

На правах рукописи

Голунова Анна Сергеевна

**Структурированные гели поливинилового спирта, содержащие
заряженные группы**

02.00.06 – Высокомолекулярные соединения

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Москва – 2013

Работа выполнена в Учебно-научном центре «Биоматериалы»
Российского химико-технологического университета имени
Д.И.Менделеева

Научный руководитель кандидат химических наук
Артюхов Александр Анатольевич, доцент
кафедры химической технологии
пластических масс Российского химико-
технологического университета имени
Д. И. Менделеева, г. Москва

Официальные доктор химических наук, профессор
оппоненты **Ямсков Игорь Александрович**,
заведующий лабораторией физиологически
активных биополимеров ИНЭОС
им. А. Н. Несмеянова Российской академии
наук, г. Москва

доктор химических наук, профессор
Ярославов Александр Анатольевич,
ведущий научный сотрудник кафедры
высокомолекулярных соединений МГУ им.
М. В. Ломоносова, г. Москва

Ведущая организация Московский государственный университет
тонких химических технологий имени
М. В. Ломоносова, г. Москва

Защита состоится «05» июня 2013 г. в 16:00 на заседании
диссертационного совета Д 212.204.01 при Российском химико-
технологическом университете имени Д. И. Менделеева (125047 Москва,
Миусская площадь, д.9) в ауд. № 443 (конференц-зал)

С диссертацией можно ознакомиться в Информационно-
библиотечном центре РХТУ им. Д.И.Менделеева

Автореферат разослан «___» апреля 2013 г.

Ученый секретарь диссертационного

совета Д.212.204.01



Ю.М. Будницкий

Актуальность работы. Материалы на основе полимерных гидрогелей известны уже почти полвека и находят широкое применение в различных областях, в том числе, связанных с биотехнологией и медициной.

Особое место среди них занимают трехмерные полимерные системы с порами размером в десятки и сотни микрометров, так называемые макро- и суперпористые полимерные гидрогели. Они используются в качестве компонентов систем с контролируемым выделением активного вещества, материалов для имплантатов и в качестве подложек для выращивания клеток и тканей в тканевой инженерии.

Ранее был разработан метод получения сшитых макропористых полимерных гидрогелей на основе поливинилового спирта, содержащего акрилатные группы. Такие гели обладают высокой стабильностью, биосовместимостью и рядом других уникальных свойств, что делает их весьма перспективными для применения в областях, связанных с медициной. Однако низкая клеточная адгезия, характерная для поверхностей этих гидрогелей, в значительной степени ограничивает возможности их применения в областях, связанных с клеточной и тканевой инженерией.

Поэтому разработка методов и подходов, позволяющих получать макропористые гидрогели на основе поливинилового спирта, лишенные этих недостатков, представляет значительный интерес.

Цель и задачи исследования. Целью настоящего исследования являлось получение макропористых полимерных гидрогелей на основе ненасыщенных производных поливинилового спирта, дополнительно содержащих заряженные группы. Для достижения данной цели были поставлены следующие задачи:

– синтез модифицированного полимера на основе поливинилового спирта, содержащего в боковой цепи непредельные связи;

– изучение влияния различных факторов на процесс образования сшитых макропористых гидрогелей на основе модифицированного

поливинилового спирта и низкомолекулярных сомономеров в воднозамороженных растворах и выявлении оптимальных условий синтеза;

– исследование свойств, строения, макроструктуры образующихся макропористых гидрогелей;

– исследование токсичности полученных гидрогелей, роста на них различных клеточных культур, взаимодействия гидрогелей с тканями организма при имплантации.

Научная новизна. В работе впервые в условиях криоструктурирования синтезированы макропористые полимерные гидрогели на основе метакрилатного производного поливинилового спирта, дополнительно содержащие заряженные группы. Исследован процесс сшивки в воднозамороженных растворах, выявлено влияние условий синтеза на выход продукта и морфологию поверхности образующихся систем. Выявлена корреляция между составом синтезированных гидрогелей и их осмотическими свойствами, сорбционной способностью, ростом клеточных культур на их поверхности, а также динамики биodeградации гидрогелей в живых организмах.

Практическая значимость работы.

Показано, что синтезированные в работе макропористые полимерные гидрогели на основе поливинилового спирта, дополнительно содержащие заряженные группы, обладают высокой сорбцией по отношению к белкам и могут являться носителями для выращивания клеток.

