. *Vse materialy. Entsiklopedicheskii spravochnik* [All materials. Encyclopedic Reference], 2014. no.12. pp.2-13.
33. Ol'khov A.A., Staroverova O.V., Iordanskii A.L., Filatov Yu.N., Ischenko A.A., Simonov-Emel'yanov I.D. *Nanovoloknistyi polimernyi material* [Nanofiber Polymer Material]. Patent RF, no.2543377, 2015.
34. Ol'khov A.A., Sklyanchuk E.D., Abbasov T.A., Akatov V.S., Fadeeva I.S., Fadeev R.S., Fesenko N.I., Staroverova O.V., Gumargalieva K.Z., Filatov Yu.N., Iordanskii A.L., Gur'ev V.V. *Regeneratsionnyy potencial nanovolokonnogo suhozhil'nogo implantata iz poligidroksibutirata* [Regenerative potential of a nanofiber tendon implant from polyhydroxybutyrate]. *Tekhnologii zhivyykh sistem*, 2015, vol.1, no.2, pp.3-11.
35. Sklyanchuk E.D., Ol'khov A.A., Akatov V.S., Gur'ev V.V., Iordanskii A.L., Filatov Yu.N., Abbasov T.A., Fadeeva I.S., Staroverova O.V., Sklyanchuk O.G. *Sposob povysheniya regeneratsionnogo potentsiala implantatov dlya vosstanovitel'noi khirurgii soedinitel'noi tkani* [A method of increasing the regenerative potential of implants for reconstructive surgery of connective tissue]. Patent RF, no.2561830, 2015.