

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ  
СУМСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

Кваліфікаційна наукова праця  
на правах рукопису

Дєдкова Катерина Андріївна

УДК: 616-71:616.127-089.844(043.3)

**ДИСЕРТАЦІЯ**

**РЕГЕНЕРАЦІЯ МІОКАРДУ ПРИ ЗАСТОСУВАННІ НОВИХ  
МХЕНЕ-ВМІСНИХ ЕЛЕКТРОПРОВІДНИХ ПОЛІМЕРНИХ  
СКАФОЛДІВ, ОТРИМАНИХ МЕТОДОМ ЕЛЕКТРОПРЯДІННЯ**

222 – Медицина

22 – Охорона здоров'я

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії.

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,  
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

\_\_\_\_\_ К. А. Дєдкова

Наукові керівники:

**-Погорєлов Максим Володимирович**, доктор медичних  
наук, професор;

**-Гогоці Юрій Георгійович**, доктор технічних наук,  
професор

Суми – 2023

## АНОТАЦІЯ

*Дедкова К.А.* Регенерація міокарду при застосуванні нових МХене-вмісних електропровідних полімерних скафолдів, отриманих методом електропрядіння – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 222 «Медицина». – Навчально-науковий медичний інститут, Сумський державний університет, Суми, 2023.

Серцево-судинні захворювання, в тому числі ішемічна хвороба серця (ІХС), є глобальною проблемою охорони здоров'я. Гостра ішемічна хвороба серця, в тому числі інфаркт міокарду (ІМ) є провідними причинами смерті серед працездатного населення. Однією з найпоширеніших причин інфаркту міокарда є оклюзія кровоносних судин серця, що за умов відсутності вчасного відновлення кровотоку призводить до некрозу кардіоміоцитів та утворення непровідної фіброзної рубцевої тканини. В даному випадку існуючі методи медикаментозного лікування ( $\beta$ -адреноблокатори, статини, блокатори кальцієвих каналів, антагоністи P2Y<sub>12</sub>-рецепторів АДФ прямої дії, антиаритмічні, антикоагулянти та ін.) та хірургічного лікування (черезшкірне коронарне втручання, аортокоронарне шунтування, трансміокардіальна реваскуляризація, імплантовані кардіовертери-дефібрилятори, серцева ресинхронізаційна терапія та ін.) в першу чергу пропонують симптоматичне полегшення, в той час як серцева тканинна інженерія може запропонувати шляхи регенерації пошкодженого серцевого м'яза.

Тривимірні скафолди для тканинної інженерії є ключом до успіху створення тканинних еквівалентів. При цьому, окрім стандартних вимог до скафолдів, як то біосумісність, пористість та швидкість біодеградації, матеріали для регенерації серця мають забезпечувати електропровідність для проведення нервових імпульсів.

Серед численних підходів, запропонованих для регенерації серцевого м'яза, використання електропровідних серцевих пластирів є одним з найбільш

перспективних. Для створення кардіальних пластирів використовують електропровідні полімери, як органічні, так і синтетичні, насамперед: колаген, хітозан, фібрин, поліпірол, полі (вініловий) спирт, полі (L-лактидгліколід), полі(молочно-ко-гліколева кислота), полі (L-молочна кислота) та інші. Проте швидка деградація органічних полімерів та цитотоксичність вищеперелічених синтетичних полімерів обмежує їх застосування в тканинній інженерії. Найперспективнішим полімером для створення серцевого пластиря є полікапролактон (PCL) завдяки простоті виготовлення, прогнозуючої біодеградації та біосумісності. Для забезпечення електропровідності скафолдів ми пропонуємо використання нових двовимірних наноламінатів – MXene, які здатні забезпечити проведення нервових імпульсів, збільшити гідрофільність мембрани та підвищити її біосумісність.

Зважаючи на відсутність даних про можливість використання PCL-MXene пористих композитних матеріалів, дисертація присвячена розробленню технології створення тривимірних електропровідних полімерних скафолдів для регенерації тканин серця, вивченню їх структури, фізико-хімічних властивостей та біосумісності.

У дослідженні використовували метод електропрядіння для отримання високопористих та нановолокнистих мембран на основі біосумісного, біодеградаючого, механічно стабільного синтетичного полімеру – полікапролактону. Основна особливість використання методу електропрядіння це отримання тривимірних мембран з рандомно орієнтованими нановолокнами, що створює подібність до структури позаклітинного матриксу. Отримані мембрани мали розподіл товщини волокон від менше 0,5 мкм до 2 мкм та розмір пор в діапазоні від 1 до 4 мкм<sup>2</sup>.

Для забезпечення гідрофільності мембран з метою полегшення імпрегнації MXene ми порівнювали три найпоширеніших метода обробки PCL-мембрани (сірчана кислота, гідроксид натрію та киснева плазма). Всі зазначені методи дозволили значно підвищити гідрофільні властивості мембран, необхідні для іммобілізації двовимірних наноматеріалів, проте

кислотна та лужна обробка призвели до збільшення товщини волокон та зменшення пористості мембран, що може негативно вплинути на проліферацію клітин у товщі скафолду. Обробка кисневою плазмою дозволила збільшити пористість за рахунок зменшення кількості волокон нанометрового діаметру.

Зменшення контактного кута поверхні PCL мембрани з  $130 \pm 3^\circ$  до менше ніж  $80^\circ$  після хімічної обробки та майже до  $0^\circ$  після використання кисневої плазми дозволило використати метод deep coating для іммобілізації  $Ti_3C_2T_x$  MXene. Даний метод забезпечив рівномірний розподіл 2Д наноматеріалів по площі та глибині мембрани, що мало забезпечити відповідну електропровідність. Метод енергодисперсійної спектроскопії дозволив визначити наявність титану в атомній концентрації від 2,42% до 5,79%, що свідчить про наявність MXene на поверхні матеріалу. Додаткова обробка мембрани кисневою плазмою з метою зменшення контактного кута поверхні достовірно не вплинула на вміст титану на поверхні мембрани.

Використання методів трансмісійної електронної мікроскопії (TEM) при малому збільшенні та висококутові кільцеві зображення в темному полі (HAADF) сканувальної трансмісійної електронної мікроскопії (STEM), а також протонної анігіляції дозволило з'ясувати наявність зв'язків між волокнами мембрани (PCL) та MXene. Зазначені данні свідчать про формування композитного матеріалу з високою стабільністю. Сканувальна електронна мікроскопія (SEM) поперечного перетину мембран свідчить про нерівномірне розташування MXene по профілю матеріалу і його penetрацію лише на 25-30% щодо товщі мембрани.

Імпрегнація MXene в товщу PCL мембрани дозволила зменшити контактний кут поверхні до  $81 - 92^\circ$ , при цьому зі збільшенням кількості шарів MXene гідрофільність матеріалу зменшується, що може свідчити про формування агломератів двовимірних наноматеріалів на поверхні мембрани. Додаткова обробка кисневою плазмою дозволяє при цьому створити гідрофільну поверхню матеріалу з контактним кутом близько  $0^\circ$ . Висока

гідрофільність поверхні має забезпечити адсорбцію білків після контакту з кров'ю під час імплантації, що створюватиме сприятливі умови для адгезії клітин.

Вивчення швидкості деградації та водопоглинання тривимірних конструкцій PCL-MXene в статичних та динамічних умовах показав, що додаткова обробка кисневою плазмою чистих мембран та з нанесеними двовимірними наноламінатами MXene прискорює швидкість деградації разом зі збільшенням водопоглинання. У свою чергу швидкість деградації нанокомпозитів при динамічних умовах була більшою за статичну. При динамічній деградації мембран на 28 день відсоток втрати ваги становив приблизно 70%, коли при статичній становив близько 35 %.

Однією з ключових властивостей біоматеріалів для регенерації тканин серця є їх електропровідність, що має забезпечити проведення нервового імпульсу через пошкоджену ділянку. Використання чотирьохточкового методу реєстрації електропровідності дозволило встановити провідність матеріалу в діапазоні від 5.22 mS/m до 326.33 mS/m, що відповідає або перевищує параметри провідності серцевого м'яза. Значна відмінність у показниках електропровідності є наслідком рандомного розташування волокон та наноматеріалів на їх поверхні, а також наявністю різних за розміром пор.

Культивування дермальних фібробластів на поверхні матеріалів показало їх високу біосумісність та здатність підтримувати проліферацію клітин. Ми не спостерігали достовірної різниці між показниками проліферації фібробластів на матеріалах з різними видами обробки, окрім незначного зменшення кількості клітин на третю добу в групі з попередньою обробкою гідроксидом натрію. Флюорисцентна мікроскопія продемонструвала рандомне розташування клітин звичної форми вздовж волокон мембран з формуванням «симпласту».

Під час дослідження на антибактеріальні властивості нанокомпозитів PCL-MXene ми спростували твердження про наявність антибактеріальних

характеристик в матеріалах даного типу. Нанокompозити не продемонстрували виражених антибактеріальних властивостей, окрім незначного бактеріостатичного ефекту для мембран з хімічною обробкою.

Результати дослідження ілюструють, що розроблені електропровідні тривимірні полімерні скафолди мають величезні перспективи в забезпеченні структурного зміцнення пошкодженої електропровідної тканини (серцевої, нервової або м'язевої) та передачі електричних імпульсів, ефективно імітуючи основну електричну провідність.

Оскільки провідність і проліферація клітин залишаються незмінними, одноразового застосування осадження MXene з використанням нового підходу достатньо для створення замітника серцевої тканини.

**Ключові слова:** наноматеріали, MXene, полімерні мембрани, нановолокна, властивості матеріалів, регенерація тканин серця, міокард, цитотоксичність, біосумісність, культура клітин, антибактеріальні властивості.

## SUMMARY

*Diedkova K.* Myocardial regeneration using new MXene-containing electrically conductive polymer scaffolds obtained by electrospinning – Qualifying scientific work on the rights of the manuscript. Thesis for the degree of Doctor of Philosophy on a specialty 222 "Medicine". – Sumy State University, Sumy, 2023.

Cardiovascular disease, including coronary heart disease (CHD), is a global health problem. Acute ischemic heart disease, including myocardial infarction (MI), is the leading cause of death among the working-age population. One of the most common causes of myocardial infarction is occlusion of the blood vessels of the heart, which, in the absence of timely restoration of blood flow, leads to cardiomyocyte necrosis and the formation of non-conductive fibrous scar tissue. In this case, the existing methods of medical treatment ( $\beta$ -adrenergic blockers, statins, calcium channel blockers, direct-acting P2Y<sub>12</sub> ADP receptor antagonists,

antiarrhythmics, anticoagulants, etc. ) and surgical treatment (percutaneous coronary intervention, coronary artery bypass grafting, transmyocardial revascularization, implantable cardioverter-defibrillators, cardiac resynchronization therapy, etc.) primarily offer symptomatic relief, while cardiac tissue engineering may offer ways to regenerate damaged heart muscle.

Three-dimensional scaffolds for tissue engineering are key to the success of creating tissue equivalents. In addition to the standard requirements for scaffolds, such as biocompatibility, porosity, and biodegradation rate, materials for cardiac regeneration must provide electrical conductivity for nerve impulses.

Among the numerous approaches proposed for cardiac muscle regeneration, the use of electrically conductive cardiac patches is one of the most promising. Electrically conductive polymers, both organic and synthetic, are used to create cardiac patches, primarily: collagen, chitosan, fibrin, polypyrrole, poly(vinyl alcohol), poly(L-lactide glycolide), poly(lactic-co-glycolic acid), poly(L-lactic acid), and others. However, the rapid degradation of organic polymers and cytotoxicity of the above synthetic polymers limits their use in tissue engineering. The most promising polymer for creating a cardiac patch is polycaprolactone (PCL) due to its ease of manufacture, predictable biodegradation, and biocompatibility. To ensure the electrical conductivity of scaffolds, we propose the use of new two-dimensional nanolaminates - MXene, which can provide nerve impulses, increase the hydrophilicity of the membrane and improve its biocompatibility.

Taking into account the lack of data on the possibility of using PCL-MXene as porous composite materials, this thesis is devoted to the development of technology for creating three-dimensional conductive polymer scaffolds for heart tissue regeneration, studying their structure, physicochemical properties, and biocompatibility.

The electrospinning method was used to produce highly porous and nanofiber membranes based on a biocompatible, biodegradable, mechanically stable synthetic polymer, polycaprolactone. The main feature of the electrospinning method is the production of three-dimensional membranes with randomly oriented nanofibers,

which creates a similarity to the structure of the extracellular matrix. The obtained membranes had a fiber thickness distribution from less than 0.5  $\mu\text{m}$  to 2  $\mu\text{m}$  and a pore size in the range from 1 to 4  $\mu\text{m}^2$ .

To ensure the hydrophilicity of the membranes in order to facilitate MXene impregnation, we compared the three most common PCL membrane treatments (sulfuric acid, sodium hydroxide, and oxygen plasma). All of these methods significantly increased the hydrophilic properties of the membranes, which are necessary for the immobilization of two-dimensional nanomaterials, but acid and alkaline treatments led to an increase in fiber thickness and a decrease in membrane porosity, which can negatively affect cell proliferation in the scaffold thickness. Oxygen plasma treatment increased the porosity by reducing the number of nanometer-diameter fibers.

The reduction of the contact angle of the PCL membrane surface from  $130\pm 3^\circ$  to less than  $80^\circ$  after chemical treatment and to almost  $0^\circ$  after the use of oxygen plasma allowed the use of the deep coating method for the immobilization of  $\text{Ti}_3\text{C}_2\text{T}_x$  MXene. This method ensured a uniform distribution of 2D nanomaterials over the area and depth of the membrane, which was to provide appropriate electrical conductivity. The EDS method made it possible to determine the presence of titanium in an atomic concentration of 2.42% to 5.79%, indicating the presence of MXene on the surface of the material. Additional treatment of the membrane with oxygen plasma to reduce the surface contact angle did not significantly affect the titanium content on the membrane surface.

Using low-magnification transmission electron microscopy (TEM) techniques and high-angle annular dark-field (HAADF) scanning transmission electron microscopy (STEM) images, and proton annihilation techniques allowed us to determine the presence of bonds between the membrane fibers (PCL) and MXene. These data indicate the formation of a composite material with high stability. A cross-section of the membranes obtained by Scanning electron microscopy (SEM) shows an uneven distribution of MXene along the material profile and its penetration of only 25-30% relative to the membrane thickness.



The impregnation of flakes MXene in the thickness of the PCL membrane allowed to reduce the contact angle of the surface to 81 - 92°, while with an increase in the number of layers of MXene, the hydrophilicity of the material decreases, which may indicate the formation of agglomerates of two-dimensional nanomaterials on the membrane surface. Additional treatment with oxygen plasma allows to create a hydrophilic surface of the material with a contact angle of about 0°. The high hydrophilicity of the surface should ensure the adsorption of proteins after contact with blood during implantation, which will create favorable conditions for cell adhesion.

The investigation of the rate of degradation and water absorption of three-dimensional PCL-MXene structures under static and dynamic conditions showed that additional oxygen plasma treatment of pure membranes and with two-dimensional MXene nanolaminates accelerates the rate of degradation along with an increase in water absorption. In turn, the degradation rate of nanocomposites under dynamic conditions was higher than under static conditions. With dynamic degradation of the membranes on day 28, the percentage of weight loss was approximately 70%, when under static conditions it was about 35%.

One of the crucial properties of biomaterials for cardiac tissue regeneration is their electrical conductivity, which should ensure the conduction of a nerve impulse through the damaged area. Using the four-point method of recording electrical conductivity, the conductivity of the material was found to be in the range from 5.22 mS/m to 326.33 mS/m, which corresponds to or exceeds the conductivity parameters of the heart muscle. The significant difference in conductivity is a result of the random arrangement of fibers and nanomaterials on their surface, as well as the presence of pores of different sizes.

Cultivation of dermal fibroblasts on the surface of the materials showed their high biocompatibility and ability to support cell proliferation. We did not observe a significant difference between the rates of fibroblast proliferation on materials with different types of treatment, except for a slight decrease in the number of cells on the third day in the group with sodium hydroxide pretreatment. Fluorescence

microscopy demonstrated a random arrangement of cells of the usual shape along the membrane fibers with the formation of a "sympplast".

During the investigation of the antibacterial properties of PCL-MXene nanocomposites, we refuted the claim that this type of material has antibacterial characteristics. The nanocomposites did not demonstrate any pronounced antibacterial properties, except for a slight bacteriostatic effect for chemically treated membranes.

The results of the study illustrate that the developed electrically conductive three-dimensional polymer scaffolds have great prospects in providing structural strengthening of damaged electrically conductive tissue (cardiac, nervous or muscle) and transmission of electrical impulses, effectively simulating the basic electrical conductivity.

Since the conductivity and cell proliferation remain unchanged, a single application of MXene deposition using the new approach is sufficient to create a heart tissue substitute.

**Key words:** nanomaterials, MXene, polymer membranes, nanofibers, properties of materials, regeneration of heart tissues, myocardium, cytotoxicity, biocompatibility, cell culture, antibacterial properties.

### Список публікацій здобувача за темою дисертації

#### Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації

1. Diedkova K., Pogrebnyak A. D, Kyrylenko S., et al. Polycaprolactone-MXene Nanofibrous Scaffolds for Tissue Engineering. ACS Appl Mater Interfaces. 2023. № 15. (11). P. 14033–14047. DOI:10.1021/acsami.2c22780. (**Scopus**) (Здобувач провів експериментальне дослідження, сформулював висновки, підготував статтю до друку).
2. Gogotsi O., Kołtunowicz T.N., Diedkova K., Gałaszkiwicz P., Pogorielov M. and et al. Investigation of ac electrical properties of MXene-PCL nanocomposites for application in small and medium power generation. Energies. 2021. №14. (21).

7123. DOI: 10.3390/en14217123. **(Scopus)** *(Здобувач провів експериментальне дослідження, виконав огляд літератури).*

3. Korniienko V., Husak Ye., Yanovska A., Altundal S., Diedkova K., Samokhin Ye., Varava Y., Holubnycha V. and Pogorielov M. Biological behavior of chitosan electrospun nanofibrous membranes after different neutralization methods. *Prog. Chem. Appl. Chitin and its Deriv.* 2022. № 27. P. 135 – 153. DOI: 10.15259/PCACD.27.010. **(Scopus)** *(Дисертант провів дослідження цитотоксичності та описав результати дослідження).*
4. Korniienko V., Husak Y., Radwan-pragłowska J., Diedkova K. and Pogorielov M. Impact of Electrospinning Parameters and Post-Treatment Method on Antibacterial and Antibiofilm Activity of Chitosan Nanofibers. *Molecules.* 2022. №27. (10). 3343. DOI: 10.3390/molecules27103343. **(Scopus)** *(Автор провів дослідження морфології та опрацював результати дослідження).*

#### **Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації**

5. Diedkova K., Samokhin Y., Baginskyi I., Varava Y. , Roshchupkin A., Zahorodna V., Pogorielov M., Kornienko V., Kyrylenko S. The multistep process of coating PCL membranes with MXene solution. Paper presented at the Proceedings of the 2022 IEEE 12th International Conference on Nanomaterials: Applications & Properties NAP. 2022. № 22242175. DOI: 10.1109/NAP55339.2022.9934231. **(Scopus)** *(Автор провів дослідження, опрацював результати дослідження, сформулював висновки та підготував тези до друку).*
6. K. Diedkova, I. Yanko, V. Korniienko, U. Riekstina, I. Baginskiy, V. Zahorodna, I. Roslyk, O. Gogotsi, M. Pogorielov. MXene-Based Cardiac Patches for Regenerative Medicine. *Book of Abstracts International conference “YUCOMAT-2023”*. Herceg-Novi. Montenegro. 4-8 September, 2023. P.106. *(Здобувач провів експериментальне дослідження, сформулював висновки, підготував тези).*

7. K. Diedkova, A. D. Pogrebnyak, S. Kyrylenko, P. Zukowski, Y. Husak, W. Simka, V. Korniienko, I. Baginskiy, V. Zahorodna, U. Riekstina, O. Gogotsi, Y. Gogotsi, M. Pogorielov. Novel PCL-MXene electrospun membranes for conductive tissue regeneration. *Book of Abstracts International conference "YUCOMAT-2023"*. Herceg-Novi. Montenegro. 4-8 September, 2023. P.43. (Дисертант провів експериментальне дослідження, підготував тези).
8. K. Diedkova, Y. Samokhin, V. Zahorodna, I. Baginskiy, V. Balitskyi, O. Gogotsi, V. Korniienko. PCL-MXene composite electrospun membrane for nerve regeneration: structural and biological assessment. *Book of Abstracts International conference "YUCOMAT-2022"*. Herceg-Novi. Montenegro. August 29 – September 2, 2022. P.97. (Дисертант провів експериментальне дослідження, описав результати, зробив висновки та підготував тези).
9. K. Diedkova, Ye. Husak, S. Kyrylenko, et.al. Polycaprolactone MXene nanocomposites for cardiac tissue engineering. *Book of Abstracts 81th International scientific conference of the University of Latvia*. Riga. Latvia. 14 February, 2023. P.18-19. (Дисертант провів експериментальне дослідження, описав результати та підготував тези).
10. Varava Y., Samokhin Y., Diedkova K., Kyrylenko S., Savchenko A., Korniienko V. Antimicrobial electrospun chitosan nanofibrous membranes functionalized with silver nanoparticles. Paper presented at the Proceedings of the 2021 IEEE 11th International Conference on Nanomaterials: Applications & Properties. NAP. 2021. № 21387912. DOI: 10.1109/NAP51885.2021.9568584. (**Scopus**) (Автор провів експериментальне дослідження, опрацював результати).

## ЗМІСТ

|   |    |
|---|----|
| АНОТАЦІЯ .....  | 2  |
| ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ .....   | 17 |
| ВСТУП.....  | 18 |
| РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....   | 25 |
| 1.1. Регенерація тканин серця: причини, наслідки та методи відновлення                                | 25 |
| 1.2. Електропровідні матеріали для регенерації тканин серця .....                                     | 33 |
| 1.3. Електропровідні наночастинки .....   | 50 |
| РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ .....   | 57 |
| 2.1. Виготовлення полімерних мембран.....   | 57 |
| 2.2. Отримання деламінованих MXene та їх характеристика. ....   | 59 |
| 2.2.1. Сканувальна електронна мікроскопія з дифракцією<br>рентгенівських променів.....                | 60 |
| 2.2.2. Трансмісійна електронна мікроскопія.....   | 61 |
| 2.3. Підготовка PCL мембран для нанесення MXene.....  | 61 |
| 2.3.1. Попередня обробка сірчаною кислотою .....  | 62 |
| 2.3.2 Попередня обробка гідроксидом натрію.....   | 62 |
| 2.3.3 Попередня обробка кисневою плазмою .....  | 63 |
| 2.4. Імпрегнація MXene на PCL скафолдах.....  | 63 |
| 2.5. Дослідження структури та властивостей PCL-MXene-мембрани після<br>обробки сірчаною кислотою..... | 64 |
| 2.5.1. Сканувальна електронна мікроскопія з енергодисперсійною<br>спектроскопією .....                | 64 |
| 2.5.2. Дослідження біосумісності.....   | 64 |

|  |    |
|--|----|
| 2.6. Дослідження структури та властивостей мембран PCL-MXene після обробки гідроксидом натрію .....      | 66 |
| 2.6.1. Сканувальна електронна мікроскопія з енергодисперсійною рентгенівською спектроскопією (EDS) ..... | 66 |
| 2.6.2. Трансмісійна електронна мікроскопія та спектроскопія втрат енергії електронів (EELS) .....        | 66 |
| 2.6.3. Визначення контактного кута мембран.....  | 67 |
| 2.6.4. Інфрачервона спектроскопія електропрядених нановолокнистих PCL-MXene мембран.....                 | 67 |
| 2.6.5. Вимірювання електропровідності мембран .....  | 67 |
| 2.6.6. Дослідження біосумісності мембран .....   | 70 |
| 2.6.7. Визначення антибактеріальних властивостей мембран .....   | 71 |
| 2.7. Дослідження структури та властивостей мембран PCL-MXene після обробки кисневою плазмою .....        | 72 |
| 2.7.1. Сканувальна електронна мікроскопія з EDS та TEM .....   | 72 |
| 2.7.2. 3D-візуалізація мембран .....   | 73 |
| 2.7.3. Аналіз інфрачервоної спектроскопії з перетворенням Фур'є та Раман-спектроскопія .....             | 73 |
| 2.7.4. Визначення контактного кута мембран.....  | 74 |
| 2.7.5. Дослідження статичної та динамічної деградації мембран.....                                       | 75 |
| 2.7.6. Вимірювання електропровідності мембран .....  | 76 |
| 2.7.7. Дослідження цитотоксичності та біосумісності мембран.....   | 77 |
| 2.7.8. Визначення антибактеріальних властивостей мембран .....   | 78 |
| 2.8. Статистичні методи обробки.....   | 79 |
| РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ .....  | 81 |
| 3.1. Дослідження структурних властивостей PCL-мембрани без обробки.                                      | 81 |

|  |     |
|--|-----|
|  | 15  |
| 3.1.1. Сканувальна електронна мікроскопія .....  | 81  |
| 3.2. Дослідження структурних властивостей суспензії МХене .....  | 81  |
| 3.2.1. Сканувальна електронна мікроскопія з дифракцією<br>рентгенівських променів.....                                   | 81  |
| 3.2.2. Трансмісійна електронна мікроскопія.....  | 82  |
| 3.3 Дослідження фізико-хімічних та структурних властивостей PCL -<br>МХене мембран після обробки сірчаною кислотою ..... | 84  |
| 3.3.1. Сканувальна електронна мікроскопія з EDS .....  | 84  |
| 3.3.2. Дослідження цитотоксичності PCL-МХене скафолдів.....  | 86  |
| 3.4. Дослідження структури та властивостей мембран PCL-МХене після<br>обробки гідроксидом натрію .....                   | 87  |
| 3.4.1. Сканувальна електронна мікроскопія з енергодисперсійною<br>рентгенівською спектроскопією (EDS) .....              | 87  |
| 3.4.2. Трансмісійна електронна мікроскопія та спектроскопія втрат<br>енергії електронів (EELS).....                      | 90  |
| 3.4.3. Визначення контактного кута мембран.....  | 92  |
| 3.4.4. ІЧ-Фур'є спектроскопія електропрядених нановолокнистих<br>PCL-Мхене мембран.....                                  | 94  |
| 3.4.5. Вимірювання електропровідності мембран.....   | 95  |
| 3.4.6. Дослідження цитотоксичності нанокompatитів PCL-Мхене .....  | 96  |
| 3.4.7. Визначення антибактеріальних властивостей нановолокнистих<br>PCL-МХене мембран.....                               | 99  |
| 3.5. Дослідження структури та біологічних властивостей PCL-МХене<br>мембран після обробки кисневою плазмою.....          | 101 |
| 3.5.1. Сканувальна електронна мікроскопія з EDS та TEM .....   | 101 |
| 3.5.2. 3D-візуалізація мембран .....   | 106 |

|  |            |
|--|------------|
| 3.5.3. Аналіз інфрачервоної спектроскопії з перетворенням Фур'є та Раман-спектроскопія ..... | 107        |
| 3.5.4. Визначення контактного кута мембран.....  | 109        |
| 3.5.5. Дослідження статичної та динамічної деградації мембран.....                           | 110        |
| 3.5.6. Визначення електропровідності електропрядених нановолокнистих мембран .....           | 116        |
| 3.5.7. Дослідження цитотоксичності та біосумісності мембран.....                             | 117        |
| 3.5.8. Визначення антибактеріальних властивостей мембран .....                               | 119        |
| <b>РОЗДІЛ 4. АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ.....</b>                         | <b>122</b> |
| <b>ВИСНОВКИ .....</b>  | <b>134</b> |
| <b>СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....</b>   | <b>138</b> |
| <b>ДОДАТКИ .....</b>   | <b>167</b> |



**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ**

|      |   |   |
|------|---|---|
| IXC  | – | ішемічна хвороба серця.                       |
| IM   | – | інфаркт міокарда.                             |
| ДМФ  | – | N,N-диметилформаид.                           |
| КМ   | – | кардіоміоцити.                                |
| СЕМ  | – | скануюча електронна мікроскопія.              |
| ССЗ  | – | серцево-судинні захворювання.                 |
| СВН  | – | карбонові наноматеріали.                      |
| DI   | – | Деіонізована вода.                            |
| EDS  | – | енергодисперсійна спектроскопія.              |
| EELS | – | спектроскопія втрат енергії електронів.       |
| ECM  | – | позаклітинний міокардіальний матрикс.         |
| iPSC | – | індуковані плюрипотентні стовбурові клітини.  |
| MSC  | – | мезенхімальні стовбурові клітини.             |
| PANI | – | поліанілін.                                   |
| PBS  | – | фосфатно-буферний розчин.                     |
| PCL  | – | полікапролактон.                              |
| PLA  | – | полі-(L-молочна) кислота.                     |
| PPy  | – | поліпірол.                                    |
| STEM | – | скануюча трансмісійна електронна мікроскопія. |
| TEM  | – | трансмісійна електронна мікроскопія.          |
| XPS  | – | ренгенівська фотоелектронна спектроскопія.    |

## ВСТУП

### **Актуальність проблеми.**

Серцево-судинні захворювання (ССЗ) залишаються провідною причиною смертності по всьому світу, впливаючи на мільйони життів щорічно. Серед множини стратегій для боротьби з цим глобальним викликом для здоров'я, підходи тканинної інженерії для заміни серцевої тканини вирости як вельми актуальне та інноваційне рішення [1]. Ці підходи мають величезний потенціал у сфері регенеративної медицини, із метою відновлення або заміни ушкодженої серцевої тканини, відновлення функцій серця і врешті-решт покращення якості життя для осіб, що страждають від серцевих захворювань [2], [3].

За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я, ССЗ відповідають приблизно за 17,9 мільйона смертей щорічно. Традиційні методи лікування, включаючи медикаментозне та хірургічне втручання, значно покращили управління серцевими захворюваннями. Проте, лишається термінова потреба у більш розширених і довготривалих рішеннях, особливо для осіб із важким ушкодженням серця, яке не можна ефективно виправити за допомогою традиційних методів [4].

Незважаючи на те, що медичні досягнення покращили прогноз для багатьох пацієнтів із серцевими захворюваннями, існують ряд обмежень. Трансплантація серця, часто вважається золотим стандартом для лікування важкої серцевої недостатності, обмежена нестачею донорських органів, проблемами імунного відторгнення та необхідністю у довгостроковій імуносупресивній терапії. Більше того, існуючі терапії переважно спрямовані на лікування симптомів та не вирішують основну проблему - відновлення ушкодженої серцевої тканини [5].

Підходи тканинної інженерії пропонують переконливу альтернативу традиційним методам лікування. Ці підходи включають створення функціональної, біологічно сумісної серцевої тканини поза організмом для трансплантації або регенерації ушкодженої серцевої тканини на місці.

Декілька ключових елементів сприяють актуальності тканинної інженерії в цьому контексті:

1. Індивідуальні рішення для пацієнтів: Тканинна інженерія дозволяє створювати персоналізовані серцеві трансплантати, мінімізуючи ризик імунного відторгнення та оптимізуючи сумісність.

2. Регенерація і відновлення: На відміну від традиційних методів лікування, які лише лікують симптоми, тканинна інженерія прагне відновити ушкоджену серцеву тканину до її природного стану. Це може призвести до поліпшення довгострокових результатів і, можливо, навіть до лікування деяких серцевих захворювань.

3. Зменшення залежності від донорських органів: Шляхом можливості створення серцевої тканини в лабораторії, тканинна інженерія зменшує залежність від обмеженого запасу донорських сердець [6]. Це може розширити можливості лікування для пацієнтів і скоротити час очікування на трансплантацію.

4. Інтеграція з передовими технологіями: Тканинна інженерія перетинається з передовими технологіями, такими як 3D-друк та біоматеріали, для створення біоінженерних серцевих конструкцій з підвищеною функціональністю та біомеханічними властивостями [7], [8], [9].

Підходи тканинної інженерії для заміни серцевої тканини мають велике значення у боротьбі з кардіоваскулярними захворюваннями [10], [11], [12]. Ці інноваційні стратегії пропонують шлях подолання обмежень сучасних методів лікування і, можливо, надають довготривалі та індивідуалізовані рішення. При продовженні досліджень та розвитку у цій галузі, перспектива відновлення ушкодженої серцевої тканини і покращення якості життя для осіб, що страждають від серцевих захворювань, стає все більш перспективною.

Ключовим елементом тканинної інженерії є скафолд – тривимірна конструкція, яка повинна відповідати за своїми структурними та фізико-хімічними властивостями тканині-реципієнту та підтримувати проліферацію клітин [13]. Окрім обов'язкових вимог, скафолди для регенерації серця повинні

забезпечувати передачу нервового імпульсу для підтримки скоротливої функції міокарду [14], [15], [16]. Не зважаючи на використання електропровідних полімерів, модифікацію скафолдів наноматеріалами, такими як наночасточки золота та графен [17], більшість стратегій створення тканинно-інженерних конструкцій для регенерації тканин серця не відповідають всім необхідним умовам. Поява нового класу двовимірних наноматеріалів – MXene [18], [19], [20], які мають задовільні біомедичні характеристики та електропровідність, що перевищує таку для графену, дає можливість для створення нового класу матеріалів, які задовільняють всі вимоги щодо скафолдів для регенерації тканин серця.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.**

Дисертаційна робота виконана відповідно до плану наукових досліджень Навчально-наукового медичного інституту Сумського державного університету в рамках проєкту НДР за механізмів реїмбурсації внесків за програмою Горизонт-2020 «Визначення біосумісності та загальної токсичності різних груп наноматеріалів біомедичного призначення» (№ держреєстрації 0123U102756), Horizon Europe MSCA-2021-SE-01 проєкту MX-MAP «Towards MXenes' biomedical applications by high-dimensional immune MAPping» (№ 101086184) та проєкту за фінансування Міністерства освіти та науки України «Встановлення механізмів взаємодії MXene з біологічними системами» (0122U000784). Дисертант був виконавцем усіх проєктів.

**Мета дослідження** – розробити електропровідні тривимірні матеріали для регенерації тканин серця та встановити їх структурні, фізико-хімічні та біологічні властивості після модифікації MXene.

**Завдання дослідження:**

1. Розробити технологію створення тривимірних мембран за допомогою методу електропрядіння з використанням полікапролактону (PCL) та встановити їх структурні та фізико-хімічні властивості.

2. Провести модифікацію тривимірних PCL мембран двовимірними наноламінатами MXene ( $Ti_3C_2T_x$ ) з використанням різних методів підготовки мембран (хімічна обробка та обробка кисневою плазмою).
3. Дослідити структурні характеристики PCL-MXene мембран та особливості розподілу MXene в залежності від виду підготовки матеріалів.
4. Визначити особливості фізико-хімічних властивостей та електропровідності PCL-MXene мембран.
5. Провести дослідження біосумісності, здатності підтримувати проліферативну активність клітин та антибактеріальні властивості PCL-MXene мембран в залежності від виду підготовки матеріалу.
6. Визначити оптимальні умови отримання електропровідних тривимірних мембран для створення матеріалів для тканинної інженерії тканин серця.

*Об'єкт дослідження:* тривимірні тканинно-інженерні конструкції для регенерації тканин серця.

*Предмет дослідження:* структурні, фізико-хімічні та біологічні властивості тривимірних PCL-MXene мембран, створених методом електропрядіння.

*Методи дослідження:*

1. Дослідження структури та властивостей матеріалів: сканувальна електронна мікроскопія, аналіз інфрачервоної спектроскопії з перетворенням Фур'є, трансмісійна електронна мікроскопія, Раман спектроскопія, спектроскопія втрат енергії електронів, 3D візуалізація мембран, визначення контактного кута мембран, дослідження статичної та динамічної деградації (in vitro).
2. Біологічна оцінка (визначення антибактеріальних властивостей, дослідження цитотоксичності).
3. Статистичні методи (застосування параметричних та непараметричних статистичних показників).

### **Наукова новизна одержаних результатів.**

Уперше створені композитні тривимірні мембрани з полікапролактону з іммобілізацією двовимірних наноматеріалів MXene, які здатні підтримувати проліферацію клітин та забезпечувати електропровідність для підтримки проведення нервового імпульсу. Застосування методу електропрядіння дозволило отримати пористі матеріали з рандомним розташуванням волокон, що створює імітацію міжклітинного матриксу.

Встановлено, що використання хімічної обробки мембран (сірчана кислота та гідроксид натрію) дозволяє значно зменшити контактний кут поверхні, проте збільшує товщину волокон та зменшує розмір пор матеріалу. При цьому, використання кисневої плазми суттєво не впливає на товщину волокон та призводить до зростання пористості.

В роботі вперше розроблена технологія іммобілізації  $Ti_3C_2T_x$  MXene на поверхні та в товщі PCL мембран з використанням методу deep coating та встановлені структурні та фізико-хімічні властивості композитного матеріалу.

Вперше визначені параметри електропровідності PCL-MXene композитних матеріалів та встановлено, що вони відповідають параметрам електропровідності серцевої тканини, що дозволяє використовувати матеріали для створення тканинно-інженерних конструкцій для регенерації тканин серця.

Уперше проведено дослідження біосумісності PCL-MXene мембран та встановлена їх здатність підтримувати проліферацію клітин в незалежності від методу обробки матеріалів.

В роботі спростована гіпотеза щодо антибактеріальних властивостей  $Ti_3C_2T_x$  MXene в композитних полімерних матеріалах, що вірогідно ґрунтується на їх стабільному хімічному складі.

### **Практичне значення одержаних результатів.**

Результати дисертаційного дослідження демонструють нову технологію отримання полімерних електропровідних матеріалів, яка ґрунтується на використанні методу deep coating для іммобілізації  $Ti_3C_2T_x$  MXene на поверхні

електропрядної PCL мембрани. Ці данні можуть бути використанні для створення нового покоління тканинно-інженерних конструкцій для електропровідних тканин (серця, м'язи, нервова тканина), wearable devices, електродів, тощо.

Нові данні щодо взаємодії  $Ti_3C_2T_x$  MXene з PCL мембраною надають розуміння щодо механізмів іммобілізації двовимірних матеріалів на полімерних матрицях, що відкриває нові можливості для створення функціональних біоматеріалів для тканинної інженерії та регенераторної медицини.

Враховуючи властивість MXene у трансформації світлової енергії в теплову, нові матеріали можуть бути використані для розробки засобів для лікування гнійних ран з використанням принципів фото-термічної терапії.

Результати експериментальних досліджень впроваджені у навчальну та наукову роботу на кафедрі патологічної анатомії та судової медицини Полтавського державного медичного університету, на кафедрі анатомії людини імені М.Г. Туркевича Буковинського державного медичного університету, на кафедрі нормальної та патологічної фізіології Національного фармацевтичного університету, на кафедрі стоматології післядипломної освіти Запорізького державного медико-фармацевтичного університету та кафедрі патологічної фізіології Національного фармацевтичного університету, а також у виробничий процес в ТОВ «Центр Матеріалознавства» (м.Київ).

**Особистий внесок здобувача.** Дисертант самостійно провів інформаційний пошук та аналіз літературних джерел за темою наукового дослідження, визначив мету, завдання та розробив дизайн дослідження. Автор, створив тривимірну електропровідну полімерну мембрану методом електропрядіння, визначив фізичні характеристики, провів мікробіологічне дослідження та визначив цитотоксичність. Здобувач виконав експериментальну частину роботи, статистично опрацював та проаналізував одержані дані. За безпосередньої участі дисертанта проведено дослідження на клітинних культурах та бактеріологічні. Дисертант написав усі розділи

дисертації та висновки. Основна частина дослідження була виконана на базі Центру біомедичних досліджень ННМІ СумДУ. Електропрядіння хітозанових мембран проводили на базі Латвійського університету (Латвія). Флуоресцентну мікроскопію досліджуваних зразків проводили спільно з медичним факультетом Латвійського університету (Рига, Латвія). Разом із науковим керівником проведені узагальнення результатів роботи та обговорення висновків.