Апробация работы. Результаты работы были представлены на международных конференциях МКХТ-2010, МКХТ-2012 (Москва), «Нанобиоматериалы: современные достижения и токсикологические вопросы безопасности» (Москва, 2011 г.), XIX International Conference on Bioencapsulation (5-8 October, Амбуаз, Франция, 2011 г.), международных конгрессах «Biotechnology. State of the art & prospects of development» (Москва, 2010 г.), Bionanotox 2011, Bionanotox 2012 (Ираклион, Греция).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 15 научных работ (7 статей в журналах и сборниках трудов, в том числе 4 в журналах, рекомендованных ВАК, и 8 тезисов докладов).

Объем и структура работы. Диссертация изложена на 112 страницах, состоит из введения, обзора литературы, обсуждения результатов, экспериментальной части, выводов и списка литературы; содержит 6 таблиц, 50 рисунков, 109 библиографических ссылок.

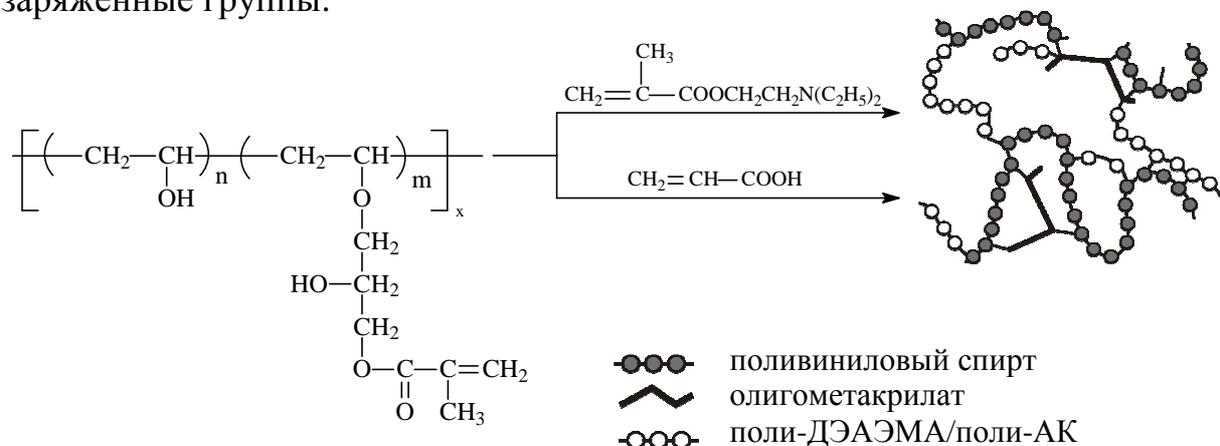
Полученные результаты и их обсуждение.

1. Объекты исследования

Полимерные гидрогели находят все большее применение в медицине и биотехнологии, в том числе для производства носителей для выращивания клеток и тканей. Особенно привлекательными с этих позиций представляются пористые полимерные гидрогели, характеризующиеся наличием системы крупных связанных между собой пор, делающих возможным миграцию растущих клеток в объем гидрогеля и их последующую нормальную жизнедеятельность.

Ранее был предложен метод синтеза подобных макропористых систем на основе поливинилового спирта, посредством сшивки по свободнорадикальному механизму в воднозамороженных системах акриловых производных этого биосовместимого полимера. Полученные согласно данному методу макропористые гидрогели характеризовались высокой биосовместимостью, стабильностью к нагреванию при температурах, близких к температуре кипения воды, и улучшенными по сравнению с физическими криогелями поливинилового спирта механическими характеристиками. В то же время, известно, что адгезия клеток к поверхностям на основе различных биоматериалов в значительной мере зависит от наличия в их составе ионогенных групп, практически отсутствующих в составе поливинилового спирта, что значительно снижает потенциал вышеупомянутых макропористых гидрогелей в качестве основы матриц для тканевой инженерии.

В силу этого, в настоящей работе предложено получение макропористых полимерных гидрогелей на основе ненасыщенных производных поливинилового спирта, дополнительно содержащих заряженные группы.



Введение в состав гидрогелей ионогенных групп осуществлялось посредством добавления на стадии синтеза в реакцию систему, содержащую модифицированный поливиниловый спирт, соответствующих низкомолекулярных сомономеров – акриловой кислоты (АК) в качестве источника отрицательно заряженных групп, или N,N-диэтиламиноэтилметакрилата (ДЭАЭМА) – положительно заряженных.

Образующиеся в результате сополимеризации системы содержали статистически распределенные фрагменты цепи исходного поливинилового спирта, полиакриловой кислоты или N,N-диэтиламиноэтилметакрилата и бокового ненасыщенного фрагмента исходного макромономера.

