

НАНОРАЗМЕРНЫЕ И НАНОСТРУКТУРИРОВАННЫЕ
МАТЕРИАЛЫ И ПОКРЫТИЯ

УДК 615.465

ИССЛЕДОВАНИЕ БИОСОВМЕСТИМОСТИ НАНОСТРУКТУРНОГО
ПОКРЫТИЯ НА ОСНОВЕ АМОРФНОГО УГЛЕРОДА И НАНОЧАСТИЦ
ЗОЛОТА НА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ *IN VIVO* МОДЕЛИ

© 2022 г. С. В. Шкодкин^{1, 2, *}, А. Я. Колпаков¹, М. Г. Ковалева¹, В. Н. Дмитриев^{1, 3},
Е. Г. Пономарев¹, В. Ю. Нечипоренко¹, К. С. Шкодкин¹

¹ФГАОУ ВО “Белгородский государственный национальный исследовательский университет”,
ул. Победы, 85, Белгород, 308015 Россия

²ОГБУЗ “Белгородская областная клиническая больница Святителя Иоасафа”,
ул. Некрасова, 8/9, Белгород, 308007 Россия

³ОГБУЗ “Белгородский онкологический диспансер”,
Куйбышева, Белгород, 308010 Россия

*e-mail: shkodkin-s@mail.ru

Поступила в редакцию 29.07.2021 г.

После доработки 03.04.2022 г.

Принята к публикации 13.04.2022 г.

Современная медицина не может не ассоциироваться без временной или постоянной имплантации различных медицинских устройств. Применение драгоценных металлов, в том числе, в качестве добавки в защитные покрытия для обеспечения биосовместимости имплантатов имеет достаточно давнюю историю и современное продолжение. В данной работе на экспериментальной установке с использованием импульсного вакуумно-дугового источника плазмы на проволоку из никелида титана диаметром 250 мкм наносили покрытия толщиной 200 нм на основе углерода, легированного 25% золота. Для исследования биосовместимости выполняли имплантацию в толщу ткани печени отрезков проволоки длиной 7 мм. В основной группе (20 животных) имплантировали проволоку с покрытием из аморфного углерода и наночастиц золота, в контрольной (20 животных) использована проволока без покрытия. Из эксперимента животных выводили путем передозировки хлоралгидратного наркоза на 14-е и 30-е сутки и проводили морфологическое исследование зоны имплантации. К 14 суткам имплантации не зарегистрированы кровоизлияния и некробиотические изменения по имплантационному каналу. В основной группе наблюдения отмечена активная фибробластическая реакция. Сформированная капсула (286 ± 43 мкм) представлена 17–22 слоями незрелой соединительной ткани с большим количеством фибробластов (173 ± 32 клетки в поле зрения) и единичных фиброцитов (12 ± 5 клеток в поле зрения). В контрольной группе капсула 22.4 ± 3.1 мкм, ($p < 0.0001$), представлена 4–5 слоями компактно расположенных коллагеновых волокон и равномерно распределенными фибробластами (25 ± 8 клеток в поле зрения) ($p < 0.001$). Аналогичные тенденции, включающие организацию соединительной ткани, прослеживаются и на 30 сутки наблюдения. В результате получены перспективные для разработки костных имплантатов результаты.

DOI: 10.31857/S0044185622040209

ВВЕДЕНИЕ

Современная медицина не может не ассоциироваться без временной или постоянной имплантации различных медицинских устройств. При этом поражает широта их использования и, соответственно, тот спектр требований, которые к ним предъявляются. Несмотря на это разнообразие, существует ряд характеристик, которые изучаются в отношении имплантатов всех локализаций. К ним следует отнести биосовместимость, цитотоксичность, мута- и онкогенность, адгезивные свойства, возможность бактериальной кон-

таминации и цито модифицирующие свойства [1–4]. Последние зачастую зависят не только от материала, из которого изготовлен имплантат, но и характеристик наноструктуры его поверхности [5, 6].