**Апробація результатів дисертації.** Основні положення та результати роботи оприлюднені на: Міжнародній конференції «Nanomaterials: Application & Properties» (Одеса, 2021), Міжнародній медичній конференції «Biomedical perspectives» (Суми, 2021), Конференції з матеріалознавства «YUCOMAT» (Герцег-Нові, Чорногорія, 2022), Міжнародній конференції «Nanomaterials: Application & Properties» (Краков, Польща, 2022), Міжнародній науковій конференції Латвійського університету (Рига, Латвія, 2023), Конференції з матеріалознавства «YUCOMAT» (Герцег-Нові, Чорногорія, 2023), Міжнародній конференції «Nanomaterials: Application & Properties» (Братислава, Словаччина, 2023).

**Публікації.** Матеріали дисертаційної роботи опубліковані в 10 наукових працях, серед яких 6 статті, що індексуються наукометричною базою Scopus (з них 2 опубліковані в матеріалах конференції), та 4 тез доповідей у матеріалах науково-практичних конференцій.

**Структура та обсяг дисертації.** Дисертацію викладено українською мовою на 174 сторінках. Робота складається з анотації, вступу, огляду літератури, матеріалів та методів дослідження, 5 розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів дослідження, висновків, списку використаних джерел та додатків. Дисертація містить список цитованої літератури до якого входять 241 найменувань, серед яких 1 кирилицею та 240 латиницею, 53 рисунків і 1 таблиця.



## РОЗДІЛ 1

### ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

#### 1.1 Регенерація тканин серця: причини, наслідки та методи відновлення

Серцево-судинні захворювання (ССЗ) являються однією з основних причин захворюваності та смертності в усьому світі [21]. За останніми даними Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ), від ССЗ у 2019 році померло 17,9 мільйонів людей, що становить 32% від усіх смертей [22]. Цей відсоток залишається стабільним з 2010 року [23]. Однак, Американська кардіологічна асоціація (АНА) прогнозує зростання числа смертей від серцево-судинних захворювань у всьому світі до 23,6 мільйона, що становитиме 33,4% усіх смертей до 2030 року [24].

За останніми даними ВООЗ, опублікованими 2020 року, смертність від серцево-судинних захворювань в Україні становить 772,1 на 100 тис. населення для чоловіків і 440,9 на 100 тис. населення для жінок. Це становить 68% від загальної смертності в Україні [25].

Провідним захворюванням серцево-судинної системи в усьому світі є ішемічна хвороба серця (ІХС). За даними ВООЗ на ІХС припадає 85% від усіх смертей від ССЗ, що насамперед становить 27,2% усіх смертей у світі у 2019 році [22] та 49,82% в Україні у 2020 році [26].

**Ішемічна хвороба серця** – це захворювання серця, яке виникає на тлі недостатнього постачання або повного припинення кровопостачання та доставки кисню до кардіоміоцитів внаслідок порушення кровотоку через звуженні або повністю оклюзійні коронарні артерії. Основною причиною ішемічної хвороби серця є атеросклероз - накопичення жирових відкладень (бляшок) на стінках коронарних артерій. Ці бляшки можуть звужувати або блокувати артерії, зменшуючи кровотік і постачання кисню до серцевого м'яза. Якщо бляшка розривається, це може спровокувати утворення тромбу, який може повністю заблокувати артерію і спричинити серцевий напад (інфаркт міокарда) [27].

**Інфаркт міокарду (ІМ)** – гострий стан, який виникає внаслідок порушення кровопостачання через оклюзію серцевих судин та характеризується розвитком ішемічного некрозу ділянки міокарду [28]. Оскільки серце дорослої людини має мінімальну регенеративну здатність [29], кардіоміоцити, втрачені при ішемічних ушкодженнях, зазвичай заміщуються фіброзною рубцевою тканиною, що призводить до часткової або повної серцевої дисфункції [30], що включає в себе втрачання притаманних їй властивостей: скоротливість, збудливість, провідність та автоматизм. Внаслідок цього виникає перевантаження серця, що супроводжується зменшенням товщини серцевої стінки та збільшенням розмірів порожнини лівого шлуночка, що приводить до зниження його скорочувальної здатності та виникнення ускладнень [31]: зовнішні та внутрішні розриви серця з тампонадою серця або без неї, гостра або хронічна серцева недостатність, набряк легень, різні види порушення серцевого ритму (тахіаритмії, брадіаритмії), порушення проведення електричних імпульсів провідниковою системою серця (атріовентрикулярні блокади, однопучкові/двопучкові блокади) та ін.

Ці ускладнення значно впливають на якість життя пацієнтів, викликаючи такі симптоми, як біль у грудях, задишка, втома, прискорене серцебиття, запаморочення, непритомність або набряки. Вони також можуть збільшити ризик інвалідності або привести до смерті. З метою запобігання появи ускладнень розпочинають негайне лікування.

### **Стандартні методи лікування ІХС:**

Хірургічне лікування спрямоване на відновлення кровотоку та постачання кисню в пошкодженому серцевому м'язі і запобігання відмирання кардіоміоцитів та появи подальших ускладнень. Згідно з Європейськими рекомендаціями з лікування інфаркту міокарду пацієнтам показано проведення хірургічного втручання в залежності від ступеня закупорки коронарних артерій [32], а саме:

- Черезшкірне коронарне втручання (ЧКВ), також відоме як ангіопластика, включає введення катетера з балоном і стентом у закупорену артерію та надування балона, щоб розширити артерію та зберегти її відкритою;
- Аортокоронарне шунтування (АКШ), яке передбачає взяття здорової кровоносної судини з іншої частини тіла та приєднання її до серця для обходу заблокованої артерії;
- Атеректомія, яка складається з використання пристрою для зрізання або висічення бляшки зі стінки артерії;
- Трансміокардіальна реваскуляризація, оперативне втручання, де використовують лазер для створення невеликих каналів у серцевому м'язі для покращення кровотоку.

Також під час хірургічного втручання можна встановити допоміжні пристрої, які можуть допомогти запобігти виникненню раптової зупинки серця внаслідок порушення електропровідності чи перевантаження серця завдяки регулюванню серцевого ритму, виклику електричного розряду, синхронізації камер серця або підтримки роботи серця [33]. Використовують такі пристрої:

- Кардіостимулятори;
- імплантовані кардіовертери-дефібрилятори (ICD);
- серцева ресинхронізаційна терапія (CRT);
- допоміжні пристрої шлуночків (VAD).

Водночас для оптимізації результатів після проведення хірургічного втручання до комплексу лікування приєднують медикаментозну терапію.

Незважаючи на значний прогрес у стратегії лікування ССЗ, включаючи фармацевтичну терапію та хірургічне втручання, однако тільки досягнення в галузі тканинної інженерії можуть суттєво покращити успіх у реабілітації та лікуванні пацієнтів з ураженою міокардіальною тканиною [34].

Серцева тканинна інженерія спрямована на розробку функціональних інженерних тканин і органів як трансплантатів *in vivo*, щоб зменшити дефіцит

органів для трансплантації, або як моделей *in vitro* для дослідження механізмів перебігу захворювань і розробки ліків [35].

За фізіологічних умов кардіоміоцити дорослої людини демонструють помірну швидкість самооновлення, яка оцінюється приблизно в 1% щорічно у віці 25 років і близько 0,45% у віці 75 років [29]. Однак ця внутрішня проліферація не відповідає потребам регенерації пошкодженої ішемічної тканини після інфаркту міокарда. У світлі цього обмеження були розроблені інноваційні стратегії кардіологічної терапії, спрямовані на усунення пошкодження міокарда та відновлення оптимальної функції серця, пом'якшуючи при цьому шкідливі наслідки ремоделювання шлуночків.

Ці підходи проявляються у двох різних парадигмах:

а) стратегія екзогенної регенерації, яка зосереджена на трансплантації чужорідних клітин,

б) підхід до ендогенної регенерації, заснований на визнанні того, що міокард дорослої людини містить популяцію резидентних мультипотентних серцевих стовбурових клітин (ССК). Активація потенціалу диференціювання та проліферації цих ССК може бути посилена за допомогою терапевтичних агентів (напр. фактори росту, позаклітинні везикули та мікроРНК). Ця подвійна стратегія спрямована на посилення внутрішньої регенеративної здатності серця і має великі перспективи в галузі серцевої регенерації та терапії [3].

### **Клітинна терапія**

Клітинна терапія стала інноваційною стратегією в регенерації серця, спрямованою на заміщення некротизованої серцевої тканини, посилення перфузії та сприяння ангиогенезу [36]. Для досягнення цих цілей використовуються різні клітинні лінії, включаючи моонуклеарні клітини, отримані з кісткового мозку (BM-MNC), мезенхімальні стовбурові клітини (MSC), ембріональні стовбурові клітини (ESC), індуковані плюрипотентні стовбурові клітини (iPSC), клітини-попередники серця (CPC) та клітини, отримані з кардіосфери (CDC).

На початку розвитку клітинної терапії для регенерації тканин серця використання моноклеарних клітин здавалося дуже багатообіцяючим через їх продемонстрований серцевий регенеративний потенціал в доклінічних дослідженнях [37]. Ці багатообіцяючі результати дозволили провести дослідження на людях, незважаючи на невеликі рандомізовані клінічні дослідження, що показали безпеку і помірне поліпшення фракції викиду, подальші ретельні подвійні сліпі клінічні дослідження не змогли повторити ці результати [38]. Це спонукало до переходу на мезенхімальні стовбурові клітини, мультипотентні клітини, отримані з різних стромальних джерел (таких як кістковий мозок, жирова тканина, пуповина і м'язи), відомі своїми кардіопротекторними ефектами [39]. На сьогоднішній день MSC є найбільш вивченим джерелом стовбурових клітин для лікування серцевих ушкоджень [40].

Водночас, клітини-попередники серця, привернули увагу завдяки своїй здатності диференціюватися в кардіоміоцити, гладком'язові клітини та клітини судинного ендотелію [41]. Крім того, плюрипотентні стовбурові клітини, такі як ESC та iPSC, набули популярності завдяки своїй здатності диференціюватися у функціональні кардіоміоцити. Ембріональні стовбурові клітини, отримані з тотипотентних клітин бластоцистів, полегшують ремускуляризацію серця і покращують серцеву функцію після трансплантації кардіоміоцитів [42]. Однак, етичні та правові проблеми обмежують їх в дослідженнях та трансляційній медицині. І навпаки, індуковані плюрипотентні стовбурові клітини, перепрограмовані з фібробластів, пропонують менші етичні обмеження, надійну дедиференціацію, швидкість проліферації та потенціал самооновлення [43]. Окрім регенерації серця *in vivo* після ІМ, людські кардіоміоцити, отримані з iPSC, мають потенціал для розробки персоналізованої терапії [44].

Нарешті, клітини, отримані з кардіосфери слугують “off-the-shelf” терапією для пацієнтів з гострим ІМ, отриманою з постнатальної передсердної або шлуночкової серцевої тканини [45]. Кілька досліджень підтвердили

кардіоміогенну диференціацію CDC *in vitro* та їх здатність покращувати серцеву функцію, зменшувати розмір рубця і підвищувати життєздатність ішемічного міокарда [46].

Враховуючи багатообіцяючий терапевтичний потенціал стовбурових клітин (СК), їх основний ефект спочатку пов'язували із заміщенням пошкоджених клітин в інфарктній тканині шляхом клітинного приживлення. Однак, варто зазначити, що функціональні покращення часто були очевидними навіть у тих випадках, коли стійке приживлення клітин було відсутнім. Це спостереження переконливо свідчить про існування альтернативного механізму, який залежить від паракринної сигналізації, як підкреслили Фінні та Піттенгер у 2017 році [47]. Стає все більш очевидним, що СК вивільняють різноманітні терапевтичні фактори, включаючи фактори росту (ФР), нуклеїнові кислоти та позаклітинні везикули (ПЗ), які в сукупності сприяють підвищенню виживання кардіоміоцитів (КМ), стимулюють ангиогенез і кардіоміогенез, зменшують фіброз і потенційно зберігають загальну серцеву функцію [48], [49], [50].

Незважаючи на значні досягнення в галузі клітинної терапії серця, шлях до повністю успішної терапії на основі СК для лікування інфаркту міокарда ще не пройшов всі клінічні фази. Основна перешкода, з якою стикається клітинна терапія, пов'язана з проблемою низького приживлення клітин. Значна частина трансплантованих клітин не приживається у реципієнту інфарктному мікросередовищі, що призводить до відсутності часового вікна для самопроліферації та передачі корисних прорегенеративних паракринних сигналів сусіднім пошкодженим клітинам. Основними факторами, що спричиняють втрату і загибель клітин, є окислювальний стрес, запалення і вимивання клітин [4]. Як наслідок, вдосконалення методологій доставки набуває першорядного значення в прагненні підвищити приживлення клітин.

Крім того, дослідження постклітинної трансплантації розкривають потенційну можливість виникнення шлуночкових аритмій [51]. Більше того, потенційні реципієнти клітинної терапії часто страждають від обширних

інфарктів, які спричинили втрату величезної кількості кардіоміоцитів, що обчислюються сотнями мільйонів. У світлі цього, обране джерело клітин повинно забезпечувати життєздатні можливості масштабування і генерування достатньої кількості клітин з кардіоміогенним потенціалом.

Ці проблеми ускладнюються відсутністю неінвазивних засобів моніторингу трансплантованих клітин, а також відстеження їх терапевтичних ефектів під час складної фази ремоделювання шлуночків. На тлі цих викликів сучасні дослідження переважно спрямовані на стратегічне поєднання клітинної терапії, як це було продемонстровано у дослідженні Chimenti та ін. у 2010 році [52] з системами доставки на основі біоматеріалів. Ці гібридні підходи спрямовані на створення мікросередовища, яке не тільки захищає клітини від суворих умов інфарктної тканини, але й полегшує їх приживлення. Окрім цього, ці системи активно сприяють інфільтрації ендотеліальних і гладком'язових клітин, тим самим сприяючи створенню більш цілісного регенеративного середовища.

### **Безклітинні терапевтичні стратегії**

Підхід ендогенної регенерації спрямований на відновлення клітинного циклу КМ і посилення регенеративних можливостей клітин-попередників серця (КПК) шляхом застосування терапевтичних агентів. Тріо заслужовуючих на увагу кандидатів включає фактори росту (ФР), позаклітинні везикули (ПВ) і некодуючі РНК, зокрема мікроРНК.

Експериментальні дані підкреслюють ефективність терапії на основі ФР, зокрема, фактор росту ендотелію судин (VEGF), основний фактор росту фібробластів (bFGF) та нейрегулін-1 (NRG-1). Ці агенти привертають значну увагу завдяки своєму потенціалу індукувати ангиогенез, зменшувати фіброз та зменшувати запалення після ІМ. Наприклад, VEGF продемонстрував свою здатність стимулювати утворення нових кровоносних судин і підтримувати серцеву функцію в умовах ішемії-реперфузії [53]. Тим часом, bFGF демонструє здатність пригнічувати синтез колагену, посилювати ремоделювання серця та зменшувати експресію запальних інтерлейкінів і факторів, пов'язаних з

фіброзом [54]. Роль NRG-1 виявляється ключовою при пошкодженні серця, сприяючи ангиогенезу, виживанню клітин та регенерації серця [55].

Позаклітинні везикули - це нанорозмірні частинки, що походять з клітин і вкриті ліпідним бішаром, які функціонують як транспортери для широкого спектру біомолекул. До них відносяться розчинні білки, мРНК, мікроРНК і довгі некодуючі РНК, які мають здатність ініціювати життєво важливі сигнальні шляхи, що є невід'ємною частиною відновлення серця [56]. Зокрема, ПВ пов'язані переважно з проангіогенними та антиапоптотичними ефектами, захистом серця, модуляцією імунної відповіді та загальним відновленням серця. Такі властивості роблять їх переконливими кандидатами для лікування інфаркту міокарда (ІМ) [57], [58], [59].

У тандемі з ПВ привертають увагу мікроРНК, як висококонсервативні, невеликі, одноланцюгові некодуючі РНК, що здійснюють посттранскрипційний контроль над експресією генів шляхом зв'язування з комплементарними послідовностями мРНК. Різноманітний набір мРНК-мішеней, які вони розпізнають, дає їм змогу керувати багатьма біологічними процесами, що охоплюють як розвиток, так і захворювання серця [60]. Наприклад, hsa-miR-590 та hsa-miR-199a були виділені за їхню роль в індукванні повторного входу в клітинний цикл дорослих КМ в умовах *ex vivo* та стимуляції проліферації кардіоміоцитів у новонароджених та дорослих тварин після ІМ [61].

Це стало поштовхом до проведення кількох досліджень з використанням міРНК як терапевтичних агентів для активації ендогенної регенерації серця, що дало обнадійливі результати на різних моделях ІМ у тварин [62]. Крім того, рівень міРНК підвищується після ІМ, причому деякі з них керують процесами постінфарктного ремоделювання. Прикладом цього є підвищений рівень miR-132, виявлений у пацієнтів із серцевою недостатністю, який бере участь у механізмах ремоделювання серця [63]. Новаторський інгібітор miR-132 (CDR132L) був розроблений, демонструючи здатність послаблювати і навіть усувати серцеву недостатність у доклінічних моделях [64].



Незважаючи на значні успіхи, до початку клінічного застосування факторів росту, позаклітинних везикул і мікроРНК необхідно вирішити низку проблем. ФР стикаються з перешкодами, пов'язаними з їхньою нестабільністю в природних умовах, обмеженим проникненням через біологічні бар'єри та швидким кліренсом у ретикулоендотеліальній системі [65]. Для ПВ ключові виклики пов'язані з необхідністю розроблення стандартизованих протоколів для великомасштабного виділення та очищення, а також із глибшим розумінням механізму їхньої дії [66], [67]. Крім того, питання безпеки ПВ, фармакокінетичних/фармакодинамічних (ФК/ФД) характеристик і терапевтичного дозування залишаються здебільшого на стадії вивчення [68]. Водночас при введенні *in vivo* ПВ стикаються також з проблемами нестабільності і зниженого рівня утримання, що вимагає повторюваних стратегій дозування. З іншого боку, основні обмеження, пов'язані з мікроРНК обертаються навколо імперативного завдання визначення безпечних та ефективних концентрацій в цільовій тканині [69].

У світлі цих спільних викликів протягом останніх років значні зусилля були спрямовані на використання електропровідних біоматеріалів з метою відновлення пошкодженої тканини міокарда. Цей аспект мало враховувався на початкових етапах розвитку клітинної терапії та тканинної інженерії.

## **1.2. Електропровідні матеріали для регенерації тканин серця**

Тканина міокарда має природну електропровідність, що підкреслюється провідною системою серця, яка охоплює такі шляхи, як міжпередсердні шляхи, синоатріальний вузол (СА-вузол), атріовентрикулярний вузол (AV-вузол) та пучок волокон Пуркін'є. Потенціал дії, що виникає в СА-вузлі, проходить через передсердний і міжпередсердний шляхи, перш ніж, нарешті, досягне AV-вузла. Потім цей потенціал дії потрапляє до міокарда шлуночків через волокна Пуркін'є, забезпечуючи синхронізовані скорочення клітин міокарда у відповідь на ці сигнали [70].

Після інфаркту міокарда кардіоміоцити, що вижили, стають роз'єднаними та ізолюваними через утворення непровідної рубцевої та

фіброзної тканини. Як наслідок, відбувається аномальне поширення електричного сигналу, що призводить до дисфункції шлуночків [71]. Одним із підходів до вирішення цієї проблеми є використання електропровідних біоматеріалів для полегшення передачі електричних сигналів через непровідну фіброзну тканину.

На сьогоднішній день найпоширенішими електропровідними системами серцевої тканинної інженерії є матеріали, отримані за допомогою 3D-друку, ін'єкційні гідрогелі та кардіопластирі [72], [2], [73].

### **Матеріали, отримані за допомогою 3D друку**

Останнім часом поява 3D-друку дала можливість реалізувати раніше недосягну мету в серцевій тканинній інженерії. Універсальність 3D-друку дозволяє створювати складні тривимірні скафолди з надійними механічними характеристиками, що відповідають основним характеристикам, необхідним для ідеального скафолду в інженерії серцевих тканин. Еволюція 3D-друку дозволила виготовляти скафолди, які дуже нагадують морфологію нативного позаклітинного серцевого матриксу (ECM). Програмне забезпечення для автоматизованого проектування (САПР) полегшує розробку повних 3D-форм органів, які потім друкуються з використанням біосумісних матеріалів для формування специфічних для органа конфігурацій скафолдів [74].

3D-друк передбачає пошарове осадження матеріалів у контрольований спосіб за допомогою комп'ютерних процесів. У 3D-друку з'явилося кілька стратегій, кожна з яких враховує такі фактори, як технологія, вартість, швидкість, роздільна здатність і проблеми. У цих підходах клітини вводяться в 3D-середовище, швидко агрегуючи завдяки адгезії між клітинами. Як тільки клітини досягають певного розташування, їх можна розміщувати шар за шаром за допомогою 3D-принтерів. Така шарувата структура дозволяє об'єднувати різні типи клітин, що призводить до розвитку тканиноподібних утворень.

Для досягнення оптимальних конструкцій систематичні моделі враховують такі фактори, як швидкість форсунок, швидкість двигуна,

швидкість екструзії, концентрацію біочорнила, в'язкість, механічні властивості та швидкість принтера. Попередні дослідження продемонстрували потенціал 3D-друкованих скафолдів з полікапролактону (PCL) і полі(естерного аміду) (PEA) з бажаними хімічними властивостями [8]. Ця комбінація продемонструвала покращені біомеханічні характеристики, включаючи помітне збільшення модуля пружності та максимального напруження. Легка технологічність PCL і здатність модулювати властивості за допомогою друку підкреслюють важливість полімерних матеріалів у цьому контексті.

Створення 3D-друкованої серцевої тканини є важливим етапом у боротьбі з серцево-судинними захворюваннями. Для подальшого прогресу розробка матеріалів, що саморозкладаються, з механічними характеристиками, подібними до нативних тканин, потребує комп'ютерного або математичного моделювання. Таке моделювання необхідне для реалізації практичних і функціональних структур, що є прогресивним кроком вперед у цій галузі [13]. Також технологія біодруку спрямована на розробку клінічно життєздатних серцевих конструкцій для лікування інфаркту міокарда і пов'язаних з ним ускладнень. Проте область серцевого біодруку все ще перебуває в зародковому стані, і необхідні подальші дослідження для переведення обнадійливих лабораторних результатів на клінічну арену [7].

### **Ін'єкційні гідрогелі**

Гідрогелі - це складні 3D-мережі, пов'язані між собою перехресними зв'язками, які відіграють важливу роль депо для терапевтичних молекул. Вони полегшують локалізовану доставку та реагують на внутрішні та зовнішні подразники. Гідрогелі, які реагують на специфічні стимули, можуть ефективно вирішувати проблеми, пов'язані з системною доставкою малих терапевтичних агентів [75]. Крім того, вони демонструють швидкі фазові переходи, переходячи з рідкого стану в гелеподібну консистенцію при зміні температури, рН, освітленості або механічних впливах. Ця властивість дозволяє контролювати вивільнення інкапсульованих терапевтичних

корисних речовин за допомогою мінімально інвазивних методів, спрямовуючи їх точно до місця призначення [76].

У сфері регенерації серцевої тканини ін'єкційні гідрогелі розвиваються, стаючи все більш безпечними, інтелектуальними та багатофункціональними [77]. В ідеалі ці гідрогелі повинні демонструвати біосумісність і біодеградацію, причому швидкість деградації повинна відповідати регенеративній здатності тканини. Крім того, їхні механічні властивості повинні відображати властивості тканини міокарда, забезпечуючи як структурну підтримку, так і здатність підтримувати серцеву скоротливість. Оптимальні ін'єкційні гідрогелі повинні мати відповідний часовий інтервал переходу золь-гель для забезпечення ін'єкційності та сумісності з такими методами, як катетеризація серця, спреї та інтраміокардіальні ін'єкції. Важливо, щоб ці гідрогелі мали електропровідність, що сприятиме скороченню та діастолі серця. Ін'єкційні гідрогелі поділяються на органічні та синтетичні.

### ***Органічні гідрогелі***

Розроблено різноманітні гідрогелі, отримані з природних полімерів, які реагують на температуру, рН, світло, електричні сигнали та іони, і навіть демонструють кілька типів реагування. Серед них термочутливі гідрогелі привертають значну увагу завдяки своєму потенціалу. Вони є перспективними носіями для доставки клітин і малих терапевтичних молекул шляхом прямої ін'єкції завдяки своїй здатності зазнавати оборотних фазових переходів при температурі тіла. Досліджували терапевтичний потенціал термочутливих хітозан/ $\beta$ -гліцерофосфатних гідрогелі з мезенхімальними стовбуровими клітинами кісткового мозку (BM-MSC) на мишачій моделі інфаркту міокарда. Введення гідрогелю покращувало життєздатність клітин, їх приживлення та відновлення серцевої функції шляхом посилення проліферації ендотеліальних клітин судин. Трансплантовані BM-MSC зменшували запалення і полегшували піроптоз у судинних ендотеліальних клітин, що призводило до подвійного терапевтичного ефекту [78]. Аналогічно, термочутливий хітозан-інсуліноподібний фактор росту 1С (IGF-1С) гідрогелю був використаний для

підвищення життєздатності та ангіогенезу MSC, отриманих з плаценти людини, що призвело до сприятливих результатів на моделі ІМ у щурів [79].

Інноваційною розробкою є новий гідрогель, що складається з альгінату та гіалуронової кислоти в поєднанні з ліофілізованим фібрином, багатим тромбоцитами, який демонструє проангіогенні ефекти при введенні в інфарктний міокард. Цей склад прискорював ангіогенез, покращував щільність судин, модулював поляризацію макрофагів і фіброз міокарда, що в сукупності рятувало ішемізований міокард [80].

У сфері альгінатних гідрогелей у клінічному дослідженні AUGMENT-NF оцінювали серцево-судинні ефекти Algisyl-LVR™, альгінатного гідрогелю, для збільшення лівого шлуночка у пацієнтів з дилатаційною кардіоміопатією. Імплантація цього епікардіального пристрою призвела до позитивних результатів, включаючи зменшення стресу міофібрил, відновлення геометрії лівого шлуночка та покращення серцевої функції [81]. Ці досягнення в сукупності ілюструють різноманітні стратегії, що застосовуються для використання потенціалу гідрогеля для регенерації серцевої тканини.

### ***Синтетичні гідрогелі***

Синтетичні полімери викликають значний інтерес як біоматеріали завдяки своїм міцним механічним властивостям, стабільності та контрольованим фізичним і хімічним характеристикам. Однак, їхня біосумісність поступається природним матеріалам. Тим не менш, ці полімери можуть бути адаптовані шляхом включення специфічних молекул для усунення цих обмежень. Крім того, вони часто надають гідрогелям електричних властивостей, які є важливими для посилення електричних сигналів і провідності серця.

Було проведено дослідження по успішній іммобілізації поліпіролу (PPy) в хітозані була досягнута за допомогою хімічної окислювальної полімеризації. Ін'єкція цього гідрогелю у рубцеву тканину серця щурів, які моделювали інфаркт міокарда, посилювала поширення електричного імпульсу. Подальші

дослідження, потенційно із залученням терапевтичних агентів, є багатообіцяючими.

У контексті навантажених жировими стовбуровими клітинами (ADSC) синтетичних гідрогелей було розроблено альгінатний гідрогель, модифікований 2-амінопіридин-5-тіокарбоксамідом, для доставки макромолекулярного проліків сірководню ( $H_2S$ ). Цей підхід мав на меті імітувати безперервне ендогенне вивільнення  $H_2S$ , яке, як доведено, чинить глибоку протизапальну, мітохондрієзберігаючу, судинорозширювальну та антиоксидантну дію в серцево-судинній системі [82]. Навантажений стовбуровими клітинами провідний  $H_2S$ -вивільнюючий гідрогель був створений шляхом включення тетрааніліну (провідного олігомеру) та людських ADSCs. Цей композит значно покращив серцеву функцію в моделі ІМ у щурів, що було підтверджено ехокардіографією та гістологічним аналізом. Yoshizaki та ін. розробили гідрогель на основі полі( $\epsilon$ -капролактон-ко-лактид) та поліетіленгліколя, який демонструє термочутливий перехід золь-гель, біодеградацію та ін'єкційну придатність [83]. Людські ADSC, вбудовані в цей гідрогель, демонстрували підвищені показники утримання, що в кінцевому підсумку сприяло відновленню серцевої функції після ін'єкції *in vivo*.

Гідрогель також виявилися ефективними засобами для доставки факторів росту і білків. Навантажений bFGF гідрогель, що включає NIPAAm, NEMA і макромер акрилат-оліголактиду, продемонстрував відповідну кінетику вивільнення [84]. Імплантація в модель ІМ щурів призвела до збільшення щільності кровоносних судин, покращення виживання клітин, зменшення щільності міофіброblastів та зменшення щільності макрофагів через 4 тижні. Примітно, що система вивільнення bFGF суттєво покращила серцеву функцію. В якості потрібної терапії. розробили термочутливий ін'єкційний гель, що поєднує хітозан з полі (N-ізопропілакриламідом) і сульфонатними групами для послідовної і тривалої доставки VEGF, IL-10 і PDGF [85]. Цей термочутливий гідрогель демонстрував контрольоване

вивільнення фактору росту *in vitro* і організував доставку терапевтичних білків у моделі ІМ миші, що в кінцевому підсумку призводило до відновлення серцевої функції за рахунок зменшення макрофагальної інфільтрації та посилення васкуляризації.

Незважаючи на значні успіхи, досягнуті в галузі кардіологічних гідрогелів [6], першочерговим завданням залишається всебічне покращення їх в'язкопружних та механічних характеристик для полегшення введення через кардіологічні катетери. Водночас необхідно забезпечити життєздатність клітин та їх інтеграцію в середовище серця, а також швидку диференціацію стовбурових клітин у бажані клітинні фенотипи (зокрема, функціональні кардіоміоцити серця) незабаром після ін'єкції. Нарешті, сучасне виробництво більшості гідрогелів відбувається в обмежених кількостях, що зумовлює необхідність оптимізації великомасштабного виробництва відповідно до стандартів належної виробничої практики перед отриманням дозволу та комерціалізацією.

### **Серцеві пластири**

Серцеві пластири зазвичай мають форму компактних дисків або квадратних платформ, призначених для доставки локалізованих терапевтичних агентів (клітин або біологічно активних молекул) в ішемізовану ділянку серця. Одночасно вони створюють захищене середовище, сприятливе для росту клітин серця [86]. Ці пластири ретельно розроблені для прикріплення до поверхні серця, що вимагає як еластичності, так і механічної стійкості для безперешкодної інтеграції з серцевою тканиною пацієнта. Така інтеграція не лише забезпечує структурне зміцнення, але й підтримує насосну функцію серця. В ідеалі, механічні характеристики серцевого пластиря повинні відповідати механічним характеристикам здорової власної тканини серця, яка має модуль Юнга від 8 до 15 КПа під час діастолі [5].

Окрім механічної міцності, матеріали, що використовуються для виготовлення серцевих пластирів, повинні мати здатність проводити електричні сигнали, полегшуючи серцеві скорочення та сприяючи

ефективному відновленню після інфаркту міокарда. Крім того, ці матеріали повинні бути біорозкладними, тобто такими, що розкладаються, причому швидкість розпаду повинна гармонійно поєднуватися з утворенням нової тканини. Ця характеристика є життєво важливою для уникнення потенційних довгострокових несприятливих наслідків, пов'язаних з їх тривалим існуванням [87]. Класифікація серцевих пластирів залежить від походження біоматеріалу, використаного для їх синтезу, і поділяє їх на натуральні та синтетичні.

### *Органічні серцеві пластирі*

Натуральні серцеві пластирі можуть бути отримані з природних джерел, таких як білки (наприклад, колаген, фібрин і желатин), полісахариди (наприклад, альгінат, хітозан і гіалуронова кислота), децелюляризований позаклітинний серцевий матрикс (dECM) і навіть клітинні пластинки. Ці джерела пропонують вищу біосумісність порівняно з синтетичними біоматеріалами.

Хоча терапевтичний вплив різних серцевих пластирів на інфаркт міокарда задокументовано, оптимальний дизайн цих пластирів залишається недосяжним через обмежене розуміння механізмів, що регулюють інгібування ремоделювання лівого шлуночка та відновлення серцевої функції. Наприклад, Lin et al. виявили, що пластир, виготовлений з іонно-зшитого гідрогелю крохмалю, з унікальними властивостями гель-пойнта, запускає транскриптомні зміни в клітинах інфарктної тканини, що призводить до зменшення фіброзу, апоптозу, запалення та покращення мітохондріального метаболізму [16].

Визнаючи клітинну терапію перспективною стратегією відновлення серця після ІМ, вбудовування в скафолди клітини для створення клітинних серцевих пластирів, які трансплантуються на поверхню серця, може подолати ці виклики. Прикладом є розробка функціональних клітинних пластирів, що містять ендотеліальні клітини (ЕК), отримані з людських індукованих плюрипотентних стовбурових клітин, затиснуті між шарами кардіоміоцитів, отриманих з людських iPSC, суспендованих у фібриновій матриці,



продемонструвала посилене приживлення, серцеву функцію, зменшення розміру інфаркту та посилення васкуляризації в моделі ІМ у щурів [15].

Ще однією важливою функцією серцевих пластирів є індукція васкуляризації, яка підтримує постачання кисню та поживних речовин до клітин, що знаходяться на пластирі, одночасно відновлюючи пошкоджену судинну систему в ішемізованій ділянці. Su et al. розробили попередньо васкуляризовану кардіо-стромальну клітинний пластирь, що включає фібрин, серцеві клітини з кардіосфери та сконструйовані мікросудини. Після імплантації в епікард пластир підтримував вивільнення кардіопротекторних факторів, що виділяються CDC, сприяючи відновленню серцевої функції та стримуючи патологічне ремоделювання шлуночків після ІМ. Пластир індукував проліферацію КМ, утворення нових кровоносних судин, активацію ендогенних клітин-попередників і зниження експресії прозапальних цитокінів [14]. Аналогічно, для ефективного відновлення ішемізованих судин серця за допомогою серцевого пластиря на основі 3D dECM була розроблена подвійна стратегія, що поєднує отримані з iPSC ендотеліальні клітини та генетично модифіковані MSC, отримані з кісткового мозку, які секретують SDF-1 $\alpha$  [12], [88]. У цьому підході використовували свинячий dECM для забезпечення захисного середовища для інтраміокардіальної ін'єкції, синергічно досягаючи повної судинної регенерації в серцях щурів з ІМ. Нарешті, Huang et al. розробили терапевтичну серцевий пластирь, що складається зі свинячого скафолду dECM і синтетичних клітин серцевої строми, яка сприяла відновленню серця за рахунок зменшення рубцювання, індукції ангиогенезу і посилення серцевої функції в моделі гострого ІМ у щурів [89].

### ***Синтетичні кардіальні пластирі***

Синтетичні серцеві пластирі можуть бути виготовлені з різноманітних полімерів, таких як полі(вініловий спирт), полі(L-лактидгліколід) (PLGA), полі-(L-молочна кислота) (PLA) та поліуретани. Ці полімери полегшують більш відтворювані процеси синтезу, пропонують можливості функціоналізації та надають електричних властивостей.

Більшість розроблених серцевих пластирів потребують хірургічної імплантації шляхом накладання швів на епікард, а якщо їх вводити ін'єкційно, то їхня форма та функціональність не дуже добре підтримуються. В якості альтернативного підходу розроблені мікроголкові синтетичні серцеві пластирі з мікроканалами для встановлення зв'язку між пластиром і міокардом, що усуває необхідність накладання швів. Зокрема, для відновлення серця був створений біосумісний мікроголковий пластр з метакрилоїл желатину (GelMA), наповнений галунізertiбом, бета-специфічним інгібітором трансформуючого фактору росту, спрямований на лікування надмірного серцевого фіброзу після ІМ [11]. Цей пластр забезпечував постійне вивільнення галунізertiбу протягом більше двох тижнів, надаючи механічну підтримку ніжній стінці шлуночка. У моделі ІМ у щурів пластр з галунізertiбом покращував довготривалу серцеву функцію та зменшував серцевий фіброз.

Функціонуючі серцеві пластирі можуть надавати інтригуючі властивості, такі як провідність та покращене закріплення терапевтичних агентів. Наприклад, нітрат-функціоналізований пластр продемонстрував оптимізовану терапевтичну ефективність на моделі ІМ у щурів, що призвело до зменшення пошкодження серця на ранніх стадіях, пригнічення несприятливого ремоделювання серця та покращення довготривалої функції серця [90]. Трансляційний потенціал цих пластирів також оцінювали на моделі ішемії/реперфузійного ІМ у свиней, що виявило покращення серцевої функції після імплантації. Більше того, мікропористий серцевий пластр, що складається з еластомерного поліуретану, який включає проангіогенні Arg-Glu-Asp-Val-пептиди, доставляв розувастатин до інфарктного міокарда [10]. Цей пластр забезпечував механічну підтримку та багатофункціональні ефекти в моделі ІМ у щурів, що призводило до зменшення апоптозу клітин, пригнічення місцевої запальної реакції, зменшення фіброзу, індукції ангиогенезу та підтримання серцевої функції. Це продемонструвало переваги інтегрованої та скоординованої стратегії лікування для терапії ІМ.

Включення електропровідності в ці пластирі виявилось ефективним для покращення функції серцевої тканини. Різні електропровідні матеріали, такі як графен, вуглецеві нанотрубки, металеві наночастинки, наночастинки золота, поліанілін, поліпірол і полакпролактон, широко досліджуються для біомедичних застосувань [91], [92]. Для відновлення серця було розроблено новий ін'єкційний пластир з пам'яттю форми та провідністю, що складається з метакрилового еластину, GelMA [93]. Цей кардіальний пластир, незалежно від того, чи був він засіяний кардіоміоцитами щурів, чи використовувався без клітин, сприяв функціональному відновленню в моделі ІМ у щурів через чотири тижні. Подібне функціональне відновлення спостерігали у карликових-свиней після застосування безклітинних пластирів або пластирів, що містять кардіоміоцити, отримані з людських плюрипотентних стовбурових клітин (hiPSC). Аналогічно, Liang et al. розробили провідний гідрогель, який можна було зручно наносити у вигляді пластиру на поверхню серця, ефективно покращуючи передачу електрофізіологічних сигналів і приводячи до значного поліпшення серцевої функції та реваскуляризації інфарктного міокарда [94]. Нарешті, був розроблений композитний серцевий пластир, що складається з хітозанових нановолокон, навантажених неонатальними кардіоміоцитами щурів, який продемонстрував поліпшення серцевої функції за рахунок зменшення площі рубця і сприяння ангиогенезу у щурів після ІМ [95].

### **Електропрядіння**

Найпоширенішою методом виробництва серцевих пластирів є електропрядіння [96]. Електропрядіння дозволяє отримувати високопористі, нановолокнисті мембрани з відмінними фізичними властивостями такі як міцність, пружність та вологопроникність, що забезпечить повне приживлення тканиною-реципієнта, завдяки повного імітування пористості, проникності і механічної стабільності біологічного середовища.

Електропрядіння є найпоширенішим методом отримання нановолокон, в першу чергу через його нескладну установку. Метод полягає у введенні

розчину полімеру в шприц і просуванні його до кінчика шприца за допомогою зовнішнього механічного поршня. Як тільки на кінці металевої голки утворюється крапля розчину, між металевою голкою та колектором, розташованим перед нею, створюється електричний зсув напруги. Цей зсув спонукає електричні сили перемагати поверхневий натяг, в результаті чого утворюється струмінь. Згодом крапля розтягується в конус Тейлора, що призводить до утворення полімерних нановолокон, які потім збираються на розташованому колекторі. Струмінь зазнає прискорення і подовження в навколишній атмосфері за рахунок випаровування розчинника. Зрештою, матриця з нановолокон лягає на поверхню заземленого колектора, що має протилежний заряд [97].