2. Исследование закономерностей гелеобразования в криоусловиях.

Объектом исследования настоящей работы на первом этапе являлся процесс сополимеризации макромономера акрилового производного поливинилового спирта с низкомолекулярными мономерами в воднозамороженных системах.

Получение гидрогелей проводили в интервале температур от минус 5 до минус 25 °С. Для инициирования реакции в случае сополимеризации с

акриловой кислотой была использована окислительно-восстановительная система «перекись водорода – аскорбиновая кислота», в случае N,N-диэтиламиноэтилметакрилата в качестве инициатора использовали персульфат калия, а ускорителем его распада являлся сам низкомолекулярный мономер.

Практически во всем интервале изменения концентраций инициатора

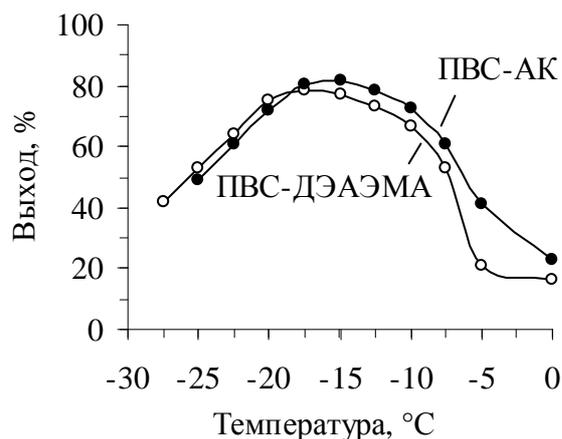


Рисунок 1 - Зависимость выхода гидрогеля от температуры синтеза, концентрация реакционной смеси 7 г/100 мл, концентрация низкомолекулярного сомономера 15 мольн.%

и макромера в реакционной смеси процесс образования макропористых гидрогелей протекал с высоким выходом (75 ÷ 90%) и практически завершался за 2 ÷ 3 часа, а при высоких значениях концентрации инициатора и реакционной смеси уже за 1 ÷ 1,5 часа.

Характерной особенностью протекания процессов

гелеобразования в криоусловиях является наличие экстремума на

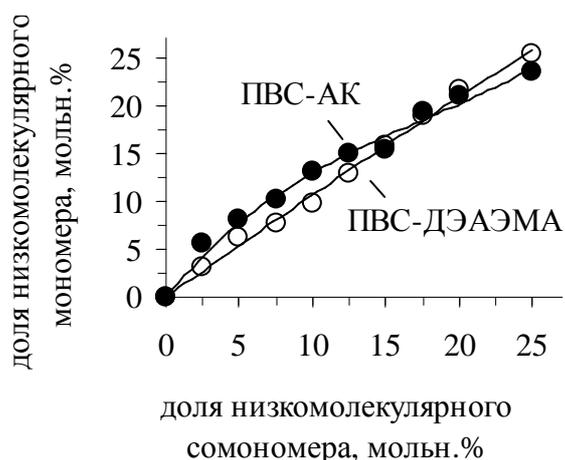


Рисунок 2 - Зависимость количества звеньев низкомолекулярного сомономера в составе образующихся гидрогелей от их количества в реакционной системе. Температура синтеза минус 15 °C, концентрация реакционной смеси 7 г/100 мл

температурной зависимости выхода геля и скорости его образования. Так и в случае рассматриваемых гидрогелей снижение температуры от 0 ÷ минус 5 °C, когда система в течение всего процесса оставалась жидкой, до минус 10 ÷ минус 15 °C, когда реакционная смесь находилась в твердом состоянии, приводило к заметному возрастанию скорости реакции и увеличению

выхода продукта. При дальнейшем понижении температуры скорость реакции и выход снижались (рис. 1).

Проведение реакций при различных соотношениях концентраций модифицированного поливинилового спирта и низкомолекулярного сомономера с различной степенью замещения показало, что увеличение количества как ДЭАЭМА, так и АК в смеси сомономеров ведет к монотонному росту выхода гидрогелей и скорости гелеобразования, при этом содержание звеньев низкомолекулярных сомономеров практически совпадает с их относительной долей в исходной реакционной смеси (рис. 2).

3. Исследование морфологии полученных макропористых полимерных гидрогелей.

