Кокорев О.В.^{1, 2}, Гюнтер С.В.¹, Ходоренко В.Н.¹, Дамбаев Г.Ц.²

ВЛИЯНИЕ АРХИТЕКТониКИ И МОДИФИЦИРОВАННОЙ ПОВЕРХНОСТИ КЛЕТОЧНЫХ НОСИТЕЛЕЙ ИЗ ПОРИСТО-ПРОНИЦАЕМОГО НИКЕЛИДА ТИТАНА НА КЛЕТОЧНУЮ БИОСОВМЕСТИМОСТЬ

¹ НИИ медицинских материалов и имплантатов с памятью формы, Сибирский физико-технический институт, ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский государственный университет» (634045, г. Томск, ул. 19-й Гвардейской дивизии, 17, Россия)

² ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (634055, г. Томск, Московский тракт, 2, Россия)

Клеточные носители на основе пористых биоматериалов (scaffold) играют важную роль в инженерии различных тканей. Разработанные нами пористо-проницаемые клеточные носители из никелида титана объединяют преимущества металлических конструкций (твёрдость и износостойкость), при этом они обладают эластичностью, схожей с натуральными тканями организма человека. Были проведены исследования по изменению поверхностного слоя образцов из никелида титана и биотестированию модифицированных образцов с линией фибробластов 3H3. Показано, что наиболее биосовместимыми образцами с культурой фибробластов являются среднеспористые клеточные носители из никелида титана (средний размер пор 150 мкм), модифицированные обработкой раствором концентрированных кислот. Отмечено, что образцы из никелида титана, интактные и обработанные раствором концентрированных кислот, не вызывают степени гемолиза более 2 %, что согласуется со стандартами РФ для биосовместимых материалов, контактирующих с кровью. Непосредственное культивирование модифицированных разнотпористых образцов с линией фибробластов в цитотоксическом тесте показало низкую цитотоксичность на тестируемые клетки. При этом цитотоксичность модифицированных образцов по отношению к тестируемой линии 3H3 статистически значимо отличалась от интактных, что указывает на их высокую биосовместимость и пригодность для использования в тканевой инженерии. При исследованиях с помощью растрового микроскопа было показано, что клетки в достаточных количествах прикрепляются к микропористой поверхности модифицированных образцов, что позволяет им расти и пролиферировать в поровом пространстве клеточного носителя из никелида титана и строить полноценную ткань *in vitro*.

Ключевые слова: биоматериал, биосовместимость, клеточный носитель, пористый никелид титана, тканевая инженерия

Для цитирования: Кокорев О.В., Гюнтер С.В., Ходоренко В.Н., Дамбаев Г.Ц. Влияние архитектуры и модифицированной поверхности клеточных носителей из пористо-проницаемого никелида титана на клеточную биосовместимость. Acta biomedica scientifica, 3 (3), 188-194, DOI 10.29413/ABS.2018-3.3.29.

EFFECT OF MODIFIED SURFACE AND ARCHITECTONICS OF POROUS-PERMEABLE TINI-BASED ALLOY SCAFFOLD ON CELLULAR BIOCOMPATIBILITY

Kokorev O.V.^{1, 2}, Gyunter S.V.¹, Khodorenko V.N.¹, Dambaev G.Ts.²

¹ Research Institute of Medical Materials and Shape-Memory Implants, Siberian Physics and Technology Institute, Tomsk State University (ul. 19-y Gvardeiskoy divizii, 17, Tomsk 634045, Russian Federation)

² Siberian State Medical University (Moskovskiy trakt 2, Tomsk 634055, Russian Federation)

Cellular scaffolds based on porous biomaterials play an important role in the engineering of various tissues. Our porous-permeable cellular TiNi-based alloy scaffolds combine the advantages of metal structures, hardness, wear resistance and elasticity similar to that of human tissues.

The aim of the research was the study on the change in the surface layer of samples from TiNi-based alloy and on the biotesting of modified samples with the 3H3 fibroblast line.

Materials and methods: The biocompatibility of several samples of TiNi-based alloy scaffolds with an average pore size of 83, 150, 365 µm with modified (acid treatment) surface with 3H3 fibroblast line.