Різні фактори, такі як склад колектора, прикладена напруга, відстань між голкою і колектором і швидкість потоку дисперсії, впливають на діаметр, морфологію, вирівнювання і молекулярну орієнтацію волокон [98].

Застосування електропрядіння в серцевій тканинній інженерії було започатковано Шіном та ін., які створили нановолокнисті пластри з PCL, засіяні неонатальними кардіоміоцитами щурів (NRCMs) [99]. Це початкове дослідження проклало шлях до широкого використання електропрядіння у створенні електропровідних матеріалів для регенерації серця [91]. В одному дослідженні розробили електропровідний серцевий пластрин на основі колагену (Col) з нанокompозитами для лікування інфаркту міокарда [100].

В іншому дослідженні розробляли адгезивні та провідні волокнисті серцеві пластри шляхом електропрядіння у метакрилоїловому желатині (GelMA) з кон'югацією біоїонної рідини на основі акрилованого холіну (Bio-IL) [101]. Ці пластри були ретельно оптимізовані для відображення провідності та механічних властивостей нативного міокарда. Електростатичні сили між негативно зарядженими поверхнями серцевої тканини і позитивно зарядженим акрилованим біологічно активним інгредієнтом, а також ковалентні зв'язки між функціональними групами  $\text{NH}_2$  в серцевій тканині і

метакрилатними групами GelMA сприяли міцному зчепленню пластиру з міокардом мишей, усуваючи необхідність накладання швів.

Таким чином, традиційний метод електропрядіння тривимірних нановолокнистих скафолдів вводять додатковий вимір для управління різноманітною клітинною поведінкою, включаючи міграцію, морфогенез і міжклітинну взаємодію, які відіграють вирішальну роль у регенерації серцевої тканини. Оскільки кінцевою метою є комерціалізація та клінічне застосування кардіологічних пластирів, універсальність, масштабованість, відтворюваність та послідовність технології електропрядіння, безперечно, сприяють її клінічному впровадженню та дотриманню нормативних вимог [102].

### **Електроактивні полімери**

Електроактивні полімери - це "розумні" матеріали з керованими провідними властивостями, придатними для виготовлення електропровідних скафолдів. Хімічний та електрохімічний синтез є двома основними методами виробництва провідних полімерів [103]. Багато полімерів не є провідними, тому вони потребують процесу, який називається "легування", щоб перетворитися на провідний матеріал.

#### ***Поліпірол (PPy)***

PPy став головним об'єктом дослідження в галузі тканинної інженерії. Будучи першим полімером, який продемонстрував електричні властивості, що мають відношення до технологій, маючи навіть кращу провідність, ніж PANI, цей матеріал виявився здатним імітувати певні електричні властивості металів, пропонуючи при цьому більш гармонійну механічну відповідність з нативними біологічними тканинами. Його початкове застосування в тканинній інженерії датується чвертю століття [104].

Spearman et al. розвинули цю галузь, вирощуючи плівки PPy в плівках PCL, оброблених гідроксидом натрію, для створення функціональних листків серцевих клітин. Ці клітини демонстрували посилену експресію Cx43, прискорену передачу кальцію та зменшену тривалість кальцієвого переходу [105]. У 2015 році Gelmi з колегами нанесли легований хлором PPy на

електропрядені волокна PLGA, створивши тривимірні електропровідні скафолди. Ці скафолди продемонстрували біосумісність з клітинами-попередниками серця та індукованими плюрипотентними стовбуровими клітинами (iPSC) [106]. Kai et al. продемонстрували потенціал електроспінованих желатинових нановолокон PPy/PCL для посилення функції кардіоміоцитів та підвищення експресії важливих серцево-функціональних білків, таких як  $\alpha$ -актинін, тропонін T та Cx43. Дослідження також показало, що збільшення концентрації PPy призводить до зменшення діаметру нановолокон і збільшення модуля розтягування скафолду [107].

Незважаючи на широке застосування в цій галузі, високі концентрації PPy (30% у суміші з полікапролактоном (PCL) і желатином) продемонстрували цитотоксичні ефекти, що призводять до зменшення проліферації клітин. PPy стійкий до деградації у фізіологічних умовах, що спонукає до численних спроб створити біорозкладний композит шляхом змішування його з природними полімерами. Тим не менш, рекомендується мінімізувати його присутність для застосування *in vivo* [108].

### ***Поліанілін (PANI)***

Завдяки простоті обробки та біомедичному значенню відновлювальних/окислювальних переходів, PANI привернув значну увагу в біомедичній та тканинній інженерії як 2D електропровідна поверхня та 3D електроактивний скафолд [109].

Поліанілін має низку переваг, серед яких підвищена електропровідність, вражаючі електронні та оптичні властивості, похвальна окислювально-відновна та іонообмінна активність, надійна екологічна стабільність, простий синтез із звичайних хімічних речовин та економічна вартість [110].

McKeon та ін. застосували електропрядіння для поєднання PLA і PANI, що призвело до створення скафолдів, які одночасно біологічно розкладаються, біосумісні та електропровідні. Хоча нановолокна були ефективно вироблені з різним співвідношенням PLA/ PANI, лише скафолд із співвідношенням 75:25

продемонстрував гідну уваги провідність струму. Тим не менш, значне вивільнення PANI під час деградації PLA не дозволило цій суміші стати основним компонентом біомедичних пристроїв [111]. Цю проблему було вирішено шляхом виготовлення електропрядіння нановолокнистих листів PLA/ PANI, що містять знижений вміст PANI (від 1,5 до 3 мас. %), допованих камфорсульфоною кислотою [112]. Отримані скафолди демонструють сприятливу життєздатність клітин і сприяють диференціюванню кардіоміобластів  $H_9C_2$ , про що свідчать підвищені показники дозрівання і злиття. Zhao та ін. [113] вперше створили нову серію антибактеріальних електропровідних гідрогелів, що деградує, використовуючи прищеплений кватернізований хітозан (QCS) PANI, використовуючи окислений декстран як зшивач. Ці електроактивні гідрогелі значно посилювали проліферацію міобластів  $C_2C_12$  порівняно з гідрогелем QCS. Однак варто зазначити, що біомедичне застосування поліаніліну (PANI) є спірним через невизначеність щодо його цитотоксичності; в кращому випадку вважається, що ця цитотоксичність становить потенційну небезпеку, яка залежить як від часу, так і від дозування [114]. Також занепокоєння щодо застосування PANI в біологічному контексті пов'язане з його недостатньою біорозкладністю, що може призвести до хронічного запалення в імплантатах з тривалим терміном служби [115].

### ***Полікапролактон***

Полікапролактон здобув значне визнання в галузі інженерії кісткової та шкірної тканин. Цей полімер також став перспективним матеріалом для створення скафолдів серцевих тканин завдяки гармонійному поєднанню механічних і біологічних властивостей з тканиною серця. Більше того, його схвалення Управління з санітарного нагляду за якістю харчових продуктів і медикаментів Управлінням з санітарного нагляду за якістю харчових продуктів і медикаментів (FDA) для імплантованих пристроїв ще більше підкреслює його потенціал [116], [117].

Привабливість полікапролактону зумовлена його гармонійним поєднанням біосумісності, структурної стійкості, чудових механічних характеристик і додатковою перевагою - здатністю до біологічного розкладання. Наприклад, Shine та його колеги вперше створили серцеві скоротливі трансплантати шляхом культивування кардіоміоцитів на нановолокнистих скафолдах з PCL, уникаючи додаткових модифікацій [118]. Після цього в різних дослідженнях вивчалися можливості покращення властивостей PCL-скафолдів для серцевої тканинної інженерії. Ці зусилля включають використання гібридних PCL-скафолдів у поєднанні з природними або синтетичними полімерами, а також застосування різноманітних модифікацій.

В одному дослідженні PCL поєднували з природними полімерами, такими як колаген, еластин і желатин, що дозволило обійти необхідність зшивання цих природних матеріалів. Цікаво, що желатинові/PCL скафолди продемонстрували вищу міцність на розрив порівняно з колагеновими/еластиновими/PCL скафолдами. Обидва типи скафолдів сприяли ефективному прикріпленню клітин, хоча міграція клітин була більш помітною в гібридному скафолді желатин/PCL [119]. Інше дослідження було зосереджене на підвищенні виживання серцевих клітин. Це було досягнуто шляхом покриття вирівняних нановолокон PCL колагеном, що призвело до кращих результатів порівняно з нановолокнами PCL без покриття і випадково вирівняними [120].

Тим не менш, PCL демонструє знижену видиму поверхневу гідрофільність, особливо у волокнистій формі, що призводить до зниження адгезії клітин на його поверхні. Для міцної адгезії між матеріалом і клітинами необхідно модифікувати хімічний склад поверхні PCL, ввівши функціональні групи, які сприяють зв'язуванню клітин [121].

Для покращення гідрофільності поверхні та посилення адгезії клітин застосовують чотири основні методи модифікації електропрядених волокон PCL: (1) коелектропрядіння з активними матеріалами, (2) плазмова обробка,



(3) полімеризація поверхневого трансплантата та (4) волого хімічні методи [122], [123], [124].

Найбільшої популярності набули волого хімічний метод та плазмової обробки.

#### **Модифікація поверхні електропрядених PCL мембран хімічним методом**

Хімічний метод – часто використовуваний метод функціоналізації поверхні, що передбачає занурення нановолокнистих скафолдів у сильнодіючі хімічні речовини, такі як сильні кислоти або луги (наприклад,  $H_2SO_4$  або  $NaOH$ ). Цей підхід полегшує введення гідроксильних або карбоксильних груп шляхом нуклеофільного ацильного заміщення за допомогою гідролізу. Включення цих багатих на кисень груп сприяє підвищенню гідрофільності та початковому прикріпленню клітин [125]. Крім того, поверхню тканинно-інженерних скафолдів можна модифікувати шляхом прищеплення аміногруп за допомогою амінолізу, що включає занурення в такі речовини, як 1,6-гексанедіамін. На жаль, жорсткі умови обробки часто призводять до погіршення об'ємних фізичних властивостей через розщеплення полімерної основи [126]. Крім того, ці хімічні процедури, як правило, займають багато часу, утворюють значні рідкі відходи, які потребують ретельної утилізації, і несуть ризик неадекватного промивання, що потенційно залишає залишкові хімічні речовини в нановолокнистій структурі і ставить під загрозу біосумісність тканинного інженерного скафолду.

#### **Модифікація поверхні електропрядених PCL мембран методом обробки плазмою**

На відміну від волого хімічного підходу, модифікація поверхні за допомогою нетеплової плазмиплазмової обробки (PL) виділяється як більш сприятливий метод для посилення клітинних взаємодій на скафолдах тканинної інженерії (TI). Ця перевага підкріплена кількома переважними факторами, деякі з яких будуть розглянуті нижче. Плазмова обробка відбувається в газоподібній фазі, що дозволяє уникнути використання

агресивних хімічних речовин, що позиціонує її як більш екологічно чистий вибір [127]. Модифікація плазмою з використанням різних газів, таких як повітря, кисень, аміак і вуглекислий газ, ефективно змінила поверхневий хімічний склад електропрядених волокон. Це генерує групи карбонових кислот, гідроксильні групи та аміногрупи на поверхні волокна, покращуючи біосумісність [128]. Крім того, плазмові ефекти зазвичай впливають лише на початкові поверхневі шари, залишаючи об'ємні властивості скафолдів з PCL незмінними. Відсутність використання розчинників мінімізує ризик подальшої цитотоксичності за рахунок виділення у оточуюче середовище хімічних речовин. Крім того, при відповідних умовах плазми, підкладки зазнають мінімального тепловиділення, що запобігає потенційному термічному пошкодженню делікатних нановолокнистих структур. Завдяки цим перевагам плазмова обробка поверхні PCL-скафолдів демонструє значний потенціал у посиленні взаємодії між клітинами та скафолдами [129].

Електропровідні полімери як сами по собі мають слабку електропровідну здібність для посилення провідності електричних сигналів за часту інкорпоруєть електропровідні наночастинки, насамперед наночастинки золота, карбонові наноматеріали, графен та MXene.

### **1.3 Електропровідні наночастинки**

Наночастинки впливають на регенерацію та відновлення серцевої тканини завдяки притаманним їм механічним та електричним властивостям, а також завдяки здатності включати біологічно активні молекули, які беруть участь у природній біохімічній сигналізації.

#### ***Наночастинки золота (AuNPs)***

Наночастинки золота пройшли широке дослідження для широкого спектру біологічних і медичних застосувань завдяки своїм точним геометричним, оптичним і поверхневим хімічним властивостям [130]. AuNPs можуть бути виготовлені у різних формах, включаючи наносфери, нанострижні, триподи, тетраподи, нанокуби та наноклітини [131]. Крім того,

вони можуть бути перетворені на нановолокна, тонкі плівки або нанооболонки. Наночастинки золота використовують у різних біомедичних галузях, такі як діагностика, зондування, молекулярна візуалізація та відстеження стовбурових клітин. Також ці наночастинки можуть підвищувати електропровідність нанокомпозитів. Завдяки високій електропровідності, прийнятній біосумісності, легкій модифікації поверхні, нанотопографії та власним оптичним властивостям, AuNPs є бажаною наноструктурою для кардіологічних скафолдів. В окремому дослідженні інтегрували AuNPs у електропрядені волокна PCL, отримавши електропровідний нанокомпозитний скафолд для тканинної інженерії міокарда. Кардіоміоцити в присутності AuNPs демонстрували вирівняну та подовжену морфологію, збільшену силу скорочення та знижені пороги збудження під дією електричних полів [125]. Гідрогелі також надають багатообіцяючі можливості для інтеграції золотих нанокомпозитів у 3D-скафолди. Наприклад, You et al. рівномірно включили AuNPs в гібридний гідрогель тіол-HEMA/HEMA для відтворення фізіологічних властивостей природного позаклітинного міокардіального матриксу. Композитний гелю демонстрував модуль Юнга, більш подібний до міокарда *in vivo*, порівняно з чистим поліаніліном та поліпіролом. Ця інтеграція AuNPs також посилювала експресію Cx43 в неонатальних кардіоміоцитах шлуночків щурів (NRVC) в межах гібридних скафолдів [132]. У іншому дослідженні вчені мали на меті вирішити проблеми інженерії серцевих тканин, зокрема, пов'язані з електричним з'єднанням і дозріванням тканин. Вони розробили біогібридний гідрогель, який не тільки покращує скоротливі властивості інженерних серцевих тканин, але й дозволяє одночасно вивільняти лікарські препарати. Наночастинки золота різного розміру (18-241 нм) та поверхневого заряду (33,9-55,4 мВ) були синтезовані з використанням розгалуженого поліетиленіміну (bPEI) та відновлення тригідрату хлориду золота (III). Ці AuNPs збільшили жорсткість гідрогелю з 91 до приблизно 146 кПа, покращили електропровідність колагенових гідрогелів приблизно з 40 до 49-68 мСм см<sup>-1</sup> і полегшили контрольоване вивільнення лікарських засобів.

Інженерні серцеві тканини, сконструйовані з використанням bPEI-AuNP-колагенових гідрогелів у поєднанні з кардіоміоцитами, отриманими з людських індукованих плюрипотентних стовбурових клітин, продемонстрували покращені скорочувальні властивості. hiPSC-кардіоміоцити, отримані з колагенових гідрогелів, мали більш вирівняні та ширші саркомери порівняно з тими, що були отримані з гідрогелів, які містили тільки колаген. Крім того, присутність bPEI-AuNPs призвела до покращення електричного зв'язку, про що свідчить синхронний та однорідний потік кальцію через тканину [133]. У наступному дослідженні розробляли ін'єкційний гідрогель для відновлення серця як потенційну стратегію лікування інфаркту міокарда та інших серцевих захворювань. Дослідники розробили термочутливий гідрогель з використанням кон'югованих хітозан/полоксамерів. Для покращення механічних властивостей та передачі електричного сигналу наночастинки золота із середнім діаметром 50 нм були інтегровані в окислені бактеріальні nanoцелюлозні волокна, і цей нанокомпозит був включений у гідрогель у співвідношенні 1% об'ємних. Отримані гідрогелі мали пористу структуру з порами розміром від 50 до 200 мкм. Гідрогелі демонстрували оборотний фазовий перехід від золю до гелю з підвищенням температури, час гелеутворення становив 5 хвилин. Електропровідність гідрогелю становила  $6 \times 10^{-2}$  См/м при концентрації 75 мМ Au. Тести на цитосумісність *in vitro* з використанням клітин H9C2 продемонстрували високу біосумісність, з більш ніж 90% життєздатності клітин після 72 годин інкубації та гарну адгезію клітин [134].

Незважаючи на велику кількість досліджень наночастинок золота залишається досі відкритим питанням вирішення виникнення запальних ускладнень та цитотоксичного впливу на навколишні тканини, що обмежує його застосування.

### ***Карбонові наночастинки***

Нанорозмірні вуглецеві алотропи, що включають карбонові нанотрубки (CNT), нанолісти на основі графену, вуглецеві нанороги та вуглецеві

нановолокна, які разом називаються карбоновими наноматеріалами (CBN), здобули значну популярність завдяки своїм винятковим характеристикам. Ці матеріали викликають значний інтерес у галузі тканинної інженерії завдяки своїм механічним, топологічним та електричним властивостям [135], [136], [137]. Зокрема, CBN виявилися перспективним напрямком для вдосконалення тканинної інженерії, особливо у створенні електроактивних властивостей у серцевих, м'язових та нервових тканинах. Вбудовуючи CBN у звичайні непровідні біоматеріали, такі як скафолди, стає можливим надати об'ємному матеріалу покращених властивостей, таких як підвищена фізична міцність, біологічна активність та провідність. Це, в свою чергу, дозволяє формувати електропровідні мережі в сконструйованих тканинах [138]. У одному дослідженні вуглецеві нанотрубки, відомі як циліндричні порожнисті наноструктури з діаметром від 1 до 100 нм [139], продемонстрували значний потенціал у сприянні дозріванню серцевих міоцитів. Дослідження Shin et al. продемонструвало, що інкорпоровані CNT зберігають функціональність серцевої тканини проти руйнівних агентів, таких як гептанол, тим самим підтримуючи поширення електричного сигналу через неклітинну мережу, що забезпечується CNT в матриці GelMA. Крім того, було виявлено, що вирівняні CNT в гідрогелі GelMA індукують серцеву диференціацію в ембріональних тілах, отриманих зі стовбурових клітин миші, і цей процес ще більше посилюється при зовнішній електричній стимуляції [140].

### *Графен*

Іншим важливим представником групи CBN є нанолісти на основі графену [141]. Складаючись з таких матеріалів, як графен (G), оксид графену (GO) та відновлений оксид графену (rGO), ця група утворює 2D гексагональну стільникову структуру, що складається з одного шару з'єднаних між собою атомів вуглецю [142]. Подібно до CNT, нанолісти на основі графену продемонстрували здатність покращувати як механічні, так і електричні властивості, підтримуючи при цьому клітинну функцію в тканинах серця [143], [144]. У недавньому дослідженні інтеграція графену, найбільш провідного

матеріалу серед CBN, в колаген призвела до посилення експресії кардіоспецифічних маркерів і підвищення метаболічної активності в кардіоміоцитах, отриманих з мишачих ембріональних стовбурових клітин [145]. Порівнюючи ці два матеріали, 2D посів клітин на підкладки GO-GelMA показав швидше прикріплення і більше поширення клітин полігональної форми порівняно з плівками CNT-GelMA. Ця різниця пояснюється 2D топографічними властивостями GO, що характеризуються вищою шорсткістю поверхні, порівняно з 1D структурою CNT, яка впливає на точки адгезії та розміри клітин [146].

Визнання властивостей нативного міокарда, що характеризуються його гнучкістю, жорсткістю та нановолокнистою структурою, викликало значний інтерес до виготовлення електропрядених волокнистих скафолдів, які імітують відповідні структурні, механічні та електрофізіологічні характеристики природної тканини. Для досягнення цих властивостей CBN були інтегровані в різні біокомпозитні матеріали, включаючи полі(гліцерол-себакат) желатин (PGS-желатин), СНІ-полі (вініловий спирт), шовк, полі(естер-амід)-СНІ та PCL-СНІ-PPy [147], [148], [149]. Наприклад, включення CNT з покриттям GelMA у концентрації 1,5% у нановолокнистий скафолд призвело до значного підвищення механічної міцності (у 7 разів) та утворення більш тонких волокон з покращеною орієнтацією, що нагадує анізотропну архітектуру міокарда [150]. З біологічної точки зору, наявність CNT корелювала з покращеним вирівнюванням КМ, нижчим порогом збудження (зниженим у 3,5 рази), вищою життєздатністю клітин та підвищеною експресією кардіоспецифічних маркерів (наприклад, Сх-43 та саркомерного  $\alpha$ -актиніну). Незважаючи на ці позитивні зрушення, зберігається значна невідповідність між діаметром виготовлених нановолокнистих скафолдів (від 200 до 400 нм) і волокнистими розмірами нативного міокарда (10-100 нм). Наноматеріали на основі графену та карбону володіють генотоксичністю і не розкладаються *in vivo*, що обмежує їх використання.

Беручи до уваги недоліки раніше використаних матеріалів, слід розробити нову концепцію для досягнення як провідності, так і біосумісності серцевих замінників з подальшою відповідною реакцією *in-vivo* та керованою деградацією.

### *MXene*

Карбіди, нітриди та карбонітриди перехідних металів, відомі під загальною назвою MXene і відкриті Юрієм Гогоці, Мішелем Барсумом та їхніми колегами у 2011 році, є швидкозростаючим класом двомірних матеріалів з різноманітними застосуваннями. Ці застосування охоплюють лікування раку, бактеріологію, імунологію, цільову доставку ліків, тканинну інженерію тощо. Зокрема, їхні виняткові електропровідні властивості позиціонують їх як перспективних кандидатів для регенерації провідних тканин [151]. Нещодавні дослідження підкреслюють їхню високу біосумісність та безпеку *in vivo* в різних сферах застосування, що робить їх добре узгодженими з ключовими критеріями для добавок для тканинної інженерії [152], [153], [154]. Особливої уваги заслуговує здатність MXene сприяти адгезії та проліферації клітин, що є вирішальними факторами в контексті регенерації тканин. Їх поверхневі характеристики створюють сприятливе середовище для клітинних взаємодій, тим самим сприяючи розвитку функціональних інтерфейсів у тканинах. Крім того, хімічний склад поверхні MXene, що налаштовується, пропонує можливості для індивідуальних модифікацій, які можуть посилити їх біосумісність, що дозволяє адаптувати їх для конкретних типів тканин.

Імуносумісність, найважливіший аспект, стосується схильності матеріалу викликати імунну відповідь. MXene продемонстрували обмежену імуногенність, натякаючи на їхній потенціал пом'якшення побічних реакцій при введенні в біологічні системи [155]. Ця властивість має важливе значення для зменшення запальних реакцій і сприяння гармонійному співіснуванню між матеріалом і реципієнтом. Нещодавні дослідження продемонстрували застосування MXene у розробці гнучких інтерфейсів з потенційною клінічною

користю для різномасштабного епідермального зондування та нейромодуляції [20], а також для віддаленої, негенетичної, оптичної модуляції електричної активності нейронів [156]. У одному дослідженні створювали композитну конструкції шляхом 3D-друку провідного карбїду титану ( $Ti_3C_2T_x$ ) MXene за задалегідь визначеним шаблоном на гідрогелі поліетиленгліколю (PEG) за допомогою аерозольного струменевого друку здатної забезпечити як провідні, так і топографічні сигнали для кардіоміоцитів, отриманих з людських плюрипотентних стовбурових клітин. Результати дослідження показали, що надрукований 3D-друком  $Ti_3C_2T_x$  MXene призводить до значного збільшення експресії ключових кардіологічних маркерів, включаючи MYH7, SERCA2 і TNNT2 [157]. У іншому дослідженні вчені розробили інноваційний підхід до конструювання інженерного кардіального пластира шляхом включення наночастинок  $Ti_2C$  MXene в криогелеву матрицю. Під час 7-денного культивування кардіоміоцитів у  $Ti_2C$ -криогелі за допомогою трансмісійної електронної мікроскопії (ТЕМ) були помітні чіткі Z-лінійні структури та щільно упаковані саркомери і десмосоми, які є важливими показниками дозрівання міокарда. Зокрема, були отримані переконливі результати: площа інфаркту зменшилася, запальна реакція ослабла, сформувалося імунологічне мікросередовище, сприятливе для відновлення тканини міокарда, утворилася щільна мережа мікросудин, а функція міокарда помітно покращилася після імплантації серцевого пластира щурам з інфарктом міокарда протягом 4 тижнів [158].

Слід зазначити, що наразі бракує вичерпної інформації про розробку повномасштабних скафолдів для серцевої або нервової тканинної інженерії з використанням MXene. Основні завдання, які необхідно вирішити – це забезпечити поєднання біосумісної конструкції, яка буде підтримувати міграцію та проліферацію клітин з одночасним забезпеченням електропровідності.

Основні результати цього розділу опубліковані в працях [159]–[163]



## РОЗДІЛ 2

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Для забезпечення створення біосумісних конструкцій для регенерації серцевого м'яза дизайн дослідження був розділений на 3 основних частини:

- 1) розробка та виготовлення тривимірної електропровідної конструкції;
- 2) дослідження структурних та фізико-хімічних властивостей матеріалів;
- 3) вивчення біологічної відповіді.

Дизайн та створення 3D мембран, дослідження їх структури та біодеградацію, а також частину біологічних досліджень проводили в ЦККНО «Центр Біомедичних досліджень» (СумДУ). Всі інші методи досліджень проводили спільно з партнерськими організаціями в рамках проектів Horizon-Europe MSCA “MX-MAP” №101086184 та проекту МОН України №0122U000784. Основні партнери, на базі яких проведені дослідження:

1. Materials Research Centre, Kyiv
2. University of Latvia, Riga, Latvia;
3. Faculty of Materials Science and Technology, Slovak University of Technology, Trnava, Slovakia;
4. Department of Electrical Devices and High Voltage Technology, Lublin University of Technology, Lublin, Poland;
5. Centre for Nanodiagnostics of Materials, Slovak University of Technology in Bratislava, Bratislava, Slovakia;
6. University of Novi Sad, Faculty of Medicine and BioSense Institute, Novi Sad, Serbia;

#### 2.1. Виготовлення полімерних мембран

Полікапролактонові мембрани були виготовлені методом електропрядіння. Використовували полікапролактон (PCL) у вигляді гранул з молекулярною вагою 80000 г/моль отриманий від Sigma Aldrich (Сент-Луїс, Мічіган, США). Для приготування 12 % розчину використовували два різних розчинника: 99 % хлороформ придбаний у Chempur (Пекарі-Сльонське,

Польща) та 99 % N,N-диметилформамід (ДМФ) отриманий від Honeywell (Шарлотт, Північна Кароліна, США).

Для приготування розчину для електропрядіння брали 0,96 г PCL, повністю розчиняли в 8 мл суміші розчинників (хлороформ і ДМФ) у співвідношенні 3:1 при постійному перемішуванні протягом 3 год при 300 об/хв на магнітній мішалці при кімнатній температурі до повного розчинення [162]. Готовий PCL розчин набирали в скляний шприц об'ємом 5,0 мл з внутрішнім діаметром голки 0,8 мм. Процес електропрядіння проводили за кімнатної температури та відносної вологості повітря 20–25 % в ізольованій шафі з ламінарним потоком повітря в промисловій установці RT-Advanced (Linari Engineering, Піза, Італія) (рис 2.1). Параметри електропрядіння встановлювали таким чином: швидкість потоку – 1 мл/год, напруга на голці – 17 кВ, відстань між голкою і колектором становила 17,0 см та швидкість обертання колектора (діаметром 7 см) – 350 об/хв.

Після завершення процесу електропрядіння синтезовані мембрани висушували при кімнатній температурі впродовж 24 годин.

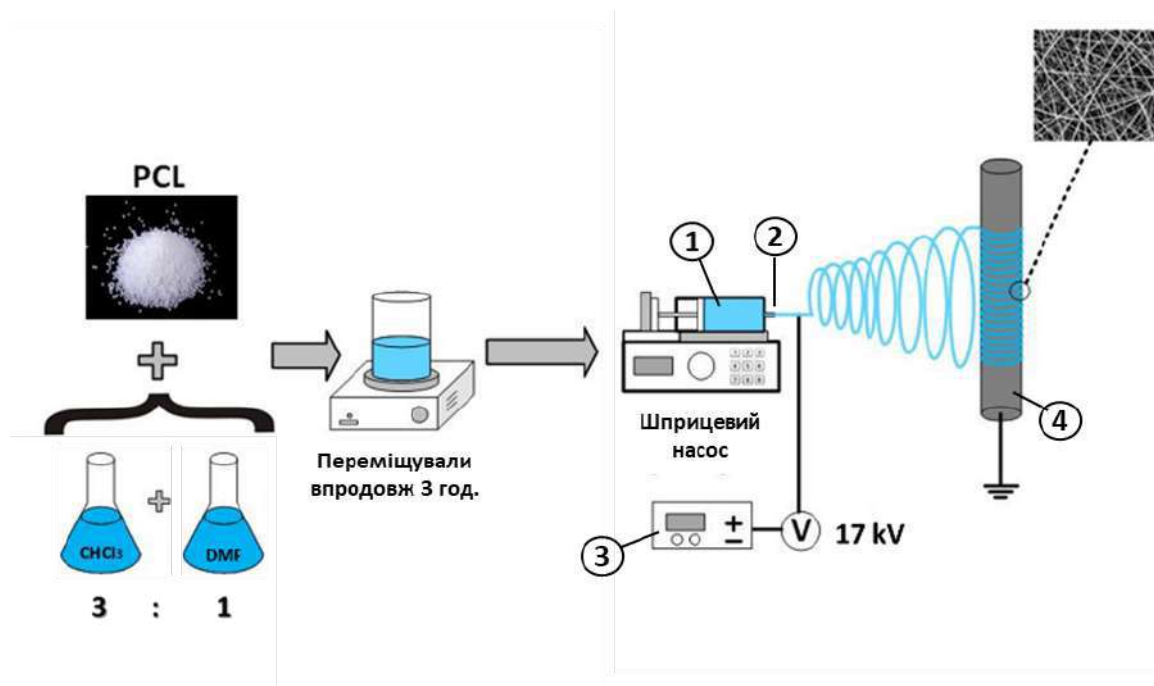


Рисунок 2.1 – Схематичне зображення процесу електропрядіння. Позначення: 1 – розчин полімеру з контрольованою швидкістю подачі; 2 – подача високої напруги на голку з полімером; 3 – джерело високої напруги; 4 – колектор.

## 2.2. Отримання деламінованих MXene та їх характеристика.

MXene були синтезовані в Центрі дослідження матеріалів (MRC, Київ).  $Ti_3C_2T_x$  MXene (T-OH, Cl або F) отримували травленням шаруватого потрійного карбиду  $Ti_3AlC_2$  (312 MAX-фаза) сумішшю соляної (HCl) кислоти та фториду літію (LiF) за методом синтезу мінімального інтенсивного шарового розшарування (MILD) [18]. Травильний розчин готували наступним чином: 200 мл 12 молярний (M) HCl (37%) додавали до 50 мл дистильованої води для отримання 250 мл 9M HCl; потім при перемішуванні додавали 16 г LiF. Суміш поміщали в пластиковий контейнер (об'єм 500 мл). 10 г порошку  $Ti_3AlC_2$  із середнім розміром частинок менше 40 мкм поступово додавали до травильного розчину. Реакційну суміш витримували при 25 °C при постійному перемішуванні протягом 24 годин. В процесі травлення прошарки алюмінію в кристалічній структурі  $Ti_3AlC_2$  видаленняються плавиковою кислотою (HF), що утворюються in-situ в результаті реакції між HCl і LiF, залишаючи двовимірні частинки  $Ti_3C_2T_x$  зв'язані за рахунок слабкої взаємодії Ван-дер-Ваальса. Після травлення отриману суспензію MXene промивали дистильованою водою шляхом повторного центрифугування (10 хв кожен цикл при 3500 об/хв), щоб видалити надлишок кислоти. Після кожного циклу кислий супернатант декантували, потім додавали свіжу порцію деіонізованої (DI)-води, повторно диспергували і проводили ще один цикл центрифугування. Промивання проводили до тих пір, поки значення рН надосадової рідини не досягало 6. Отриману вологу суспензію, що містила MXene, піддавали процесу деламінування з метою відокремлення двовимірних частинок MXene  $Ti_3C_2T_x$  у колоїдний розчин на водній основі.

Деламінація проводилась в розчині хлориду літію (LiCl) за рахунок інтеркаляції іонів  $Li^+$  між двовимірними частинками  $Ti_3C_2T_x$ , що сприяє їх подальшому розділенню. Розчин для інтеркаляційного розшарування готували наступним чином: 2 г хлориду літію (LiCl) додавали до 40 мл дистильованої води в пластиковому контейнері (об'єм 50 мл). До приготованого розчину додавали 2 г протравленої суспензії MXene. Процес проводили при 35 °C

протягом 24 годин при постійному перемішуванні. Після інтеркаляції в розчині LiCl суспензію MXene промивали повторюваними циклами центрифугування (10 хв кожен цикл при 3500 об/хв), декантуванням надосадової рідини та редиспергуванням у свіжо доданій DI-воді до тих пір. Якщо надосадова рідина після центрифугування зберігала чорний колір, це свідчило про відокремлення двовимірних частинок MXene в колоїдний розчин та збирали її в окрему ємність. Циклічний процес редиспергування, центрифугування і відокремлення колоїдного розчину MXene припиняли, коли надосадова рідина ставала прозорою, а чорний колір змінювався на зелений, що свідчить про значне зменшення концентрації MXene. Зібраний колоїдний розчин MXene чорного кольору центрифугували при 6000 об/хв протягом 60 хвилин, щоб осадити одношаровий MXene у вигляді гелю на водній основі. Ваговий вміст сухого MXene у вологому осаді становив близько ~20%.

У кінцевому результаті ми отримали розчин MXene у концентрації 4,4 мг/мл з латеральним розміром наночастиць  $Ti_3C_2T_x$  від 1 до 2 мкм.

### **2.2.1. Сканувальна електронна мікроскопія з дифракцією рентгенівських променів**

Отриману суспензію MXene характеризували методами рентгенівської дифракції (XRD) і сканувальної електронної мікроскопії (SEM).

Для XRD дослідження суспензію MXene наносили на квадратні скляні підложки розміром 24 x 24 мм у вигляді тонкої непрозорої плівки і давали висохнути у вакуумі. Порошкові рентгенівські дифрактограми були отримані за допомогою дифрактометра Rigaku Ultima-IV (Rigaku Corporation, Токіо, Японія).

Для проведення SEM досліджень краплі розведеного у воді колоїдного розчину MXene наносили на шматочки кремнієвої пластини і давали висохнути у вакуумі. Зображення досліджуваних зразків спостерігали за

допомогою сканувального електронного мікроскопа Tescan Mira 3 LMU (Tescan Orsay Holding, Брно, Чеська Республіка).

### **2.2.2. Трансмійна електронна мікроскопія**

Дослідження проводили в співпраці з відділом наноелектроніки та модифікації поверхні Сумського державного університету (м.Суми). Для дослідження кристалічної структури/фазового стану MXene використовували трансмісійну електронну мікроскопію (ТЕМ). Для створення тестових зразків розчин MXene наносили на кристали хлориду натрію (NaCl) з вуглецевою плівкою методом крапельного сушіння, яка потім розчинялася у воді та була захоплена мідною мікроскопічною сіткою. Зображення були отримані за допомогою електронного мікроскопа TEM-125K (SELMІ, Україна) при прискорюючій напрузі 125 кВ. Розрахунок електронної дифракції обраної ділянки електронних дифракційних картин проводили з використанням Al-стандарту.

### **2.3. Підготовка PCL мембран для нанесення MXene**

Полікапролактон, як відомо, є біорозкладним гідрофобним поліестером, який широко використовується для отримання засобів медичного призначення [164]. Основним недоліком даних матеріалів, зокрема пористих мембран, які були отримані на попередньому етапі є їх гідрофобність. Дані властивості унеможливають або ускладнюють імпрегнацію MXene на їх поверхні. Для підвищення гідрофільності поверхні пористих PCL мембран використовували три різних методики попередньої обробки (рис.2.2).

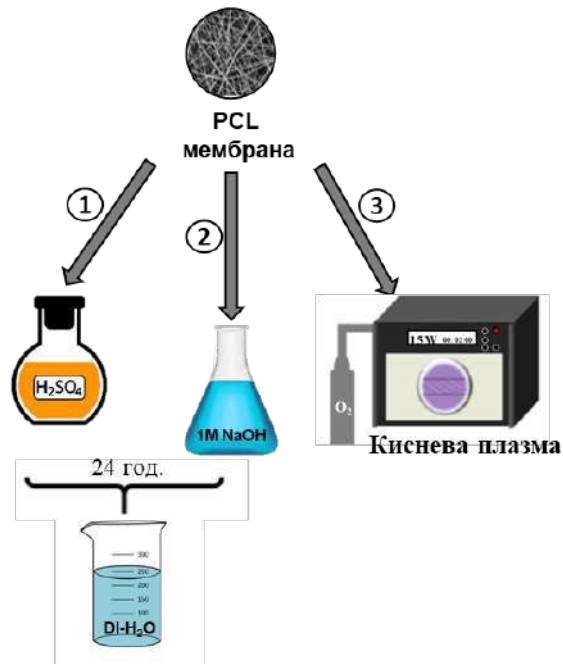


Рисунок 2.2 – Схематичне зображення методу попередньої обробки полікапролактонової електропряденної мембрани. Позначення: 1 – обробка сірчаною кислотою; 2 – обробка гідроксидом натрію; 3 – обробка кисневою плазмою.

### 2.3.1. Попередня обробка сірчаною кислотою

Скафолди розміром 5x14 мм обробляли 20% сірчаною кислотою ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) протягом чотирьох годин при  $30^\circ\text{C}$  з подальшим промиванням у деіонізованій (DI) воді протягом 24 годин. Після мембрани додатково промивали тричі DI-водою для повного видалення залишків кислоти та висушували при кімнатній температурі впродовж 24 годин.

### 2.3.2 Попередня обробка гідроксидом натрію

PCL-мембрани (розміром 5 мм × 14 мм) спочатку обробляли 1M розчином гідроксиду натрію (NaOH) протягом чотирьох годин при  $30^\circ\text{C}$ , а потім промивали у DI-воді протягом 24 годин з подальшим висушуванням при кімнатній температурі протягом доби.

### **2.3.3 Попередня обробка кисневою плазмою**

Зразки PCL мембран діаметром 5 мм обробляли кисневою плазмою (PL) за допомогою K1050X Plasma Asher (Кент, Великобританія) протягом 2 хвилин при потужності 15 Вт.

### **2.4. Імпрегнація MXene на PCL скафолдах**

Нановолокнисті електропрядені мембрани замочували в розчині MXene з концентрацією 4,4 мг/мл. Попередньо розчин MXene обробляли ультразвуком протягом 1 хв в ультразвуковій ванні з потужністю 50 Вт при 40 кГц. Після попередньої обробки PCL-мембрани (розділ 2.3) діаметром 5 мм поміщали в невеликий контейнер об'ємом 20 мл з 5 мл розчину MXene (ємкість заповнювали аргоном, щоб запобігти окисленню MXene. Контейнер з мембранами обробляли ультразвуком протягом 5 хв в ультразвуковій ванні з потужністю 50 Вт при 40 кГц і залишали на 3 год, щоб MXene проникли в глибинні структури. Потім, мембрани були видалені з розчину MXene, промиті в DI-воді для видалення надлишку розчину, і висушені на фільтрувальному папері протягом доби. Цю процедуру повторювали 2 рази для PCL-мембран після попередньої обробки сірчаною кислотою та кисневою плазмою, та 3 рази для електропрядених мембран оброблених гідроксидом натрію для отримання PCL-скафолдів з різними шарами MXene. Зразки були марковані, як PCL-MX-1, PCL-MX-2, PCL-MX-3 і PCL-MX-4 із зазначенням кількості циклів нанесення покриття. (рис. 2.3). Додатково для групи мембран після попередньої обробки кисневою плазмою з метою підвищення гідрофільних властивостей нанокompозиту PCL-MX обробили кисневою плазмою і позначали як PCL-MX1-PL, PCL-MX2-PL і PCL-MX3-PL.