Биосовместимость — это свойство является ключевым в запуске такого типичного патофизиологического процесса как воспаление. Поэтому остальные процессы (цитотоксичность, мута- и онкогенность, адгезивные свойства и возможность бактериальной контаминации) могут быть

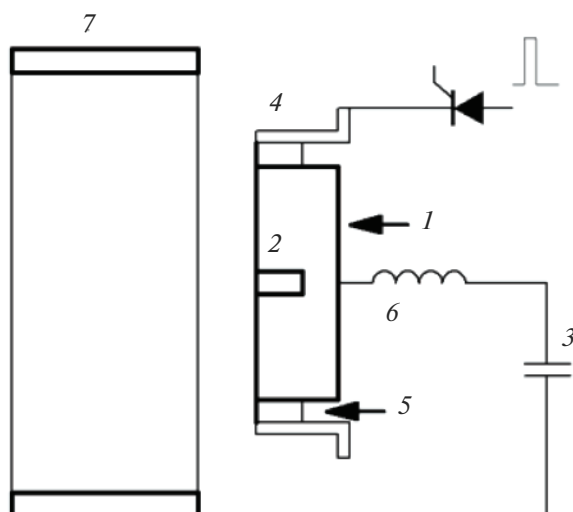


Рис. 1. Импульсный вакуумно-дуговой источник плазмы: 1 – графитовый катод; 2 – вставка из золота или серебра; 3 – емкостной накопитель; 4 – поджигающий электрод; 5 – диэлектрическое кольцо; 6 – формирователь импульса; 7 – анод.

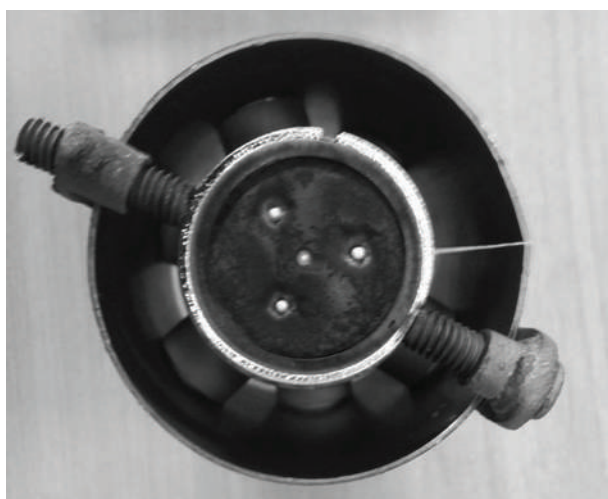


Рис. 2. Катодный узел импульсного вакуумно-дугового источника плазмы.

связаны как раз со степенью и качеством воспалительной реакции [7–9].

Применение драгоценных металлов для обеспечения биосовместимости имплантатов имеет достаточно давнюю историю и современное продолжение [10, 11]. Их использование в качестве покрытий резко сократило себестоимость имплантатов и устранило недостатки, связанные с биомеханическими характеристиками, а точнее расширило их спектр, что было бы невозможным, если бы имплантат полностью состоял из одного материала. Так, бактерицидные и антипролифе-

ративные свойства драгоценных металлов с успехом использованы при изготовлении мочеточниковых и коронарных стентов и эндопротезов суставов. В первом случае покрытие было нанесено на полимерную, в других – на металлическую основу с различными физико-механическими характеристиками [12–14].

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

Ранее было установлено, что метод формирования покрытий, легированных серебром кардинально влияет на размер нанокристаллитов серебра [15]. А именно, импульсный вакуумно-дуговой метод, обладающий на порядок большей плотностью плазмы, по сравнению с методом магнетронного распыления позволяет получать нанокластеры серебра с размерами порядка 5 нм. Покрытия на основе углерода, легированного золотом, получали на экспериментальной установке, с использованием импульсного вакуумно-дугового источника плазмы оригинальной конструкции. На рис. 1 приведена принципиальная схема импульсного вакуумно-дугового источника плазмы, а на рис. 2 – катодный узел этого источника.

Катод диаметром 30 мм, изготовленный из графита марки МПГ-6, содержал четыре вставки из золота с чистотой 99.9% диаметром 2 мм. Кроме того, использовали импульсный вакуумно-дуговой источник плазмы с катодом из графита без вставок. Емкостной накопитель емкостью 2000 мкФ заряжали до напряжения 300 В. Длительность импульса разряда составляла 1.0 мс, частота следования импульсов – 2 Гц.

