

УДК 611.018.4.57.085.23

Модификация поверхностных свойств материалов путем нанесения многослойных покрытий для их применения в ортопедии

О.Е. Вырва¹, А.В. Зыкова², В.И. Сафонов², С.В. Малышкина¹, В.В. Лукьянченко⁵, Я. Валкович³, Р. Роговская³, С.М. Яковин⁴

¹ ГУ «Институт патологии позвоночника и суставов им. проф. М.И. Ситенко АМН Украины», Харьков

² Институт инженерии поверхности, Харьков. Украина

³ Institute for Sustainable Technologies, Национальный научно-исследовательский центр, Радом. Польша

⁴ Факультет физических технологий Харьковского национального университета. Украина

⁵ ООО «Инмайстерс», Харьков. Украина

The article analyses studies of surface parameters of different multiple coatings, such as: TiN, CrN, (Ti,Cr)N, TiN/TiC10N90, TiN/TiC20N80, which are applied by the arc method (Arc-PVD) on stainless steel samples (1H18N9), and the same coatings with an additional oxide layer Al₂O₃, which are deposited by the method of reactive magnetron sputtering (RMS method). A comparative analysis of the thickness, roughness and structural characteristics of surfaces was carried on. Other parameters, such as surface wettability (water receptivity / water repellency), surface free energy (SFE) and fractional polarity, were determined by methods of Wu, Owens-Wendt-Rabel-Kaelble, Van Oss and Fowkes. In order to make a further conclusion about an effect of the above factors on biological objects, in vitro experiments were carried out for studying relationships between cell structures and the material in fibroblast cultures. The results show some correlation between the surface properties of the materials and adhesion and proliferation of the cell cultures. Better biological parameters of the response (the total number of cells, proliferation, morphology of cells) were received in case of coatings with higher values of the polar components of SFE and fractional polarity.

У роботі проведено дослідження поверхневих параметрів різного багатошарового покриття: TiN, CrN, (Ti,Cr)N, TiN/TiC10N90, TiN/TiC20N80, яке наносили дуговим методом (Arc-PVD) на зразки з неіржавкої сталі (1H18N9), і покриття з додатковим оксидним шаром Al₂O₃, осаджених методом реактивного магнетронного розпилення (Reactive Magnetron Sputtering (RMS) method). Було проведено порівняльний аналіз товщини, шорсткості, структурних характеристик поверхні. Інші параметри, такі як змочувальність (гідрофільність/гідрофобність) поверхні, поверхнева вільна енергія (surface free energy, SFE) і фракційна полярність, було визначено методами Wu, Owens – Wendt – Rabel – Kaelble, Van Oss та Fowkes. Для подальшого висновку щодо впливу цих факторів на біологічні об'єкти було виконано експерименти in vitro з дослідження взаємодії між клітинними структурами та матеріалом у культурі фібробластів. Результати показують деяку кореляцію між поверхневими властивостями матеріалів та адгезією і проліферацією клітинних культур. Найкращі біологічні параметри відгуку (загальна кількість клітин, проліферація, морфологія клітин) було отримано у випадку покриття з великими значеннями полярних компонентів поверхневої енергії SFE та фракційної полярності.

Ключевые слова: покрытия биоматериалов, поверхностные параметры, клеточные реакции

Введение

Большинство биоматериалов, используемых в производстве коронарных стентов, ортопедических и дентальных эндопротезов, являются чистыми металлами или их сплавами. Путь к решению

проблемы усовершенствования металлических имплантатов — нанесение многофункциональных покрытий на их рабочих частях. Оксидные и нитридные многослойные покрытия широко используются в ортопедии и зубной технике благодаря их

высокой твердости, износо- и коррозионной стойкости [1, 2]. Биологическая совместимость этих биоматериалов всегда тестируется перед клиническим применением. Важный критерий пригодности биоматериалов, находящихся в прямом контакте с тканями организма, — физико-химическая реактивность поверхности. Исследования *in vitro* адгезии клеток на поверхностях различных материалов и покрытий — базовые фундаментальные методы для определения реакции (отклика) биологических систем на применение биоматериалов на клеточном уровне [3, 4]. Эффекты воздействия состава материалов, поверхностной химии и поверхностной топографии на адгезию, пролиферацию и дифференциацию клеточных культур в значительной степени изучены [5]. Шероховатость поверхности материалов также существенно влияет на клеточную адгезию и морфологию [6]. Адгезия обычно увеличивается на шероховатых поверхностях по сравнению с полированными, но иногда никакого эффекта не наблюдалось вообще [7]. Поверхностная энергия — также фундаментальная характеристика поверхностных свойств материалов, которая может существенно влиять на поведение клеток [8].