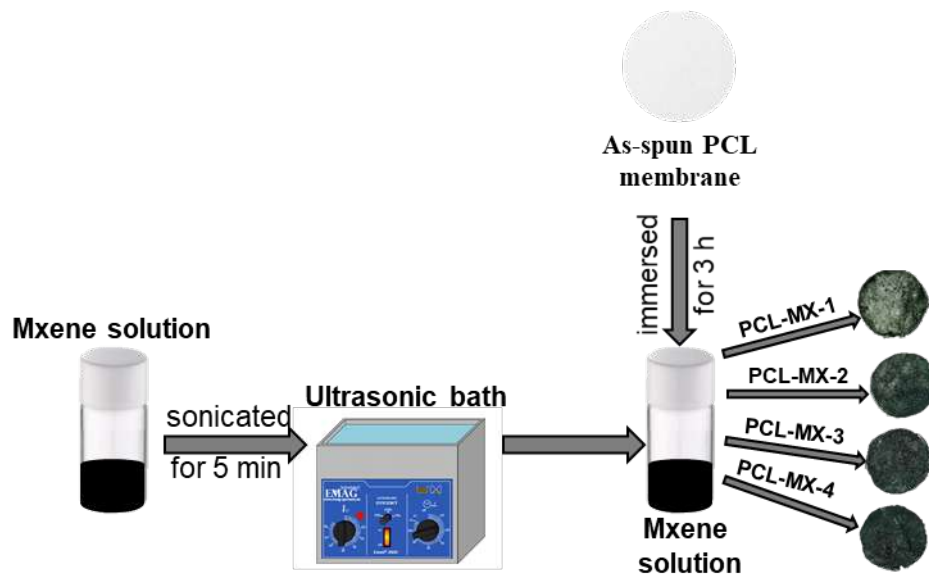


Рисунок 2.3 – Схема депонування MXene на PCL мембрані.

## 2.5. Дослідження структури та властивостей PCL-MXene-мембрани після обробки сірчаною кислотою

### 2.5.1. Сканувальна електронна мікроскопія з енергодисперсійною спектроскопією

Для структурної оцінки нанокомпозиту PCL-MXene використовували сканувальний електронний мікроскоп SEO-SEM Inspect S50-B (FEI, Брно, Чехія) з прискорювальною напругою 15 кВ, оснащений енергодисперсійним рентгенівським спектрометром (AZ-tecOne з X-MaxN20, Oxford Instruments plc, Abingdon, Великобританія) з функцією енергодисперсійної спектроскопії (EDS) картування. Діаметр волокон та розміри пор, оцінювання морфології зображень SEM вимірювали за допомогою плагіна DiameterJ 1.018w для Fiji (дистрибутив ImageJ 1,51 w, National Institutes of Health).

### 2.5.2. Дослідження біосумісності

Для оцінки цитотоксичності та біосумісності мембран PCL-MXene використовували клітинну лінію дермальних фібробластів людини (D6) з пасажем P6, наданий дослідницькою групою фармацевтичної програми (Медичний факультет Латвійського університету). Використання первинних



клітин із замороженого первинного клітинного фонду було схвалено Комітетом з етики Інституту експериментальної та клінічної медицини Латвійського університету (UL № 71-35/17 виданий 04.06.2014). Матеріали стерилізували шляхом занурення в 70% етанол на 30 хв. Після цього мембрани промивали фосфатно-буферним розчином (PBS) 5 разів по 5 хв для видалення залишків етанолу. Перед початком експерименту D6P6 вирощували на матрасах площею 75 см<sup>2</sup> за стандартних умов культивування: зволожене повітря, що містить 5% CO<sub>2</sub>, при температурі 37°C з оновленням середовища кожні 2-3 дні. Використовували середовище Ігла в модифікації Дульбеко з додаванням живильної суміші F-12 (DMEM/F-12, Gibco, США), доповненої пеніциліном (100 ОД/мл), стрептоміцином (100 мкг/мл), амфотерицином В (2,5 мкг/мл) та фетальною бичачою сироваткою (10 % від об'єму середовища) (Gibco, США). Зразки розміром 5x5 мм поміщали в 24-лунковий планшет і висівали клітини зі щільністю  $1 \times 10^4$  клітин/см<sup>2</sup> на мембрани з додаванням модифікованого культурального середовища. Через 24 години в кожен лунку додавали 10% від об'єму середовища розчину резазурину (0,15 мг/мл, рН 7,4). Для позитивного контролю використовували лунки, що містять лише клітини та для негативного контролю середовище без зразків. Планшети інкубували при 37 °C протягом 8 годин в темряві; 100 мкл середовища з кожної лунки переносили в 96-лунковий планшет і вимірювали поглинання за допомогою Multiskan FC (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, США) за довжин хвиль 570 нм і 600 нм. Аналіз на відновлення резазурину повторювали на 3-й та 5-й день. Для кожного зразка було 3 повторення.

Для візуалізації та оцінки морфології клітин після визначення цитотоксичності PCL-MXene мембран проводили флюоресцентну мікроскопію. Для підготовки до фарбування для флюоресцентної мікроскопії зразки після останньої доби інкубації з D6P6 фіксували 4% глутаральдегідом протягом 10 хв і двічі промивали PBS для видалення залишків глутаральдегіду. Фарбування мембран проводили за допомогою інкубування в 4',6'-діамідин-2'-феніліндолу дигідрохлориду (DAPI, Roche) розведеному в PBS зі

співвідношенням 1:35.000 протягом 2 хвилин. Підготовлені зразки аналізували за допомогою флуоресцентного мікроскопа (Axio Imager A1, Carl Zeiss) в каналі DAPI.

## **2.6. Дослідження структури та властивостей мембран PCL-MXene після обробки гідроксидом натрію**

### **2.6.1. Сканувальна електронна мікроскопія з енергодисперсійною спектроскопією (EDS)**

Для дослідження морфології та структурних особливостей отриманих PCL-MXene мембран використовували сканувальний електронний мікроскоп SEO-SEM Inspect S50-B (FEI, Брно, Чехія) з прискорюючою напругою 15 кВ, оснащений енергодисперсійним рентгенівським спектрометром (AZtec One with X-MaxN20, Oxford Instruments plc, Abingdon, Великобританія).

### **2.6.2. Трансмісійна електронна мікроскопія та спектроскопія втрат енергії електронів (EELS)**

Дослідження проводили в співпраці зі Словацьким технологічним університетом (Трнава, Словаччина) та з відділом наноелектроніки та модифікації поверхні Сумського державного університету (м.Суми). TEM та EELS характеристики виконували за допомогою аналітичного скануючого трансмісійного електронного мікроскопа з подвійною корекцією JEOL JEM-ARM200CF при напрузі 200 кВ. TEM зображення робили за допомогою CCD-камери Gatan Ultrascan 1000 XP з роздільною здатністю 2048×2048 пікселів з використанням пакету Digital Micrograph 3.43 SW (Gatan, США). Спектри EELS були зібрані в режимі сканувальної трансмісійної електронної мікроскопії (STEM) з використанням фільтра зображень GIF Quantum ER 965.2KP/EELS-спектрометра з дисперсією 0,25 еВ/хв і вхідною апертурою 5 мм. Напівкут збору становив 58,5 мрад, а напівкут збіжності зонда - 22,3 мрад.

### **2.6.3. Визначення контактного кута мембран**

Дослідження контактного кута мембран проводили в співпраці з Сілезьким технологічним університетом (Глівіца, Польща). Визначення контактного кута на PCL мембранах до та після навантаження MXene проводили за допомогою оцінювання змочуваності поверхні приладом для вимірювання оптичного контактного кута (OCA 15 EC, Series GM-10-473 V-5.0, Data Physics, Filderstadt, Germany) з програмним забезпеченням (SCA\_20U version 5.0.32, DataPhysics Instruments, Filderstadt, Germany). Краплі дистильованої води 2 мкл наносили на поверхню зразків через шприц за кімнатної температури. Вимірювання проводили в п'яти різних ділянках кожної поверхні зразка та реєстрували середнє значення. Крім статичного контактного кута, вимірювали динаміку адсорбції крапель і швидкість зміни контактного кута після осадження води. Вимірювання динамічного контактного кута дозволило спостерігати відмінності в змочуваності між зразками шляхом запису адсорбційних кривих [165].

### **2.6.4. Інфрачервона спектроскопія електропрядених нановолокнистих PCL-MXene мембран**

Дослідження проводили в співпраці з Центром нанодіагностики матеріалів Словацького технологічного університету (Братислава, Словаччина). Інфрачервону спектроскопію проводили на спектрометрі Perkin-Elmer Spectrum Two (Waltham, MA, США), оснащеному універсальним модулем ATR (Single Reflection Diamond). Базовий тиск у системі дорівнював  $1,2 \times 10^{-7}$  Па.

### **2.6.5. Вимірювання електропровідності мембран**

Вимірювання електропровідності нанокомпозитів PCL-MXene проводили в співпраці з кафедрою електричних пристроїв і технологій високої напруги Люблінського технологічного університету (Люблін, Польща), де

розробили та виготовили прилад за допомогою котрого проводили вимірювання (рис.2.4).

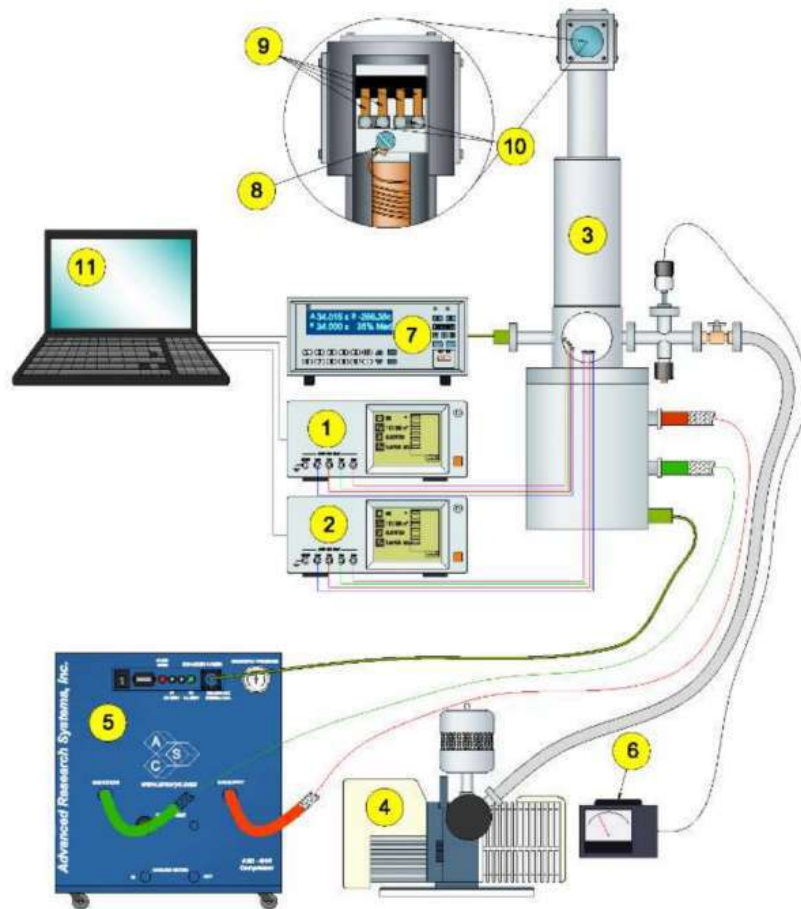


Рисунок 2.4 – Схематичне хображення приладу для вимірювання електропровідності. Позначення: 1, 2-НІОКІ 3532 LCR HiTESTER вимірювачі повного опіру, 3-головка гелієвого кріостата, 4-вакуумний насос, 5-компресор гелієвого кріостата, 6- вакуумметр, 7-регулятор температури LakeShore 335, 8- кремнієвий датчик температури, 9- тестові контакти, 10-тестові зразки, 11- комп'ютер.

Досліджуваний зразок нанокompозиту поміщається в головку кріостата (рис.2.4-(3)) і охолоджується в замкнутому контурі за допомогою гелієвого компресора (рис.2.4-(5)). Виявлення та контроль температури здійснюється системою, що складається з кремнієвого датчика (рис.2.4-(8)), терморегулятора (рис.2.4-(7)) та підключеного до нього нагрівача, вмонтованого в головку кріостата. Електричні параметри вимірювали кожні

1 К в діапазоні 15 К-20 К, кожні 2 К в діапазоні 20 К-40 К, кожні 3 К в діапазоні 40 К-151 К і кожні 7 К в діапазоні 151 К-305 К. Для вимірювання змінного струму використовували вимірювачі повного опору 3532 LCR HiTESTER (Ніюкі, Японія) (рис.2.4-(1)). Амплітуда напруги, прикладеної до досліджуваного зразка, становила  $U = 0,4$  В. Вимірювач повного опору і терморегулятор підключені до комп'ютера (рис.2.4-(11)) за допомогою програми написаної в середовищі C++, де результати вимірювань зберігаються у вигляді xls-файлів.

Для дослідження властивостей змінного струму зразків нанокompозиту PCL- MXene на обидва кінці досліджуваного зразка було нанесено тонкий шар (~10 мкм) срібної пасти для усунення перехідного опору в точці між зразком і контактами (рис. 2.5).

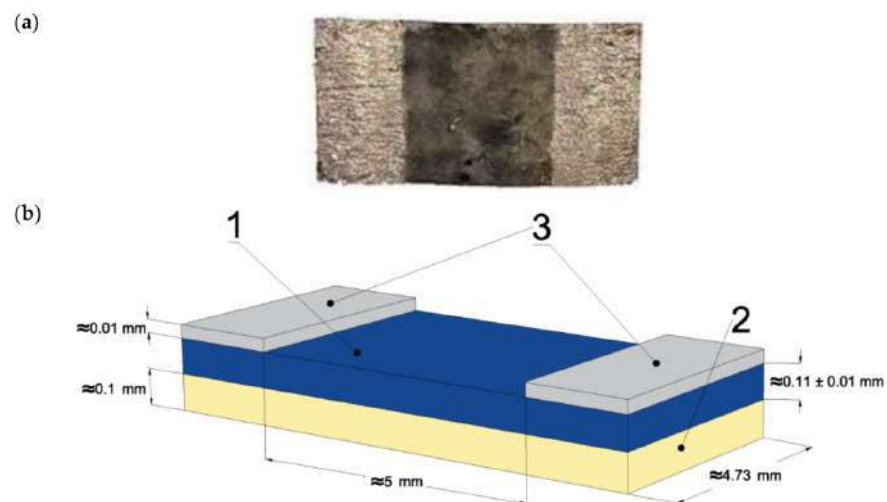


Рисунок 2.5 – Фото зразка (а) та схема вимірювання нанокompозиту (б). Позначення: 1 – місце розміщення нанокompозиту, 2-діелектрична підкладка, 3 - контакти зі срібної пасти.

Як показано на рисунку 2.5, змінний струм, прикладений до кінців нанокompозитного шару протікає між двома контактами в шарі нанокompозиту паралельно. Тому для вимірювання параметрів змінного струму в нанокompозитному шарі було обрано паралельну схему еквівалентного опору параметрів змінного струму нанокompозиту. Вимірювання проводили в

діапазоні температур від 20 К до 305 К (70 температур) і частот від 50 Гц до 1 МГц.

#### **2.6.6. Дослідження біосумісності мембран**

Для оцінки цитотоксичності та біосумісності мембран PCL-MXene використовували дермальні фібробласти людини D6 з пасажем P6 отриманих від дослідницької групи програми "Фармація" медичного факультету Латвійського університету. Використання первинних клітин із замороженого первинного клітинного фонду було схвалено Комітетом з етики Інституту експериментальної та клінічної медицини Латвійського університету ( UL № 71-35/17 виданий 04.06.14 р.). Мембрани стерилізували методом занурення у 70% етанол на 30 хвилин і промивали PBS 5 разів по 5 хвилин для видалення залишків етанолу. Клітини попередньо висівали на матраси для культивування клітин T75 (Sarstedt, Німеччина) за стандартних умов культивування в середовищі Ігла в модифікації Дульбеко з додаванням живильної суміші F-12 (DMEM/F-12 3:1 v/v) з L-глутаміном, що містить 100 ОД/мл пеніциліну та 100 мкг/мл стрептоміцину (Thermo Fisher Scientific, США), 2,5 мкг/мл амфотерицину В та фетальною бичачою сироваткою (10 % від об'єму середовища) у зволоженій атмосфері з 5% CO<sub>2</sub> при 37°C; з оновленням середовища кожні 2-3 дні. Всі реагенти для культивування клітин були придбані у Sigma-Aldrich, США. Круглі зразки діаметром 5 мм поміщали в 96-лунковий планшет для культивування тканин (Sarstedt) і висівали дермальні фібробласти на мембрани з щільністю  $1 \times 10^4$  клітин/см<sup>2</sup> в 200 мкл модифікованого середовища для культивування клітин. Клітини, висіяні в лунки без мембран, слугували позитивним контролем, лунки з середовищем слугували, як негативний контроль. Усі зразки та контроль аналізували в трьох повтореннях. Через 24 години в кожну лунку додавали 10% від об'єму середовища реагенту ССК-8 (Dojindo Laboratories, Японія) та інкубували протягом 2 годин при 37 °С; 100 мкл середовища з кожної лунки переносили

в новий 96-лунковий планшет і вимірювали оптичне поглинання за допомогою Tecan Infinite M200 Pro (Tecan Trading AG, Швейцарія) при довжині хвилі 450 нм в порівнянні з 620 нм. Лунки зі зразками промивали 100 мкл PBS і клітини інкубували далі в 200 мкл свіжого модифікованого культурального середовища. Аналіз ССК-8 повторювали на 3-й і 7-й день.

Після останньої доби зразки двічі промивали PBS, фіксували 4% формальдегідом (Sigma-Aldrich, Німеччина) протягом 10 хвилин і пермеабілізували за допомогою 0,1% Triton X-100 в PBS з 1% BSA. Ядра дермальних фібробластів забарвлювали Hoechst 33342 (Thermo Scientific, США) у розведенні 1:1000, а цитоскелет клітин - ActinRed 555 (Thermo Fisher Scientific). Зразки аналізували за допомогою флуоресцентного мікроскопа Nikon Eclipse TI (Nikon, Японія) в каналах DAPI і TRITC.

#### **2.6.7. Визначення антибактеріальних властивостей мембран**

Бактерії *Staphylococcus aureus* В 918 та *Escherichia coli* В 926 були отримані з Національної колекції мікроорганізмів (Інститут мікробіології і вірусології НАНУ, Київ, Україна) і зберігаються в Бактеріальній колекції Сумського державного університету. Мембрани стерилізували зануренням у 70% етанол на 30 хв і відмивали двічі PBS. Свіжовирощені бактерії розводили в бульйоні Мюллера-Хінтона до  $10^5$  клітин/мл. Зразки мембран PCL та PCL-MХene інокулювали шляхом занурення на 24 години у 24-лунковий планшет, що містив 2 мл/лунку розведеної культури. Планшети інкубували в мікропланшетному інкубаторі/шейкері (Stat-Fax-2200, Awareness Technology, inc.) при 37°C з постійним струшуванням зі швидкістю 625 об/хв. Лунки з бактеріями без мембран використовували як позитивний контроль, а лунки зі стерильним середовищем - як негативний контроль у тих самих кінцевих об'ємах. Мембрани виймали і обережно промивали фізіологічним розчином, щоб видалити нещільно прикріплені бактерії. Потім мембрани поміщали в 2 мл PBS і обробляли ультразвуком протягом 2 хв в ультразвуковій ванні

(Ultrasonics Co., Шанхай, Китай), щоб відокремити бактерії від поверхні мембрани. Кількість та життєздатність клітин, прикріплених до поверхні мембран, аналізували шляхом висіву 20 мкл суспензії на поживний агар та інкубували при 37°C протягом 24 годин, як описано [166]. Визначали кількість живих клітин (КУО/мл) з подальшим перерахунком у  $\log_{10}$ . Всі вимірювання проводили в трьох повтореннях. Аналіз даних щодо біосумісності та антибактеріальних властивостей проводили за допомогою одностороннього дисперсійного аналізу (ANOVA) з використанням програмного забезпечення GraphPad Prism 9.1.1 з  $p < 0,05$  для позначення статистичної значущості.

## **2.7. Дослідження структури та властивостей мембран PCL-MXene після обробки кисневою плазмою**

### **2.7.1. Сканувальна електронна мікроскопія з EDS та TEM**

Морфологію поверхні мембран визначали за допомогою сканувальної електронної мікроскопії (PEM, Phenom ProX, Phenom-World BV, Нідерланди), яка була оснащена енергодисперсійним рентгенівським спектрометром. Мікроскоп працював при прискорювальній напрузі 15 кВ. Для підтвердження осадження MXene на волокно PCL була проведена трансмісійна електронна мікроскопія з використанням аналітичного сканувальної електронного мікроскопа з подвійною корекцією JEOL JEM-ARM200CF при напрузі 200 кВ. TEM зображення реєстрували за допомогою CCD-камери Gatan Ultrascan 1000 XP з роздільною здатністю 2048×2048 пікселів з використанням пакету Digital Micrograph 3.43 SW (Gatan, США).

Мембрани були розрізані для отримання поперечного перерізу. Морфологію поперечного перерізу та хімічний склад зразків досліджували за допомогою SEM та лінійного сканування EDS (Рис. 2.6). Зразки фіксували за допомогою тримача зразків EM-Tec S-Clip з 1xS-Clip під кутом 90°.



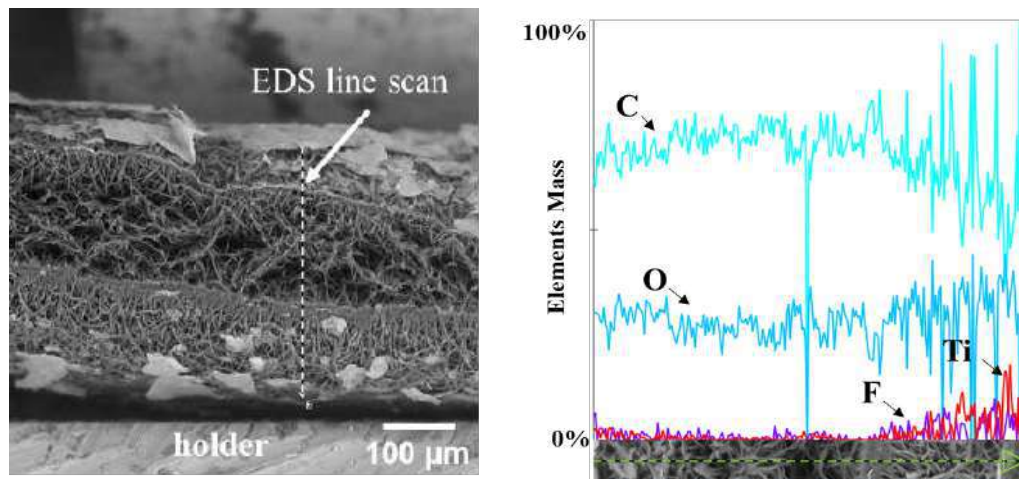


Рисунок 2.6 – Сканувальне електронно-мікроскопічне зображення поперечного перерізу мембран PCL-MXene (ліворуч) з представленням лінії EDS (пунктирна лінія), а також приклад сканування лінії EDS елементів поперечного перерізу (праворуч)

### 2.7.2. 3D-візуалізація мембран

Тривимірні зображення та субмікроуні вимірювання шорсткості зразків були створені за допомогою настільного скануючого електронного мікроскопа Phenom. На основі технології «shape from shading», 3D-зображення було використано для інтерпретації характеристик зразків. Характеристики шорсткості були представлені через середню шорсткість ( $R_a$ ) і висоту шорсткості ( $R_z$ ).

### 2.7.3. Аналіз інфрачервоної спектроскопії з перетворенням Фур'є та Раман-спектроскопія

Дослідження було проведено в співпраці з Сілезьким технологічним університетом (Глівіца, Польща). Інфрачервоні спектри з перетворенням Фур'є (FT-IR-ATR) реєстрували за допомогою спектрометра Nicolet iS10 (ThermoFisher scientific Inc, США), оснащеного аксесуаром для відбору проб з алмазним ослабленим повним відбиттям (ATR). Спектри збирали в діапазоні  $600 - 2350 \text{ cm}^{-1}$  за допомогою ртутно-кадмієвого телуридного детектора.

Спектри комбінаційного розсіювання реєстрували за допомогою конфокального раманівського спектрометра InVia фірми Renishaw (Великобританія), оснащеного мікроскопом DM2500 фірми Leica. Джерелом збудження був гелій-неоновий газовий лазер (632,8 нм). Для вимірювань використовували дифракційну решітку з 1200 ліній/мм. Під час раманівського аналізу використовували 1% від максимальної потужності лазера. Для вимірювань, проведених з використанням 50-кратного об'єктива, це призводить до ефективної потужності 7,6 мВт для лазера з довжиною хвилі 632,8 нм. Детектором слугувала камера з матрицею із зарядовим зв'язком (CCD) високої роздільної здатності. Всі зразки аналізували без попередньої обробки. Спектри комбінаційного розсіювання реєстрували в діапазоні 140 - 2000  $\text{см}^{-1}$ . Вимірювання проводили з часом експозиції 5 с і кількістю накопичення 5 спектрів. Для кожного зразка вимірювання проводили щонайменше 3 рази, в різних, випадково вибраних місцях. Для фокусування на поверхні зразка використовували 50-кратний об'єктив Leica (числова апертура об'єктива = 0,75), для якого розмір лазерного променя, що взаємодіє зі зразком, становить приблизно 2 мкм.

#### **2.7.4. Визначення контактного кута мембран**

Змочуваність поверхні мембрани вимірювали краплями деіонізованої води об'ємом 2 мкл за допомогою оптичного вимірювача контактного кута ОСА 15 ЕС, серія GM-10-473 V-5.0 (Data Physics, Філдерштадт, Німеччина). Для оцінки гідрофобності/гідрофільності твердої поверхні використовували статичні та динамічні контактні кути. Значення статичного та динамічного контактних кутів вказують на різні властивості підкладок. Спочатку ми вимірювали статичні кути контакту, коли крапля стояла на поверхні. Камера фіксує момент першої взаємодії води з поверхнею мембрани, і він виражається як постійний контактний кут  $\theta$ , відповідно, миттєві характеристики змочування субстрату. На відміну від цього, динамічне дослідження дозволяє

спостерігати процес змочування поверхні в часі. У цьому випадку камера фіксувала значення контактного кута взаємодії між поверхнею і деіонізованою водою протягом певного часу. Таким чином, вимірювалася динаміка поглинання краплі води мембранами і фіксувалися динамічні зміни її форми. Значення змочуваності вимірювалися на трьох різних мембранах, і для кожного зразка було отримано середнє значення з трьох показань.

### 2.7.5. Дослідження статичної та динамічної деградації мембран

Деградацію матеріалів оцінювали в розчині PBS. Дослідження статичної деградації зразків проводили за температури 37 °C та рН 7,4 для імітації умов деградації *in vitro*. Зразки з попередньо визначеною вагою занурювали в стерильний розчин PBS на 7 діб, після цього діставали, промивали дистильованою водою, зважували для оцінки водопоглинання ( на 1-му та 4-му тижні), висушували протягом 12 годин та зважували для оцінки втрати ваги. Розчин PBS змінювали кожні три доби. Процедуру повторювали на 1-й, 2-й, 3-й та 4-й тижень. Втрату ваги зразка розраховували за формулою:

$$\% \text{ втрати ваги} = \left( \frac{W_0 - W_d}{W_0} \right) \times 100\%, \quad (1)$$

де  $W_0$  - початкова вага зразка, г;  $W_d$  - вага зразка через певний проміжок часу, г.

Водопоглинання зразка розраховували за формулою:

$$\% \text{ водопоглинання} = \left( \frac{W_w - W_d}{W_d} \right) \times 100\%, \quad (2)$$

де  $W_w$  – волога вага зразка,г;  $W_d$  – суха вага зразка через певний проміжок часу,г.

Для оцінки динамічної деградації ми використовували установку, показану на рисунку 2.7. Зразки діаметром 5 мм поміщали в контейнери (В), стерильний розчин PBS рухався з резервуару (D) через зразки, проходив через фільтр (С) та повертався обратно до контейнеру. Швидкість потоку становила 0,8 мл за хвилину, що відповідає кровообігу міокарда [167]. Кожні три дня в резервуар D додавали новий стерильний розчин PBS. Всю процедуру деградації

проводили при 37 °С в термостаті (Е). Втрата маси ваги визначали за тією ж методикою та в однакові часові проміжки, що і для статичної деградації.

Зразки під час статичної та динамічної деградації на 2-й та 4-й тиждень видаляли для подальшого дослідження морфології та структурних особливостей за допомогою скануючого електронного мікроскопа SEO-SEM Inspect S50-B (FEI, Брно, Чехія) з прискорюючою напругою 15 кВ. Щоб уникнути накопичення поверхневого заряду, матеріали покривали шаром срібла (30–50 нм) у вакуумній установці ВУП-5М (SELMІ, Суми, Україна).

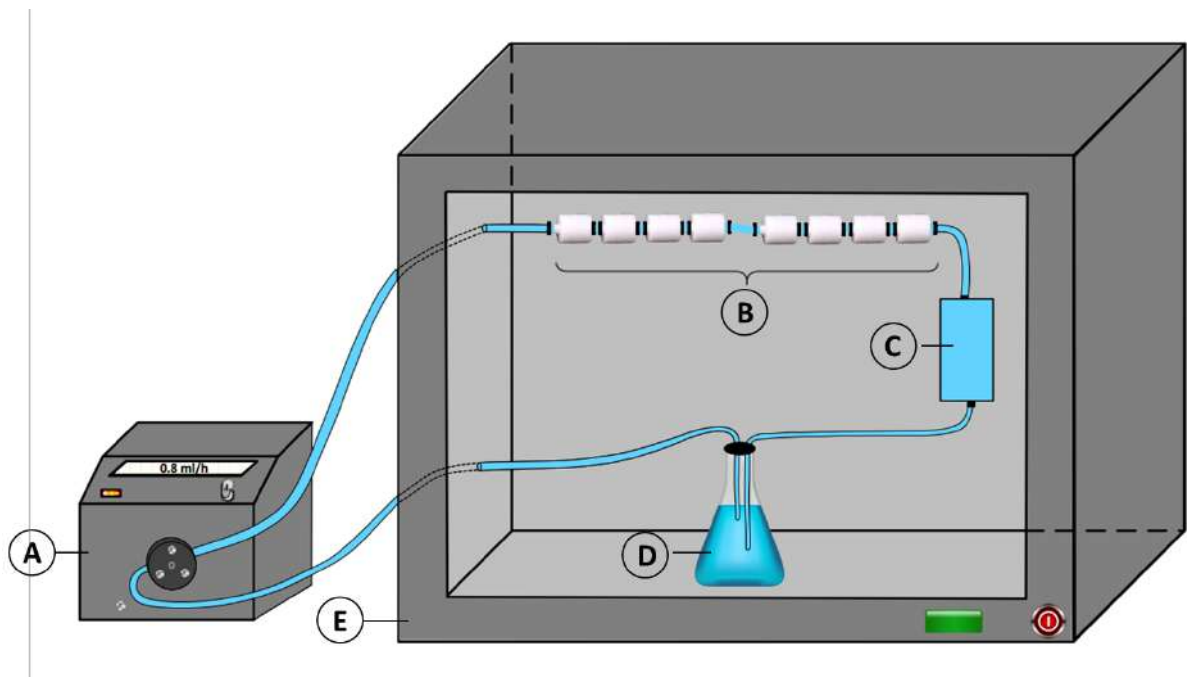


Рисунок 2.7 – Схематичне зображення установки для динамічної деградації. Позначення: А- перистальтичний насос; В- контейнер для зразків; С – фільтр; D – резервуар для розчину PBS; Е- термостат.

### 2.7.6. Вимірювання електропровідності мембран

Дослідження було проведено в співпраці з медичним факультетом Університету Нового Саду (Новий Сад, Сербія). Вимірювання опору проводили за допомогою цифрового мультиметра (EX350, EXTECH, Nashua, New Hampshire, United States). Зразки були зафіксовані за допомогою 4 зондів на відстані 1 см між ними. Кожен зразок вимірювали щонайменше 3 рази з повторюваним процесом підключення зонда для кожного вимірювання.

Загалом кожен тип зразка вимірювався щонайменше 10 разів. Після цього проводився перерахунок провідності.

### **2.7.7. Дослідження цитотоксичності та біосумісності мембран**

Для оцінки цитотоксичності та біосумісності зразків використовували дермальні фібробласти людини (D6) з пасажем P10 (схвалення Комітету з етики для досліджень у галузі наук про життя та медицини UL № 71-35/17 виданий 04.06.14 р.). Матеріали стерилізували шляхом занурення в 70% етанол на 1 годину. Після мембрани промивали фосфатно-буферним розчином 5 разів по 5 хвилин для видалення залишків етанолу. Перед початком експерименту фібробласти культивували на матрасах площею 75 см<sup>2</sup> за стандартних умов культивування, з оновленням середовища кожні 2-3 дні. Використовували середовище Ігла в модифікації Дульбеко з додаванням живильної суміші F-12 (DMEM/F-12) з L-глутаміном, що містить 100 одиниць пеніциліну, 100 одиниць стрептоміцину, 2,5 амфотерицину В на мл та фетальною бичачою сироваткою (10 % від об'єму середовища). Всі реагенти для культивування клітин були придбані у Sigma-Aldrich, США. Мембрани діаметром 5 мм поміщали в 96-лунковий планшет (Sarstedt) і висівали клітини на мембрани з щільністю  $1 \times 10^4$  клітин/см<sup>2</sup> з додаванням модифікованого середовища для культивування клітин. Клітини, висіяні в лунки без мембран, слугували позитивним контролем, а середовище без клітин і мембран - негативним контролем. За допомогою колориметричного аналізу з використанням резазуріну оцінювали адгезію клітин на першу добу і проліферацію клітин на 3-й і 7-й день. У кожен лунку додавали резазурін (Sigma-Aldrich, США) у кількості 10% від об'єму середовища. Планшети інкубували протягом 8 годин при 37°C в інкубаторі. Поглинання вимірювали за допомогою Tecan Infinite M200 Pro (Tecan Trading AG, Швейцарія) при довжинах хвиль 570 і 600 нм. Кількісне визначення клітин проводили через різні часові інтервали: 1, 3 та 7 добу. Для кожного зразка було три повтора.

Після останньої доби зразки двічі промивали PBS і фіксували 3,5% розчином формальдегіду (Sigma-Aldrich) протягом 10 хвилин. Після фіксації клітини пермеабілізували для покращення результатів фарбування розчином, що складався з 1% BSA та 0,1% Triton X-100, розведених у PBS. Цитоскелет клітин забарвлювали ActinRed 555 (Thermo Scientific, США), а ядра дермальних фібробластів - Hoechst 33342 (Thermo Scientific, США) у розведенні 1:1000. Після цього всі зразки аналізували за допомогою флуоресцентного мікроскопа (Nikon Eclipse TI Fluorescence Microscope, Японія) в каналах DAPI і TRITC.

### **2.7.8. Визначення антибактеріальних властивостей мембран**

З електропряденої PCL мембрани були вирізани зразки діаметром 5 мм. Для стерилізації мембрани занурювали в 70% етанол на півгодини. Потім зразки тричі поспіль промивали фізіологічним розчином по п'ять хвилин для видалення залишків етанолу. В експерименті використовували грампозитивні (*Staphylococcus aureus*) та грамнегативні (*Escherichia coli*) бактерії. Культури вирощували в бульйоні Мюллера-Хінтона при 37 °C в термостаті протягом ночі. Культури розводили до концентрації клітин  $10^5$  КУО/мл за допомогою денситометра та поживних середовищ.

У 96-лунковому планшеті в кожну лунку вносили 150 мкл нічної культури, що містила  $10^5$  КУО/мл. Тестові та контрольні мембрани поміщали в планшет і залишали в контакті з бактеріальними культурами на 4, 6, 8 і 24 години. Після закінчення інкубаційного періоду мембрани обережно промивали PBS, щоб видалити нещільно прикріплені бактерії. Потім зразки переносили в 1,5 мл еппендорфи, що містили 150 мкл живильного бульйону, і обробляли ультразвуком протягом 1 хвилини в ультразвуковій ванні (Ultrasonics Co., Шанхай, Китай) з параметрами: 50 Вт і 40 кГц, щоб відокремити бактерії від поверхні мембрани.

Бактеріальну суспензію використовували для оцінки загальної

метаболической активности бактерий, присутних на поверхности мембраны. Для оценки метаболической активности бактерий использовали метод восстановления резазурина с использованием коммерчески доступного раствора резазурина (CellTiter-Blue, СТВ, Promega, Madison, WI, США). Реагент резазурин добавляли в каждую лунку в концентрации 10% от объема среды, помещали в микропланшетный термощейкер, встряхивали и инкубовали при 37°C протягом 2 годин. Оптическую плотность (поглощения) измеряли при длине волны 570 нм и 600 нм с помощью Multiskan FC (Thermo Fisher Scientific). Полученные результаты количественно оценивали по формуле, выведенной из "Метода измерения цитотоксичности или пролиферации с использованием AlamarBlue методом спектрофотометрии" (Bio-Rad Laboratories). Эксперимент проводили в трехкратной повторяемости.

После завершения теста на бактериальную пролиферацию срезы готовили для сканирующей электронной микроскопии (СЕМ). Сначала срезы фиксировали в свежеприготовленном 2,5% растворе глутарового альдегида в PBS протягом 30 минут при комнатной температуре. Затем раствор глутаральдегида удаляли, а лунки промывали PBS протягом 15 минут. Дальнейший процесс обезвоживания включал последовательное погружение в этанол с возрастающей концентрацией (30%, 50%, 70%, 90% и 96%) на 30 минут каждая, с дальнейшей инкубацией в 96% этаноле протягом ночи. После обезвоживания этанол удаляли, а срезы сушили при комнатной температуре. Для улучшения проводимости и качества изображения на срезы наносили серебряное покрытие. Сканирующую электронную микроскопию проводили с помощью прибора SEO-SEM Inspect S50-B. Изображения каждого среза были получены при фиксированных увеличениях и настройках.

## 2.8. Статистические методы обработки

Данные экспериментальных исследований были представлены как среднее значение признака ( $M$ ) и  $\pm$  стандартное отклонение ( $SD$ ) для непрерывных переменных, а также в виде количественных и процентных значений для номинальных

змінних. Отримані результати перевіряли на нормальність розподілу згідно критерію Колмогорова-Смірнова. Розрахунок статистичної відмінності між двома вибірками проводили за допомогою t-критерію Стьюдента, між трьома чи більше групами за допомогою однофакторного дисперсійного аналізу ANOVA з подальшою поправкою Бонфероні. Результати всіх використовуваних методів вважали статистично значущими при значенні  $p < 0,05$ . Розрахунки проводили за допомогою програмного забезпечення Microsoft 365 Excel з доповненням для статистичної обробки Analysis ToolPak та GraphPad Prism v. 8.0.1.244.

Основні результати цього розділу опубліковані в працях [158-162], [168], [169]



## РОЗДІЛ 3

### РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

#### 3.1. Дослідження структурних властивостей PCL-мембрани без обробки

##### 3.1.1. Сканувальна електронна мікроскопія

PCL мембрана складається з хаотично орієнтованих волокон різного діаметру, що варіюються від  $\leq 0,5$  мкм до 2 мкм. Розподіл волокон за діаметром показує переважання тонких волокон ( $\leq 0,5$  мкм), частота яких перевищує 80% (Рис. 3.20). Рандомна орієнтація волокон призводить до утворення в мембрані численних взаємопов'язаних пор, частка пористої поверхні яких коливається від  $\leq 0,5$  до 2 мкм<sup>2</sup>. Дрібні пори складають більшість (87,6%) від загального об'єму пор (рис. 3.1).