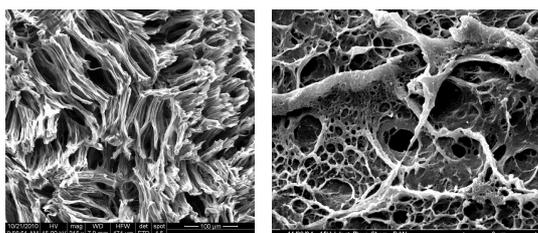


Рисунок 3 - Примеры микрофотографий образцов гидрогелей

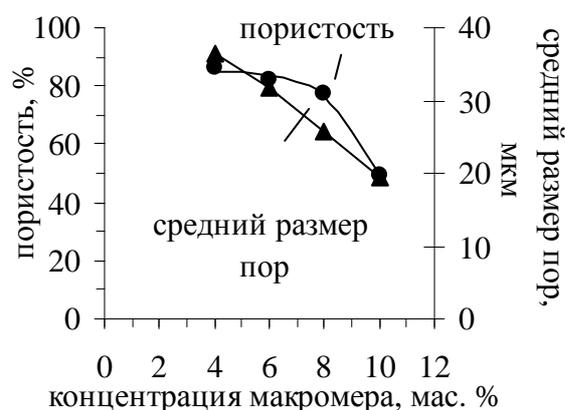


Рисунок 4 - Зависимость пористости и среднего размера пор образцов гидрогелей от концентрации реакционной смеси. Температура синтеза минус 15 °С, концентрация ДЭАЭМА 10 мольн. %

Исследование морфологии поверхности полученных гидрогелей показало, что последняя представляет собой достаточно сложную структурно-морфологическую организацию. Помимо крупных макропор с размерами в десятки микрометров, в основном определяющих физико-химические характеристики макропористых гелей, в их структуре присутствует большое количество более мелких пор (рис. 3), представляющих собой дефекты в стенках и существенно увеличивающих удельную поверхность последних, а также обеспечивающих дополнительное сообщение между макропорами

гидрогеля.

Характер влияния различных факторов на структуру образующихся гидрогелей был различен. Так, изменение концентрации инициатора и соотношения сомономеров практически не влияло на средний размер пор, общую пористость и распределение пор по размерам. При увеличении концентрации макромера в реакционной системе наблюдалось снижение общей пористости, а также увеличение относительной доли фракции более мелких пор и сужение распределения пор по размерам и, как следствие, монотонное снижение среднего размера пор (рис. 4). При снижении температуры процесса от минус 5 до минус 25 °С происходило монотонное снижение среднего размера пор, сужение диапазона изменения размера пор и обогащение системы более мелкими порами.

4. Исследование набухаемости синтезированных полимерных макропористых гидрогелей.

Поглощение относительно больших количеств жидкости гидрогелями, полученными в криоусловиях, объясняется наличием развитой пористой структуры. Причем большая часть поглощаемой гидрогелем при набухании жидкости заполняет свободное пространство пор, занимающих основной объем образца. Вклад же, собственно, полимерной части материала сравнительно мал.

В силу этого, влияние условий проведения процесса на равновесную набухаемость гидрогелей коррелируется с влиянием этих факторов на общую пористость гидрогелевых структур. Поэтому увеличение концентрации реакционной смеси и снижение температуры реакции вело к монотонному снижению равновесного набухания образующихся гидрогелей, а изменение концентрации инициатора и низкомолекулярного сомономера практически не влияло на эту характеристику полученных гидрогелей.

При практическом применении биоматериалы зачастую контактируют со средами с различными значениями рН. Поэтому

практический интерес представляло исследование зависимости набухания в растворах с различной величиной этого показателя.

Было обнаружено, что гели, содержащие различные заряженные группы, ведут себя по-разному в растворах с различным значением рН. В случае гидрогелей, содержащих звенья акриловой кислоты, в интервале рН от 6 до 12 наблюдался значительный рост набухаемости, в случае же гидрогелей с аминоксодержащими звеньями, напротив, имело место снижение равновесной набухаемости. Стоит, впрочем, отметить, что данные изменения не были столь велики, как в случае гидрогелей, получаемых на основе соответствующих низкомолекулярных мономеров, и в интервале физиологических значений рН набухаемость гидрогелей оставалась практически неизменной.

5. Исследование сорбции альбумина на поверхности гидрогелей.

Высокая удельная поверхность, обусловленная наличием системы связанных между собой пор, в сочетании с наличием заряженных групп делает разработанные полимерные гидрогели перспективными для применения в качестве сорбентов белков различного назначения. Кроме того способность полимерной матрицы к связыванию белков может быть использована для ее модификации с целью придания ей специфических свойств. В силу этого нами исследовалась иммобилизация белка на синтезированных полимерных гидрогелях.

В качестве модельного белка использовался бычий сывороточный альбумин, являющийся удобной и широко распространенной моделью для изучения свойств глобулярных белков.