Results. The porous-permeable cellular TiNi-based alloy scaffolds (average pore size = 150 µm) modified by treatment with solution of concentrated acids exhibited the highest biocompatibility with a fibroblast culture. It was shown that hemolysis of TiNi-based alloy samples, which are intact and treated with solution of concentrated acids, does not exceed 2 %. Direct cultivation of modified samples with fibroblast line in the cytotoxic test showed low cytotoxicity of the tested cells. The studies carried out using a scanning microscope showed that mesenchymal cells of bone marrow are attached in sufficient quantities to the microporous surface of the modified samples, which allows them to grow and proliferate in the pore space of TiNi-based alloy scaffolds and to cultivate tissue *in vitro*.

Conclusion. Samples of scaffolds manufactured by the SHS-method and modified by treatment with concentrated solution of acids are technological and perspective biomaterial for their use as implantable clinically useful scaffolds.

Key words: biomaterial, biocompatibility, scaffold, porous TiNi-based alloy, tissue engineering

For citation: Kokorev O.V., Gyunter S.V., Khodorenko V.N., Dambaev G.Ts. Effect of modified surface and architectonics of porous-permeable TiNi-based alloy scaffold on cellular biocompatibility. Acta biomedica scientifica, 3 (3), 188-194, DOI 10.29413/ABS.2018-3.3.29.

Пористость, размер пор и биохимическая составляющая поверхности клеточных носителей (скаффолдов) играет важнейшую роль в адгезии и развитии тех или иных клеток *in vitro* и *in vivo* [4,7]. В немногочисленных работах исследуется взаимосвязь между пористостью, размером пор и их биосовместимыми свойствами биоматериалов, используемых для регенерации хряща и кости [3, 4, 5]. Рассматривается влияние этих морфологических признаков на остеогенез *in vitro* и *in vivo*, а также взаимосвязи с механическими свойствами скаффолдов. Отмечено, что малый объем пор стимулирует остеогенез, подавляя пролиферацию клеток и усиливая клеточную адгезию. Напротив, более высокий размер пор приводит к увеличению пролиферативной активности клеток, большему росту костной ткани и наилучшему заполнению пор скаффолда. Однако эта тенденция приводит к уменьшению механических свойств тканеинженерной конструкции [4, 6], тем самым устанавливая верхний функциональный предел размера пор и пористости. Таким образом, баланс должен быть достигнут в зависимости от тканеобразования, скорости ремоделирования и скорости биодеградации материала скаффолда. Основываясь на таких исследованиях, минимальное требование для размера пор считается ~ 100 мкм из-за требований к миграции клеток и транспортировки питательных веществ [8, 9]. В некоторых исследованиях рекомендуются размеры пор > 300 мкм для улучшения костеобразования и образования капилляров [6, 9]. Показано, что из-за васкуляризации размер пор влияет на прогрессирование остеогенеза. Низкая пористость благоприятствовала гипоксии и индуцировала остеохондральное образование до остеогенеза, в то время как образцы с высокой пористостью хорошо васкуляризовались, приводя к прямому остеогенезу (без предшествующего образования хряща) [4, 6, 7].

При этом структура и биохимическая составляющая поверхности биоматериала играет важнейшую роль в адгезии и изначальном росте засеваемой на пористую конструкцию клеточной суспензии. Изначальная концентрация жизнеспособных клеток на поверхности клеточного носителя обеспечивает необходимый вектор и силу роста клеточной популяции [6, 10]. Вследствие этого многочисленные исследования биоматериалов на биосовместимость и их модификации прежде всего направлены на изменение свойств поверхности биоматериалов.

Исследование размеров пор и качественных характеристик поверхности рекомендуется при выяснении биосовместимых характеристик различных биоматериалов, предназначенных для формирования различных тканей и структурно-функциональных единиц органов с соответствующими морфологическими и механическими свойствами [8]. Все металлические имплантаты, применяемые в медицинских целях, вследствие их коррозионной устойчивости имеют на поверхности оксидную плёнку, нивелирующую химическую реакцию (коррозию) между самим металлом и тканевой жидкостью [1, 2]. Изменение структуры и толщины данной плёнки отражается на биосовместимых свойствах металлических имплантатов [2].