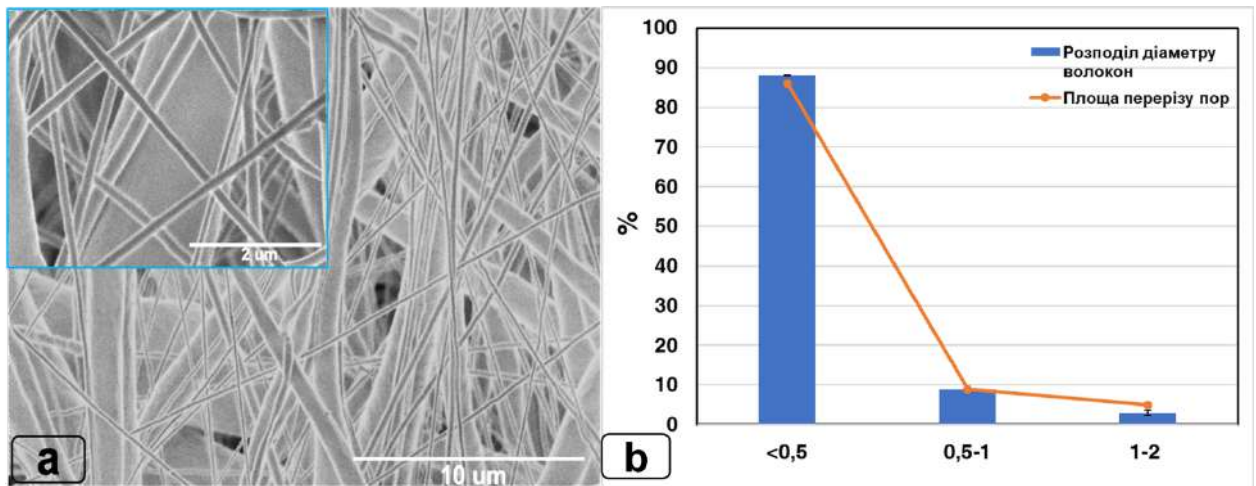


Рисунок 3.1 Зображення сканувальної електронної мікроскопії електропрядених мембран (а), "розподіл діаметру волокон" (мкм) та "площа перерізу пор" (мкм<sup>2</sup>) (б). Збільшення основного зображення - x5000 (масштаб = 10 мкм), а на вставці – x25K (масштаб = 2 мкм).

#### 3.2. Дослідження структурних властивостей суспензії MXene

##### 3.2.1. Сканувальна електронна мікроскопія з дифракцією рентгенівських променів

Результати сканувальної електронної мікроскопії з XRD отриманої суспензії MXene представлено на рис. 3.1, де рентгеноструктурний аналіз на

рисунку 3.1.(a) вказує на отримання чистого матеріалу  $Ti_3C_2T_x$  MXene. СЕМ демонструє, що наночастинки MXene мають типову полігональну форму, з розміром від 25 до 500 нм (рис. 3.2., b,c).

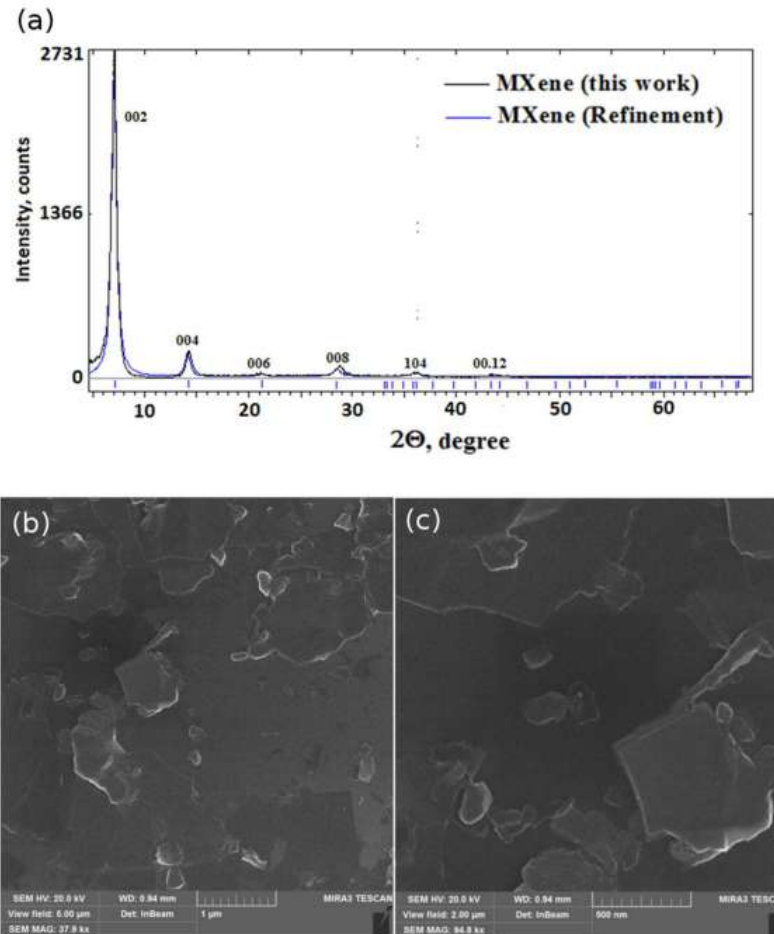


Рисунок 3.2 – XRD (a) та СЕМ (b, c - різні збільшення) аналізи отриманого MXene.

### 3.2.2. Трансмійсна електронна мікроскопія

На рисунку 3.3 (a, b) представлені ТЕМ - зображення зразків чистого  $Ti_3C_2T_x$  MXene. Видно, що зразки демонструють добре відшаровування після проведення процесу деламінації. У деяких ділянках, MXene майже прозорі для електронного променя, тому що товщина близька до декількох атомних відстаней [170]. Подальший аналіз дифракції електронів у вибраній області (SAED) виявив гексагональну решітку  $Ti_3C_2T_x$  з високою кристалічністю [171]. Розподіл титану в кристалічній решітці має забезпечувати задовільну електропровідність. Залежно від концентрації та товщини (періодичності шарів) кристалічна структура MXene змінюється від монокристалічної до

полікристалічної. Параметри ґратки збільшуються в таблицній структурі  $Ti_3C_2T_x$  (гексагональна симетрія  $R\bar{6}3/mmc$ )  $a = 3.183 \text{ \AA}$  ( $atab = 3.071 \text{ \AA}$ ),  $c = 15.68 \text{ \AA}$  ( $ctab = 15.131 \text{ \AA}$ ). Для проведення тесту на окислення зразки MXene витримували на повітрі протягом двох тижнів. В результаті аналізу було виявлено, що кристалічність зразків знизилася (рис. 3.3, с). Деякі наночастинки демонструють перехід до діоксиду титану ( $TiO_2$ ), але спостерігався лише локальний розклад до кисневих сполук. Крім того, під термічним впливом електронного пучка структура шарів MXene миттєво змінювалася. Білі ділянки  $TiO_2$  змінювалися на чорні, що означало, що окислення зразків було лише частковим і потенційно оборотне після термічного відпалу.

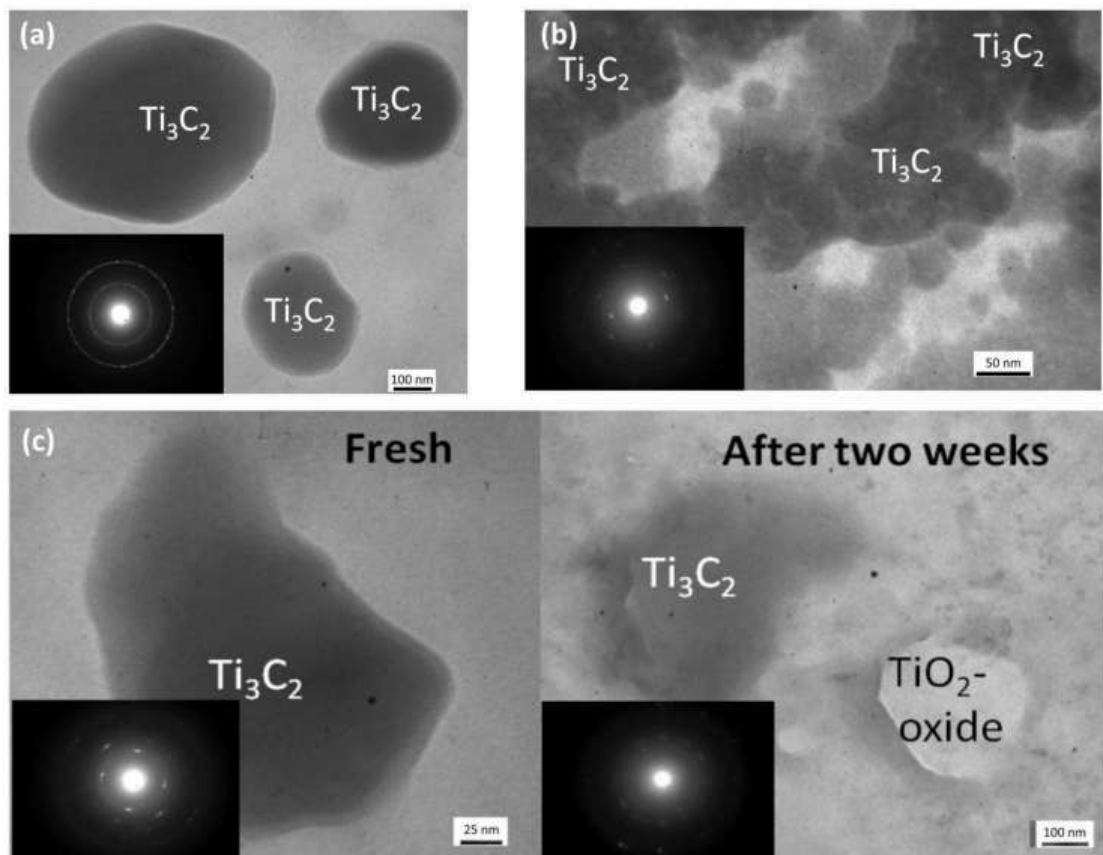


Рисунок 3.3 – ТЕМ-зображення структури  $Ti_3C_2T_x$  MXene та їх електронно-дифракційні картини: висококонцентровані наночастинки (а), низькоконцентровані наночастинки (b), тест на окиснення (с).

### 3.3. Дослідження фізико-хімічних та структурних властивостей PCL - MXene мембран після обробки сірчаною кислотою

#### 3.3.1. Сканувальна електронна мікроскопія з EDS

Сканувальна електронна мікроскопія демонструє рівномірний розподіл волокон і наявність пор та агломератів зумовлених наночастинками суспензії MXene. На рисунку 3.4 можемо спостерігати спаювання нановолокон під дією сірчаної кислоти, що зумовлює зменшення пористості мембрани.

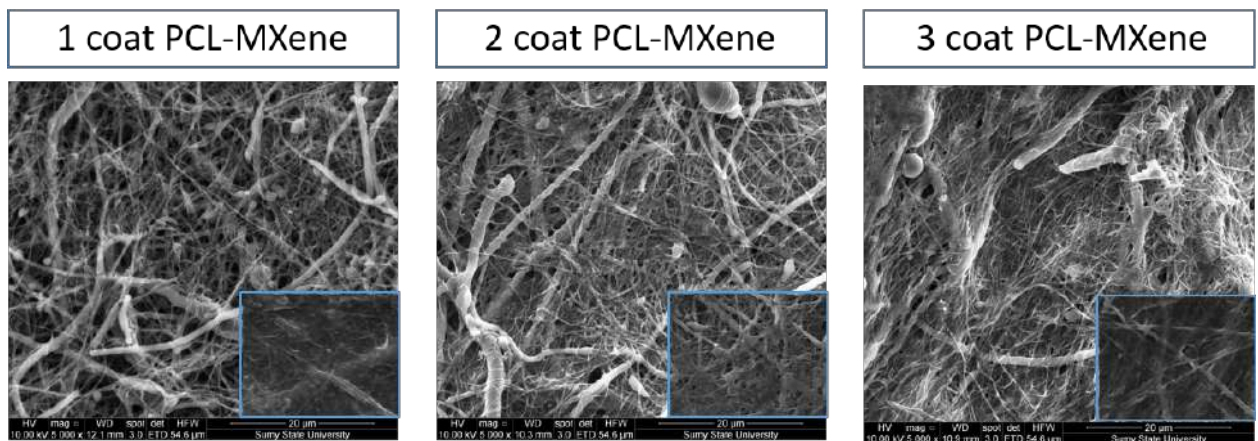


Рисунок 3.4 Зображення сканувальної електронної мікроскопії нанокompозитів PCL-MXene після обробки  $H_2SO_4$ . Збільшення основних зображень  $\times 50$  (масштаб = 20 мкм), а на вставках –  $\times 150$  (масштаб = 5 мкм).

Метод електропрядіння дозволяє отримати високопористу мембрану з переважанням діаметру волокон до 100 нм. Після обробки сірчаною кислотою мембрани PCL спостерігаються значні зміни у розподілі волокон за діаметром (переважаючий діаметр зміщується до діапазону більше від 100 нм) та відповідно за розподілом площі перерізу пор (переважаючий діаметр зміщується до діапазону біля 500 нм).

Можна відзначити, що подальше зменшення відсотка пор в діапазоні менше 500 нм призводить до отримання мембран з 2 і 3 шарами MXene відповідно (рис. 3.5, b). Це пояснюється тим, що в першу чергу заповнюються пори меншого розміру за рахунок розміру наночастинок MXene, що забезпечує більш глибоке просякнення PCL мембрани.

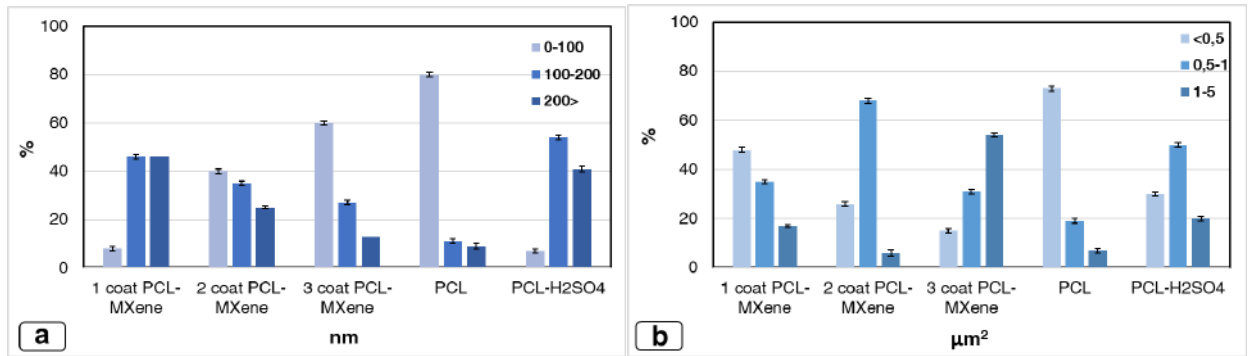


Рисунок 3.5 Розподіл діаметра волокон (а) та площі перерізу пор (б) нанокompозитів PCL-MXene мембран залежно від кількості нанесень MXene.

EDS-картування (рис. 3.6) показало, що елементний склад поверхні іммобілізованих нановолокон складається з С, О і Тi, де елементи С і О походять з нановолокон PCL, а елементи Тi і С свідчать про присутність MXene.

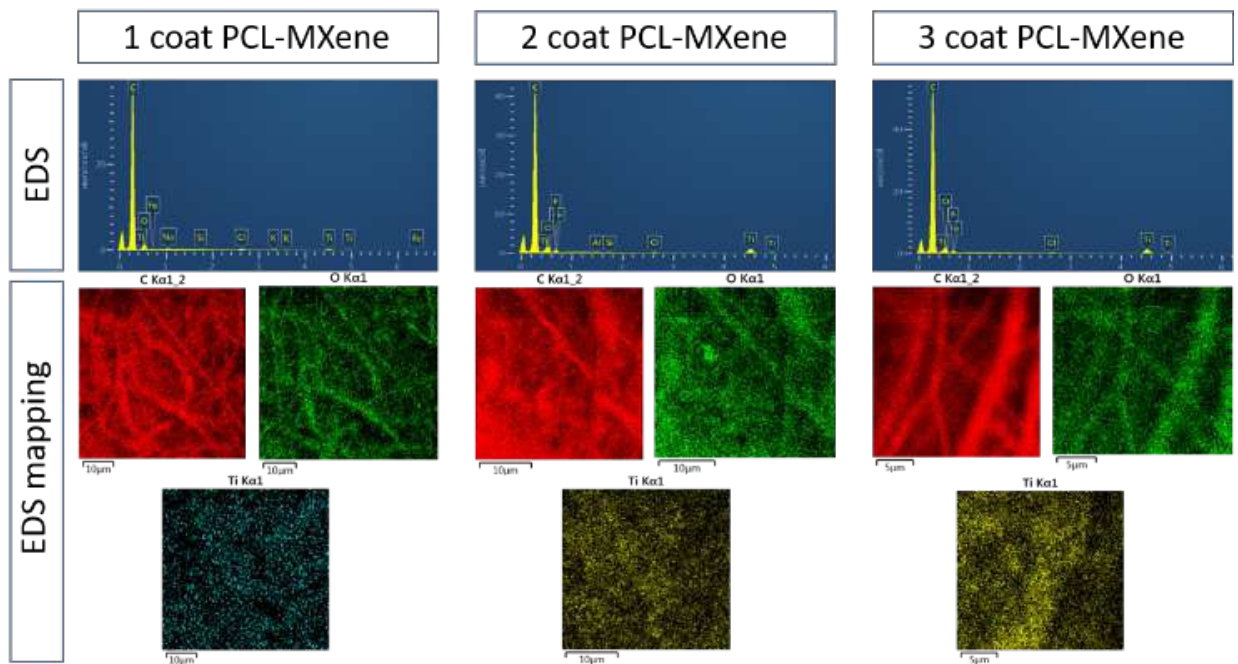


Рисунок 3.6 EDS-картування PCL-MXene мембрани з різною кількістю осаджень MXene після обробки сірчаною кислотою.

Аналіз EDS виявив збільшення відсотку титану в оброблених зразках залежно від кількості повторень процедури (Рис. 3.7).

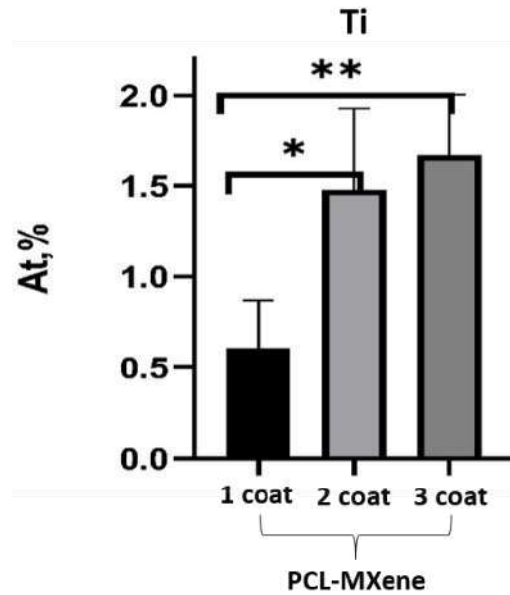


Рисунок 3.7 EDS-аналіз титану в електропрядених мембранах, іммобілізованих різними концентраціями MXene.

### 3.3.2. Дослідження цитотоксичності PCL-MXene скафолдів

Присутність  $Ti_3C_2T_x$  дещо впливає на сприяння взаємодії клітин і біоматеріалу. Життєздатність, адгезія та проліферація клітин підвищилися в однакові часові точки як для волокон з покриттям, так і для чистих зразків PCL. Клітини, культивовані на зразках, продемонстрували помірну біосумісність і здатність підтримувати проліферацію клітин протягом п'яти днів після експерименту (Рис. 3.8).

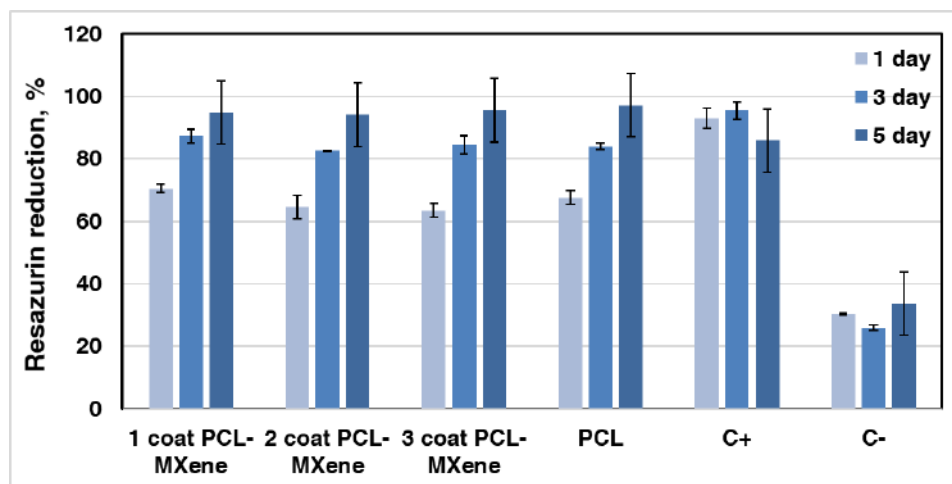


Рисунок 3.8 Визначення цитотоксичності PCL-MXene мембран з різною кількістю покриття за допомогою визначення рівня редукції резазурину за різні проміжки часу. Клітини в лунках без мембран/MXene використовували



як позитивний контроль (C+), а комплексне культуральне середовище – як негативний контроль (C-).

Флуоресцентна мікроскопія дозволила продемонструвати адгезію та проліферацію дермальних фібробластів на PCL мембранах з різною кількістю покриття MXene (Рис. 3.9).

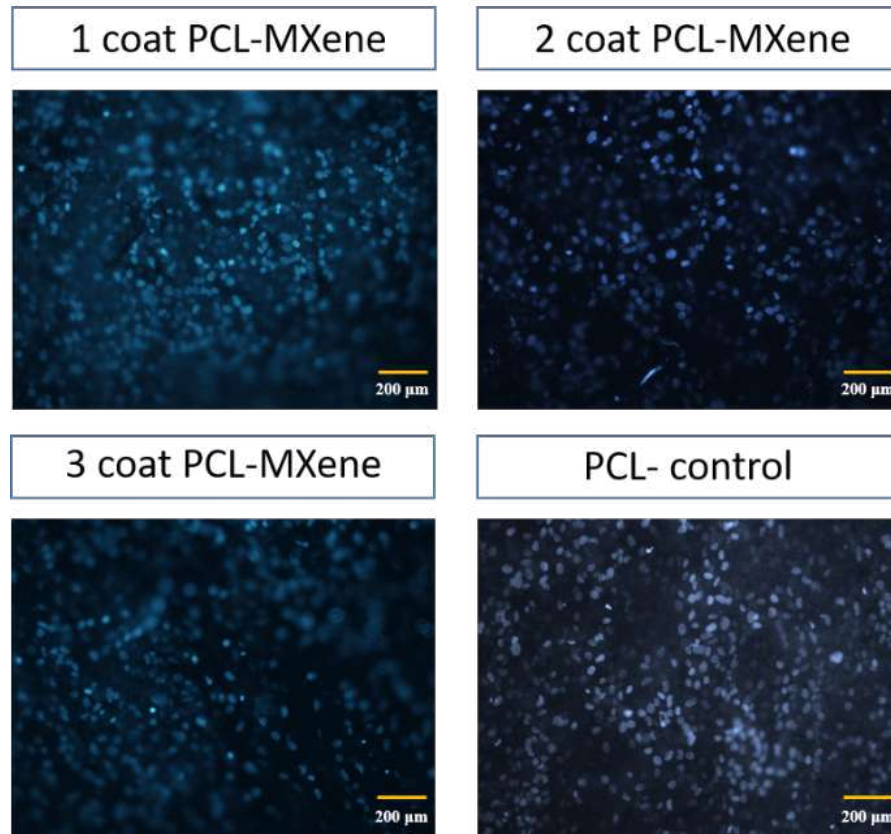


Рисунок 3.9 Флуоресцентне зображення ядер дермальних фібробластів пофарбованих DAPI на PCL-MXene мембранах після 5-ти денного культивування.

### **3.4. Дослідження структури та властивостей мембран PCL-MXene після обробки гідроксидом натрію**

#### **3.4.1. Сканувальна електронна мікроскопія з енергодисперсійною рентгєнівською спектроскопією (EDS)**

Після нанесення MXene, мембрани набули характерного темного кольору, який ставав темнішим зі збільшенням кількості осаджень MXene (рис. 3.10, А). Поперечний TEM-аналіз показав, що кілька окремих частинок MXene щільно вкривають поверхню нановолокна, огинаючи його вигнуту поверхню

(рис. 3.10, В, світле поле (BF); положення наночасток МХене позначено червоними стрілками). Ідентичність МХене була підтверджена EDS-картуванням титану (рис. 3.10, С). EDS-картування вуглецю підтвердила органічний склад волокон, також показало сліди фтору, присутнього в МХене, який зазвичай залишається в структурі МХене після витравлювання шару Al з початкової МАХ фази плавиковою кислотою (рис 3.11). Крім того, СЕМ-зображення також показали, що поверхня волокон PCL була вкрита наночастками МХене (рис. 3.10, D, показані зеленими стрілками).

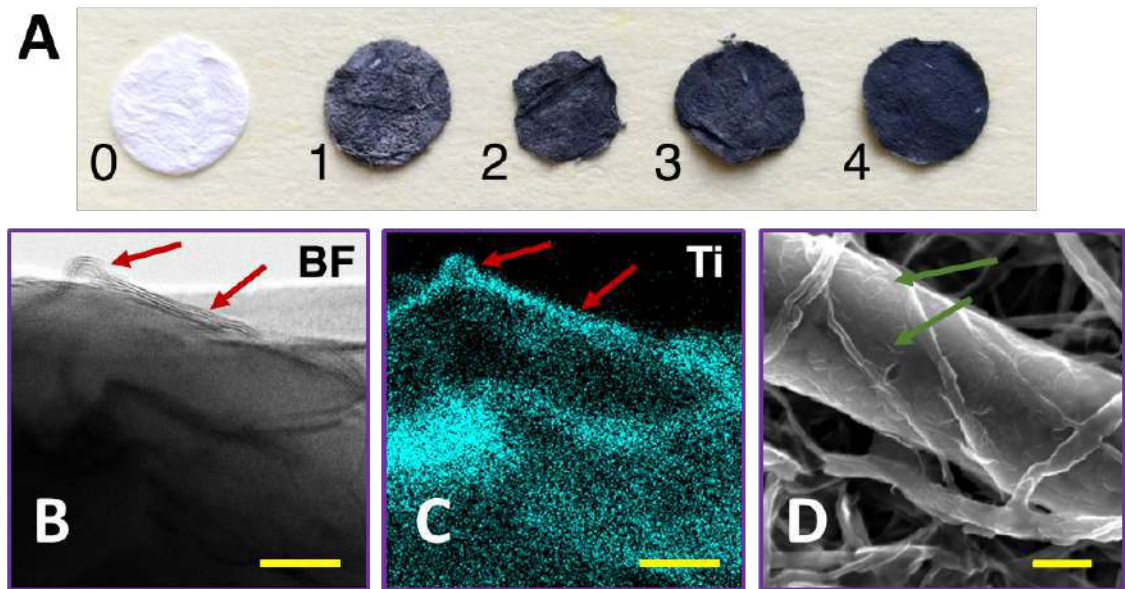


Рисунок 3.10 Зображення зразків PCL мембрани з іммобілізованими МХене. Позначення: А - мембрани діаметром 5 мм сфотографовані при денному світлі, де 0 – вихідна PCL мембрана, а 1, 2, 3, 4 - зразкам PCL-MX-1 і PCL-MX-4, відповідно; В, С, D, візуалізація наночасток МХене на поверхні волокон PCL, де В - яскравопольне TEM-зображення нанокompозита PCL-MXene (червоні стрілки вказують на наночастини МХене), С – EDS-картування, що показує розподіл Ti в тій же області, що і на рис. 3.9 (В), шкала масштабу = 30 нм, D - СЕМ-зображення (x15 000) зразка PCL-MXene, де видно МХене на поверхні волокон PCL (масштаб = 1 мкм).



Морфологія поверхні покритих нановолокон змінюється зі збільшенням кількості шарів MXene від 1 до 4 (рис. 3.11). Середня товщина волокна становила  $1,87 \pm 0,56$  мкм, без чіткої залежності загальної товщини від кількості шарів MXene. EDS картування показало (рис. 3.11 і табл. 1), що поверхня нановолокон з іммобілізованим MXene складається з елементів C, O, Ti, F і Cl, де O походить з нановолокон PCL і поверхневих закінчень MXene, тоді як Ti і F підтверджують присутність MXene (елементи F і Cl можуть бути пов'язані з протоколами травлення MAX фази і розшаруванням багат шарового MXene); а C може бути знайдений як в полімерній основі, так і в складі MXene. Вміст Ti мав тенденцію до зростання зі збільшенням кількості осаджень MXene (табл. 1). Різниця, однак, не досягла статистичної значущості, незважаючи на велику кількість (понад 20) точок, зафіксованих для кожного зразка. Це відображає той факт, що поверхневий шар MXene був тонким і неоднорідним, що видно при детальному розгляді (рис. 3.11).

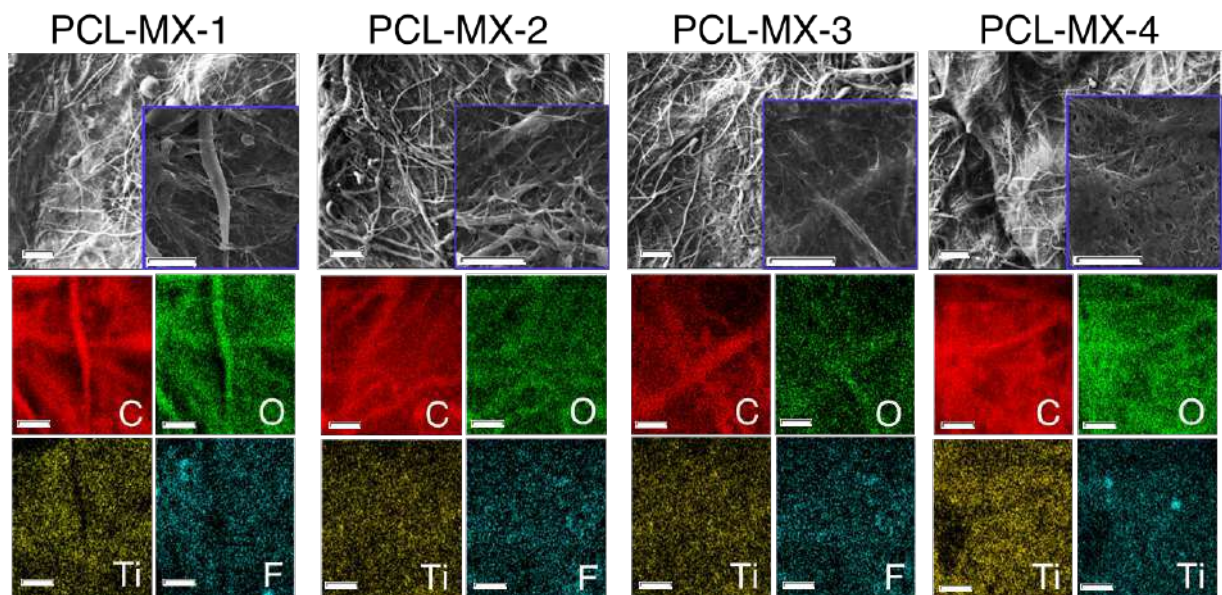


Рисунок 3.11 Зображення СЕМ (верхній ряд) демонструють структуру поверхні PCL матеріалів з різною товщиною шарів MXene; нижні панелі показують елементне картування EDS для елементів C, O, Ti і F в композитних нановолоконних мембранах (масштаб = 10 мкм).

Таблиця 1. Елементний склад наноккомпозитів PCL-MXene, вимірний методом СЕМ з енергодисперсійною рентгенівською спектроскопією (ат. %)

|                 | <b>C</b> | <b>O</b> | <b>Ti</b> |
|-----------------|----------|----------|-----------|
| <b>PCL-MX-1</b> | 77 ± 4.0 | 20 ± 2.5 | 2.3 ± 2.5 |
| <b>PCL-MX-2</b> | 77 ± 3.4 | 19 ± 2.6 | 2.5 ± 2.3 |
| <b>PCL-MX-3</b> | 77 ± 4.0 | 18 ± 3.5 | 3.5 ± 4.4 |
| <b>PCL-MX-4</b> | 75 ± 4.1 | 20 ± 2.7 | 4.1 ± 3.0 |

### 3.4.2. Трансмійсна електронна мікроскопія та спектроскопія втрат енергії електронів (EELS)

Для характеристики наноструктури, фазового складу, морфології, розміру та хімічного складу поверхневих шарів зразка, осаджених MXene на нановолокнах PCL, було використано TEM у поєднанні зі спектроскопією втрат енергії електронів (EELS) (рис. 3.13). Зображення TEM при малому збільшенні та висококутові кільцеві зображення в темному полі (HAADF) STEM (рис. 3.13, А, В), мають вигляд 2D наноламінатів, осаджених на нановолокнисту PCL-мембрану. Наноламінати на поверхні волокон мають 2D неправильну форму з поперечним розміром від 0,4 мкм до 0,7 мкм. Гексагонально розташовані дифракційні плями на обраній ділянці електронної дифракції (SAED) показали монокристалічну структуру MXene (рис. 3.12).

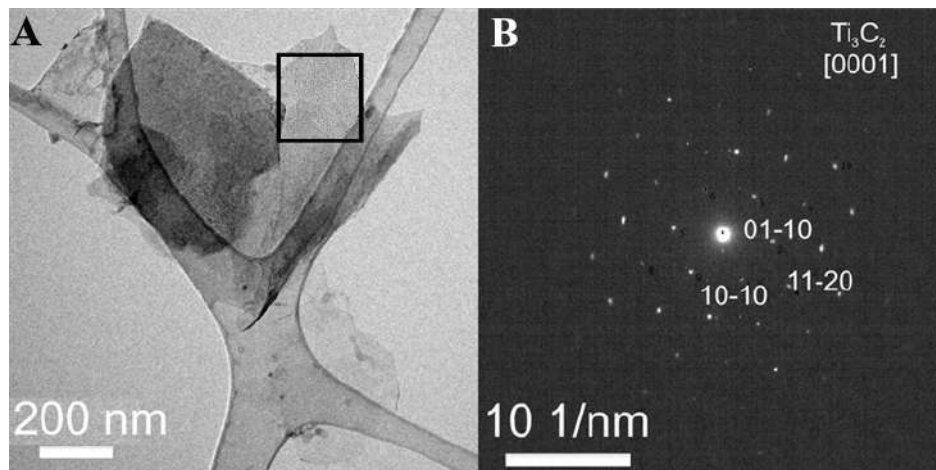


Рисунок 3.12 Монокристалічна структура MXene. Позначення: А- BF TEM зображення кластера нанолістів; В- SAED зображення. Дифракція SAED була зареєстрована з області пластівців розміром близько 200 нм.

Хімічний склад наноламінатів був визначений за допомогою спектроскопії втрат енергії електронів. Спектр EELS з втратою ядра, знятий з наноламінатів, показаного на рис. 3.13 (В), демонструє характерні С-К, Ti-L<sub>3,2</sub> та О-К грані. Титан і вуглець є елементами, що входять до хімічного складу MXene. Кількісне визначення спектрів EELS показало, що MXene складаються з 62,5% Ti і 37,5% С, (Ti/C=1,67), що є близьким до стехіометричного складу Ti<sub>3</sub>C<sub>2</sub>T<sub>x</sub> (Ti/C=1,5) MXene.

На рис. 3.13 (С) показано репрезентативне зображення краю волокна, отримане методом HRTEM. Верхнє зображення, отримано за допомогою процедури швидкого перетворення Фур'є (FFT), підтверджує одношарове розташування MXene.

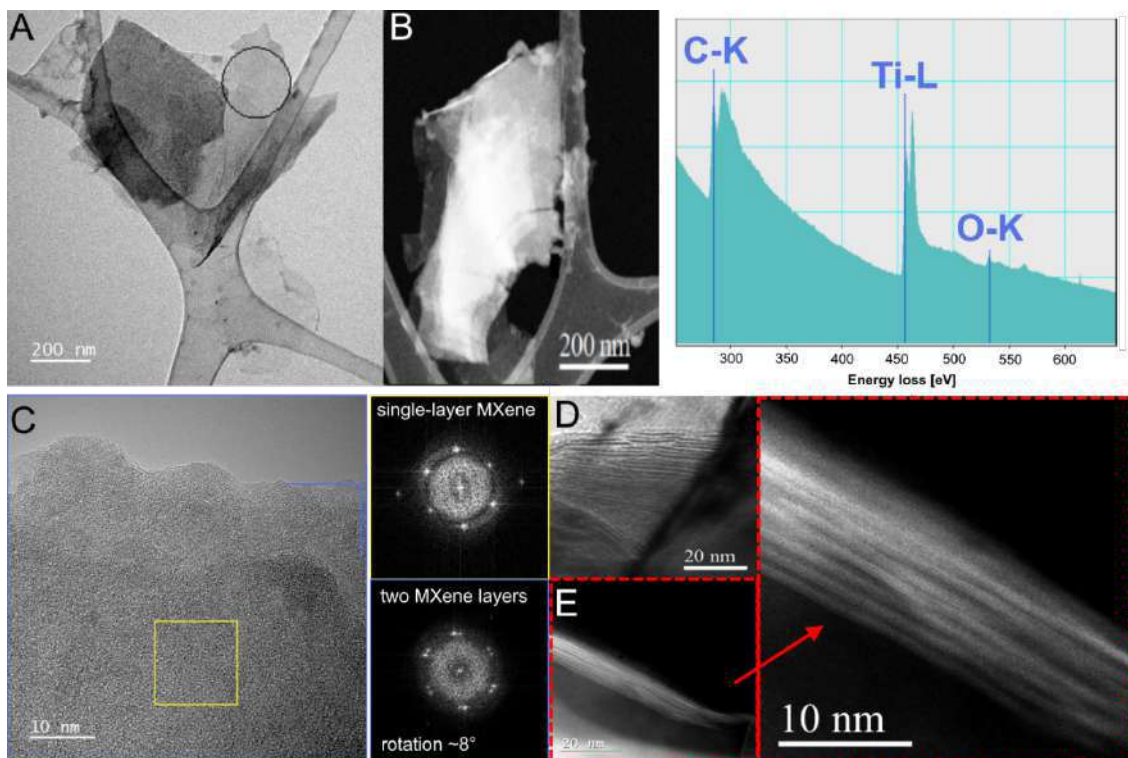


Рис. 3.13 А - BF TEM-зображення кластера нанолістів; В - TEM-зображення розшарованих нанолістів, що демонструє стопку шарів MXene та їхній EELS-

спектр з втратою серцевини; С - TEM-зображення краю нанопластівця з відповідними FFT-патернами; D - бічний вигляд листів MXene, що демонструє кілька шарів нанопластівців; E - TEM-зображення поперечного перерізу багатошарового пластівця загальною товщиною від 8 до 20 нм і 9 нм.