Целью настоящего исследования был сравнительный анализ поверхностных параметров различных многослойных покрытий и их влияния на процессы адгезии, пролиферации, дифференциации клеток в процессе их культивирования *in vitro*.

Материал и методы

Образцы для нанесения покрытий были изготовлены из нержавеющей стали 1H18N9. Подложки были очищены ультразвуковым методом по стандартной технологии. Покрытия TiN, CrN, (Ti,Cr)N, TiN/TiC₁₀N₉₀, TiN/TiC₂₀N₈₀ были нанесены дуговым методом Arc-PVD. Главные параметры процесса были описаны в нашем предыдущем исследовании [9]: реактивный газ — N₂, рабочее давление — 8Ч10⁻² Pa, ток дуги — 100 А, напряжение смешения — 150 В, температура осаждения — 593 К, толщина наносимых покрытий 2–5 мкм. Нанесение покрытий Al₂O₃ методом реактивного магнетронного распыления (RMS) было выполнено в высоковакуумной системе при рабочем давлении порядка 10⁻⁵ mBar. Базовые параметры процесса: мощность магнетрона 1–8 кВт, мощность источника кислорода — 1 кВт, скорость осаждения — 8 мм/час [10]. Топография поверхности, структура и морфология клеток были исследованы методами оптической, сканирующей электронной микроскопии (SEM, S-450, “Hitachi”, Japan) и методом атомной си-

Таблица 1. Параметры шероховатости и толщины покрытий

Покрытие	Параметры шероховатости (µm)			Толщина (µm)
	R _a	R _t	R _z	
(TiCr)N	0,140	3,000	1,370	1,50
(TiCr)N/Al ₂ O ₃	0,111	1,723	0,903	3,70
CrN	0,060	1,153	0,533	1,45
CrN/ Al ₂ O ₃	0,053	1,263	0,473	3,40
TiN	0,097	2,300	0,853	1,80
TiN/ Al ₂ O ₃	0,250	4,043	1,660	3,90
TiN/TiC ₁₀ N ₉₀	0,063	1,837	0,460	1,50
TiN/TiC ₁₀ N ₉₀ /Al ₂ O ₃	0,150	2,550	1,263	3,50
TiN/TiC ₂₀ N ₈₀	0,180	4,343	1,783	1,57
Steel 1H18N9	0,040	0,890	0,237	

ловой микроскопии (AFM Q-Scope-250, Quesant Instrument Corporation, USA).

Поверхностная шероховатость была измерена посредством profilometer Hommel T-2000. Параметры шероховатости и толщины исследованных покрытий представлены в табл. 1.

Контактные углы были измерены методом тензиометрии (tensiometric). Предварительно образцы были ультразвуково очищены в ацетоне, деионизированной воде и высушены. Контактные углы поверхностей по отношению к воде были измерены методом Вилхелма (Wilhelm’s method, Kruss K12) при температуре 20°C [10]. Использованы стандартные жидкости с известными величинами поверхностного натяжения, компонентами дисперсионного и полярного взаимодействия, такие как вода (water), формамид (formamide), диодометан (diiodo methane), этиленгликоль (ethylene glycol), α-бромонафталин (α-bromo naphthalene) и глицерин (glycerol). Поверхностная свободная энергия (SFE) и ее полярные и дисперсионные компоненты были определены методами Wu [11] и Owens – Wendt – Rabel – Kaelble [12].