Целью наших исследований явилась оптимизация биосовместимости клеточных пористо-проницаемых носителей из никелида титана посредством изменения структуры поверхности (варьирование толщиной оксидной плёнки) и архитектуры конструкции (варьирование средним размером пор).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для тестирования биосовместимости никелид-титановых образцов с модифицированной поверхностью применяли клеточную линию фибробластов NIH 3T3, полученную из банка клеток НИИ онкологии Томского НИМЦ. Тестирование проводилось на клетках 3-го пассажа после разморозки в условиях *in vitro*.

Пористые клеточные носители из никелида титана

Пористо-проницаемые клеточные носители были изготовлены из сверхэластичного пористого никелида титана марки ТН-1П, разработанного в НИИ медицинских материалов и имплантатов с памятью формы. Пористые сплавы из никелида титана были получены методом СВС (самораспространяющегося высокотемпературного синтеза) с проницаемой пористостью в диапазоне 70–75 %. Пористые заготовки из никелида титана резались на электроискровом станке на диски размером 2 × 10 мм: средний диаметр пор крупнопористых образцов – 375 мкм, мелкопористых – 150 мкм. Образцы обрабатывались раствором кислот для получения определённой поверхностной структуры: 43 % азотной кислоты (концентрированная) + 14 % плавиковой кислоты (концентрированная) + 43 % дистиллированной воды. Время обработки 30 с. Затем образцы промывались в дистиллированной воде 3 раза, стерилизовались сухожарочной обработкой при 180 °С в течение 60 мин, промывались 3 раза культуральной средой и помещались в лунки 6-луночного планшета. Фибробласты в полной культуральной среде засеивались на образцы в концентрации 250×10^3 клеток/мл, культивирование продолжалось до 7 суток. Фотографирование проводили на 2-е и 7-е сутки на инвертированном микроскопе «Optika XDS-2».

Определение относительной величины гемолиза (ГОСТ Р ИСО 10993.5-2009)

Метод регистрации – фотоколориметрический при длине волны $\lambda = 530\text{--}550$ нм. Количественным критерием является относительная величина гемолиза σ (г):

$$\sigma \text{ (г)} = (D_{\text{обр.}} - Dx(+)) / ((Dx(-) - Dx(+)) 100\%,$$

где $D_{\text{обр.}}$ – оптическая плотность пробы крови после контакта с биоматериалом; $Dx(+)$ – оптическая плотность пробы крови после добавления физраствора (положительный контроль); $Dx(-)$ – оптическая плотность пробы крови после добавления дистиллированной воды – 100%-й гемолиз (отрицательный контроль).

Определение пролиферативной активности клеток с помощью МТТ-теста (ГОСТ Р ИСО 10993.5-2009)

Эксперименты проводили в 12-луночных планшетах с объёмом лунок 2 мл. В каждую пробирку

вносили образец из никелида титана и 1 мл среды инкубации DMEM, 15%-й эмбриональной телячьей сыворотки и 40 мкг/мл гентамицина. Среда инкубации содержала 5×10^4 культуры клеток. Клетки инкубировали в термостате при 37 °C в 5%-м CO₂ в течение 72 часов. Для этого к клеткам добавляли 0,5%-й раствор 3-[4,5-диметилтиазолил-2-ел]-2,5-дифенилтетразолиум бромид (MTT) за 4 часа до конца инкубирования при температуре 37 °C. При этом образовывались нерастворимые темно-синие кристаллы формазана. Образцы вынимали, переносили суспензию в пробирки. Затем пробирки центрифугировали в течение 15 мин при 885 g. Супернатант удаляли, осадок формазана растворяли в диметилсульфоксиде. Значение оптической плотности регистрировали спектрофотометрически при длине волны 540 нм. Результаты испытаний представлены в процентах к контролю, в котором клетки содержались в культуральной среде без образцов.