Поперечний переріз (перпендикулярний до с -осі) TEM зображення з високою роздільною здатністю (HR) підтверджує структуру  $Ti_3C_2T_x$  MXene (рис. 3.13, D), де ми можемо побачити, що переважають одно- і двошарові листи, але також були знайдені багатошарові нанопластівці, що складаються з 12 листів MXene. Відстань між шарами в багатошарових наночастках варіювалася від 1,10 нм до 1,36 нм. Товщина нанопластівців  $Ti_3C_2T_x$  зазвичай не перевищувала 15,8 нм, залежно від кількості шарів у ламелі. На рис. 3.13 (E) показано зображення HAADF STEM у поперечному перерізі багатошарової наноламінату з нерівномірними проміжками між листами. Товщина нанолістів варіювалася між 8 і 9 нм. Листи MXene щільно вкривали поверхню волокон PCL, як показано на рис. 3.14.

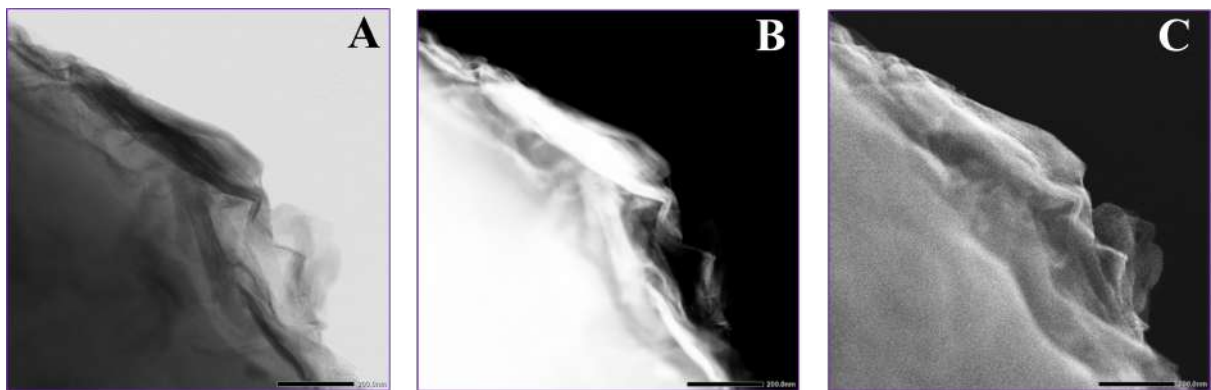


Рисунок 3.14 А- STEM; В-НАADF STEM; С- зображення листів MXene на поверхні нановолокон PCL за допомогою сканувальної електронної трансмісійної мікроскопії (масштаб = 200 нм).

### 3.4.3. Визначення контактного кута мембран

Вимірювання контактного кута з водою підтвердило гідрофобну природу електропряденої PCL мембрани ( $130 \pm 3^\circ$ ) (рис 3.15).

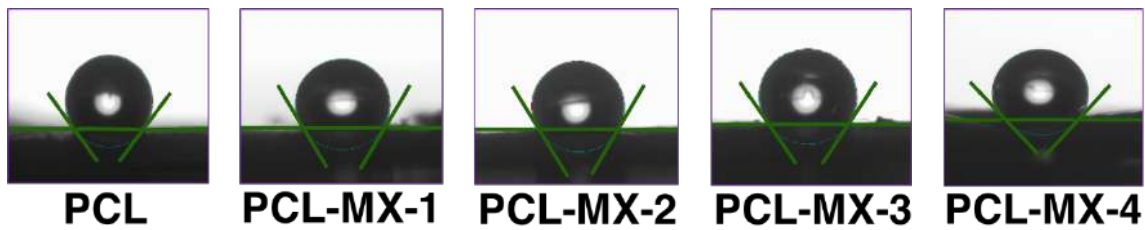


Рисунок 3.15 Зображення крапель води на мембранах PCL і PCL-MX під час визначення статичного контактного кута.

Нанесення MXene на нановолокнисті PCL мембрани призвело до значного ефекту зменшення контактного кута в PCL-MX-1 та PCL-MX-2, але з меншим ефектом після 3-го та 4-го покриттів (рис. 3.16, А).

Однак статичний контактний кут обох мембран PCL-MX-1 і PCL-MX-2 все ще перевищував  $90^\circ$ . Для дослідження динаміки поглинання краплі води мембранами було проведено визначення динамічного контактного кута. Динамічний контактний кут PCL мембрани не змінювався протягом 2 с і коливався в межах  $125-145^\circ$ . Одноразове та дворазове нанесення шарів MXene призвело до значного зменшення контактного кута до  $91^\circ$  та  $43^\circ$  відповідно. Однак збільшення кількості шарів MXene до 3 і 4 не призвело до подальшого зменшення динамічного контактного кута (рис. 3.16, В). Раніше було показано, що лужна попередня обробка мембрани PCL з рівномірним розподілом MXene по волокнах призвела до збільшення функціональних груп -ОН і -СООН, що збільшило зв'язок Н, а також збільшило гідрофільність [172]. Аналізуючи дані можна припустити, що надмірне осадження MXene (понад 3 шари) може збільшити шорсткість поверхні та збільшити гідрофобність мембрани за рахунок нашарування наночастинок MXene, що може вплинути на контактний кут.



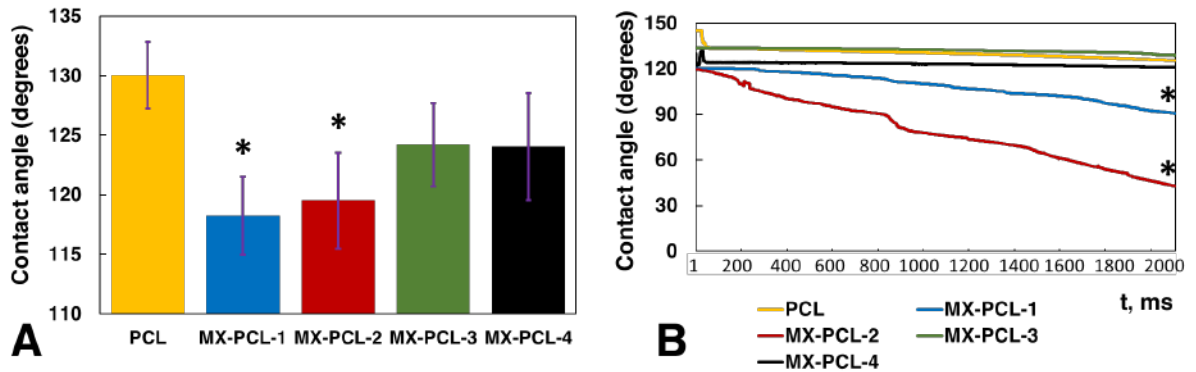


Рисунок 3.16 А - статичні та В - динамічні дані контактного кута на PCL-MXene мембранах, де PCL - брався за контроль. Зірочки позначають значні відмінності між контрольною та досліджуваною групою при  $p \leq 0,05$ .

#### 3.4.4. ІЧ-Фур'є спектроскопія електропрядених нановолокнистих PCL-MXene мембран

На рис. 3.17 показано інфрачервоний спектр ослабленого повного відбиття (ІЧ ATR) поверхні мембрани. Всі спектри містять сигнали, характерні для PCL. Піки при 2943 і 2865  $\text{cm}^{-1}$  відповідають асиметричним і симетричним коливанням розтягування в групі  $\text{CH}_2$ . Найвищий пік при 1727  $\text{cm}^{-1}$  належить карбонільній групі ( $\text{C}=\text{O}$ ). Сигнали при 1240 і 1167  $\text{cm}^{-1}$  відповідають псевдпорядкованим  $\text{C}-\text{O}$  і  $\text{C}-\text{C}$  розтягуванням у кристалічній фазі PCL. Смугом асиметричного і симетричного розтягування  $\text{C}-\text{O}-\text{C}$  можуть відповідати піки при 1235  $\text{cm}^{-1}$  і 1158  $\text{cm}^{-1}$ , відповідно; пік при 665  $\text{cm}^{-1}$  походить від деформаційних коливань зв'язку  $\text{Ti}-\text{O}$ ; сигнали при 1096  $\text{cm}^{-1}$  і 1395  $\text{cm}^{-1}$  відповідають деформаційним коливанням зв'язку  $\text{C}-\text{F}$  і  $\text{O}-\text{H}$ , відповідно.

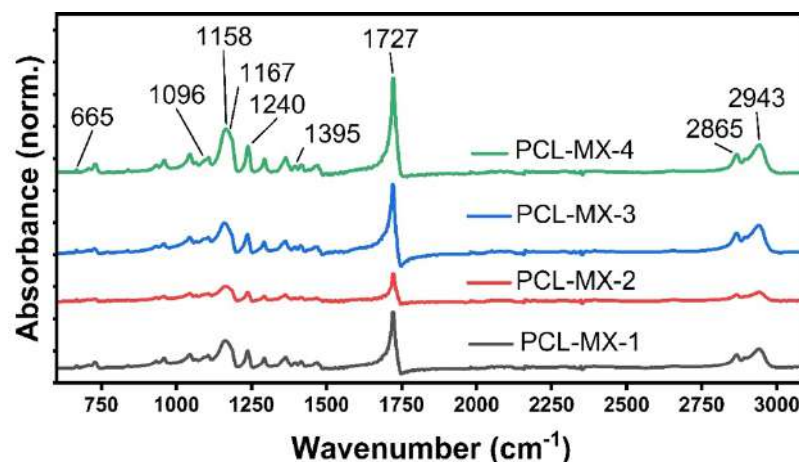


Рисунок 3.17 Спектри ІЧ-спектроскопії мембран PCL-MX.

### 3.4.5. Вимірювання електропровідності мембран

Встановлено, що скафолди PCL-MX стають провідними при ваговому співвідношенні MXene/PCL 3:10 і вище, що призводить до різких мінімумів в обох компонентах імпедансу (рис. 3.18, А, В). Як показав попередній аналіз, шари MXene залишаються непровідними в PCL-MX-1 і PCL-MX-2, ймовірно, через недостатню кількість прямих контактів між наночастинками, що перекриваються. У той же час PCL-MX-3 і PCL-MX-4 були провідними, причому провідність струму відбувалася за рахунок тунелювання електронів. Для подальшого поглибленого дослідження було обрано PCL-MX-3, оскільки в цьому матеріалі провідність була досягнута з мінімальним вмістом MXene. Частотні залежності ємності, виміряні при 3 вибраних температурах, що відповідають умовам низькотемпературного зберігання і застосування при кімнатній температурі, показані на рис. 3.18. Значення ємності, виміряні в паралельній еквівалентній схемі, повільно зменшуються зі збільшенням частоти і знаходяться в діапазоні від приблизно  $5 \times 10^{-13}$  пФ до приблизно  $1,5 \times 10^{-13}$  пФ. Такі низькі значення ємності можна пояснити малою площею поверхні і великою товщиною діелектрика досліджуваного зразка. На частоті близько  $8 \times 10^4$  Гц спостерігається різкий мінімум (рис. 3.18). Його глибина становить близько одного порядку величини, тоді як повна ширина на половині максимуму (FWHM) не перевищує  $1 \times 10^4$  Гц. Нерегулярні коливання великої амплітуди спостерігалися на частотах вище  $10^5$  Гц, що повністю спотворювало результати вимірювань. Такі коливання не спостерігалися в наноструктурованих системах інших складів [173], [174], [175].

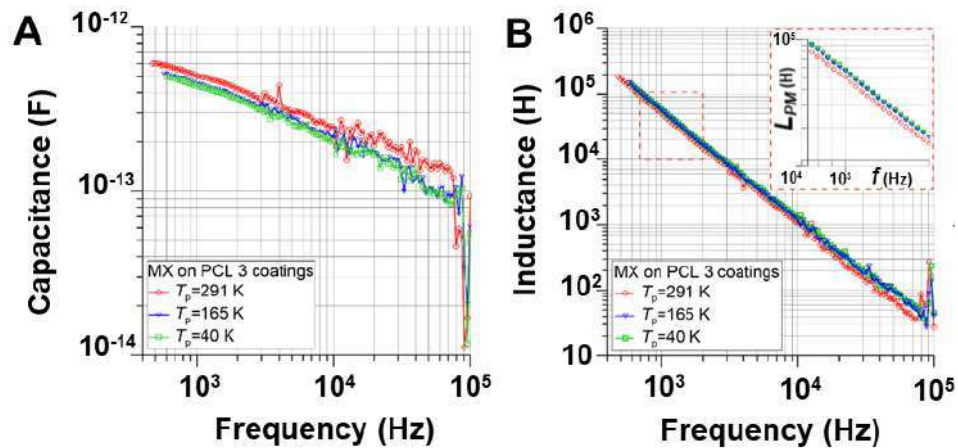


Рисунок 3.18 Частотні залежності вимірної ємності  $C_{PM}$  PCL-MX-3 при 3 вибраних температурах. Позначення: А - частотна залежність індуктивності PCL-MX-3, виміряна в паралельній еквівалентній схемі; В - індукційна діаграма густини струму у випадку резонансу струму.

Порівняння залежностей ємності та індуктивності (рис.3.18, В) показує, що частота, на якій виникає максимум індуктивності, точно збігається з частотою появи мінімуму вимірюваної ємності. Це означає, що в PCL-MX-3 присутні як ємнісні, так і індуктивні компоненти, подібні до ряду систем, що містять наночастинки провідної фази в діелектричній матриці [176], [177].

Результати свідчать про те, що покриття MXene на неоднорідних нановолокнистих скафолдах потребують певної кількості шарів для утворення суцільної плівки з MXene. На основі отриманих даних, можна сказати, що лише нанокомпозити PCL-MX-3 і PCL-MX-4 мали достатню площу листів MXene для досягнення значного рівня провідності по всьому всій нановолокнистій мембрані. Провідність мала квантову природу, створювалася завдяки стрибкам електронів через потенційні ями. PCL-MX-3 мав як ємнісні, так і індуктивні компоненти, як матеріал, який містить провідні наноструктури ( $Ti_3C_2T_x$  MXene) у діелектричній матриці (PCL).

#### 3.4.6. Дослідження цитотоксичності нанокомпозитів PCL-Mxene

У багатьох попередніх дослідженнях полікапролактону, він продемонстрував достатню біосумісність, особливо в комбінації з іншими



агентами [178], [179]. Проте було продемонстровано, що додавання наноматеріалів, таких як наночастинки срібла та міді або вуглецеві нанотрубки, зменшує адгезію та проліферацію клітин [180]. Осадження MXene на PCL волокна підвищило провідність мембран, що є важливим у тканинній інженерії для серцевої тканини. Однак біосумісність є основною вимогою до біоматеріалів [181].

Дослідження з дермальними фібробластами людини продемонстрували належну клітинну адгезію, як на електропрядених нановолокнистих PCL мембранах, так і на мембранах навантажених MXene (рис. 3.19). Протягом 7-денного експерименту швидкість проліферації клітин на скафолдах PCL-MX-2 і PCL-MX-3 була значно вищою порівняно з PCL-мембранами ( $p \leq 0,05$  і  $p \leq 0,01$  відповідно) (рис. 3.19, А). PCL-MX-2 і PCL-MX-3 продемонстрували кращу змочуваність (нижчий кут контакту) порівняно з іншими нанокompозитами та PCL - мембраною. Це свідчить про те, що іммобілізовані шари MXene сприяють адгезії та розподілу клітин за допомогою механізму, що включає взаємодію поверхонь із позаклітинним матриксом, що призводить до кращої проліферації клітин [154]. Як показало дослідження СЕМ, композити PCL-MX-2 і PCL-MX-3 показали однорідний розподіл MXene, що призвело до збільшення площі активної поверхні мембран. Разом із гідрофільною природою MXene та його великою площею поверхні з активними групами ОН- та О- ці фактори забезпечують адекватне середовище для клітинної адгезії та проліферації [182].

Флуоресцентна мікроскопія (рис. 3.19, В-Ф) продемонструвала рівномірний розподіл фібробластів, як на чистих мембранах PCL, так і на композитах PCL-MX з підвищеним вирівнюванням клітин уздовж нановолокон на PCL-MX-2 і PCL-MX-3.

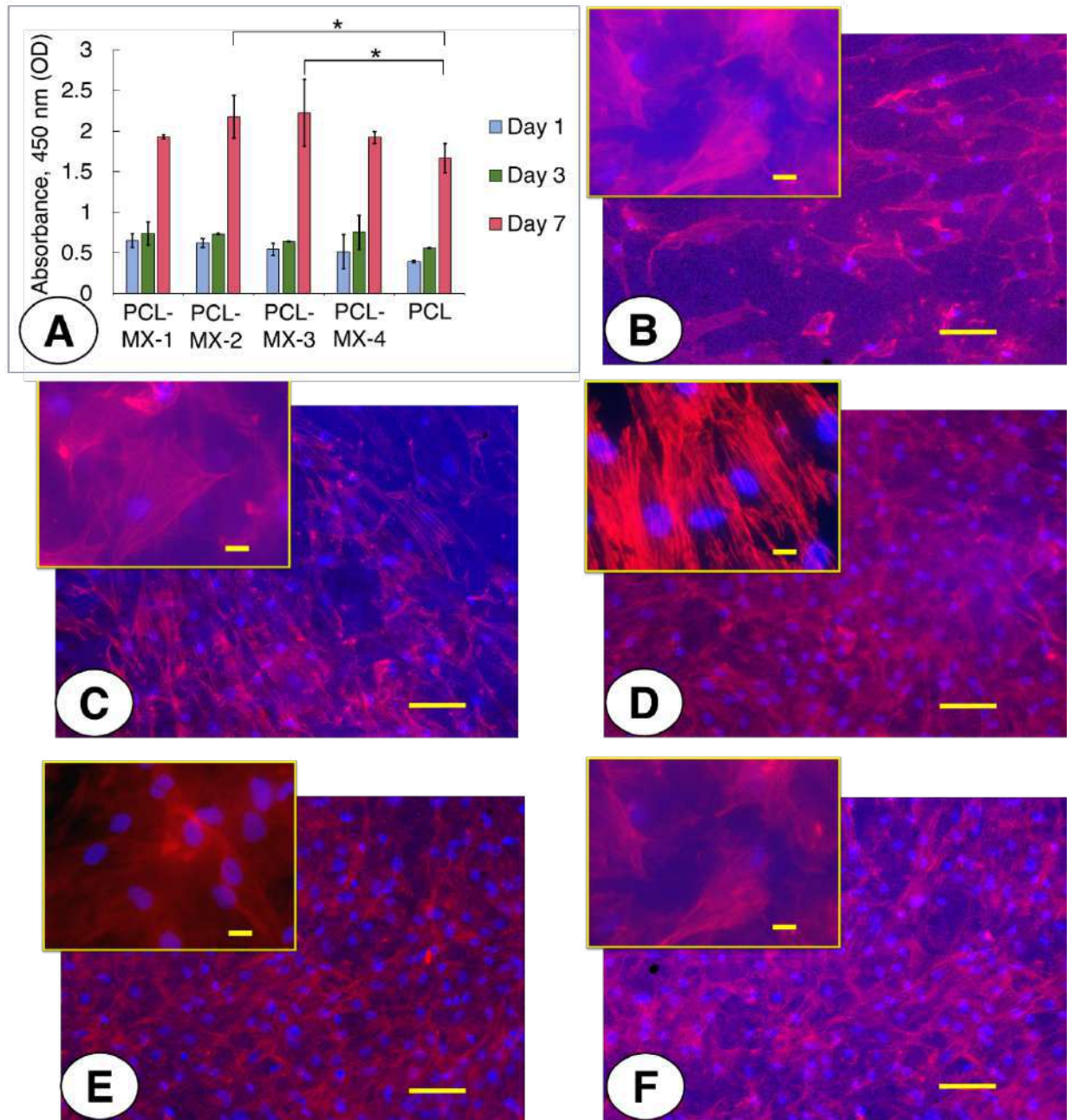


Рисунок 3.19 А - дані аналізу ССК-8 проліферації дермальних фібробластів людини протягом 7-денного експерименту (ССК-8); В-Ф - флуоресцентні зображення ядер (синій) і фарбування цитоскелету (червоний) на 7 день культивування на мембранах з різною кількістю нанесених шарів MXene, де В, PCL; С, PCL-MX-1; D, PCL-MX-2; E, PCL-MX-3; F, PCL-MX-4. Збільшення основних зображень  $\times 100$  (масштаб = 100 мкм), а на вставках –  $\times 400$  (масштаб = 20 мкм). \* – позначає суттєві відмінності між даними ССК-8 між контрольною та досліджуваною групою ( $p \leq 0,05$ ).

### 3.4.7. Визначення антибактеріальних властивостей нановолокнистих PCL-MXene мембран

Для оцінки антибактеріальних властивостей електропрядених PCL мембран із осадженим MXene визначали часо-залежну антибактеріальну/антиадгезивну активність [183]. Бактеріальну адгезію та утворення біоплівки оцінювали через 6 годин і 24 години культивування в бактеріальних суспензіях. Результати показали, що покриття MXene призвело до зниження бактеріальної адгезії до PCL мембран, як для грампозитивних, так і для грамнегативних бактерій. Це відповідало спостережуваним змінам у морфології та змочуваності нановолокон. Таким чином, PCL-MX-2 і PCL-MX-3 були значно менш адгезивними для *S.aureus* ( $p < 0,05$ ), ніж мембрана PCL після 6 годин культивування. Крім того, MX-PCL-2 продемонстрував значно вищу антиадгезивну здатність до *E.coli* ( $p < 0,05$ ) порівняно з PCL-мембраною через 6 та 24 години (рис. 3.20).

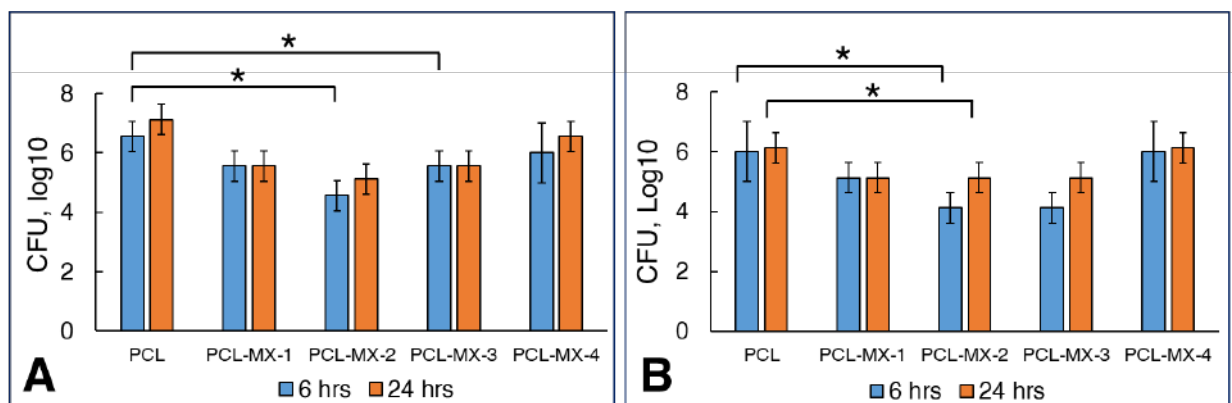


Рисунок 3.20 Антибактеріальна ефективність PCL-MXene мембран після 6 годин і 24 годин культивування. Позначення: А - проти *S. aureus*; В – проти *E. coli*.

Візуальне зображення росту бактерій на поживному агарі в контрольні часові точки показано в на рис. 3.21

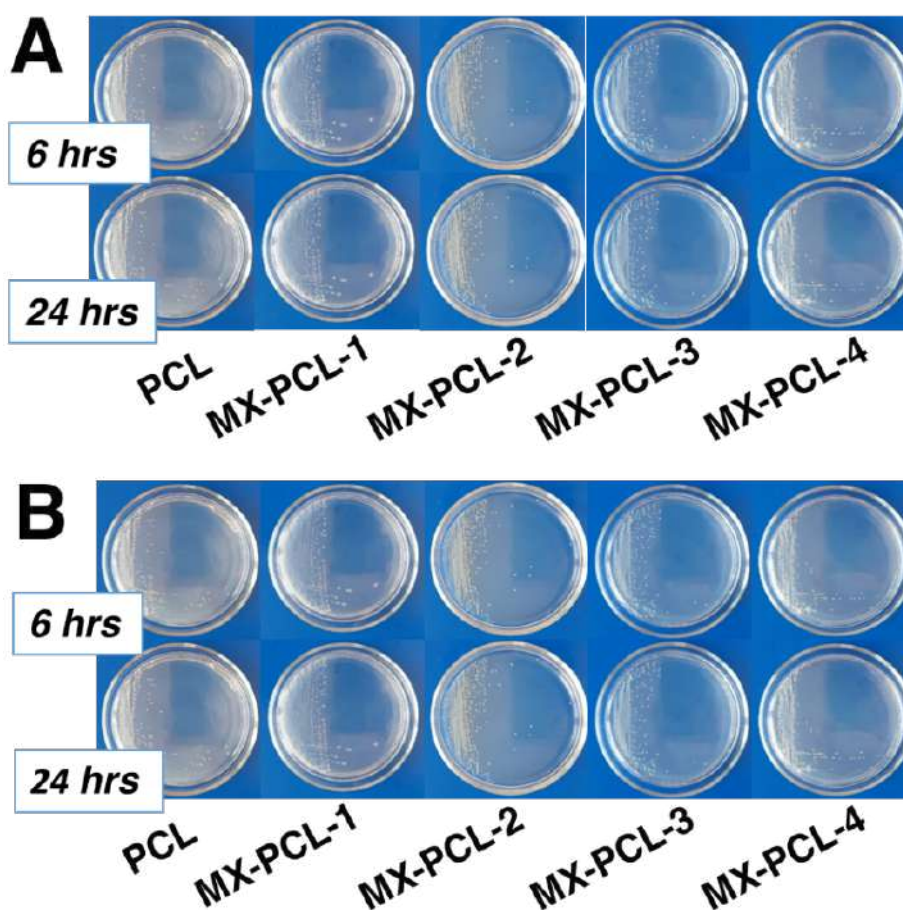


Рисунок 3.21 Візуальне зображення росту бактерій на живильному агарі в контрольні часові точки для А - *S. aureus*; і В - *E. coli*.

Цікаво, що збільшення кількості шарів MXene (PCL-MX-4) не сприяло запобіганню адгезії бактерій. Таким чином, бактеріальна адгезія та утворення біоплівки на PCL-MX-4 показали порівняльні значення з PCL –мембраною, як для *S.aureus*, так і для *E.coli*. Це свідчить про те, що бактерицидні властивості залежать не лише від хімічного складу поверхні, а й від морфології плівок MXene, причому зразки PCL-MX-2 та PCL-MX-3 є найбільш придатними для запобігання бактеріальному забрудненню в застосуванні тканинної інженерії через здатність тонкого шару MXene на поверхні мембрани пригнічувати адгезію та ріст бактерій. Раніше було показано, що прямий фізичний контакт бактеріальних клітин з гострими краями MXene та  $TiO_2$  викликає фізичне пошкодження та зміну клітинних мембран, чому сприяє гідрофільність поверхні  $Ti_3C_2T_x$ . Крім того,  $TiO_2$  викликає окислювальний стрес на поверхні бактерій через можливе утворення радикалів [184]. PCL-мембрани з двома та



трьома шарами покриття MXene показали підвищену здатність запобігати утворенню біоплівки для обох бактерій. Крім того, додатковий шар покриття MXene не призвів до подальшого підвищення антибактеріальної ефективності.

### 3.5. Дослідження структури та біологічних властивостей PCL-MXene мембран після обробки кисневою плазмою

#### 3.5.1. Сканувальна електронна мікроскопія з EDS та TEM

Для підвищення гідрофільності мембрани перед нанесенням MXene використовували обробку кисневою плазмою. Ця обробка суттєво не змінила структурних властивостей матеріалу, але призвела до змін у розподілі діаметрів волокон і фракцій пористої поверхні. Зокрема, обробка видалила тонкі волокна і збільшила загальну пористість. Останній параметр є критично важливим для досягнення рівномірного розподілу MXene у внутрішніх шарах PCL мембрани, оскільки розмір наноламінатів MXene (1-2 мкм) не узгоджується з початковою пористістю PCL скафолдів. Крім того, наявність більших пор (10-20 мкм) є життєво важливою для прикріплення та міграції клітин, що робить мембрану придатною для застосування в тканинній інженерії [185].

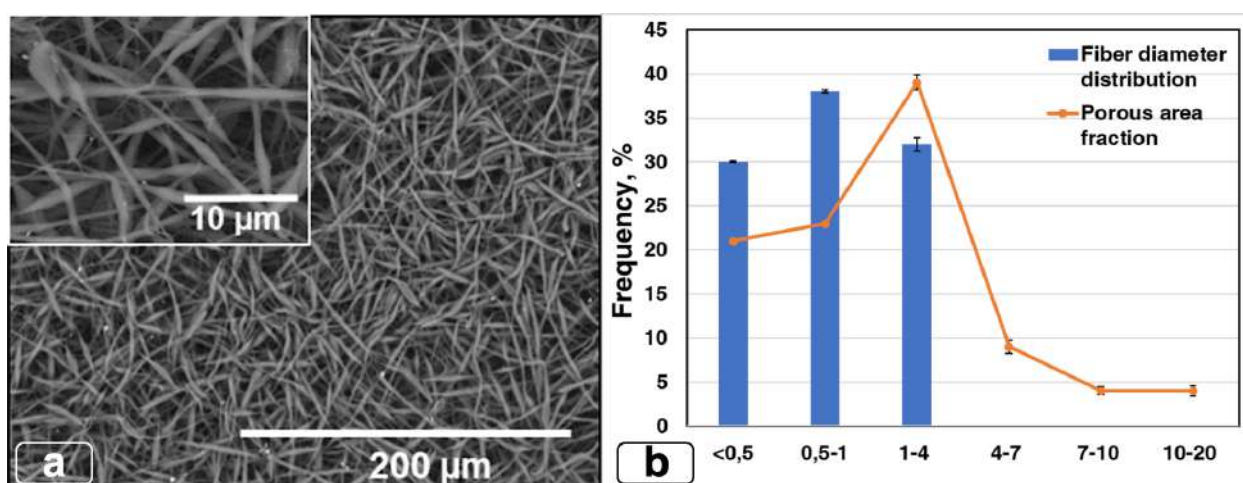


Рисунок 3.22 Зображення сканувальної електронної мікроскопії електропряденої мембрани після обробки кисневою плазмою (а) з частотою "розподілу діаметрів волокон" (мкм) та "площі перерізу пор" (мкм<sup>2</sup>) (b). Збільшення основних зображень - x500 (масштаб = 200 мкм), а на вставках - x5000 (масштаб = 10 мкм).

Осадження МХене дещо змінює структуру PCL мембран, що візуально видно на СЕМ-зображеннях у вигляді павутиноподібного візерунка (рис. 3.23, a-d). Кількість процедур осадження безпосередньо впливає на діаметр волокна і частку пористої площі, як показано на графіках на рисунку 3.23 (верхня діаграма): це призводить до значного збільшення діаметра волокна і незначного зменшення пористості. HRTEM продемонстрував інтеграцію наноламінатів МХене на PCL волокні (вставки на рис. 3.23, a та d).

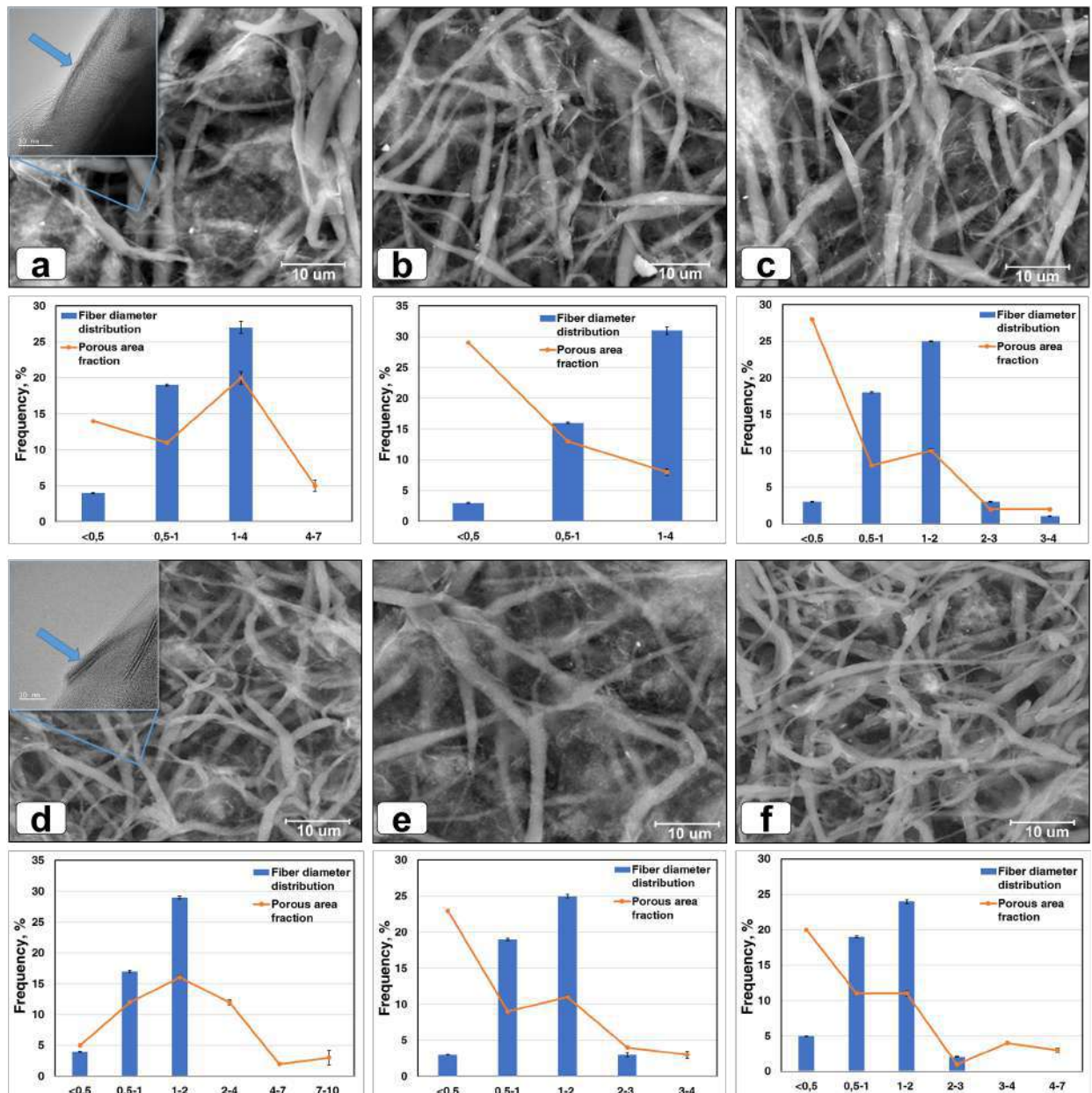


Рис. 3.23 Зображення сканувальної електронної мікроскопії з частотою "розподілу волокон за діаметром" та "площа перерізу пор" (діаграми під відповідним СЕМ зображенням) електропрядених мембран, іммобілізованих

різними шарами MXene: PCL-MX1 (a), PCL-MX2 (b) і PCL-MX3 (c) та після обробки кисневою плазмою: PCL-MX1-PL (d), PCL-MX2-PL (e) і PCL-MX3-PL (f). Збільшення для всіх зображень становить  $\times 5000$  (масштаб = 10 мкм). Вставки на (a) і (d) - HRTEM демонструє осадження MXene (синя стрілка) на волокні PCL (шкала масштабу = 10 нм)

Наші попередні дослідження показали, що MXene покривають окремі волокна PCL, значно впливаючи на їх товщину і зменшуючи площу перерізу пор [162]. Цікаво, що обробка кисневою плазмою мембран PCL-MXene суттєво не змінює структурних властивостей матеріалу (Рисунок 3.23, d-f), але призводить до зменшення діаметра волокон. Діаграма розподілу діаметрів волокон (Рисунок 3.23, нижня діаграма) ілюструє зсув частоти діаметрів вліво порівняно з необробленими мембранами PCL-MXene. Ці зміни значно збільшують пористість мембран, хоча не спостерігається суттєвої різниці між одним покриттям і двома або трьома нанесеннями.

Крім того, EDS - картування (рис. 3.24-3.25) демонструє рівномірний розподіл Ti по всій поверхні мембран PCL, що свідчить про осадження  $Ti_3C_2T_x$  MXene. Спектри EDS показують збільшення атомного відсотка Ti з 2,45% після одного осадження до 5,79% після трьох осаджень. Обробка кисневою плазмою не впливає на розподіл Ti, але дещо зменшує його концентрацію на поверхні мембрани (1,97% після одного осадження і 4,0% після трьох осаджень). Це явище, ймовірно, пов'язане з видаленням шару Ti з поверхні за рахунок введення додаткових груп кисню під час плазмової обробки.



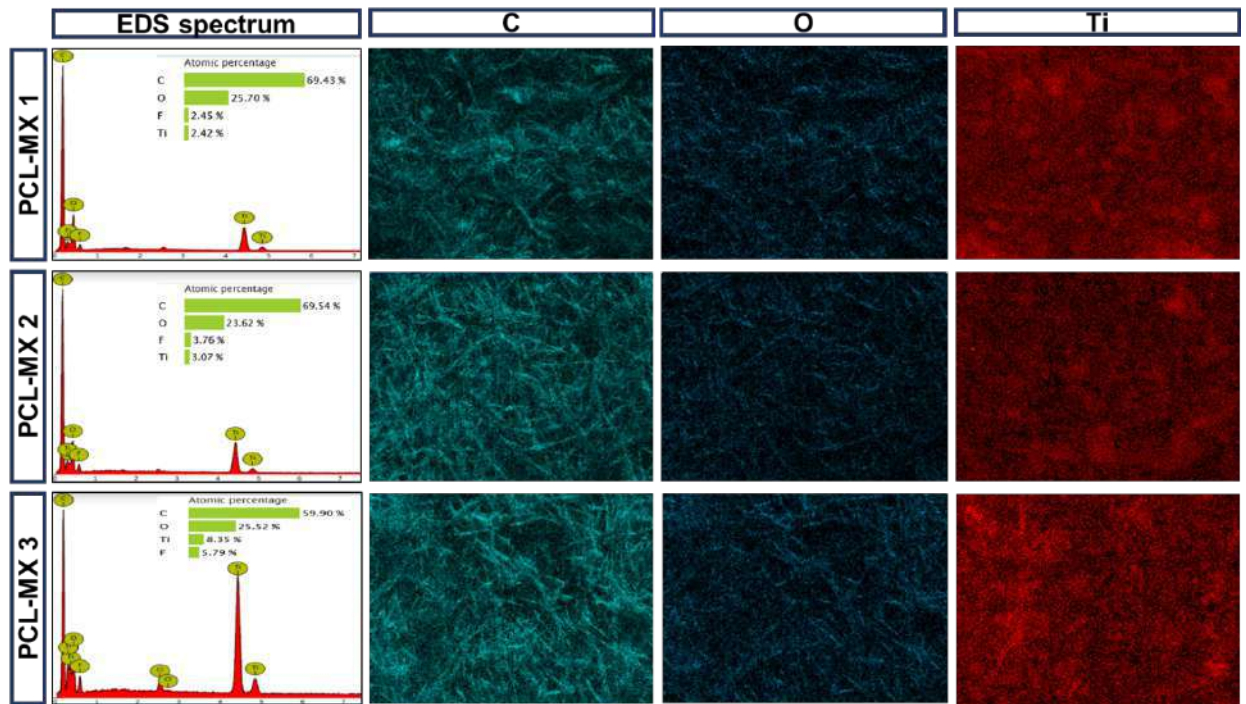


Рис. 3.24 EDS спектри та картування електропряденої PCL мембрани після обробки кисневою плазмою та з подальшим нанесенням MXene.