Одним из важных факторов в процессе имплантации является взаимодействие между соединительной тканью и материалом протеза. Главный структурный элемент соединительной ткани — клетки фибробластов. В работе были проведены исследования цитотоксичности и цитосовместимости *in vitro* — в культуре дермальных фибробластов крыс для изучения клеточной реакции на покрытия различного состава. Цитотоксичность биоматериалов должна быть предварительно протестирована перед экспериментами на животных для исключения наиболее вредных цитотоксичных материалов и сведения к минимуму количества животных и испытаний *in vivo*. Для исследования в культуре клеток образцы были стерилизованы в автоклаве при температуре 134°C в течение 10 мин. Для

культивирования были выделены фибробласты из подкожно-жировой клетчатки одномесячных белых лабораторных крыс линии Вистар. Образцы были размещены в стерильных чашках Петри (диаметром 35 мм) на покровные стекла (25×25 мм). Фибробласты в количестве 3×10^5 клеток в 1 мл среды были культивированы в 3 мл питательной среды Dulbecco Modified Eagle's Medium (DMEM, Sigma), содержащей 10 % эмбриональной телячьей сыворотки, 80 U/мл пенициллина, 100 мг/мл стрептомицина, в атмосфере с 5 % CO₂ при 37°C в течение 5 дней. В контроле клетки культивировали на стеклах без образцов.

После культивирования клетки на стеклах были фиксированы в растворе ледяной уксусной кислоты и метилового спирта в соотношении 1:3 и окрашены азур-эозином по Романовскому. Количество клеток определяли в 5 полях зрения микроскопа при увеличении об. 40, ок. 10 микроскопа "Micros". Клетки на исследуемых образцах были промыты какодилатным буфером (pH 7,2) и фиксированы в течение 2 часов в 2,5 % растворе глутаральдегида на 0,1 М какодилатном буфере. Затем образцы были фиксированы в 1 % растворе OsO₄ в течение одного часа, промыты буфером, дегидратированы в спиртах возрастающей крепости. Клеточная морфология на различных образцах с покрытиями была исследована методами SEM и AFM.

Оценка поверхностной свободной энергии (SFE)

Уравнение Янга — фундаментальное соотношение между углом контакта, поверхностным натяжением жидкостей, твердых тел и межфазной поверхностной энергией жидкость – твердое тело. Вычисление поверхностной свободной энергии твердого тела в зависимости от контактного угла (угла смачивания) основано на условии баланса поверхностной энергии:

$$\gamma_s = \gamma_l \cos \theta + \gamma_{sl} \quad (1)$$

где γ_{sl} — межфазное поверхностное натяжение между жидкостью и твердым телом (граничная свободная энергия), γ_s — поверхностное натяжение твердого тела, γ_l — поверхностное натяжение жидкости.

Уравнение имеет две измеряемые величины — поверхностное натяжение жидкостей и углы контакта, а также две неизвестных величины γ_{sl} и γ_s . В термодинамике работа по разделению поверхностей твердой и жидкой фаз равна энергии адгезии W_a (2), и после замены в уравнении Янга (1) мы получаем уравнение Янга-Дюпре (3):

$$W_a = \gamma_l + \gamma_s - \gamma_{sl} \quad (2)$$

$$W_a = \gamma_l (1 + \cos \theta) \quad (3)$$

Согласно Wu [11] поверхностная межфазная энергия — сумма гармонических значений дисперсионных и полярных компонентов взаимодействия, умноженная на 4. Полная поверхностная свободная энергия SFE твердого тела и жидкости определяется как сумма дисперсионного и полярного взаимодействия.

$$\gamma_s = \gamma_s^d + \gamma_s^p \quad (4)$$

$$\gamma_l = \gamma_l^d + \gamma_l^p \quad (5)$$

$$\gamma_{ls} = \gamma_l + \gamma_s - \frac{4\gamma_l^d \gamma_s^d}{\gamma_l^d + \gamma_s^d} - \left(\gamma_l^p \gamma_s^p \right)^{\frac{1}{2}} \quad (6)$$

где γ_l^d и γ_s^d — часть SFE, связанная с дисперсионным взаимодействием (компонент дисперсии), γ_l^p и γ_s^p — часть SFE, связанная с полярным взаимодействием (полярный компонент). Метод Wu может использоваться для оценки свободной поверхностной энергии путем измерения угла контакта двух жидкостей.