Было выявлено, что большая часть альбумина (90 ÷ 95%) сорбируется в первые 5 ÷ 6 часов, причем сорбция на аминоксодержащем носителе протекает несколько быстрее. Существенно, что емкость полученных полимерных гидрогелей по альбумину достигает значительных величин, превышая значения 450 ÷ 500 мг белка на 1 грамм носителя (для сравнения для обладающего «уникальной

белоксвязывающей способностью» «Полисорба» этот показатель составляет $372,5 \pm 7,3$ мг/г).

Емкость по альбумину гидрогелей поливинилового спирта, не содержащих заряженных групп, составляет ~25 мг/г, поэтому можно утверждать, что сорбция белка на синтезированных гидрогелях

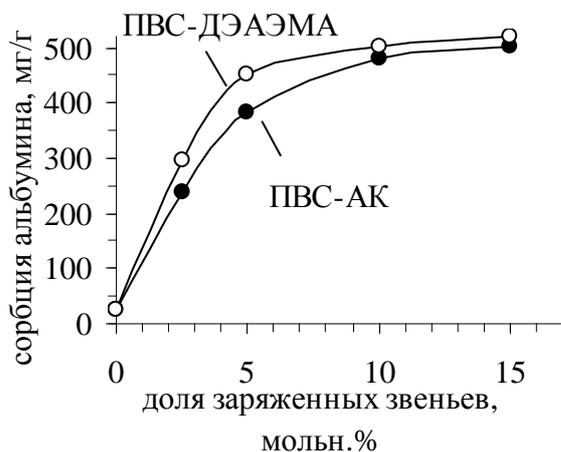


Рисунок 5 - Зависимость сорбции альбумина (мг альбумина/ г носителя) от концентрации заряженных звеньев.

происходит за счет образования ионных связей между заряженными группами матрицы гидрогеля и концевыми амино- и карбоксильными группами аминокислот связывающих доменов альбумина. Существенно, что это связывание достаточно

прочное, и при инкубации гидрогеля с включенным белком как в дистиллированной воде, так

и буферных растворах с различным значением pH, нам не удалось обнаружить десорбции белка с поверхности гидрогеля.

В силу ионного связывания БСА на поверхности гидрогеля, количество связываемого альбумина возрастало по мере роста количества ионогенных групп, достигая максимума при ~10 мольн.% (рис. 5). Прекращение роста величины сорбции связано, очевидно, со стерическими затруднениями.

6. Исследование 3D роста клеток различного типа на гидрогелях.

В случае травм и повреждений органов наиболее быстро восстанавливается соединительная ткань, часто заменяя собой другие типы тканей. Поэтому исследование роста клеток соединительной ткани очень интересно для оценки пригодности гидрогелей для тканевой инженерии, особенно для приложений, связанных с заживлением ран. Линия мышечных фибробластов L929 является широко применяемой моделью для

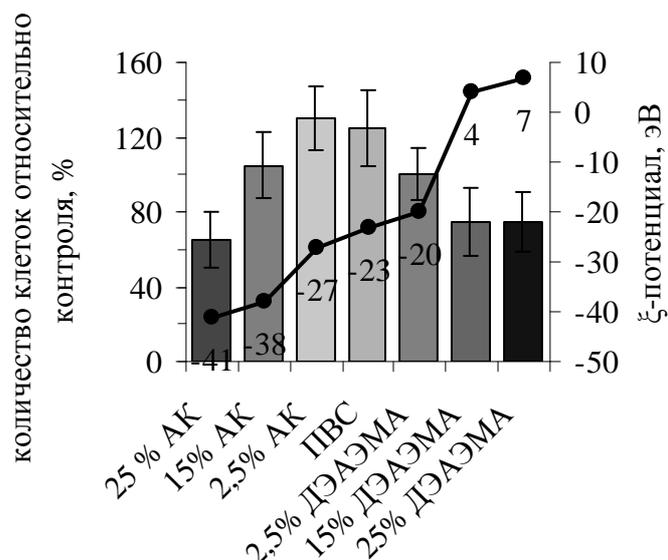


Рисунок 6 - Зависимость роста клеток мышечных фибробластов линии L929 от состава гидрогелей. Время культивирования 14 дней. (За 100% принято количество жизнеспособных клеток, растущих в стандартных условиях без гидрогелей)

полимерных гидрогелях, содержащих различное количество заряженных групп. Как следует из полученных данных, оптимальный рост клеток достигался на матриксах, имеющих сравнительно малое количество