Метод выделения и культивирования мезенхимальных клеток костного мозга

Для приготовления культуры мезенхимальных клеток костного мозга использовался костный мозг мышей СВА. На операционном столе в стерильных условиях извлекали бедренные кости, костный мозг вымывали с помощью шприца с полной культуральной средой в стерильные флаконы. Концентрацию клеток костного мозга доводили до 5×10^6 кл/мл полной среды и засевали в 50 мл пластиковые флаконы фирмы «Corning». Для экспериментов использовали клетки 2-го пассажа. Полученный материал представлял собой прикрепившиеся к пластику распластанные фибробластоподобные клетки, которые обладали высокой пролиферативной активностью. Культивирование клеточных носителей и с мезенхимальными клетками костного мозга проводили в среде, которая состояла из среды DMEM-F12 («ПанЭко», РФ), 15%-й эмбриональной телячьей сыворотки («HyClone», США), 40 мкг/мл гентамицина («ПанЭко», РФ), 250 мг/л глутамин («ПанЭко», РФ) и 10 мг/л добавки ITS («ПанЭко», РФ).

Сканирующая электронная микроскопия

Образцы фиксировали в 2,5%-м глутаральдегиде (SIGMA) в течение 1 часа. Затем промывали 3 раза в PBS (15 мин каждый) и далее фиксировали в течение 1 часа в 1%-м тетраоксиде осмия (SIGMA). После этого вновь промывали 3 раза в PBS и затем дегидратировали, пропуская через ряд растворов этанола (30 %, 50 %, 70 %, 90 %, 100 %) по 15 мин в каждом. Фиксированные и дегидратированные образцы высушивали, после чего каждый образец инкубатора исследовался на растровых электронных микроскопах Philips 513 и Quanta 200 3D.

Методы статистической обработки

Статистическую обработку проводили общепринятыми методами из пакета статистических компьютерных программ Statistica 6.0 (StatSoft Inc., США). Поскольку в исследовании присутствовали выборки, закон распределения числовых показателей в которых отличался от нормального (по данным проверки при помощи критерия Колмогорова – Смирнова), статистическую значимость различий изучаемых признаков проверяли при помощи непараметрического U-критерия Манна – Уитни (попарные сравнения независимых совокупностей показателей).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Основная функциональная способность фибробластов, видимая при микроскопировании, заключается в адгезии на поверхности материала, распластывании и росте популяции. По данным признакам можно идентифицировать жизнеспособность и функциональную составляющую этих клеток. На рисунке 1 показана реакция фибробластов на крупнопористые образцы из никелида титана без кислотной обработки. Отмечено, что клеточная популяция на вторые сутки после засева немногочисленна и представлена в основном нераспластанными (нефункциональными) фибробластами. Спустя 7 дней после внесения клеток в культуральный планшет показано, что на поверхности около образца видны округлившиеся (не прикреп-

а

б

Рис. 1. Крупнопористый образец без обработки поверхности: **а** – 2-е сутки после засева фибробластами; **б** – 7-е сутки после засева фибробластами.

Fig. 1. Coarse-porous sample without surface treatment: **a** – 2 days after seeding fibroblasts; **b** – 7 days after seeding fibroblasts.

пившиеся к поверхности) нефункциональные фибробласты, что говорит о невысокой биосовместимости данного образца с культурой фибробластов. Исходя из того, что данный образец имеет толстую оксидную плёнку на своей поверхности (около 20 мкм), можно сделать вывод о малой биосовместимости данного образца с выбранной клеточной культурой.

При микроскопировании крупнопористого образца, обработанного концентрированным раствором кислот, отмечена наилучшая биосовместимость в данной группе крупнопористых конструкций. На 2-е сутки видны фибробласты, распластанные на поверхности пластиковой культуральной посуды, их количество превышает показатели в предыдущих образцах. На 7-е сутки виден монослой фибробластов, плотно примыкающий к поверхности крупнопористого образца (рис. 2). Эти данные говорят о наилучшей биосовместимости образцов из крупнопористого никелида титана с тонкой оксидной плёнкой, т. к. травление концентрированным раствором кислоты уменьшает оксидную плёнку до её минимума

(3–5 мкм) и придаёт никелид-титановым образцам лучшие биосовместимые свойства для культивирования с тестируемыми клетками – фибробластами.

Культура фибробластов на рисунке 3 при культивировании с мелкопористым образцом на 2-е сутки представлена группами распластанных фибробластов, что говорит о лучшей биосовместимости на начальных этапах культивирования, по сравнению с крупнопористым образцом. Но через 7 суток после внесения клеток в культуральный планшет около образца видны округлившиеся (нефункциональные) фибробласты, что говорит о снижении функциональной активности фибробластов и их откреплении от пластика, т. е. о потере адгезионной способности или снижении функциональности. Исходя из того, что данный образец имеет оксидную плёнку на своей поверхности (около 15 мкм), можно сделать вывод о малой биосовместимости такого образца с данной клеточной культурой.