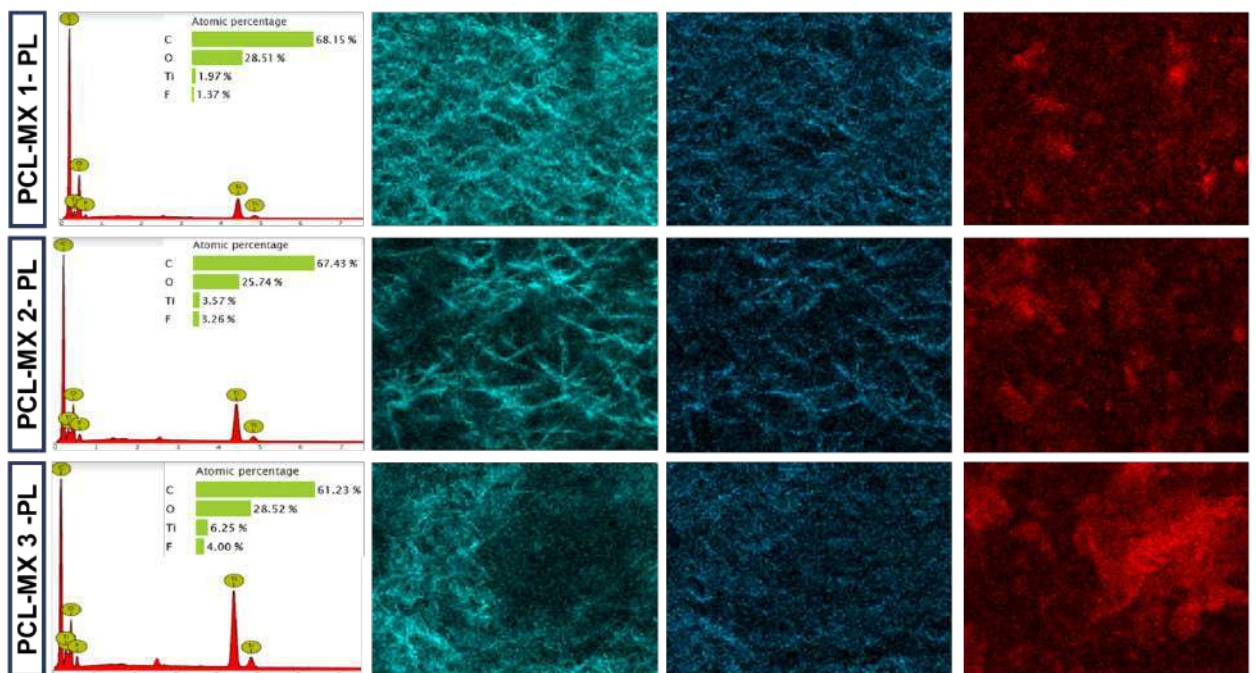


Рис. 3.25 EDS спектри та картування нанокompозиту PCL-MXene з подальшою додатковою обробкою кисневою плазмою.



Зображення поперечних перерізів мембрани PCL-MXene демонструють хаотично орієнтовані волокна, які створюють взаємопов'язані пори. Важливо відзначити, що внутрішній шар матеріалу складається з щільної непористої мембрани, яка, ймовірно, є результатом плавлення PCL під час процесу електропрядіння. Висока пористість мембрани дозволяє глибоке проникнення MXene, однак внутрішні шари не заповнені 2D наноламінатами (Рис. 3.26, а-с). Перше нанесення осаджує MXene лише на поверхневі шари, тоді як два або три повторення забезпечують глибше проникнення, що становить приблизно 30-40% від товщини мембрани. Вимірювання лінії EDS показали збільшення атомного відсотка Ti (основного компонента MXene) зі збільшенням кількості повторень нанесення (з 18,7% до 49,1% в групі PCL-MX). Крім того, зменшення градієнта Ti від поверхні до внутрішньої частини мембрани свідчить про відсутність осадження MXene в глибоких шарах. Варто зазначити, що плазмова попередня обробка сприяла проникненню MXene більш ефективно порівняно з раніше розробленими хімічними (кислотними та лужними) попередніми обробками. Обробка кисневою плазмою не впливала на внутрішні структурні властивості мембран PCL-MXene. На відміну від даних EDS з поверхні, плазмова обробка не вплинула на розподіл Ti всередині мембрани або на атомну відсоткову концентрацію Ti порівняно з необробленою групою.

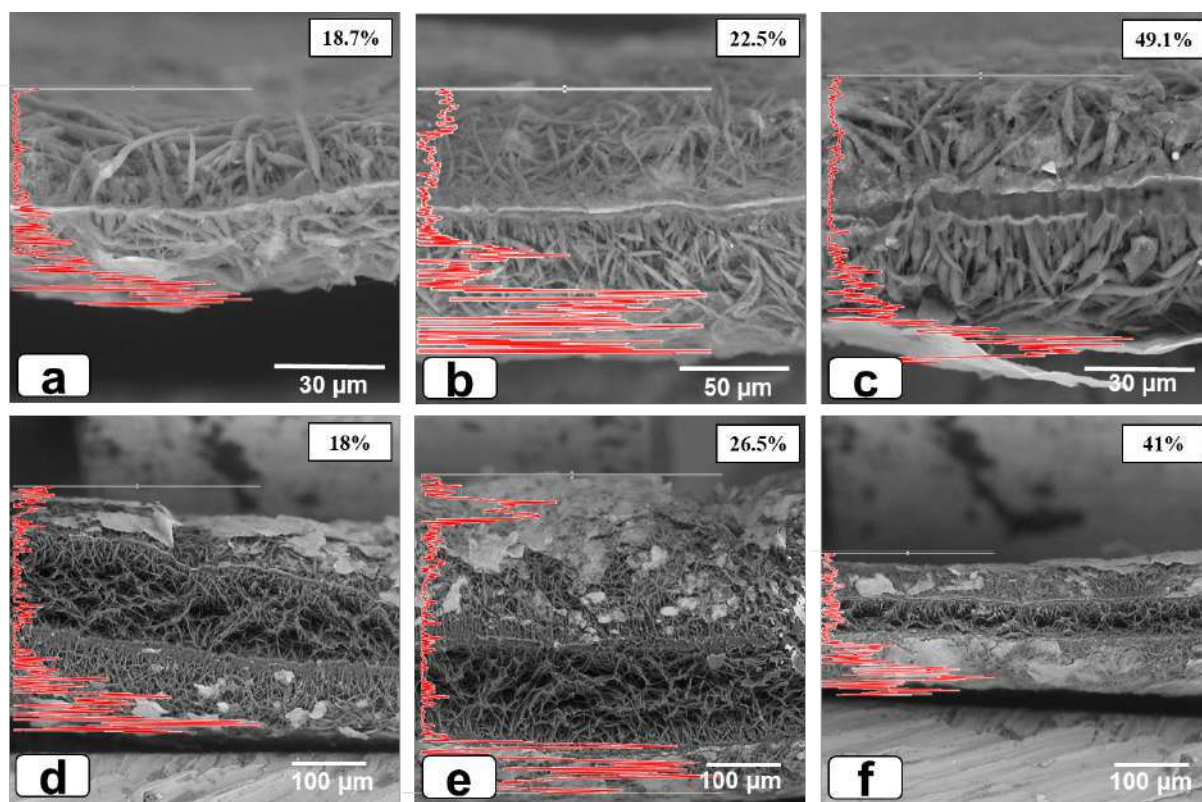


Рис. 3.26 Зображення сканувальної електронної мікроскопії поперечного перерізу мембран зі скануванням ліній EDS (червоні діаграми) та EDS атомного % Ti. Рисунок демонструє мембрани з різними покриттями MXene: PCL-MX1 (a), PCL-MX2 (b) і PCL-MX3 (c) та після обробки кисневою плазмою: PCL-MX1-PL (d), PCL-MX2-PL (e) і PCL-MX3-PL (f)

### 3.5.2. 3D-візуалізація мембран

Використання 3D-зображень допомогло в інтерпретації морфології скафолду і сприяло кращому розумінню взаємодії між MXene і волокнами (рис. 3.27). Отримані дані вказують на те, що MXene не мають значного впливу на шорсткість і близько нагадують форму структури нановолокнистої мембрани (дані Ra і Rz на рис. 3.27). Крім того, 3D-візуалізація свідчить про наявність шаруватих плівок MXene на поверхні після другої та третьої обробки.

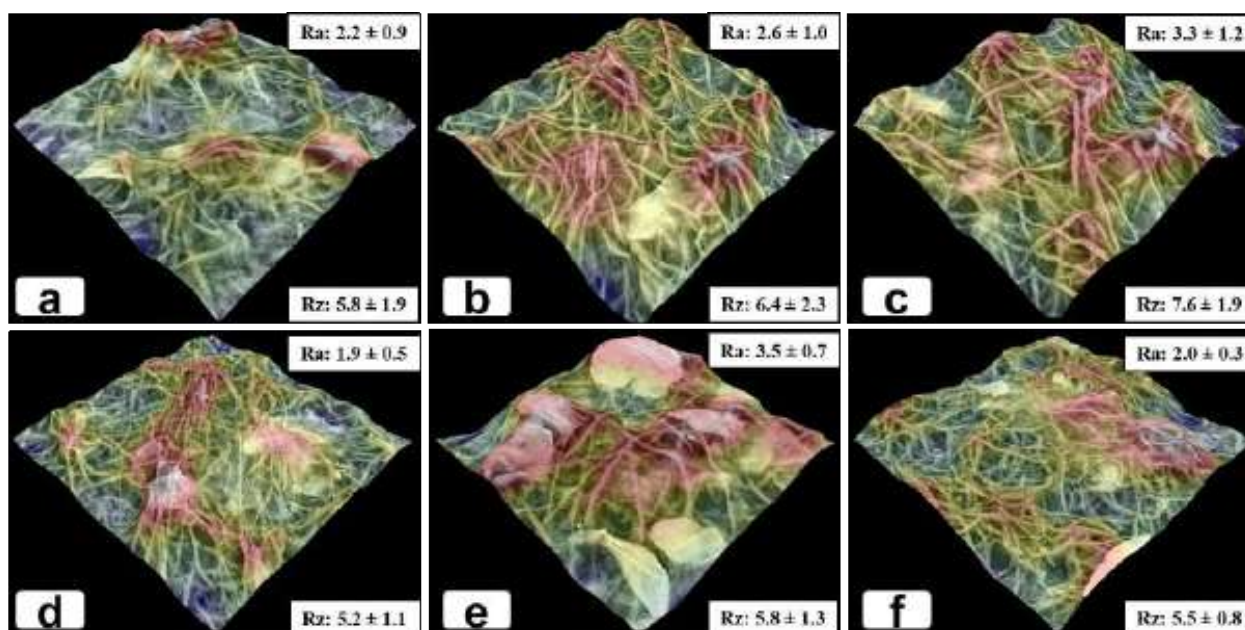


Рис. 3.27 3D-реконструкція морфології поверхні електропрядених мембран, іммобілізованих MXene: PCL-MX1 (a), PCL-MX2 (b) та PCL-MX3 (c) та після обробки кисневою плазмою PCL-Mxene мембран: PCL-MX1-PL (d), PCL-MX2-PL (e) та PCL-MX3-PL (f). На вставках - реконструкція шорсткості текстури мембран (Ra, мкм і Rz, мкм).

### 3.5.3. Аналіз інфрачервоної спектроскопії з перетворенням Фур'є та Раман-спектроскопія

ІЧ-Фур'є спектроскопія PCL-MX-PL мембран (рис. 3.28, A) демонструє внески як від фази PCL, так і від фази MXene. Сигнали при 2940-2860  $\text{cm}^{-1}$  відповідають асиметричним і симетричним осьовим деформаціям ( $\nu(\text{C-H})$ ) групи  $\text{CH}_2$ . Найбільш помітний пік, що спостерігається, пов'язаний з розтягуванням зв'язку  $\text{C=O}$  при 1722  $\text{cm}^{-1}$ . Згідно з літературними даними [186], смугу при 1293  $\text{cm}^{-1}$  можна віднести до коливань  $\nu(\text{C-O})$  і  $\nu(\text{C-C})$  зв'язків у кристалічній формі ланцюга PCL. Широкий, але слабкий пік, що спостерігається при 960  $\text{cm}^{-1}$  у зразках PCL, зі збільшенням кристалічності розщеплюється на два окремих піки: один інтенсивний і вузький пік при 960  $\text{cm}^{-1}$ , а інший при 940  $\text{cm}^{-1}$ , який можна віднести до складнофірного зв'язку ( $\delta(\text{C-O-C})$ ). Аналогічно, пік, що спостерігається при 740-730  $\text{cm}^{-1}$  (віднесений

до  $\nu(\text{CH}_2)$ ), вказує на кристалічність полімеру, оскільки у висококристалічних зразках PCL він розщеплюється на два окремі піки ( $732 \text{ cm}^{-1}$  і  $711 \text{ cm}^{-1}$ ). Присутність MXene на поверхні зразків підтверджується сигналами при  $665 \text{ cm}^{-1}$  (деформація зв'язку  $\nu(\text{Ti-O})$ ),  $1395 \text{ cm}^{-1}$  (згинальні коливання  $\delta(\text{O-H})$  кінцевих груп у MXene або хемосорбованій воді) та  $1096 \text{ cm}^{-1}$  (деформаційні коливання  $\nu(\text{C-F})$ , пов'язані з поверхневими закінченнями MXene).

Усі досліджувані мембрани демонстрували характерні коливання, представлені піками при  $205$ ,  $255$ ,  $286$ ,  $405$ ,  $550$ ,  $622$  та  $725 \text{ cm}^{-1}$ . Однак спостерігалися незначні коливання інтенсивності піків (див. рис. 3.28, б). Позаплощинні моди комбінаційного розсіювання ( $A_{1g}$ ) при  $205 \text{ cm}^{-1}$  і площинні моди  $E_{1g}$  при  $255$ ,  $286$  і  $405 \text{ cm}^{-1}$  вказують на коливання, пов'язані з поверхневими групами титану. Піки  $E_{1g}$  і  $A_{1g}$  при  $550/622 \text{ cm}^{-1}$  і  $724 \text{ cm}^{-1}$ , відповідно, відповідають коливанням вуглецю. Раманівські піки у фазі MXene можна віднести до зв'язків  $\text{Ti-C}$ ,  $\text{C-C}$  та  $\text{C-O}$ . Розширення і злиття ліній у спектрах свідчать про відшарування і розшарування попередника  $\text{Ti}_3\text{AlC}_2$ . Відсутність гострих сигналів при  $135 \text{ cm}^{-1}$  свідчить про повне витравлювання  $\text{Ti}_3\text{AlC}_2$  з MXene. Наявність горба при  $400 \text{ cm}^{-1}$  вказує на гетерогенну природу термінальних груп, що складаються з кінцевих груп  $-\text{O}$  та  $-\text{OH}$ .

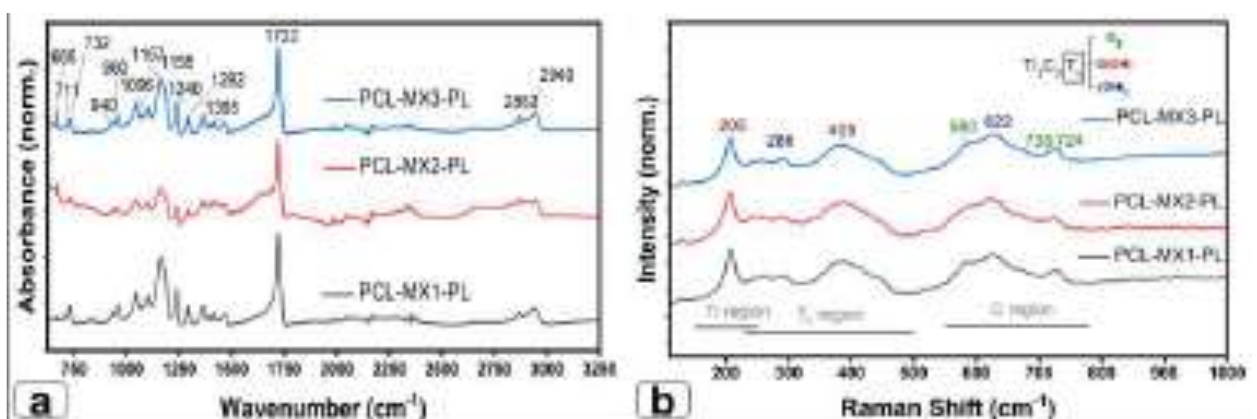


Рис. 3.28 ІЧ-Фур'є спектроскопія (а) та Раман-спектроскопія PCL-MX-PL мембран (б).

У спектрах комбінаційного розсіювання не спостерігається сигналів від струменя PL. Це можна пояснити чудовою електропровідністю наноламінатів MXene, що призводить до неглибокого проникнення лазерного променя в матеріал мембрани. Це неглибоке проникнення є результатом електромагнітної взаємодії між збуджуючим світлом і провідною речовиною. Отже, зібрані спектри надають інформацію про зовнішню поверхню осаджених MXene, підтверджуючи повне покриття поверхні PCL-MX-PL мембран.

#### **3.5.4. Визначення контактного кута мембран**

Змочуваність поверхні PCL мембран оцінювали за допомогою аналізу сидячої краплі. Кути контакту нижче  $90^\circ$  вказували на гідрофільні поверхні, тоді як кути вище  $90^\circ$  вказували на низьку змочуваність або гідрофобні поверхні [179].

Мембрана PCL демонструвала гідрофобну поведінку, про що свідчить тупий кут контакту крапель води ( $109,5 \pm 3,5^\circ$ ) (рис. 3.29, А). Плазмова обробка значно змінила поверхневі властивості PCL мембрани, зробивши її високогідрофільною з кутом контакту  $0^\circ$ . Цей факт дозволяє полегшити осадження MXene на гідрофільній мембрані PCL. Раніше ми використовували хімічну обробку гідрофобної PCL -мембрани з використанням лужного або кислотного розчину, але з менш значним впливом на кут контакту PCL – матеріалів. Крім того, обробка плазмою є більш безпечним методом через відсутність токсичних залишків після попередньої обробки. Нанесення MXene на мембрану дещо збільшило статичний контактний кут до  $82,7 \pm 2,5^\circ$  без суттєвої різниці між часом осадження. Подальша обробка мембран PCL-MXene кисневою плазмою зменшує кут контакту до  $0^\circ$ , що повинно бути пов'язано з впровадженням гідрофільних груп (O- і OH-) на поверхню мембрани. Інші дослідження показали, що плазмова обробка генерує кисневмісні функціональні групи, що призводить до хімічних змін у



поверхневому шарі і перетворення гідрофобних поверхонь на гідروفільні [127].

Для подальшого дослідження змочуваності поверхні було виміряно динамічні кути контакту для зразків PCL та PCL-MX (рис. 3.29, b). Група PCL-MX-PL була виключена з цього дослідження через надгідروفільну природу їхньої поверхні. Швидкість поглинання води зменшувалася зі збільшенням вмісту MXene, що узгоджується з обмеженою здатністю мембран PCL до поглинання води. Кількість покриття MXene впливала на швидкість поверхневого поглинання. Швидкість поглинання води зменшилася в 25,5 разів для зразків PCL-MX2 і в 104 рази для PCL-MX3 порівняно з PCL-MX1. Регульований ефект обробки MXene дозволив модифікувати змочуваність і водопоглинальну здатність скафолдів PCL. Цей факт можна пояснити більш швидким введенням гідروفільних груп, таких як O- і OH-, під час плазмової обробки на поверхні MXene порівняно з чистими PCL мембранами.

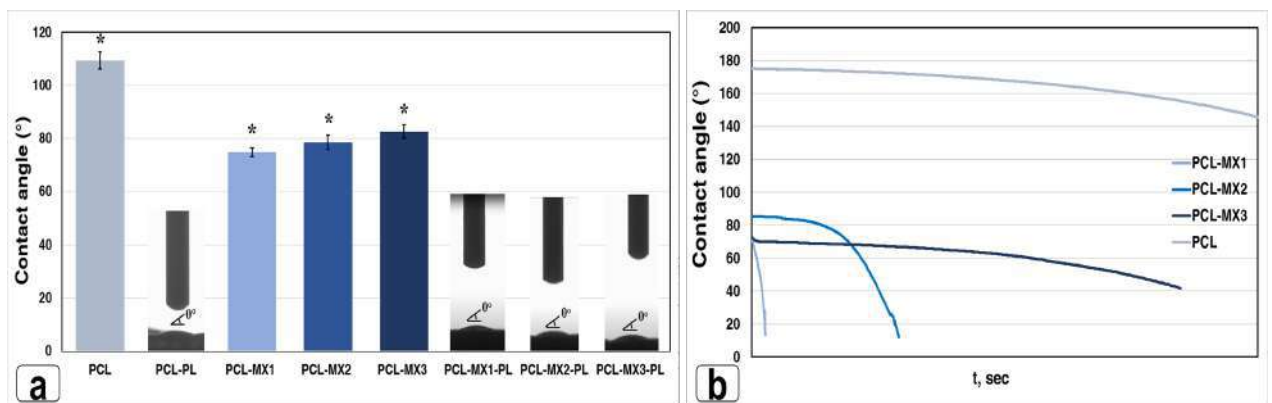


Рис. 3.29 Діаграми статичних (a) та динамічних (b) вимірювань контактного кута нанокompозитів PCL-MXene та чистої PCL-мембрани до та після обробки кисневою плазмою. Зірочками позначені достовірні відмінності між чистими скафолдами PCL та PCL-MX при  $p \leq 0,05$ .

### 3.5.5. Дослідження статичної та динамічної деградації мембран

Полікапролактон – біодеградуєчий синтетичний полімер, який завдяки напівкристалічній та гідрофобній природі має повільну швидкість деградації (2-4 роки), що обмежує його застосування в тканинній інженерії [127]. Однак

метод електропрядіння збільшує співвідношення площі поверхні до об'єму та зменшує кристалічність, що збільшує швидкість деградації [187].

При статичній деградації мембран не відмічається значної динаміки втрати ваги до 21 дня. Рисунок 3.30 демонструє, що втрата маси мала тенденцію до зменшення після 21-го дня статичної деградації для усіх зразків, окрім PCL-MX1 та PCL-MX2.

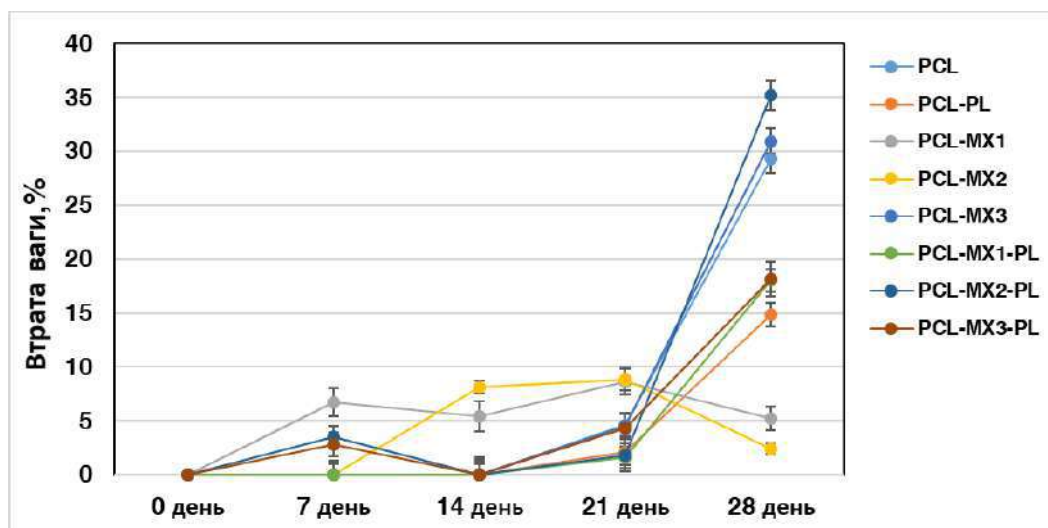


Рисунок 3.30 Швидкість статичної деградації PCL - мембран з різною кількістю осаджень MXene у розчині PBS.

На 4 тижні втрата ваги для PCL-мембрани становить 35%, що на 33 % більше ніж на третьому тижні, за рахунок вимивання у розчині PBS залишкових хімічних речовин після процесу електропрядіння внаслідок розчинення гідрофобної оболонки волокна. Втрата ваги для PCL-MX3 та PCL-MX2-PL становить 32% та 29 % відповідно на 28 дні статичної деградації. Усі нанокompозити PCL-MXene деградували повільніше, ніж з додатковою обробкою кисневою плазмою, окрім зразка PCL-MX3, завдяки вимиванню вільних наночасток MXene, які були прикріплені на поверхні зразка.

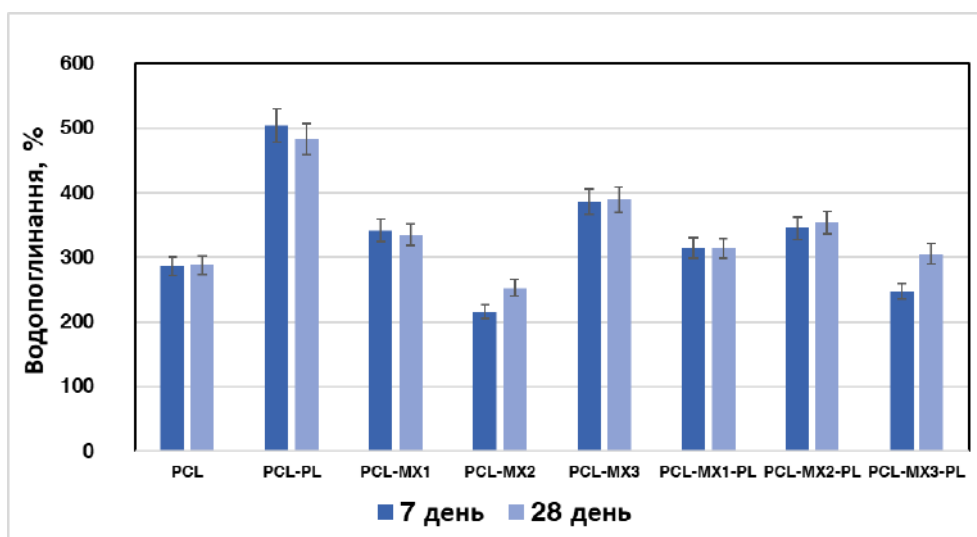


Рисунок 3.31 Швидкість поглинання води електропрядених нановолокнистих PCL мембран з різною кількістю нанесень MXene під час статичної деградації.

На рисунку 3.31 показано зміни поглинання води під час статичної деградації PCL-мембран з різною кількістю осаджень MXene. Результати показують, що для PCL-PL мембрани поглинання води становить 504% на 7-му добу у співставленні з 286% для PCL-мембрани та 482% і 288% на 28-му добу відповідно при статичній деградації. Швидкість поглинання води для зразка PCL-MX2 була найповільнішою, як на першому, так і на четвертому тижні, та становила 216% і 252% відповідно. Проте після додаткової обробки кисневою плазмою швидкість поглинання води збільшилась до 345% на першому тижні та до 354% на четвертому тижні, що підтверджує збільшення гідрофільності поверхні нанокompозитів PCL-MXene.

Дослідження морфології та структури зразків після другого та четвертого тижня статичної деградації за допомогою сканувальної електронної мікроскопії зображено на рисунку 3.32 та 3.33 відповідно.



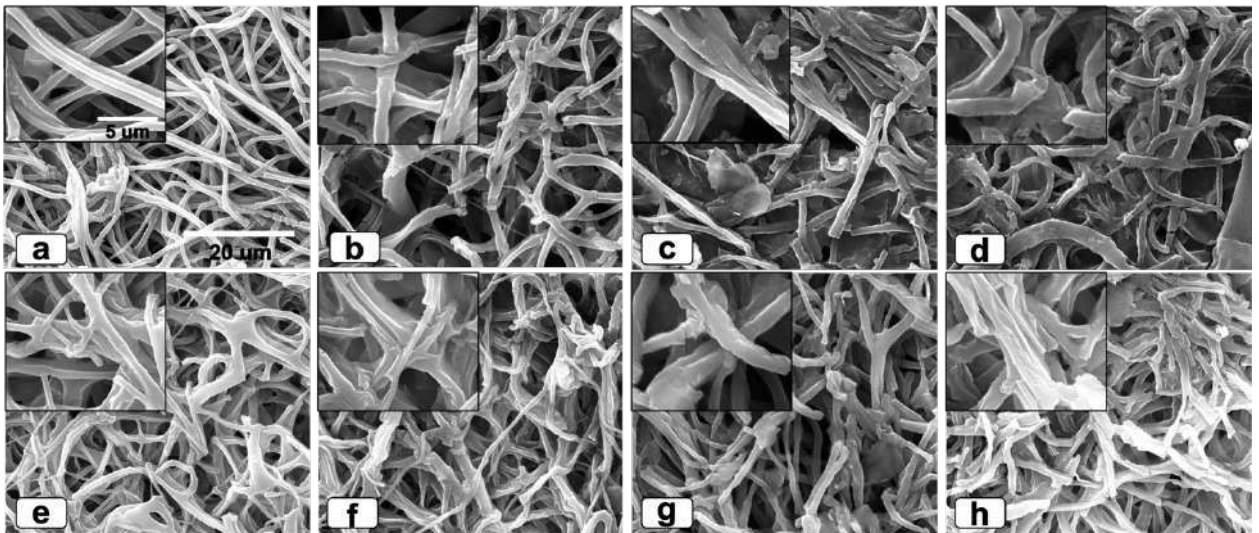


Рисунок 3.32 Сканувальна електронна мікроскопія після 2 тижня статичної деградації. Позначення: а - PCL мембрана; b –PCL-MX1; c – PCL-MX2; d – PCL-MX3; e - PCL-PL; f – PCL-MX1-PL; g – PCL-MX2-PL; h – PCL-MX3-PL. Збільшення основних зображень – x5000 (масштабна шкала = 20 мкм), а на вставках – x20000 (масштабна шкала = 5 мкм).

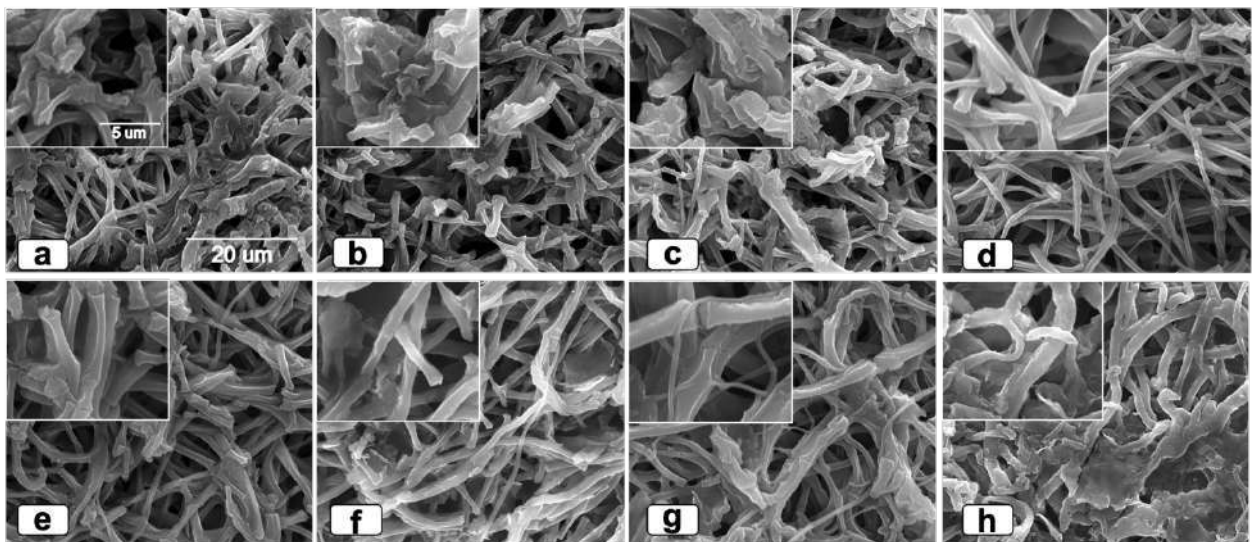


Рисунок 3.33 Сканувальна електронна мікроскопія після 4 тижня статичної деградації. Позначення: а - PCL мембрана; b –PCL-MX1; c – PCL-MX2; d – PCL-MX3; e - PCL-PL; f – PCL-MX1-PL; g – PCL-MX2-PL; h – PCL-MX3-PL. Збільшення основних зображень – x5000 (масштабна шкала = 20 мкм), а на вставках – x20000 (масштабна шкала = 5 мкм).

Динамічна деградація нанокompозитів PCL-MXene була швидшою порівняно зі статичною деградацією. Як зображено на рисунку 3.34 динаміка втрати ваги спостерігається вже з другого тижня, що на 7 днів раніше, ніж при статичній деградації.

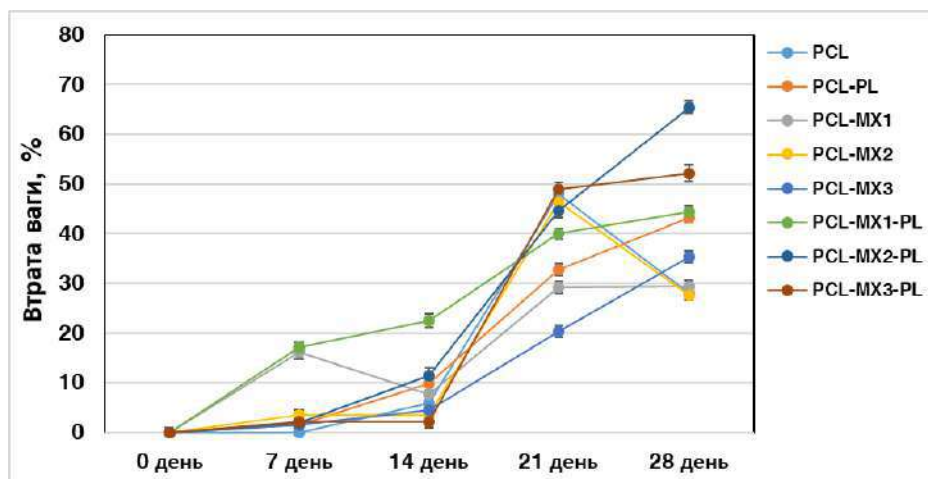


Рисунок 3.34 Швидкість втрати ваги нанокompозитів PCL-MXene під час динамічної деградації.

Нанокompозити PCL-MXene після обробки кисневою плазмою на 28 добу втрачали від 45 до 70 % своєї ваги, у той час, як без додаткової обробки втрата ваги становила від 29 до 35%. Найбільш швидку деградацію впродовж чотирьох тижнів продемонстрував PCL-MX2-PL зразок, що мав 65,38 % втрату ваги. Зразок PCL-MX3 мав найменшу швидкість деградації 20% на 21 добу у порівнянні з рештою зразків, проте наприкінці дослідження втрата ваги становила 35 %. На 21 добу втрата ваги зростала для зразків PCL та PCL-MX2 та становила 46,29% та 48% відповідно, проте зменшилась до 27,58% і 28% відповідно на 28 добу.

Швидкість поглинання води при динамічній деградації збільшилась для нанокompозитів PCL-PL, PCL-MX3 та PCL-MX3-PL на 28 добу та складає 481%, 388% та 309% відповідно. В той час як для зразків PCL-MX1, PCL-MX1-PL зменшилась від 392% та 382% до 316% та 313% відповідно (рис.3.35).

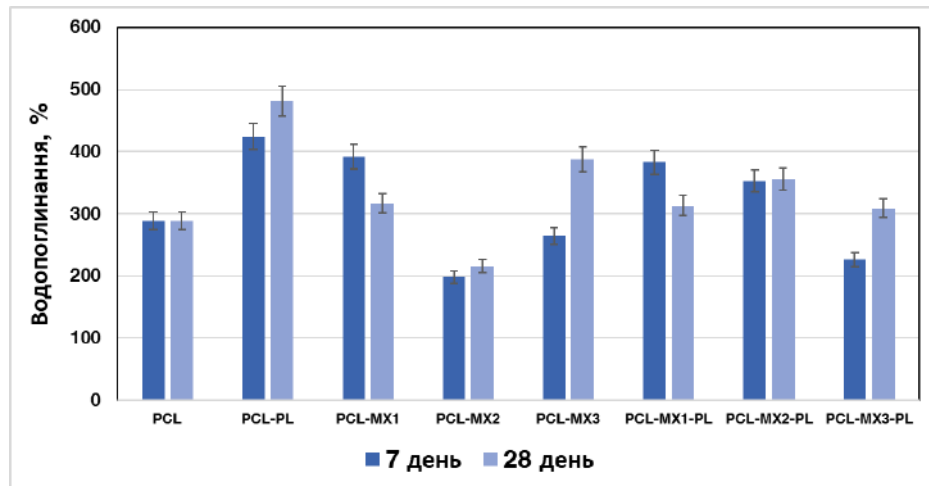


Рисунок 3.35 Швидкість поглинання води електропрядених нановолокнистих PCL мембран з різною кількістю осаджень MXene під час динамічної деградації.

Поглинання води підвищує гнучкість матеріалу і призводить до зміни розмірів матеріалу імплантату. Крім того, більше поглинання води прискорює процес гідролізу [188].

На рисунку 3.36 та 3.37 представлено зображення сканувальної електронної мікроскопії після другого та четвертого тижня динамічної деградації PCL-мембран та нанокомпозитів PCL-MXene до та після обробки кисневою плазмою.

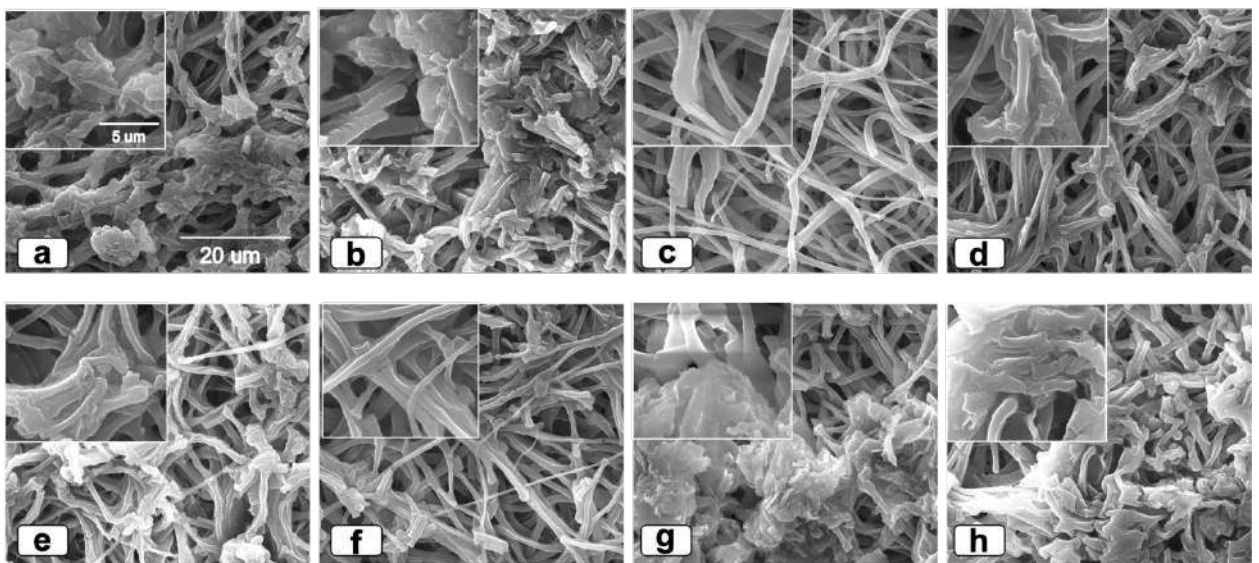


Рисунок 3.36 Сканувальна електронна мікроскопія після 2 тижня динамічної деградації. Позначення: a - PCL мембрана; b –PCL-MX1; c – PCL-MX2; d –

PCL-MX3; e - PCL-PL; f – PCL-MX1-PL; g – PCL-MX2-PL; h – PCL-MX3-PL. Збільшення основних зображень – x5000 (масштабна шкала = 20 мкм), а на вставках – x20000 (масштабна шкала = 5 мкм).