Алгоритм управления работой этих двух источников позволял получать покрытия с различным содержанием золота (от 0 до 25%). В нашем исследовании использовано углеродное покрытие, содержащее 25% золота (С:Аu25), толщиной 200 нм, нанесенное на проволоку из никелида титана диаметром 250 мкм. Перед нанесением покрытия подложка обрабатывалась ионами аргона с помощью ионного источника с замкнутым дрейфом электронов при напряжении разряда 2.0 кВ и токе разряда 80 мА в течение 3 мин. Толщина покрытия задавалась количеством импульсов разряда и определялась предварительно на поперечных сколах с использованием растрового электронного микроскопа QUANTA 600 FEG.

Для исследования особенностей электронной структуры углеродных покрытий, размера и морфологии, содержащихся в нем частиц золота, использованы аналитические методы просвечивающей электронной микроскопии высокого разрешения (HRTEM), в том числе метод спектроскопии характеристических потерь энергии электронами при ускоряющем напряже-

нии 200 кВ в колонне просвечивающего электронного микроскопа Tecnai G2 F20 S-TWIN. На рис. 3 приведены электронно-микроскопические изображения покрытия С:Аu25. С использованием просвечивающей электронной микроскопии высокого разрешения установлено, что в углеродном покрытии содержатся нанокристаллы золота размером порядка 5 нм. Параметры кристаллической решетки частиц соответствуют известным из литературы значениям золота (кубическая гранцентрированная решетка, пространственная группа Fm-3m, параметры решетки $a = 4.0781 \text{ \AA}$).

Для проведения рентгенофазового анализа образцов использовали интеллектуальную рентгеновскую дифракционную систему SmartLab – Rigaku ($\text{CuK}\alpha$ -излучение, Ni фильтр). Рентгенофазовый анализ (РФА) поверхностного слоя осуществляли в геометрии скользящего падения параллельного пучка. Диапазон съемки 20–80 град 2θ , шаг 0.02 град, скорость сканирования 1.5 град/мин, угол падения – 1 град ω .

На рис. 4 приведена рентгеновская дифрактограмма углеродного покрытия, легированного золотом. На дифрактограмме наблюдаются линии присущие золоту Au (111) и Au (220). Эти пики свидетельствуют о том, что золото находится в нанокристаллическом состоянии, что подтверждает результаты, полученные методом HRTEM.

Для исследования биосовместимости использована изученная нами ранее экспериментальная модель [15], в эксперимент включены лабораторные крысы линии Wistar обоего пола массой 250–280 г. Перед началом эксперимента животных выдерживали на карантине в течение 7 сут в стандартных условиях вивария. Хирургические вмешательства выполнены в экспериментальной операционной центра “Фармация” БелГУ в асептических условиях под общей анестезией (хлоралгидрат 300 мг/кг внутривенно). Из срединного лапаротомного разреза выполняли имплантацию в толщу ткани печени по два стерильных отрезка проволоки длиной 7 мм по направлению от дистального края к воротам печени. В основной группе (20 животных) имплантировали проволоку с покрытием из аморфного углерода и наночастиц золота, в контрольной (20 животных) использована проволока без покрытия.

Из эксперимента животных выводили путем передозировки хлоралгидратного наркоза на 14-е и 30-е сутки после имплантации. Данная экспериментальная модель апробирована для оценки биосовместимости металлических имплантатов и показала хорошие чувствительность и воспроизводимость [16]. Сроки морфологического исследования выбраны с учетом стандартной динамики течения раневого процесса: стихания

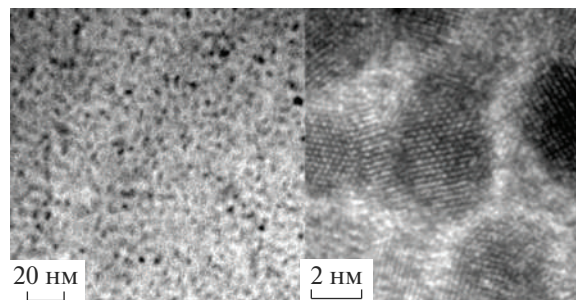


Рис. 3. Электронно-микроскопическое изображение покрытия С:Аu25.

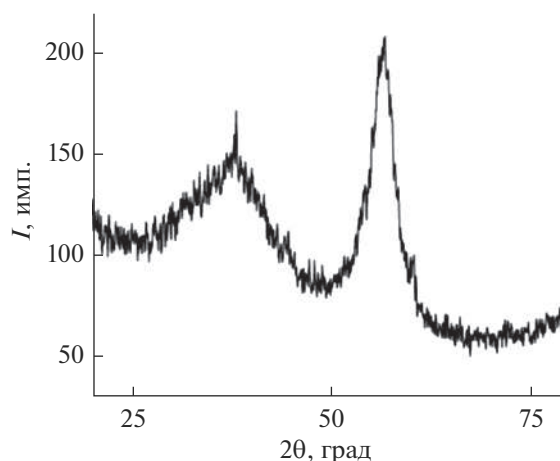


Рис. 4. Рентгеновская дифрактограмма углеродного покрытия, легированного золотом.