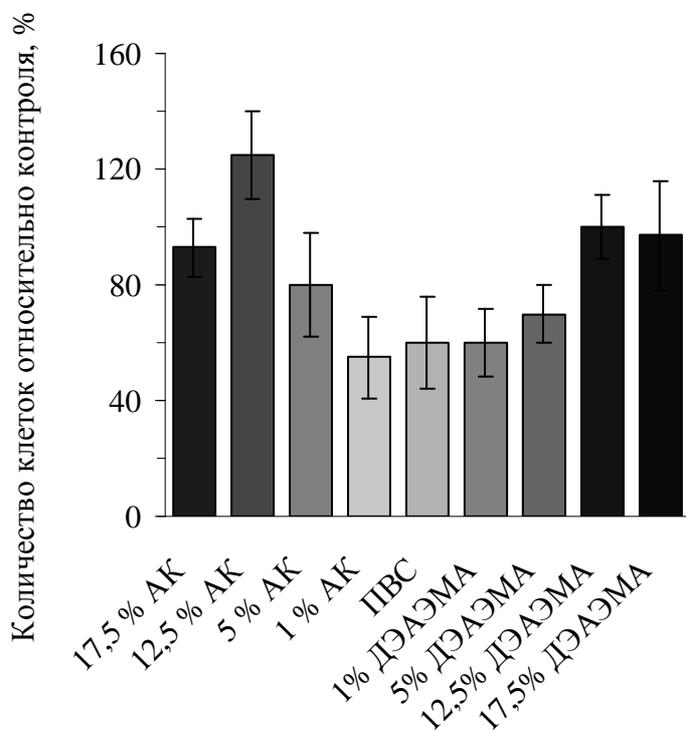


Рисунок 7 - Зависимость роста МСК от состава гидрогелей. Время культивирования 14 дней (За 100% принято количество клеток монослоя, растущих в стандартных условиях)

исследований, связанных с изучением роста клеточных культур на различных носителях, предназначенных для использования в клеточной и тканевой инженерии.

На рисунке 6 приведены результаты, полученные при культивировании этого типа клеток на

полимерных гидрогелях, содержащих различное количество заряженных групп. Данный факт может объясняться тем, что эти матриксы имели ζ-потенциал, близкий к оптимальному (от -30 до -10 мВ) для роста этого типа клеток.

В силу того, что исследуемые полимерные гидрогели предполагалось использовать для клеточной инженерии, практическую значимость имело изучение их влияния на клетки человека при их контакте. С

этих позиций наибольший интерес представляют стволовые клетки, способные дифференцироваться в различные типы клеток.

На рисунке 7 показан рост мезенхимальных стромальных клеток жировой ткани человека МСК в модифицированных гидрогелях. Как можно видеть, в отличие от фибробластов, наилучший рост клеток наблюдался для случая матриксов, содержащих относительно большое количество заряженных групп, причем вне зависимости от знака заряда.

Таким образом, можно утверждать, что посредством регулирования состава разрабатываемых полимерных гидрогелей можно создавать носители, оптимальные для роста конкретной клеточной культуры.

7. Изучение взаимодействия гидрогелей с тканями организма при имплантации.

С целью изучения реакции тканей на синтезированные полимерные макропористые гидрогели различного состава проводились эксперименты по имплантации синтезированного макропористого гидрогеля. В качестве экспериментальных животных выступали нелинейные белые половозрелые крысы. Образцы гидрогеля имплантировали в мышечные ткани экспериментальных животных. Забор материала осуществлялся на 7, 21 сутки и спустя 2,3,4,6 месяцев.

При изучении полученных в результате эксперимента биологических материалов было установлено, что при имплантации всех исследованных образцов гидрогелей на ранних сроках (7 дней, 21 день) наблюдается воспалительная реакция грануляционного характера с образованием фиброзной капсулы без рубцевания. Степень развитости воспалительной реакции, о которой можно было судить по величине отека, толщине и строению фиброзной капсулы и количеству лимфоцитов, была различна для образцов различного строения. Интенсивность воспалительной реакции возрастала с ростом количества звеньев низкомолекулярного сомомера в составе гидрогеля. Причем, для гидрогелей, содержащих

звенья диэтиламиноэтилметакрилата, эта зависимость была выражена более очевидно, нежели для гидрогелей со звеньями акриловой кислоты.