При микроскопировании мелкопористого образца, обработанного концентрированным раствором кислот,

а

б

Рис. 2. Крупнопористый образец после обработки поверхности концентрированным раствором кислот: **а** – 2-е сутки после засева фибробластами; **б** – 7-е сутки после засева фибробластами.

Fig. 2. Coarse-porous sample after surface treatment with concentrated acid solution: **а** – 2 days after seeding fibroblasts; **б** – 7 days after seeding fibroblasts.

а

б

Рис. 3. Мелкопористый образец без обработки поверхности: **а** – 2-е сутки после засева фибробластами; **б** – 7-е сутки после засева фибробластами.

Fig. 3. Fine-pored sample without surface treatment: **а** – 2 days after seeding fibroblasts; **б** – 7 days after seeding fibroblasts.

а

б

Рис. 4. Мелкопористый образец после обработки поверхности концентрированным раствором кислот: **а** – 2-е сутки после засева фибробластами; **б** – 7-е сутки после засева фибробластами.

Fig. 4. Fine-pored sample after surface treatment with concentrated acid solution: **a** – 2 days after seeding fibroblasts; **b** – 7 days after seeding fibroblasts.

отмечена наилучшая биосовместимость, по сравнению со всеми другими образцами. При культивировании данного образца на 2-е сутки видны многочисленные группы распластанных фибробластов на поверхности культуральной посуды, в которой культивировался образец, их количество превышает показатели в предыдущих образцах. На 7-е сутки отмечен плотный монослой фибробластов, плотно контактирующий с поверхностью мелкопористого образца. Эти данные говорят о наилучшей биосовместимости образцов из мелкопористого никелида титана (150 мкм), обработанного концентрированной кислотой (рис. 4).

Таким образом, обработка поверхности никелида титана раствором концентрированных кислот стимулирует рост монослоя фибробластов. Уменьшение размера оксидной плёнки позитивно влияет на адгезирующую способность и жизнеспособность фибробластов. При этом уменьшение оксидной плёнки посредством травления смесью концентрированных кислот до её минимума (3–5 мкм) показательно усиливает биосовместимость фибробластов. В механизме ингибирующего действия толстой оксидной плёнки, вероятно, лежит негативное влияние поверхностных веществ (оксидов), а также малая площадь контактирующей поверхности образца. Травление концентрированным раствором кислот уменьшает концентрацию оксидов, увеличивая площадь поверхности, открывая нанопоры, что улучшает микроструктуру и проницаемость образцов, тем самым увеличивая биосовместимые свойства никелидтитановых образцов при культивировании с фибробластами.

Кроме этого, клеточные носители из никелида титана, сформированные методом СВС и обработанные раствором концентрированных кислот, подвергались испытаниям на гемолиз и цитотоксичность по стандартным методикам.

На рисунке 5 приведены сравнительные графики относительной величины гемолиза для образцов, полученных методом СВС, исходных и обработанных раствором концентрированных кислот. Результатом обработки раствором концентрированных кислот стала

статистически значимо меньшая величина гемолиза эритроцитов периферической крови, по сравнению с интактными образцами. Для всех исследуемых образцов величина гемолиза была меньше 2 %, что свидетельствует о пригодности данных образцов для использования в качестве материала для имплантационных биоинженерных конструкций, контактирующих с кровью. Следовательно, обработка поверхности пористых материалов из никелида титана не снижает биосовместимые свойства клеточных носителей-инкубаторов из никелида титана и пригодна для модифицирования образцов, используемых для имплантатов.

Рис. 5. Сравнительные результаты исследований гемолитического действия интактных и модифицированных пористых образцов из никелида титана.

Fig.5. Hemolytic effect of intact and modified porous samples from TiNi-based alloy.