неспецифической воспалительной реакции, обусловленной хирургической травмой, к 14-м суткам и стабилизацией и завершением процессов коллагеногенеза к 30 суткам после имплантации. Распределение животных в группах приведено в табл. 1.

Извлеченные органы после макроскопического исследования фиксировали в 10% растворе формалина, нарезали в поперечном направлении к имплантату через всю толщу и заливали в парафин. Срезы для гистологического исследования толщиной 5 мкм окрашивали гематоксилином и эозином. Для оценки соединительнотканых структур использовали окраску по Маллори.

Описательное исследование гистологических препаратов выполняли под микроскопом Axio Scope A1 (Carl Zeiss Microimaging GmbH, Германия). Основная часть морфологического исследования выполнена после создания электронной галереи изображений с помощью полуавтоматического сканера микропрепаратов Mirax Desk (Carl Zeiss Microimaging GmbH, Германия), что позволяло максимально стандартизовать режимы морфометрического исследования. Увеличение

Таблица 1. Распределение экспериментальных животных

Группа/Материал	Сроки наблюдения		
	14-е сутки	30-е сутки	всего
Основная группа/никелид титана с покрытием С:Аu25	10	10	20
Контрольная группа/никелид титана	10	10	20
ИТОГО	20	20	40

сканирующего объектива $\times 20$. Увеличение на микрофотографиях и изображениях при анализе варьировало от $\times 20$ (при отсутствии программного увеличения) до $\times 1200$ (при 60-кратном цифровом увеличении).

Критериями биосовместимости считали толщину формирующихся реактивных тканевых зон и капсул и относительное количество клеточных элементов, характеризующих различные стадии раневого процесса: полиморфно-ядерные лейкоциты всех типов, лимфоциты, гистиоциты, фибробласты. Статистическую обработку производили средствами электронной таблицы Ms Excel. Достоверность различий определяли непараметрическим критерием Манна–Уитни, статистически значимыми считали различия при вероятности больше 95%.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Морфологическое исследование воспалительной реакции паренхимы печени выявило качественные и количественные различия, зависящие от свойств материала имплантата. К 14 сут имплантации не зарегистрированы кровоизлияния как следствие хирургической травмы и не было обнаружено некробиотических изменений по имплантационному каналу. Это можно объяснить атравматичностью имплантации проволоки данного диаметра и отсутствием прямой цитотоксичности у исследуемых материалов.

На 14-е сутки исследования в серии с имплантацией проволочных отрезков, содержащих оригинальное покрытие, в паренхиме печени четко идентифицируются места введения имплантатов – их ложе в виде полости (отверстия на гистологических срезах) диаметром 210–250 мкм, соответствующие диаметру использованных имплантатов. Участков некрозов в зоне имплантации не выявлено ни в одном из наблюдений. Для этой серии характерна активная фибробластическая реакция и мононуклеарная инфильтрация по периферии образованной капсулы. Вокруг места расположения имплантата четко определяется зона реактивных изменений, по ходу введения проволочных отрезков наблюдаются “дорожки” из незрелой грануляционной ткани (рис. 5). Сформированная к 14 суткам наблюдения огра-

ничительная реактивная зона имеет ширину 286 ± 43 мкм, представлена 17–22 слоями незрелой соединительной ткани с заметным количеством фибробластов (173 ± 32 клетки в поле зрения) и единичных фиброцитов (12 ± 5 клеток в поле зрения) (рис. 5а). Элементы воспалительного инфильтрата локализуются в периферических отделах сформированной капсулы, толщине клеточного вала 55.3 ± 16.8 мкм (рис. 5г). Последний представлен преимущественно малыми лимфоцитами (64 ± 19 клеток в поле зрения), с примесью единичных полиморфно-ядерных лейкоцитов (28 ± 7 клеток в поле зрения) и гистиоцитов – 15 ± 6 клеток в поле зрения (рис. 5б–5г). Элементы воспалительного инфильтрата распределены неравномерно, плотность скопления клеточных элементов увеличивается параваскулярно и по периферии капсулы (рис. 5б, 5в).