При продолжительных сроках имплантации наблюдалась постепенное замещение имплантата тканями организма. Практически для всех имплантированных образцов макроскопически имплантат не обнаруживался уже спустя 3 месяца, однако при микроскопическом исследовании гистологических препаратов, полученных на этих сроках имплантации, обнаруживалось некоторое количество распределенных в объеме новообразовавшихся тканей фрагментов гидрогелевого материала. По истечении 4-5 месяцев наблюдалось практически полное замещение имплантированного гидрогеля собственными тканями организма. Однако, если для случая гидрогелей, содержащих отрицательные заряженные группы, и «исходного» поливинилового спирта в области имплантации обнаруживалась, преимущественно, рыхлая соединительная ткань и поперечнополосатая скелетная мускулатура, то в случае, содержащих более 5 мольн.% звеньев ДЭАЭМА, имело место образование плотной соединительной ткани. Это может быть связано как с повышенной по сравнению с остальными образцами воспалительной реакцией, развивающейся при имплантации, так и с какими-либо специфическими аспектами взаимодействия тканей организма с вводимыми материалами, требующими более детального изучения.

Таким образом, на основании полученных данных можно утверждать, что разработанные полимерные гидрогели характеризуются достаточной биосовместимостью и способностью к биодеградации с замещением собственными тканями организма. Скорость биодеградации и тип образующихся на месте имплантата тканей определяется составом полимерных гидрогелей.

Выводы.

1. Путем реакции водорастворимого поливинилового спирта, модифицированного глицидилметакрилатом, и низкомолекулярных

сомономеров – акриловой кислоты и N,N – диэтиламиноэтилметакрилата, в условиях радикальной полимеризации в вводно-замороженных системах получены низкотоксичные пористые гидрогели, содержащие заряженные группы, пригодные для медико-биологического использования.

2. Установлен характер влияния на протекание процесса гелеобразования в вводнозамороженных системах и характер пористости получаемых гелей (средний размер пор и их распределение по размерам), концентрации и соотношения реагентов, а также температуры и времени проведения процесса.
3. Электронно-микроскопическими исследованиями установлено, что полученные гидрогели представляют собой системы с развитой пористой структурой и размером пор от единиц до сотен микрометров.
4. Показано, что синтезированные макропористые полимерные гидрогели характеризуются высоким значением равновесной набухаемости, зависящим от ионной силы и величины рН раствора.
5. Продемонстрирована возможность использования синтезированных гидрогелей в качестве подложек для культивирования различных типов клеток, а также установлено влияние состава полимера на рост клеток.
6. В опытах на животных продемонстрирована высокая степень биосовместимости синтезированных полимерных систем и их способность к биодеградации с замещением тканями организма

Список публикаций по теме диссертации.

1. Артюхов А.А., Голунова А.С., Пашкова Л.И., Кусков А.Н., Лесовой Д.Е., Фомина А.П., Штильман М.И. Макропористые полимерные гидрогели поливинилового спирта, содержащие аминокгруппы // Пластические массы. 2010. № 4. С. 15-21.
2. Артюхов А.А., Голунова А.С., Штильман М.И. Макропористые гидрогели сшитого поливинилового спирта, содержащие

- карбоксильные группы // Энциклопедия инженера-химика. 2011. №11. С. 13-21.
3. Суханова Т.В., Артюхов А.А., Прудченко И.А., Голунова А.С., Семенихина М.А., Штильман М.И., Марквичева Е.А. Включение и высвобождение *in vitro* дельта-сон индуцирующего пептида из полимерных гидрогелей на основе модифицированного поливинилового спирта // Биомедицинская химия. 2013. т.59 вып.1. С.65-75.
 4. Artyukhov A.A., Shtilman M.I., Kuskov A.N., Fomina A.P., Lisovyy D.E., Golunova A.S., Tsatsakis A.M. Macroporous polymeric hydrogels formed from acrylate modified polyvinyl alcohol macromers // Journal of polymer research. 2011. Vol. 18, Issue 4. P. 667-673.
 5. Sukhanova T.V., Artyukhov A.A., Prudchenko I.A., Golunova A.S., Semenikhina M. A., Shtilman M.I, Markvicheva E.A. Entrapment and In Vitro Release of Delta Sleep Inducing Peptide from Polymer Hydrogels Based on Modified Polyvinyl Alcohol // Biochemistry Supplement Series B: Biomedical Chemistry. 2012. Vol. 6, Issue 2. P. 151–157.
 6. Голунова А.С., Артюхов А.А., Фомина А.П., Штильман М.И. Пористые полимерные гидрогели на основе поливинилового спирта и его производных, содержащих заряженные группы // Успехи в химии и химической технологии.- М.: РХТУ им. Д.И. Менделеева, 2010. Т.25. № 4. С.24-32.
 7. Сидорова А.С., Голунова А.С., Артюхов А.А., Штильман М.И. Сорбция белка на поверхности макропористых полимерных гидрогелей на основе модифицированного поливинилового спирта // Успехи в химии и химической технологии: сб. науч. тр. – М.: РХТУ им. Д.И. Менделеева, 2012. Том XXVI, № 1 (130). С. 88-93.
 8. Дроздова М.Г., Акасов Р.А., Зайцева-Зотова Д.С., Голунова А.С., Артюхов А.А., Прудченко И.А., Штильман М.И., Марквичева Е.А. Криогели на основе модифицированного поливинилового спирта для