Для тех же образцов были проведены испытания на цитотоксичность с культурой фибробластов, результаты которых приведены на рисунке 6. По стандартам оценки цитотоксичности можно констатировать практически полное отсутствие цитотоксичности для всех модифицированных образцов с разной пористостью. При этом интактные образцы, не обработанные кислотой, обладают средней ци-

тотоксичностью по отношению к фибробластам – основным клеткам соединительной ткани. Как видно, на рисунке 6 отмечена тенденция к снижению цитотоксичности при увеличении среднего размера пор, что, возможно, связано с увеличением площади контактирующей поверхности образца.

Кислотная обработка, как следует из полученных данных, в среднем приводит к некоторому увеличению жизнеспособности тестируемых клеток, т.е. к уменьшению цитотоксичности по отношению к фибробластам.

Исходя из полученных результатов, можно сделать вывод о том, что обработка образцов раствором концентрированных кислот увеличивает биосовместимость пористого никелида титана и по совокупности критериев (жизнеспособность, гемолиз и цитотоксичность) превосходит intactные образцы. При этом уменьшение оксидной плёнки в пористых материалах приводит к появлению (открытию) мелких пор и увеличению рельефности поверхности (рис. 7б), что в свою очередь повышает адгезивные свойства клеток и увеличивает диффузионную способность клеточного носителя.

Рис. 6. Сравнительные результаты исследований пролиферативной активности фибробластов при культивировании с intactными и модифицированными образцами из никелида титана.

Fig. 6. Comparative results of studies of proliferative activity of fibroblasts during cultivation with intact and modified samples from TiNi-based alloy.

а

б

Рис. 7. Микроструктура поверхности intactного (**а**) и модифицированного обработкой кислотной смесью (**б**) клеточного носителя.

Fig. 7. Microstructure of surface of TiNi-based alloy scaffolds intact (**a**) and modified of TiNi-based alloy scaffolds (**b**).

а

б

Рис. 8. Адгезия и развитие мезенхимальных клеток костного мозга на клеточных носителях из никелида титана с модифицированной структурой.

Fig. 8. Adhesion and development of bone marrow mesenchymal cells on TiNi-based alloy scaffolds with modified structure.

Таким образом, разработанные лабораторные образцы клеточных носителей, изготовленные методом СВС и модифицированные с помощью обработки концентрированным раствором кислот, являются технологичным и перспективным биоматериалом для их использования в качестве имплантируемых носителей клеток, что и подтверждает адгезия мезенхимальных клеток костного мозга (рис. 8а) и рост соответствующей ткани в клеточном носителе из никелида титана после 28-дневной инкубации *in vitro* (рис. 8б).

Работа выполнена в рамках программы повышения конкурентноспособности ТГУ Фонда имени Д.И. Менделеева ТГУ, № 8.2.10.2017 (2017 г.).

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

Выражаем признательность директору НИИ медицинских материалов и имплантатов с памятью формы ТГУ В.Э. Гюнтеру за консультативную помощь в проектировании дизайна исследования.

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Гюнтер В.Э., Ходоренко В.Н., Ясенчук Ю.Ф. Никелид титана. Медицинский материал нового поколения. – Томск: Изд-во «МИЦ», 2006. – 296 с.
Gyunter VE, Khodorenko VN, Yashenchuk YuF. (2006). Titanium nickelide. Medical material of a new generation [Nikelid titana. Meditsinskiy material novogo pokoleniya]. Tomsk, 296 p.
2. Гюнтер В.Э., Ходоренко В.Н., Чекалкин Т.Л., Олесова В.Н., Дамбаев Г.Ц., Сысолятин П.Г., Фомичев Н.Г. Медицинские материалы с памятью формы // Медицинские материалы и имплантаты с памятью формы. – Томск, 2011. – Т. 1. – 534 с.
Gyunter WE, Khodorenko VN, Chekalkin TL, Olesova VN, Dambaev GT, Sysolyatin PG, Fomichev NG. (2011).

Medical materials with shape memory [Meditsinskie materialy s pamyat'yu formy]. Meditsinskie materialy i implantaty s pamyat'yu formy. Tomsk, 1, 534 p.