Геометрический подход, который позволяет объединить дисперсионные и полярные компоненты, использовали для вычисления SFE методом Owens-Wendt-Kaelble [12]. Модель базируется на условии, что полная SFE — сумма дисперсионных и полярных компонентов. Межфазная свободная энергия — сумма геометрических значений дисперсионных и полярных вкладов, умноженных на фактор 2.

$$\gamma_{ls} = \gamma_l + \gamma_s - 2\left(\gamma_l^d \gamma_s^d\right)^{\frac{1}{2}} - 2\left(\gamma_l^p \gamma_s^p\right)^{\frac{1}{2}} \quad (7)$$

Вычисления поверхностной свободной энергии, ее полярных и дисперсионных компонентов были проведены методом Wu для систем двух жидкостей и методом Owens – Wendt – Rabel – Kaelble для системы жидкостей: б-bromonaphthalene-formamide-ethyleneglycol-diiodomethane-glycerol-water в зависимости от измерений контактного угла при 20°C.

Водные контактные углы образцов составляли 60–70 градусов в стандартных условиях, поверхностная энергия изменялась в диапазоне энергий от 40–50 mN/m в зависимости от свойств материала и состояния поверхности (табл. 2). Полярная часть SFE и фракционная полярность менялись в диапазоне от 3,9–4,7 (0,086–0,107) для (TiCr) N и TiN/TiC₂₀N₈₀ до 7,0–8,2 (0,152–0,17) для TiN, TiN/TiC₁₀N₉₀ и 9,9 (0,24) для оксидных покрытий.

Цитотоксичность и адгезия клеток *in vitro*

На рис. 1 представлены исследованные методом оптической микроскопии клетки фибробласти-

Таблица 2. Величины полной поверхностной свободной энергии, ее дисперсионные и полярные компоненты, фракционная полярность

Покрытие	Компоненты поверхностной свободной энергии [mN/m]			
	Дисперсионный компонент γ^d	Полярный компонент γ^p	Total γ	Фракционная полярность $\gamma/(\gamma^d + \gamma^p)$
(TiCr)N	41,2	3,9	45,1	0,086
(TiCr)N/Al ₂ O ₃	33,0	9,1	42,1	0,22
CrN	38,6	4,0	42,6	0,093
CrN/ Al ₂ O ₃	30,8	7,7	38,5	0,2
TiN	39,0	7,0	46,0	0,152
TiN/ Al ₂ O ₃	34,8	9,9	44,7	0,22
TiN/TiC ₁₀ N ₉₀	39,7	8,2	47,9	0,17
TiN/TiC ₁₀ N ₉₀ /Al ₂ O ₃	31,6	9,9	41,5	0,24
TiN/TiC ₂₀ N ₈₀	39,2	4,7	43,9	0,107
TiN/TiC ₂₀ N ₈₀ / Al ₂ O ₃	33,2	7,1	40,3	0,18

ческого дифферона на стеклах вблизи образцов с различными материалами покрытий TiN, TiN/TiC₁₀N₉₀, TiN/TiC₂₀N₈₀ после 5 дней культивации. После культивирования клетки на стеклах были фиксированы в растворе ледяной уксусной кислоты и метилового спирта в соотношении 1:3 и окрашены азур-эозином по Романовскому. Количество клеток определяли в 5 полях зрения микроскопа при увеличении об. 40, ок. 10 микроскопа "Micros".

При изучении в культуре клеток цитотоксичности исследуемых образцов было установлено, что на стеклах располагались пласты продолговатых клеток с длинными отростками цитоплазмы. Клетки занимали большую часть стекла, образуя местами вихреватые скопления большой плотности. Очертания клеток были четкие. Преобладали клетки с небольшим ободком цитоплазмы. Ядра клеток были крупные базофильные, чаще округлой или овальной формы, с гипохромным хроматином. В ядрах клеток выявлялись 1–2 плотных ядрышка. Местами определялись более мелкие длинные клетки с узким ободком цитоплазмы и тонкими длинными отростками. Ядра таких клеток были небольшими и плотными. Цитологические особенности клеток свидетельствуют об их фибробластическом фенотипе и различной зрелости.

В участках с меньшей плотностью клеток отмечены фибробласты с фигурами митоза (профаза, метафаза, анафаза и телофаза), что указывает на активный процесс пролиферации. Кое-где выявлялись клетки с пикнотичным ядром и вакуолизированной цитоплазмой.