тканевой инженерии // Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю. А. Обчинникова. 2011. Том 7, № 4. С. 27-28.

9. Дроздова М.Г., Акасов Р.А., Зайцева-Зотова Д.С., Голунова А.С., Артюхов А.А., Прудченко И.А., Штильман М.И., Марквичева Е.А. Криогели на основе модифицированного поливинилового спирта как биоматериалы для регенеративной медицины // Нанобиоматериалы: современные достижения и токсикологические вопросы безопасности: сб. докладов международной научной конференции.- М.:НП «Центр развития современных образовательных технологий». 2011. С. 25-26.
10. Drozdova M., Zaytseva-Zotova D., Akasov R., Golunova A., Semenikhina M., Artyukhov A., Andreeva E., Shtilman M., Markvicheva E. Macroporous scaffolds based on modified poly(vinyl alcohol) for tissue engineering: cytotoxicity study // Biomaterials and Bionanomaterials: Recent Advances Safety and Toxicology Issues.- Crete-Greece, Heraklion.- 5-12 May.- 2011.-P.24.
11. Golunova A.S., Zaytseva-Zotova D.S., Semenikhina M.A., Drozdova M.G., Akasov R.A., Artyukhov A.A., Markvicheva E.A., Shtilman M.I. Macroporous polymer hydrogel matrices tailored for cell growth promotion // Biomaterials and Bionanomaterials: Recent Advances Safety and Toxicology Issues», Crete-Greece, Heraklion.- 5-12 May.- 2011.- P.32.
12. Drozdova M., Zaytseva-Zotova D., Tsoy A., Akasov R., Prudchenko I., Golunova A., Artyukhov A., Shtilman M., Grandfils Ch., Markvicheva E.. Entrapment of PDLLA microbeads loaded with TRAP-6 within modified macroporous PVA hydrogel for tissue engineering // XIX International Conference on Bioencapsulation.- Amboise, France.- 5-8 October.- 2011.- p.512.
13. Drozdova M., Zaytseva-Zotova D., Akasov R., Golunova A., Semenikhina M., Artyukhov A., Andreeva E., Shtilman M., Markvicheva E. Macroporous scaffolds based on modified poly(vinyl alcohol) for tissue engineering: cytotoxicity study. Нанобиоматериалы: современные достижения и токсикологические вопросы безопасности: сб. докладов

международной научной конференции.- М.:НП «Центр развития современных образовательных технологий».- 2011.-С. 88-89.

14. Artvukhov A.A., Lesovoy D.E., Golunova A.S., Shtilman M. I. Crosslinked macroporous hydrogel of polyvinyl alcohol for medicine // Bionanotox 2012 «Biomaterials and Bionanomaterials: Recent Advances Safety and Toxicology Issues». 3rd Russian-Hellenic Symposium with International Participation and Young Scientists School.- Crete-Greece, Heraklion, 2012.- P. 38.
15. Golunova A.S., Zaytseva-Zotova D.S., Drozdova M.G., Akasov R.A., Artyukhov A.A., Markvicheva E.A., Shtilman M.I. Macroporous polymer hydrogels with charged surface for the cell cultivating / Bionanotox 2012 «Biomaterials and Bionanomaterials: Recent Advances Safety and Toxicology Issues». 3rd Russian-Hellenic Symposium with International Participation and Young Scientists School.- Crete-Greece, Heraklion, 2012.- P. 52.

Автор выражает искреннюю благодарность

профессору Марквичевой Е.А., Зайцевой-Зотовой Д.С., Акасову Р.А., Дроздовой М.Г. и всем сотрудникам лаборатории полимеров для биологии Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН (ИБХ) за помощь в проведении исследований по культивации клеток, обработке и обсуждению экспериментальных результатов, а также Лесовому Д.Е. и профессору П.И. Кризине за помощь в проведении исследований по имплантации и биодegradации синтезированных гидрогелей, обработке и обсуждению экспериментальных результатов.