3. Dai W, Kawazoe N, Lin X, Dong J, Chen G. (2010). The influence of structural design of PLGA/collagen hybrid scaffolds in cartilage tissue engineering. *Biomaterials*, 31, 2141-2152.
4. Karageorgiou V, Kaplan D. (2005). Porosity of 3D biomaterial scaffolds and osteogenesis. *Biomaterials*, 26 (27), 5474-5491. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2009.11.070
5. Lien SM, Ko LY, Huang TJ. (2009). Effect of pore size on ECM secretion and cell growth in gelatin scaffold for articular cartilage tissue engineering. *Acta Biomaterialia*, 5, 670-679.
6. Murphy CM, Matthew GH, O'Brien FJ. (2010). The effect of mean pore size on cell attachment, proliferation and migration in collagen-glycosaminoglycan scaffolds for bone tissue engineering. *Biomaterials*, 31 (3), 461-466.
7. O'Brien FJ. (2011). Biomaterials and scaffolds for tissue engineering. *Materials Today*, 14 (3), 88-95.
8. Sobral JM, Caridade SG, Sousa RA, Mano JF, Reis RL. (2011). Three-dimensional plotted scaffolds with controlled pore size gradients: Effect of scaffold geometry on mechanical performance and cell seeding efficiency. *Acta Biomaterialia*, (7), 1009-1018. DOI: 10.1016/j.actbio.2010.11.003
9. Zhang Q, Lu H, Kawazoe N, Chen G. (2014). Pore size effect of collagen scaffolds on cartilage regeneration. *Acta Biomaterialia*, (10), 2005-2013. DOI: 10.1016/j.actbio.2013.12.042
10. Zhao Y, Tan K, Zhou Y, Ye Z, Tan WS. (2016). A combinatorial variation in surface chemistry and pore size of three-dimensional porous poly(ϵ -caprolactone) scaffolds modulates the behaviors of mesenchymal stem cells. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 59, 193-202. DOI: 10.1016/j.msec.2015.10.017

Сведения об авторах Information about the authors

Кокорев Олег Викторович – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник, НИИ медицинских материалов и имплантатов с памятью формы, Сибирский физико-технический институт, ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский государственный университет»; ассистент кафедры госпитальной хирургии с курсом сердечно-сосудистой хирургии, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (634055, г. Томск, Московский тракт, 2; e-mail: kokorevov@yandex.ru)

Kokorev Oleg Viktorovich – Candidate of Medical Sciences, Senior Research Officer, Research Institute of Medical Materials and Shape-Memory Implants, Siberian Physics and Technology Institute, Tomsk State University; Teaching Assistant at the Department of Advanced Level Surgery with a Course of Cardiovascular Surgery, Siberian State Medical University (634055, Tomsk, Moskovskiy trakt, 2; e-mail: kokorevov@yandex.ru)

Гюнтер Сергей Викторович – кандидат технических наук, старший научный сотрудник, НИИ медицинских материалов и имплантатов с памятью формы, Сибирский физико-технический институт, ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский государственный университет» (634045, г. Томск, ул. 19-й Гвардейской дивизии, 17; тел./факс: (3822) 41-38-15; e-mail: guntersv@inbox.ru)

Gyunter Sergey Viktorovich – Candidate of Technical Sciences, Senior Research Officer, Research Institute of Medical Materials and Shape-Memory Implants, Siberian Physics and Technology Institute, Tomsk State University (634045, Tomsk, ul. 19-y Gvardeyskoy divizii, 17; tel./fax: (3822) 41-38-15; e-mail: guntersv@inbox.ru)

Ходоренко Валентина Николаевна – кандидат физико-математических наук, старший научный сотрудник, НИИ медицинских материалов и имплантатов с памятью формы, Сибирский физико-технический институт, ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский государственный университет»

Khodorenko Valentina Nikolaevna – Candidate of Physico-Mathematical Sciences, Senior Research Officer, Research Institute of Medical Materials and Shape-Memory Implants, Siberian Physics and Technology Institute, Tomsk State University

Дамбаев Георгий Цыренович – доктор медицинских наук, профессор, член-корр. РАН, заведующий кафедрой госпитальной хирургии с курсом сердечно-сосудистой хирургии, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (e-mail: dambaev@vtomske.ru)

Dambaev Georgiy Tsyrenovich – Doctor of Medical Sciences, Professor, Corresponding Member of RAS, Head of the Department of Advanced Level Surgery with a Course of Cardiovascular Surgery, Siberian State Medical University (e-mail: dambaev@vtomske.ru)