Анализ клеточных культур с образцами TiN/TiC₂₀N₈₀ выявил некоторые отличия в структуре клеток. Особенностью данных культур было наличие голоядерных клеток. Они встречались по всему стеклу небольшими скоплениями. Наличие таких клеток могло быть следствием негативного влияния состава исследуемого покрытия на клетки. На рис. 2 и 3 представлены культивируемые клетки на стеклах с исследуемыми покрытиями — TiN, TiN/TiC₁₀N₉₀ и TiN/TiC₂₀N₈₀.

Были обнаружены различия в морфологии клеток, их адгезии и пролиферации на различных поверхностях покрытий. Среднее значение числа клеток на единицу поверхности варьировало от контроля (n = 78), возрастало в случае TiN (n = 93), TiN/TiC₁₀N₉₀ (n = 85), оксидных покрытий (n = 82) и уменьшалось до CrN (n = 60), (TiCr)N (n = 75) и TiN/TiC₂₀N₈₀ (n = 50). Число клеток на поверхности покрытий TiN было выше, чем аналогичное в контроле, и среднее число клеток на покрытии TiN/TiC₂₀N₈₀ было наименьшим.

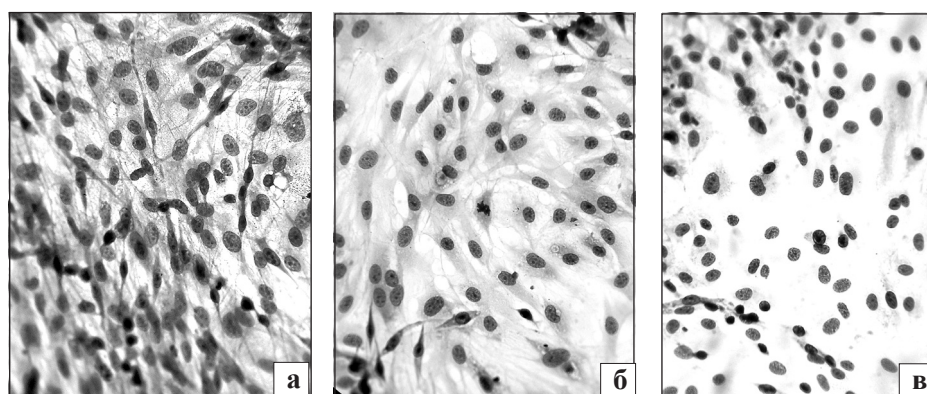


Рис. 1. Клетки фибробластического дифферона на стеклах вблизи образцов с различными материалами покрытий после культивирования в течение 5 дней: а) TiN, б) TiN/TiC₁₀N₉₀, в) TiN/TiC₂₀N₈₀

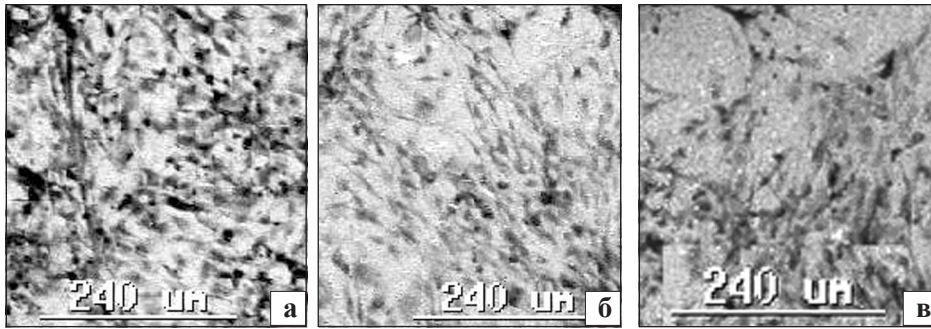


Рис. 2. Морфология клеток SEM после 5 дней культивирования: а) TiN, б) TiN/TiC₁₀N₉₀, в) TiN/TiC₂₀N₈₀