В контрольной серии при использовании имплантатов без покрытия практически отсутствовала фибробластическая реакция, морфологические изменения оказались минимальными, что, в том числе, обусловило статистически значимые различия по сравнению с основной группой наблюдения. При обзорном микроскопическом исследовании вокруг мест расположения имплантатов – отверстий в гистологических срезах – заметная реактивная зона не определяется (рис. 6). На 14-е сутки капсула не выражена, толщиной 22.4 ± 3.1 мкм, лучше визуализируется на увеличении $\times 400$, достоверно меньше, чем при использовании покрытых металлических имплантатов ($p < 0.0001$). Уже на этом сроке структура капсулы достаточно зрелая и представлена 4–5 слоями компактно расположенных коллагеновых волокон и равномерно распределенными фибробластическими элементами (25 ± 8 клеток в поле зрения) ($p < 0.001$). Единичные диффузно расположенные лимфоидные инфильтраты не содержат полиморфно-ядерных лейкоцитов. Количество малых лимфоцитов составляет 19 ± 6 клеток в поле зрения ($p < 0.01$), гистиоцитов – 8 ± 4 клетки в поле зрения ($p < 0.05$, рис. 6б, 6в). Участками соединительная ткань непрерывно переходит в окружающие стромальные структуры.

На 30-е сутки исследования в печени животных основной группы также определяется капсула инородного тела, представленная зрелой со-

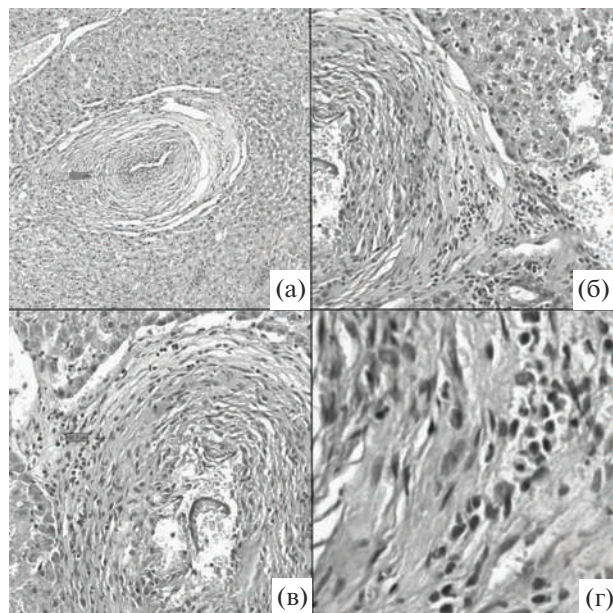


Рис. 5. Общая картина печени на 14-е сутки после введения имплантата с оригинальным покрытием. Окраска гематоксилином и эозином. Микрофото увеличение: (а) 10 (цифровое) \times 20 (сканирующий объектив); (б) 40 (цифровое) \times 20 (сканирующий объектив); (в) 20 (цифровое) \times 20 (сканирующий объектив); (г) 60 (цифровое) \times 20 (сканирующий объектив). Пояснения в тексте.

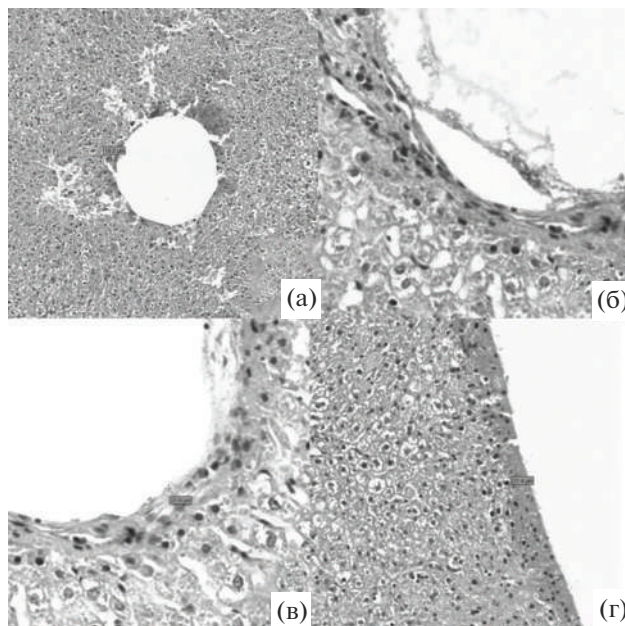


Рис. 6. Общая картина печени на 14-е сутки после введения имплантата без покрытия. Окраска гематоксилином и эозином. Микрофото увеличение: (а) 20 (цифровое) \times 20 (сканирующий объектив); (б) и (в) 60 (цифровое) \times 20 (сканирующий объектив); (г) 40 (цифровое) \times 20 (сканирующий объектив). Пояснения в тексте.