Результаты и их обсуждение

В предыдущих исследованиях проанализировано влияние поверхностной энергии на функции клеточных структур, такие как адгезия, пролиферация и дифференциация. В одних случаях функции клеточных структур увеличиваются на гидрофильных поверхностях, в других на гидрофобных. Среднее значение области заполнения клеток после 24 часов культивации имеет максимум при контактном водном угле 60° [13]. В нашем исследовании значения водных контактных углов были измерены в диапазоне $60\text{--}70^\circ$, и значения SFE находились в диапазоне $40\text{--}50$ mN/m. Это промежуточная область между гидрофобными и гидрофильными поверхностями. Аналогичное поведение клеток на различных многослойных и оксидных поверхностях покрытий с близкими параметрами шероховатости (табл. 1) может объяснить факт промежуточных значений поверхностной энергии SFE для таких типов покрытия. Более детальное исследование воздействия поверхностной свободной энергии на распространение и дифференциацию клеток требует учета дисперсионных и полярных компонент-величины свободной поверхностной энергии и фракционной полярности [14]. Полярная часть SFE и фракционная полярность изменяются от $3,9\text{--}4,7$ ($0,086\text{--}0,107$) для (TiCr)N и TiN/TiC₂₀N₈₀ до $7,0\text{--}8,2$ ($0,152\text{--}0,17$) для TiN, TiN/TiC₁₀N₉₀ и $9,9$ ($0,24$) для оксидных покрытий (табл. 2). Фибробласты были хорошо распространены на контроле и покрытых поверхностях. Морфология фибробластического дифферона была типична для клеток

на поверхности для всех типов покрытия, кроме TiN/TiC₂₀N₈₀. Были обнаружены различия в цитотоксичности, адгезии и дифференциации клеток на различных поверхностях покрытий (рис. 1–3). Среднее число клеток на единицу поверхности отличалось от значения в контроле ($n = 78$), число клеток увеличилось для TiN ($n = 93$), TiN/TiC₁₀N₉₀ ($n = 85$) для оксидных покрытий ($n = 82$), уменьшалось до CrN ($n = 60$), (TiCr)N ($n = 75$) и TiN/TiC₂₀N₈₀ ($n = 50$). Число клеток на поверхности TiN было наибольшим по сравнению с числом клеток в контроле, тогда как число клеток для покрытий TiN/TiC₂₀N₈₀ было самым низким.

Заключение

Первоначальное поведение клетки на поверхности биоматериала будет в значительной степени определять все дальнейшие процессы дифференциации, пролиферации и формирования межклеточного матрикса. Поверхностная топография, шероховатость, структура, химический и фазовый состав — главные факторы, которые регулируют рост клеток и их функции. В работе был проведен сравнительный анализ адгезии клеток на поверхности образцов с многослойными покрытиями и исследование влияния поверхностных параметров на процесс взаимодействия материала с клеточными структурами в экспериментах *in vitro*. Результаты анализа показали некоторую корреляцию между поверхностными свойствами материалов и адгезией клеток. Лучшие биологические параметры реакции (отклика) клеточных структур

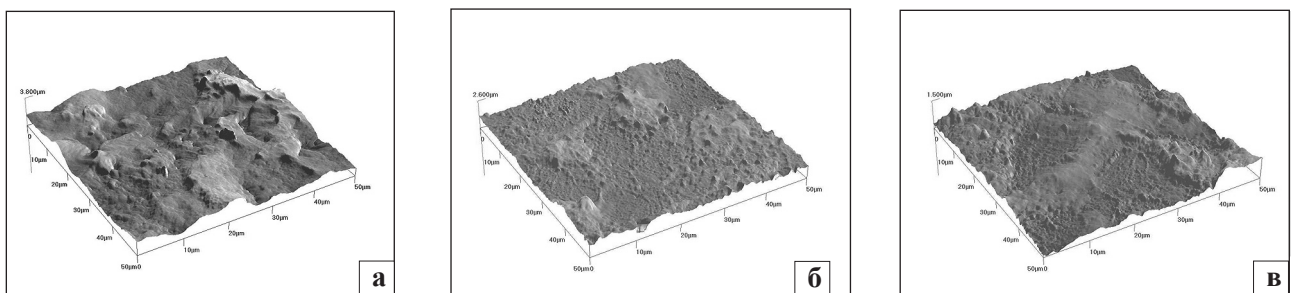


Рис. 3. Морфология клеток AFM после 5 дней культивирования: а) TiN, б) TiN/TiC₁₀N₉₀, в) TiN/TiC₂₀N₈₀

(среднее число клеток, пролиферативная активность, морфология клеток) наблюдались в случае покрытий с наибольшими значениями параметров полярного компонента свободной поверхностной энергии SFE и фракционной полярности, таких как TiN, TiN/TiC₁₀N₉₀ и оксидных покрытий. Большая поверхностная шероховатость, более высокая поверхностная энергия и фракционная полярность приводят к улучшенной адгезии фибробластов, возрастанию клеточной активности и скорости пролиферации клеток на поверхности биоматериала [15].