единительной тканью. Однако ближе к имплантату продолжают процессы коллагеногенеза, выявляются незрелые фибробласты. Морфометрические характеристики толщины капсулы и выраженности характера воспалительной инфильтрации достоверно отличаются внутри группы по сравнению с 14 сутками наблюдения. Средняя толщина капсулы уменьшается и составляет 115.8 ± 28.7 мкм. Структура ее гомогенная и представлена 13–19 слоями как компактных, так и рыхлых коллагеновых волокон без дифференциации на зоны, что наиболее заметно при окраске по Маллори, содержит как фиброциты (83 ± 34 клетки в поле зрения), так и зрелые фибробласты (102 ± 28 клеток в поле зрения) (рис. 7). Незначительные, диффузно расположенные по периферии капсулы, имеющие толщину 22.1 ± 8.4 мкм, клеточные инфильтраты представлены малыми лимфоцитами (35 ± 7 клеток в поле зрения) и единичными гистиоцитами 7 ± 3 клеток в поле зрения (рис. 7б–7г). Полиморфно-ядерные лейкоциты не определяются (рис. 7б–7г).

На 30-е сутки после имплантации в контрольной группе наблюдения динамика изменений аналогична предыдущей серии эксперимента и проявляется в организации отграниченной капсулы, уменьшении ее толщины в среднем до 9.2 ± 2.4 мкм (рис. 8). В печени капсула вокруг имплантатов компактная, хорошо дифференци-

руется при окраске по Маллори, образована 2–3 слоями зрелых коллагеновых волокон, содержащими немногочисленные фиброциты (15 ± 5 клеток в поле зрения), фибробластическая реакция отсутствует ($p < 0.05$). В окружающих участках паренхимы определяются единичные мелкие очаги лимфоидной инфильтрации, содержащие единичные гистиоциты (6 ± 2 клеток в поле зрения) и малые лимфоциты (11 ± 4 клеток в поле зрения; $p < 0.05$) (рис. 8).

Это нашло широкое практическое применение в онкологии и рентгенэндоваскулярной хирургии [17, 18]. *In vitro* исследования биосовместимости наночастиц, содержащих золото, хотя и выявили снижение митохондриальной и лизосомальной активности, однако цитотоксических эффектов зарегистрировано не было [18, 19]. Подобные результаты удовлетворительной биосовместимости и отсутствия цитотоксичности были получены для третичных и четвертичных сплавов золота на изолированной культуре клеток [20]. Данные исследования не стоит экстраполировать на изучаемое покрытие, однако следует предположить, что в случае деградации или коррозии при длительном сроке имплантации риск цитотоксичности минимален. Мы, в свою очередь, при краткосрочном наблюдении за предлагаемым покрытием не выявили цитотоксических и выраженных иммуногенных свойств, что прояв-

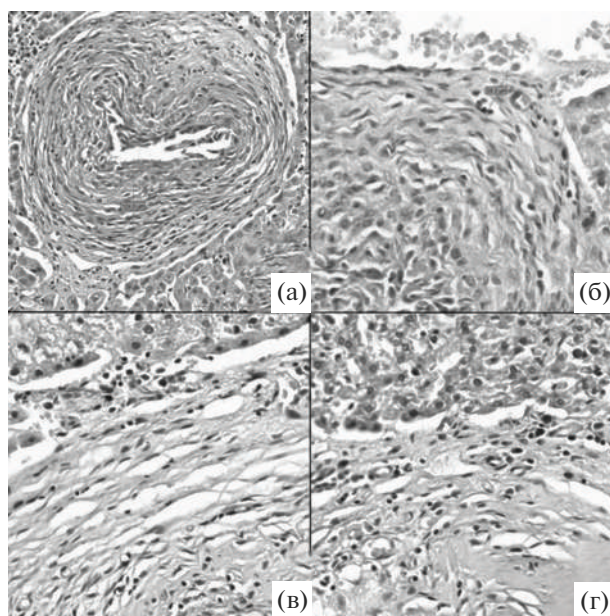


Рис. 7. Общая картина печени на 30-е сутки после введения имплантата с оригинальным покрытием. Окраска гематоксилином и эозином. Микрофото, увеличение: (а) 20 (цифровое) \times 20 (сканирующий объектив); (б)–(г) 40 (цифровое) \times 20 (сканирующий объектив). Пояснения в тексте.

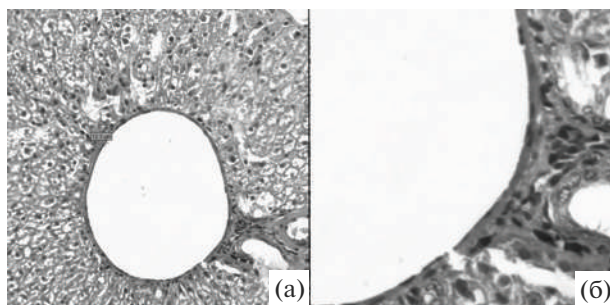


Рис. 8. Общая картина печени на 30-е сутки после введения имплантата без покрытия. Окраска гематоксилином и эозином. Микрофото увеличение: (а) 20 (цифровое) \times 20 (сканирующий объектив); (б) 60 (цифровое) \times 20 (сканирующий объектив). Пояснения в тексте.

ляется в отсутствии некрозов и выраженной лимфоидной инфильтрации. Подобный результат может быть предиктором хорошей биосовместимости и низкого риска воспалительных, в том числе и инфекционных, осложнений после имплантации. В доступных нам литературных источниках покрытия и сплавы, содержащие золото, использованы в экспериментальной эндоваскулярной хирургии, травматологии и дентальной хирургии [21–26]. Морфологические исследования тканей также подтвердили хорошую биосовместимость имплантатов, однако авторы не отмечают стимуляции коллагеногенеза, что не совпа-

дает с полученными нами результатами. Это, однако, не противоречит морфомодифицирующим свойствам определенной наноструктуры поверхности, которые были показаны для других материалов [5, 6, 12]. Кроме того, Kiran Jadhav и соавторы [27] выявили остеоиндуктивные свойства у наночастиц золота, эти исследования проведены на культуре фибробластов. С другой стороны, Sebastian Zingler и соавторы [28], сравнивая биосовместимость золота и стали, не выявили достоверных различий. Однако выполненный данной группой эксперимент имеет ограничения в интерпретации, т.к. в качестве культуры клеток были выбраны клетки десны, т.е., многослойный неороговевающий эпителий. Последние являются достаточно высокодифференцированными унипотентными линиями, от которых сложно ожидать поверхностно модифицирующие эффекты в виде фибробластической или какой-либо иной клеточной реакции. Это принципиально отличается в иницирующей части как предыдущее исследование, где использована линия фибробластов, так и исследование, выполненное нами, т.к. строма печени крыс изобилует полипотентными фиброцитами, которые могут обеспечить коллагеногенез. Стимулирующее действие исследуемого покрытия на пролиферацию фибробластов и образование коллагена требует дальнейшего изучения. Оптимальными моделями могут стать культивирование в культуре фибробластов с оценкой адгезии, пролиферативных свойств, морфометрии и трансмембранного потенциала, а так же имплантация в костные структуры с оценкой остеогенеза. При получении положительных результатов перспективным направлением для использования данного покрытия может стать дентальная имплантология и ортопедия.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Наноструктурное покрытие на основе аморфного углерода и наночастиц золота на экспериментальной *in vivo* модели показало более выраженную фибробластическую реакцию с формированием капсулы из зрелой соединительной ткани, что может найти применение в ортопедии, нейрохирургии и стоматологии.