Литература

1. Mandl S. Improvement the biocompatibility of medical implants with plasma immersion ion implantation [Text] / S. Mandl, B. Rauchenbach // J. Surface&Coating Technology. — 2002. — Vol. 156. — P. 583–589.
2. S180 cell growth on low energy plasma treated TiO₂ thin films [Text] / M. Dhayal, S.I. Cho, J.Y. Moon et al. // J. Applied Surface Sci.— 2008. — Vol. 254. — P. 3331–3338.
3. Basic reactions of osteoblasts on structured material surface [Text] / U. Meyer, A. Bushter, H.P. Wiesmann et al. // J. Eur. Cells Mater. — 2005. — Vol. 9. — P. 39–49.
4. Anselme K. Osteoblast adhesion on biomaterials [Text] / K. Anselme // Biomaterials. — 2000. — Vol. 21. — P. 667–681.
5. Attachment and proliferation of osteoblasts and fibroblasts on biomaterial for orthopedic use [Text] / A. Hunter, C.W. Archer, P.S. Walker, G.W. Blunn // Biomaterials. — 1995. — Vol. 16. — P. 287–295.
6. Responce of MG63osteoblast-like cells to titanium and titanium alloy is depend on surface roughness and composition [Text] / J.Links, B.D. Boyan, C.R. Blanchard et al. // Biomaterials. — 1998. — Vol. 19. — P. 2219–2232.
7. Response of rat bone marrow cells to commercially pure titanium submitted to different surface treatments [Text] / S.P. Xavier, P.S.P. Carvalho, M.M. Beloti, A.L. Rosa // J. Dent. — 2003. — Vol. 31. — P. 173–180.
8. Interactions of fibroblast and polymer surfaces, relation between surface free energy and fibroblast spreading [Text] / P. Van der Valk, A.W.J. van Pelt, H.J. Busscher, H.P.J. de Long // Biomed. Mater. Res. — 1983. — Vol. 17. — P. 807–817.
9. Zykova A.V. The corrosion properties of implanted materials with protective coatings in isotonic physiological solution [Text] / A.V. Zykova, V.V. Luk'yanchenko, V.I. Safonov // J. Surface&Coating Technology. — 2005. — Vol. 200. — P. 90–93.
10. The influence of surface parameters of coatings deposited by various vacuum-plasma methods on the cell/material interaction in vitro tests [Text] / A. Zykova, V. Safonov, V. Luk'yanchenko et al. // Problems of Atomic Science and Technology Series: Plasma Physics. — 2007. — Vol. 13. — P. 200–202.
11. The influence of deposition technological process parameters on surface properties of multilayer coatings [Text] / A. Zykova, V. Safonov, J. Walkowicz et al. // Problems of Atomic Science and Technology Series: Plasma Physics. — 2009. — Vol. 15. — P. 159–161.
12. Multifunctional ToF-SIMS combinatorial mapping of gradient energy substrates [Text] / S.V. Roberson, A.J. Fahey, A. Sehgal, A. Karim // J. Applied Surface Sci. — 2002. — Vol. 200. — P. 150–164.
13. Combinatorial screen of effect of surface energy on fibronectin mediated osteoblast adhesion, spreading and proliferation [Text] / S.B. Kennedy, R.N. Washburn, C.G. Simon, E.J. Amis // Biomaterials. — 2006. — Vol. 27. — P. 3817–3824.
14. Evolution of metallic and polymeric surface energy and surface roughness characteristics for directed cell adhesion [Text] / N.J. Hallab, K.J. Bundy, K.J. O'Connor et al. // Tissue Engineering. — 2001. — Vol. 7. — P. 55–71.
15. Surface parameters modification by multilayer coating deposition for biomedical applications [Text] / A. Zykova, V. Safonov, O. Vyrva et al. // Journal of Physics Conference Series. — 2008. — Vol. 113. — P. 012–029.

Статья поступила в редакцию 23.06.2009 г.