Работа поддержана Российским фондом фундаментальных исследований и Правительством Белгородской области в рамках проекта № 18-42-310001.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Jeger R.V., Farah A., Ohlow M.A., Mangner N. et al. // *Lancet*. 2018. V. 392(10150). P. 849.
2. Шкодкин С.В., Бочарова К.А., Коган М.И., Иванов С.В. и др. // *Научные ведомости Белгородско-*

- го государственного университета. Серия: Медицина. Фармация. 2014. № 11-1(182). С. 66.
3. Пошивалова Е.Ю., Родионов И.В., Фомин А.А. // Международный журн. прикладных и фундаментальных исследований. 2014. № 8—3. С. 71.
 4. Прозорова Г.Ф., Поздняков А.С., Коржова С.А., Ермакова Т.Г. и др. // Известия Академии наук. Серия химическая. 2014. № 9. С. 2126.
 5. Надеждин С.В., Бурда Ю.Е., Зубарева Е.В., Ботвин В.В. и др. // Технологии живых систем. 2018. Т. 15. № 2. С. 22.
 6. Dalby M.J., Gadegaard N., Tare R., Andar A. et al. // Nat. Mater. 2007. V. 6(12). P. 997.
 7. Белевитин А.Б., Орыщенко А.С., Галагудза М.М., Власов Т.Д., и др. // Вестник Российской Военно-медицинской академии. 2010. Т. 4. № 32. С. 153.
 8. Плехова Н.Г., Сомова Л.М., Пуздаев В.И., Дробот Е.И. // Биомедицинская химия. 2011. Т. 57. № 1. С. 85.
 9. Джумагазиева Д.С., Маслякова Г.Н., Сулейманова Л.В., Бучарская А.Б. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2011. Т. 151. № 6. С. 677.
 10. Агафонов Д.А. // Сборник статей Всероссийской студенческой научно-практической конференции с международным участием. 2020. С. 162.
 11. Demann E.T., Stein P.S., Haubenreich J.E. // J. Long-Term Effects of Medical Implants. 2005. V. 15(6). P. 687.
 12. Родионов И.В., Перинская И.В., Куц Л.Е. // Фундаментальные проблемы современного материаловедения. 2020. Т. 17. № 3. С. 290.
 13. Huang L.Y., Yang M.C., Tsou H.M., Liu T.Y. // Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. 2019. V. 173. P. 470.
 14. Коган М.И., Мойсюк Я.Г., Шкодкин С.В., Сайдулаев Д.А. и др. // Урология. 2015. № 1. С. 58.
 15. Шкодкин С.В., Куликовский В.Ф., Мирошниченко О.В., Бочарова К.А. и др. Способ оценки биоинертности медицинских имплантов in vivo / Патент на изобретение RU 2603717 С1 // Б.И. № 33. опубл. 27.11.2016.
 16. Kolpakov A.Ya., Poplavsky A.I., Manokhin S.S., Galkina M.E. et al. // J. Nano and Electronic Physics. 2016. V. 4(1). P. 04019.
 17. Maney V., Singh M. // Pharmaceutics. 2019. V. 11(9). P. 439.
 18. Dunpall R., Revaprasadu N. // Toxicology Research. 2016. V. 5(4). P. 1078.
 19. Шубенков А.Н., Коровин С.Б., Андреева Е.Р., Буравкова Л.Б. и др. // Цитология. 2014. Т. 56. № 7. С. 511.
 20. Johnson A., Shiraishi T., Hurrell-Gillingham K. // J. Oral Science. 2011. V. 53(3). P. 387.
 21. Ohyama T., Nishide T., Iwata H., Taki W. // American J. Neuroradiology. 2004. V. 25(1). P. 53.
 22. Tian L., Lee P., Singhana B., Chen A., Qiao Y. et al. // Proceedings of SPIE – The International Society for Optical Engineering. 2018 V. 10576. P. 105762S.
 23. Bapat R.A., Chaubal T.V., Dharmadhikari S., Abdulla A.M. et al. // International J. Pharmaceutics. 2020. V. 586. P. 119596.
 24. Duarte R.M., Varanda P., Reis R.L., Duarte A.R.C., Correia-Pinto J. // Tissue Engineering Part B-Reviews. 2017. V. 23(6). P. 540–551.
 25. Farghali R.A., Fekry A.M., Ahmed R.A., Elhakim H.K. // International J. Biological Macromolecules. 2015. V. 79. P. 787.
 26. Zainali K., Baas J., Jakobsen T., Danscher G. et al. // J. Biomedical Materials Research Part A. 2010. V. 95(3). P. 956.
 27. Jadhav K., Hr R., Deshpande S., Jagwani S. et al. // Materials Science & Engineering. C, Materials for Biological Applications. 2018. V. 93. P. 664.
 28. Zingler S., Erber R., Lux C.J., Seeberger R. et al. // Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology. 2013 V. 116(2). P. 159.