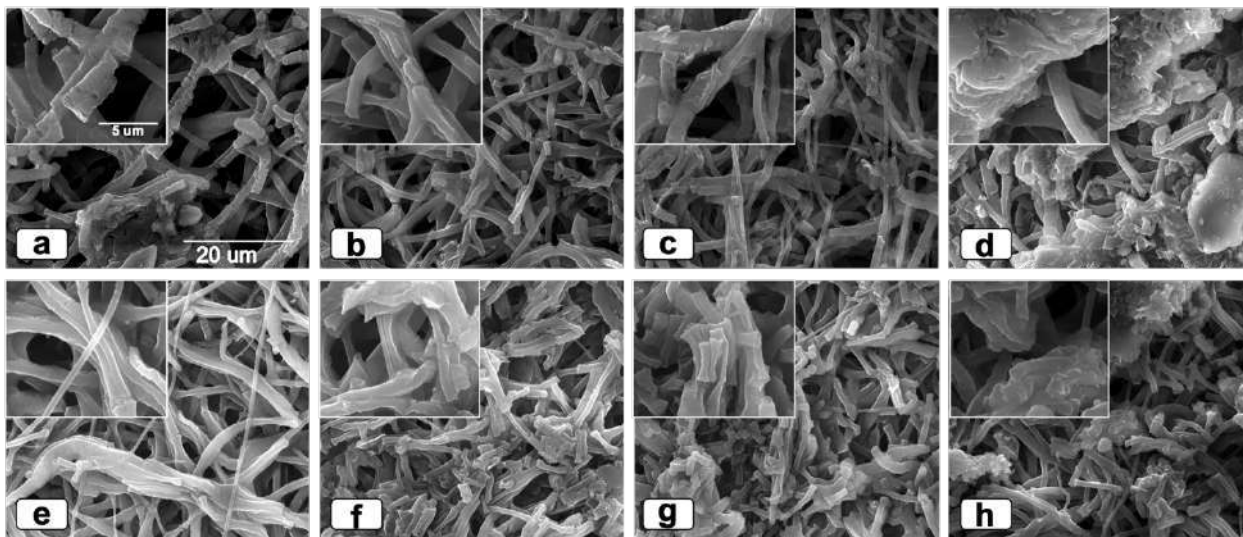


Рисунок 3.37 Сканувальна електронна мікроскопія після 4 тижня динамічної деградації. Позначення: а - PCL мембрана; b –PCL-MX1; c – PCL-MX2; d – PCL-MX3; e - PCL-PL; f – PCL-MX1-PL; g – PCL-MX2-PL; h – PCL-MX3-PL. Збільшення основних зображень – x5000 (масштабна шкала = 20 мкм), а на вставках – x20000 (масштабна шкала = 5 мкм).

### 3.5.6. Визначення електропровідності електропрядених нановолокнистих мембран

Зразки PCL і PCL-PL показали опір вище 40 МОм (межа вимірювання приладу). Опір був виміряний для зразків з MXene, і середні значення коливалися від 0,74 кОм до 26,78 кОм. Значення цих вимірювань можна побачити на рис. 3.38 (ліворуч). Провідність була перерахована, і вона відповідає діапазону від 5,22 мСм/м до 326,33 мСм/м (рис. 3.38, праворуч).

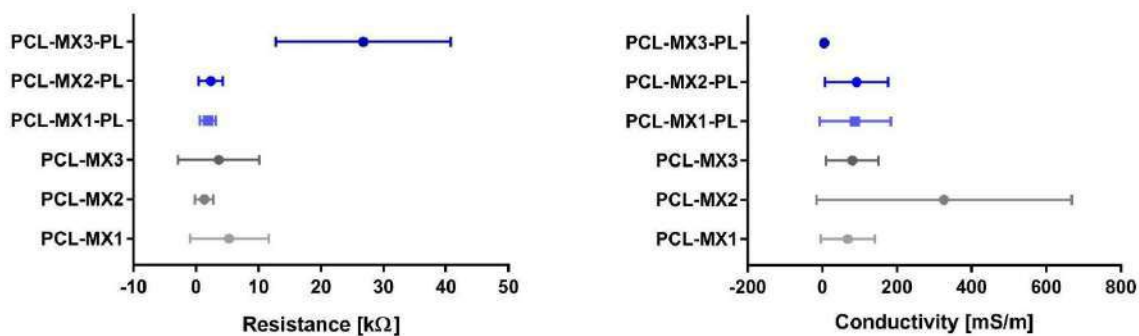


Рис. 3.38 Вимірний опір та перерахована провідність PCL-MXene.

Висока електропровідність матеріалів MXene робить їх особливо придатними для інженерії серцевих тканин [156]. Провідність матеріалу має важливе значення для відновлення серцевої тканини, оскільки провідність нормального міокарда становить близько 1 мСм/м [189], а непровідні матеріали перешкоджають передачі електричних сигналів, необхідних для координованого скорочення серцевих клітин і серцебиття. Включення матеріалів MXene в якості поверхневого шару над полікапролактоновим діелектриком може потенційно підвищити електропровідність композиту, тим самим полегшуючи електричний зв'язок між клітинами в серцевій тканині.

Кілька досліджень підкреслили важливість електропровідності в інженерії серцевих тканин. Наприклад, було показано, що матеріали MXene демонструють виняткову електропровідність, яка може покращити електричний зв'язок між клітинами в конструкціях серцевої тканини, що призводить до покращення функції тканин [19]. Крім того, повідомляється, що використання MXene в якості провідного шару в конструкціях серцевих тканин сприяє проліферації та диференціації клітин серця, що призводить до поліпшення регенерації тканин і функціональних результатів [190].

### 3.5.7. Дослідження цитотоксичності та біосумісності мембран

Ми продемонстрували відповідну адгезію та проліферацію клітин фібробластів у всіх експериментальних групах, включаючи контрольну групу PCL без обробки та всі варіанти з осадженням MXene (рис. 3.39).



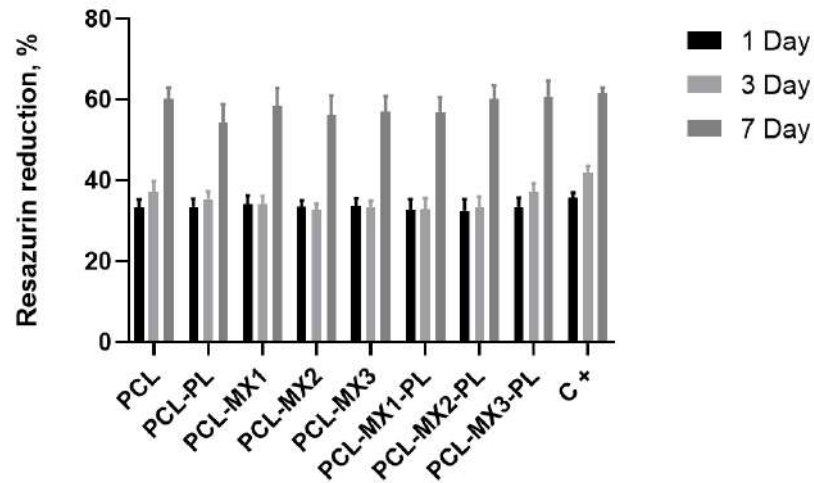


Рис. 3.39 Дані аналізу методом відновлення резазурину проліферації дермальних фібробластів людини протягом 7-денного експерименту на різних мембранах PCL-MXene.

На 7-й день ми спостерігали рівномірний і вирівняний розподіл фібробластів по поверхні PCL-мембрани як чистої, так і навантаженої MXene (рис. 3.40). При великому збільшенні спостерігали формування щільних міжклітинних контактів, що нагадують симпласти.

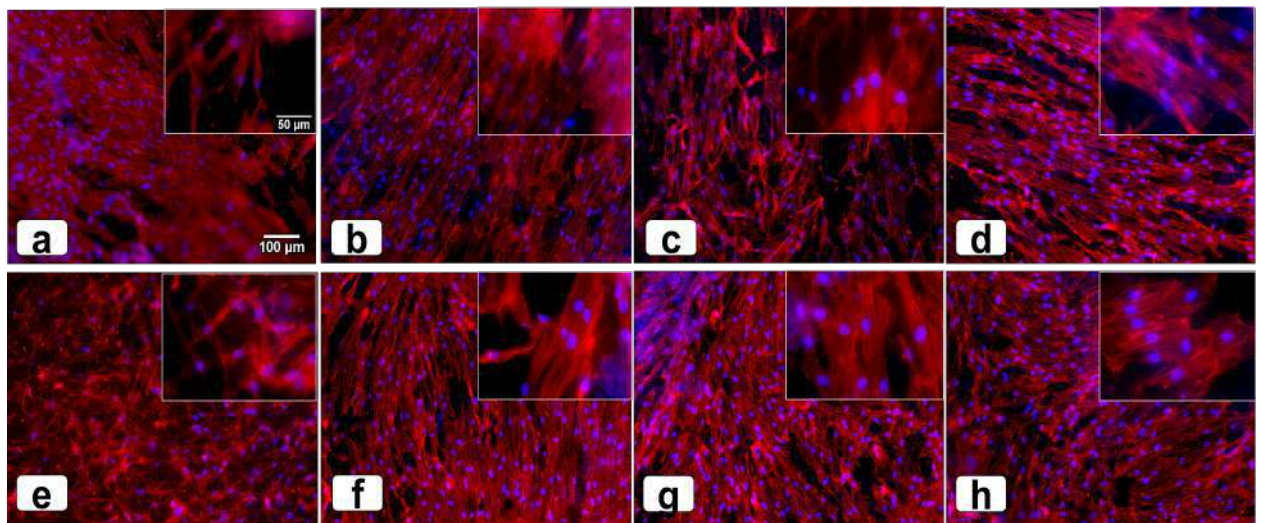


Рис. 3.40 Флуоресцентні зображення ядер (синє забарвлення) та цитоскелету (червоне забарвлення) на 7-му добу культивування дермальних фібробластів на PCL-мембранах з різною кількістю шарів MXene, де PCL (a), PCL-MX1 (b), PCL-MX2 (c), PCL-MX3 (d), PCL-PL (e), PCL-MX1-PL (f), PCL-MX2-PL (g) та



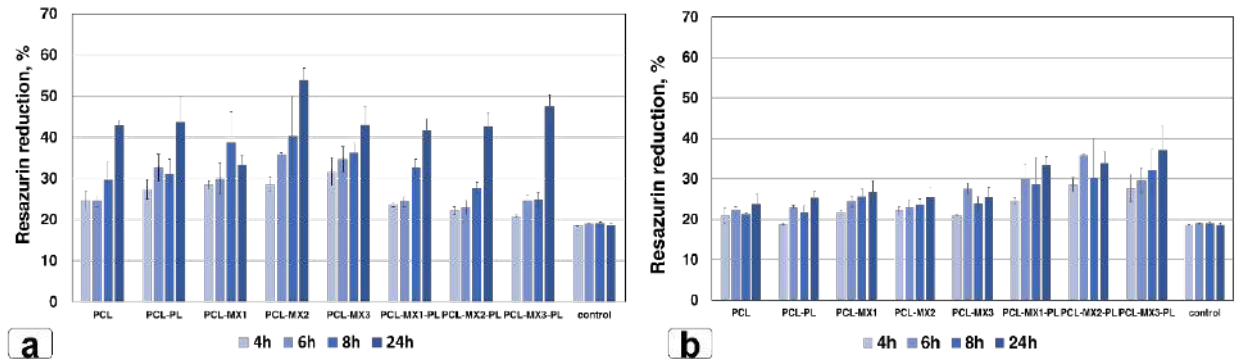


Рис. 3.42 Дані тривалого антибактеріального ефекту на (a) *St. aureus* і (b) *E. coli*, визначені за допомогою аналізу зниження резазурину в бактеріальних суспензіях, отриманих після ультразвукової обробки мембран.

Скануюча електронна мікроскопія мембран PCL та PCL-MX не виявила значну бактеріальну колонізацію на поверхні матеріалів. Як *S. aureus* (рис. 3.43), так і *E. coli* (рис. 3.44) займали поверхневі волокна і проникали всередину пор мембран.

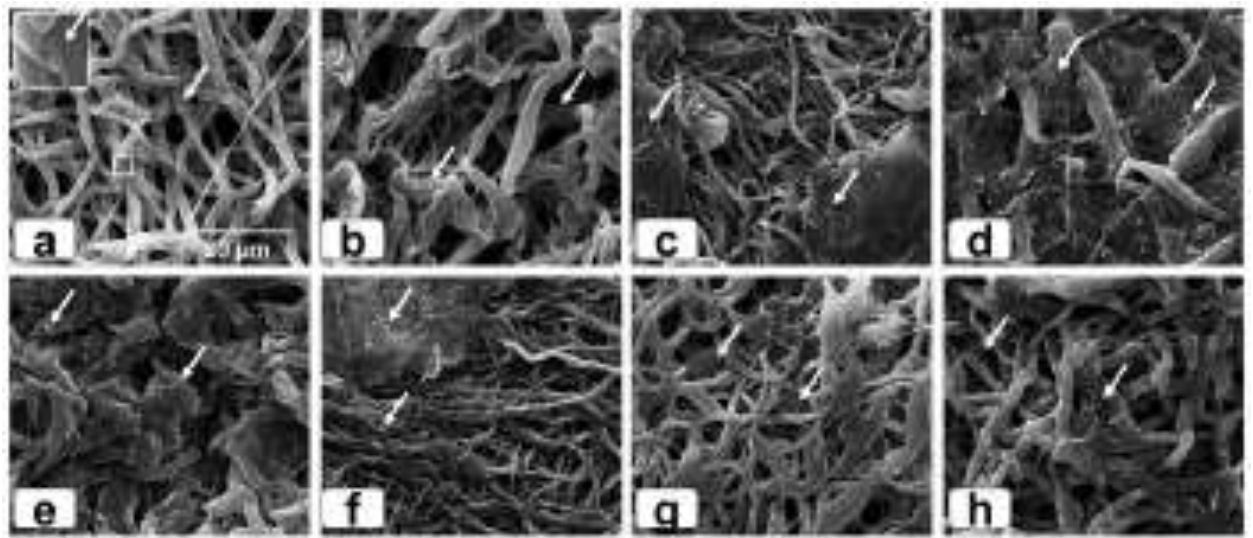


Рис. 3.43 Зображення сканувальної електронної мікроскопії мембран PCL зі *St. aureus* після 24 годин інкубації. PCL (a), PCL-MX1 (b), PCL-MX2 (c), PCL-MX3 (d), PCL-PL (e), PCL-MX1-PL (f), PCL-MX2-PL (g), PCL-MX3-PL (h). Збільшення - 5 000. Стрілками показані поодинокі клітини бактерій.



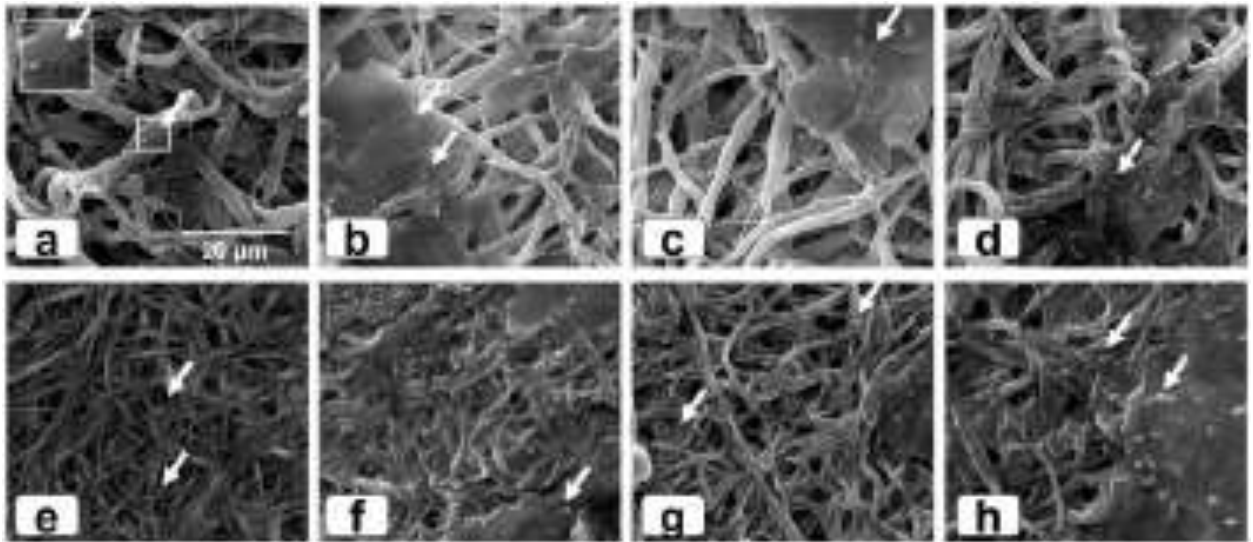


Рис. 3.44 Зображення за допомогою сканувальної електронної мікроскопії мембран PCL з *E.coli* після 24 годин інкубації. PCL (a), PCL-MX1 (b), PCL-MX2 (c), PCL-MX3 (d), PCL-PL (e), PCL-MX1-PL (f), PCL-MX2-PL (g), PCL-MX3-PL (h). Збільшення – 5 000. Стрілками показані поодинокі клітини бактерій.

Основні результати цього розділу опубліковані в працях [158-162], [168], [169],[191]–[193].

## РОЗДІЛ 4

### АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Серцево-судинні захворювання на сьогоднішній день займають перше місце серед смертності у всьому світі, і лише у 2019 році склало 32% від усіх смертей. Найбільш поширене серед ССЗ є ішемічна хвороба серця, яка виникає в більшості випадків після перенесеного інфаркта міокарда (ІМ). Насамперед ІМ спричиняється закупоркою тромботичними чи атеросклеротичними масами просвіту серцевих судин, що обмежує доставку кислороду та зменшує кровотік. Внаслідок розвитку ішемії серцевого м'яза починається некроз кардіоміоцитів. Через мінімальну регенеративну здатність кардіоміоцитів, вони заміщуються фіброзною рубцевою тканиною, що порушує електропровідну функцію міокарда та призводить до серцевої дисфункції. Через втрачання функціонуючої ділянки серцевого м'яза відбувається перевантаження усіх камер серця, що супроводжується гіпертрофією серцевої стінки та дилатацією порожнини лівого шлуночка. За рахунок додаткового навантаження на серце виникає біль за грудиною, задишка та набряки, що погіршують якість життя пацієнтів. Стандартні методи лікування направлені на симптоматичне та паліативне лікування, у той час як інженерія серцевої тканини направлена на регенерацію некротичної ділянки міокарда з метою збільшити скоротливу функцію серця. Виходячи з того, що серцевий м'яз є другою за величиною електрично активною інфраструктурою в нашому організмі після нервової тканини [194], то головною характеристикою біоматеріалу для ефективного відновлення серцевого м'яза є спроможність до проведення електричних імпульсів.

Найбільш перспективним серед усіх електропровідних матеріалів для регенерації тканин серця є кардіальні пластири на основі електропровідного тривимірного полімерного скафолду.

Тривимірні (3D) скафолди - це економічно ефективне і комплексне рішення для регенерації провідних тканин, що забезпечує швидкі результати,

імітуючи умови тканини *in vivo*. Для максимального ефективного відновлення провідних тканин скафолд у свою чергу має бути стабільно пористий з достатньою кількістю пор, щоб полегшити проникнення клітин і циркуляцію поживних речовин, володіти механічною гнучкістю і змочуваністю, бути подібною до тканини-реципієнта та мати склад, що сприяє посиленню взаємодії між клітинами і скафолдом [194]. Дослідження F. Guilak та C. S. Chen показали, що поверхневі властивості скафолдів з біоматеріалу суттєво впливають на адгезію клітин та ступінь поширення клітин на їх поверхні [195]. Скафолд повинен мати відповідну структуру, яка сприяє циркуляції необхідних поживних речовин і розвитку капілярної мережі, забезпечуючи наповнення. Це, в свою чергу, регулює ріст та інфільтрацію клітин, а також їхнє залучення до пошкодженої ділянки [196]. У процесі регенерації тканин *in situ* скафолд з біоматеріалу, розроблений для певного типу тканин, вводиться безпосередньо в місце розташування пошкодженої тканини. Очікується, що цей скафолд, самостійно або в поєднанні з факторами росту, займе всю пошкоджену ділянку, створюючи сприятливе мікросередовище, яке заохочує і приваблює стовбурові клітини господаря або клітини-попередники в живому організмі. Він слугує каталізатором для запуску природних процесів загоєння в організмі, сприяючи диференціації та проліферації клітин для відновлення тканин на місці пошкодження. Крім того, цей скафолд забезпечує структурну підтримку до моменту дозрівання нової регенерованої тканини, усуваючи необхідність у складних маніпуляціях *in vitro* [197].

Ми вважаємо, що найбільш придатним електропровідним полімером для створення тривимірної тканинно-інженерної конструкції є полікапролактон. Серед усіх існуючих, як органічних, так і синтетичних полімерів, полікапролактон простий у виробництві, не цитотоксичний та має здатність до біологічного розкладання [198]. Завдяки цим перевагам він є сильним конкурентом серед біоматеріалів для різних медичних і клінічних застосувань, включаючи скафолди для тканинної інженерії, системи доставки ліків,

перев'язувальні матеріали для ран і багато іншого [199]. Перевага синтетичних полімерів над органічними полягає в тому, що на нього не виникають алергічні реакції в організмі, наприклад, як на колаген, який є чужорідним білком та може активізувати імунну відповідь. Колаген, як найпоширеніший білок, є винятковим біоматеріалом для тканинної інженерії. Його хімічний склад, подібний до нативної тканини, робить колагенові скафолди сприятливими для прикріплення клітин, міграції та поступової інтеграції з навколишніми тканинами з плином часу [200]. Крім того, колаген демонструє чудову здатність до біологічного розпаду, причому деградація відбувається переважно під дією ферментів людського організму, зокрема матриксних металопротеаз (ММП) [201]. Однак колаген має суттєві недоліки, включаючи його низькі механічні властивості та швидку швидкість деградації, що обмежує його широке застосування в біомедичних цілях [200]. Проте, як для хітозанових мембран, так і для колагенових мембран потрібно проводити хімічне зшивання, за допомогою якого полімерні ланцюги з'єднуються разом, агресивними хімічними реагентами (глутардельгідом, гідроксидом амонію та ін.) для підвищення їхньої стійкості до деградації в умовах *in-vivo*. Насамперед при деградації мембран після хімічного зшивання вивільняються токсичні речовини, які мають негативний вплив на ремодулювання тканини [202].

Проте, будь-який полімер не має властивості для самостійного проведення електричних імпульсів. Для посилення провідності електричних сигналів у тривимірні скафолди інтегрують електропровідні наночастинки. На сьогоднішній день найбільш багатообіцяючими у біомедичних застосуваннях є MXene. Завдяки їх властивостям: висока електропровідність, висока площа поверхні, механічна міцність, хімічна стабільність, термічна стабільність, гідрофільність, біосумісність, взаємодії іонів та молекул. Насамперед, для підвищення фізіологічної стабільності, досягнення контрольованого вивільнення лікарських засобів, збільшення здатності до навантаження [203], забезпечення біодеградації, покращення біосумісності [204] та можливостей таргетування були розроблені різноманітні полімерні (нано)композити на

основі MXene [205]–[207]. Впровадження полімерно-функціоналізованих композитів на основі MXene призвело до покращення фізіологічної стабільності, підвищеної чутливості до стимулів [208], підвищеної чутливості/селективності [209], підвищеної біосумісності та посилення контрастності. Ці досягнення позиціонують їх як перспективні альтернативи в галузі біо- та наномедицини [210]. Наразі такими властивостями для біомедичного застосування не володіє ні один з існуючих електропровідних наноматеріалів [211].

MXene наносять на електропрядені мембрани трьома методами: аерозольне нанесення, електропрядіння розчину з MXene та просякнення мембрани методом занурення у суспензію MXene. Однак аерозольне нанесення дозволяє отримати тільки поверхневий шар з MXene на нановолокнистих мембранах, що перешкоджає проведенню електричних сигналів по усій товщі тривимірної конструкції, та має ризик викликати аритмії загрожуючі життю пацієнта [212], [213]. Метод додавання MXene до полімерного розчину для електропрядіння дає можливість отримувати наноламінати MXene у товщі ноноволокна, але вони локалізовані у ноноволокні на великій відстані між собою та вихідна концентрація MXene у електропряденій мембрані буде складати 15-20% від початкової. З цих причин проведення електричних імпульсів унеможлиблюється. Колоїдна суспензія двовимірних наноламінів MXene на основі деіонізуючої води не сумісна з розчинниками (хлороформ, N,N-диметилформаїд та ін.) для полікапролактону [214]. Грунтуючись на значних недоліках попередніх двох методів нанесення MXene на скафолд, найбільш придатний спосіб для нанесення є метод занурення у суспензію MXene, що забезпечує глибоке проникнення наноламінів у товщу тривимірної електропряденої мембрани та рівномірне розподілення електропровідних елементів з подальшою проліферацією клітин у тривимірній структурі електропряденої PCL-мембрани, як зображено на рисунку 4.1.

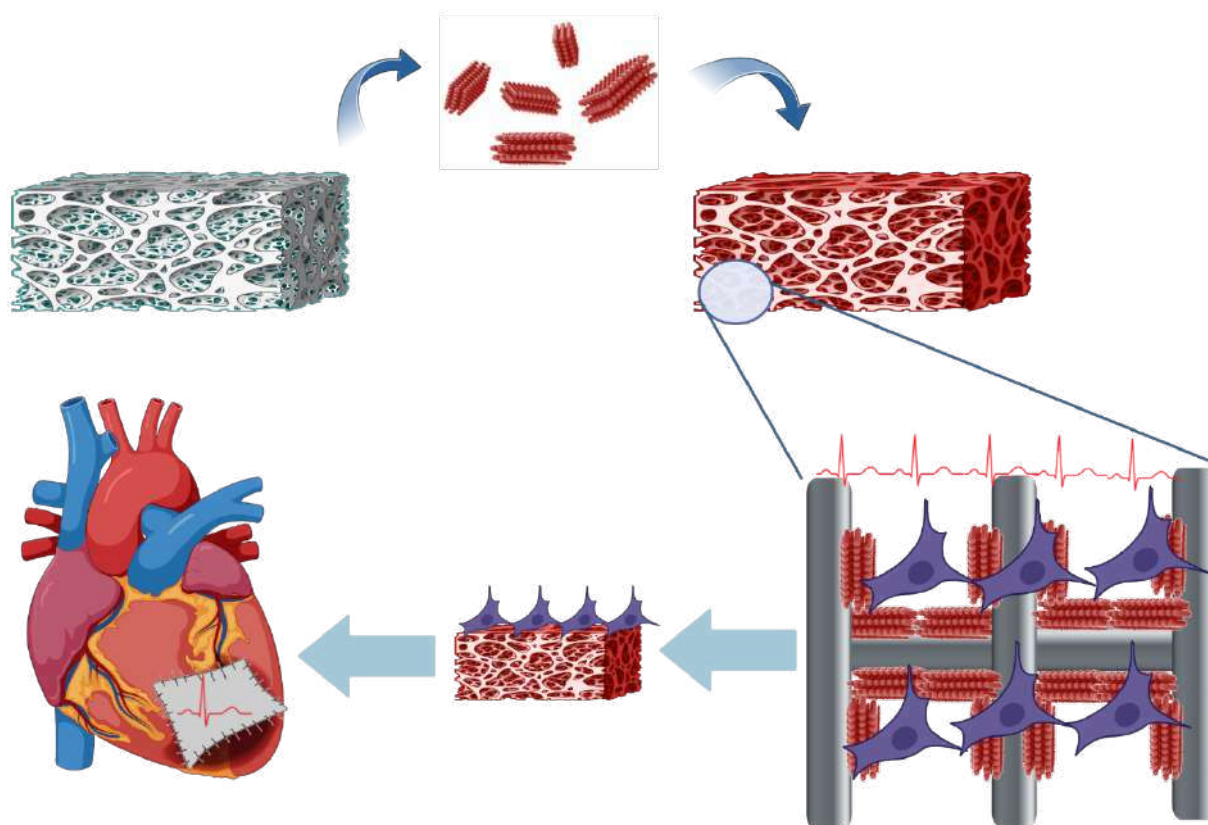


Рисунок 4.1. Схематичне зображення концепції створення кардіального пластиря

Електропровідні скафолди зазвичай мають гідрофобні властивості. Водночас, для глибокого просякнення мембрани, 3D-скафолд повинен бути гідрофільним для максимального поглинення електропровідних наноламінатів. Один з підходів для збільшення гідрофільності скафолдів, передбачає включення гідрофільних полімерів природного походження, таких як желатин, колаген та еластин у склад мембрани. Наприклад, в інженерії нервової тканини гідрофільний скафолд був створений шляхом змішування полікапролактону, поліаніліну (PANI) та желатину [215]. В іншому дослідженні використовували хітозан для отримання полісахаридного гідрогелю [216]. Тим не менш, варто зазначити, що введення гідрофільних полімерів призводить до помітного зниження провідності цих скафолдів порівняно зі скафолдами з виключно провідним полімерним покриттям [217].

У нашому дослідженні ми вивчали, порівнювали та характеризували три метода обробки PCL-мембрани:

- 1) Обробка сірчаною кислотою ( $H_2SO_4$ );
- 2) Обробка гідроксидом натрію (NaOH);
- 3) Обробка кисневою плазмою.

Результати *in vitro* продемонстрували, що серед досліджуваних методів обробки PCL-мембрани, найбільш придатним виявилась обробка кисневою плазмою, яка в порівнянні з іншими обробками продемонстрував позитивний вплив на розмір волокон і збільшення пористої структури при значному зменшенні кута контакту з електропряденою нановолокнистою PCL мембраною, полегшила глибоке просочення MXene у товщу матеріала. Важливо, що ця технологія осадження не вплинула на хімічні параметри PCL-мембрани і не спричиняє жодних токсичних ефектів на фібробласти у дослідженні на біосумісність. S.Shafei та ін. дослідили питання, як довго зберігається гідрофільна поверхня скафолдів PCL-PPU після обробки поверхні кисневою плазмою та за допомогою дослідження контактного кута підтвердили, що гідрофільна поверхня зберігалася також через рік [218].

Аналіз структурних властивостей PCL-мембран за допомогою сканувальної електронної мікроскопії продемонстрував, що структура тривимірного скафолду після обробки сірчаною кислотою зазнає значних змін у розподілі волокон за діаметром до 100 нм від 80% зменшується до 10%, та наоборот для волокон  $d > 100$  нм від 10% до 50% за рахунок спаювання між собою тонких волокон. У той час як обробка кисневою плазмою суттєво не змінила структурних властивостей матеріалу, але призвела до змін у розподілі фракцій пористої поверхні. Зокрема, обробка збільшила загальну пористість за рахунок зменшення кількості тонких волокон, що важливо для рівномірного розподілу MXene у внутрішніх шарах мембрани оскільки розмір наноламінітів дорівнює 1-2 мкм. До того ж, наявність пор більше 7 мкм<sup>2</sup> є життєво важливим для прикріплення, міграції та проліферації клітин [219].

Дослідження статичного та динамічного кута змочуваності виявив збільшення контактного кута після обробки гідроксидом натрію та кисневою плазмою, однак після обробки кисневою плазмою PCL-мембрана стала високогідрофільною з кутом контакту  $0^\circ$ . У той час без обробки контактний кут PCL-мембрани дорівнював  $130 \pm 3^\circ$ . Проте подальше нанесення наноламінітів MXene виявило збільшення контактного кута прямо залежно до кількості осаждень MXene, як після обробки гідроксидом натрію, так і після обробки кисневою плазмою, незважаючи на їх гідрофільну природу. Для вирішення цього питання нанокомпозити PCL-MXene піддавались додатковій обробці кисневою плазмою. Така техніка допомогла зменшити гідрофобність з  $75-80^\circ$  до  $0^\circ$  та не вплинула на їх електропровідну властивість, що підтверджено статичним та динамічним визначенням контактного кута. У порівнянні з дослідженням G.P. Awasthi та ін., де визначали контактний кут для електропряденої PCL мембрани з MXene у складі волокна методом додавання у полімерний розчин перед електропрядінням, найменший контактний кут виявив зразок PCL-MXene 2 wt % та дорівнював  $37,2^\circ$ , на додаток, у дослідженні на біосумісність він проявив цитотоксичність [198]. Наразі це єдине дослідження подібних нанокомпозитів для тканинної інженерії.

Не менш важливою є біодеградаційна здатність біоматеріалу, який повинен утворювати нецитотоксичні побічні продукти деградації і мінімальний фіброз, а також пом'якшувати реакції на чужорідне тіло. Швидкість деградації є критичним фактором для успішної регенерації тканин *in situ*. У цьому контексті біоматеріал може бути адаптований для здійснення динамічного контролю пористості, механічної цілісності та біологічної активності скаффолду [220], [221]. Доведено, що швидкість деградації впливає на механічні характеристики скаффолда. Швидка деградація може призвести до передчасного механічного руйнування, що особливо помітно у таких випадках, як регенерація кісткової тканини, коли під час регенеративного процесу скаффолд часто зазнає механічних навантажень. І навпаки, надмірно



повільний процес деградації може призвести до ускладнень, пов'язаних із запаленням [222]. Деградація може відбуватися через глобальні механізми, що включають гідроліз, як у випадку з декстраном і полі(лактид-ко-гліколідом) (PLGA), або ферментативні процеси [223]. Манн та ін. виявили, що фотополімеризуючі гідрогелі на основі поліетиленгліколю (ПЕГ) можуть бути пристосовані для реагування на ремоделювання тканин *in situ*. Ця пристосованість досягається шляхом хімічної модифікації, що уможлиблює деградацію за допомогою колагенази та еластази, полегшуючи таким чином міграцію та проліферацію клітин [224]. Morteza B. та Wei Z. вивчали нановолокнисті скаффолди PCL і PLGA, отримані методом електроспінінгу. Досліджували вплив деградації шляхом занурення скаффолдів у фосфатний буферний розчин (PBS) при різних температурах. Результати показали, що як PCL, так і PLGA-скаффолди демонструють міцну волокнисту структуру з поступовою деградацією, що свідчить про їхній потенціал у застосуванні в тканинній інженерії та регенеративній медицині [225].

Насамперед типовий період деградації для PCL імплантатів становить приблизно 2-3 роки. Деградація в основному відбувається через два процеси: перетравлення резидентними мікроорганізмами та гідроліз ефірного зв'язку [226]. Важливо, що основним побічним продуктом полікапролактона під час деградації є капронова кислота, яка не завдає шкоди місцевим тканинам і може реабсорбуватися через метаболічні процеси або виводитися через нирки [227].

Під час нашого дослідження вивчення швидкості деградації та водопоглинання наноконструкцій PCL-MXene в статичних та динамічних умовах показав, що додаткова обробка кисневою плазмою мембран, як з так і без іммобілізованих двовимірних наноламінатів MXene прискорює швидкість деградації разом зі збільшенням водопоглинання. У свою чергу швидкість деградації тривимірних конструкцій PCL-MXene при динамічних умовах була більшою ніж при статичних умовах. Динаміка втрати ваги наноконструкцій при динамічній деградації спостерігалася вже з другого тижня, що на 7 днів

раніше, ніж при статичній деградації. Наноккомпозити PCL-MXene після обробки кисневою плазмою після чотирьох тижнів дослідження втрачали від 45 до 70 % своєї ваги, у той час, як без додаткової обробки втрата ваги становила від 29 до 35%. Найбільш швидко деградацію впродовж чотирьох тижнів продемонстрував PCL-MX2-PL зразок, що мав 65,38 % втрату ваги. Результати швидкості поглинання води демонструють, що обробка кисневою плазмою електропрядених полікапролактонових мембран збільшує поглинання води та становить 504% на 7-му добу у співставленні з 286% для PCL-мембрани без обробки та 482% і 288% на 28-му добу відповідно при статичній деградації.

З огляду на те, що основною функцією серцевої тканини є здатність до спонтанних ритмічних скорочень за рахунок проведення електричних імпульсів, як зазначалося вище головна вимога до скафолду є електропровідність. Для досягнення оптимальних одиниць електропровідності ми опирались на швидкість проведення для різних відділів серця [228]:

- Синоатріальний (СА) вузол: близько 0,05 - 0,1 мСм/м;
- Передсердя: Приблизно 0,3 - 1 мСм/м;
- Атріовентрикулярний (AV) вузол: приблизно 0,02 - 0,05 мСм/м;
- Пучок Гіса: приблизно 1 - 1,5 мСм/м;
- Волокна Пуркіньє: приблизно 2 - 4 мСм/м.

Аналіз електропровідності PCL-мембрани після обробки гідроксидом натрію продемонстрував, що зразки з одно- та двошаровим покриттям MXene залишаються непровідними, через недостатню кількість прямих контактів між наночастинками, що перекриваються. У той час як зразки з трьох- та чотирьохшаровим покриттям були провідними, причому провідність струму відбувалась за рахунок тунелювання електронів. Водночас наноккомпозити PCL-MXene після обробки кисневою плазмою продемонстрували провідність

в діапазоні від 5,22 мСм/м до 326,33 мСм/м. Насамперед найкращу електропровідність показав зразок з двошаровим нанесенням MXene.

Біосумісність і біомімікрія є життєво важливими для підтримки і збереження фундаментальних клітинних функцій, що охоплюють молекулярний рівень і механічні сигнальні мережі. Включення біологічно активних елементів, включаючи біохімічні сигнали, механічні сили та фізико-хімічні властивості матеріалу, у вибраний біоматеріал суттєво впливає на поведінку клітин [229]. Численні дослідження продемонстрували достатню адгезію та проліферацію клітин на полікапролактонових нановолокнистих скафолдах, особливо після модифікацій, що підвищують поверхневу змочуваність [230]. Наші попередні результати показали, що лужна і кислотна попередня обробка електропрядених PCL мембран зменшує контактний кут і полегшує осадження MXene, що призводить до достатнього рівня адгезії і проліферації клітин [162]. Однак через біодеградацію PCL мембран вивільнення хімічних речовин, що використовуються для попередньої обробки (таких як  $\text{H}_2\text{SO}_4$  і  $\text{NaOH}$ ), може мати негативний вплив на ремоделювання тканин. У деяких дослідженнях було продемонстровано безпосереднє змішування MXene  $\text{Ti}_3\text{C}_2\text{T}_x$  у колагені з желатином як диспергуючого агента для створення електропровідного скафолда. Однак висока концентрація MXene (від 15% до 75% мас.) зумовлює обмежену біосумісність таких скафолдів [231]. В іншому дослідженні MXene  $\text{Ti}_2\text{C}$  був включений у кріогель, що дозволило отримати провідний серцевий пластр, який сприяв функціональному дозріванню кардіоміоцитів і посилював відновлення після інфаркту міокарда [232]. Хоча 3D-друк також використовувався для виробництва замінників серцевої тканини з осадженням MXene, ці трансплантати не демонстрували електропровідності серця, незважаючи на відповідну клітинну реакцію [156]. Використовуючи швидкий, недорогий і безпечний метод контролю змочуваності (киснева плазма), ми успішно виготовили високопровідну та біосумісну тривимірну тканинно-інженерну конструкцію.

Кілька досліджень демонструють антибактеріальні властивості різних МХене, включаючи  $Ti_3C_2T_x$ , як у суспензії, так і після осадження на поверхню [233], [234], [235]. Антибактеріальні властивості нанокомпозитів PCL-MХене досліджувались проти *St.aureus* та *E.coli*, як представників грамнегативних і грампозитивних бактерій, залучених до ендокардиту [236]. Слід зазначити, що *S. aureus* часто ідентифікується, як основна причина гострого ендокардиту і є основним збудником у більшості зареєстрованих випадків [237]. Крім того, хоча це трапляється рідко, *E. coli* також згадуються як інфекційні агенти, що спричиняють ендокардит, особливо у пацієнтів з протезованим мітральним клапаном в анамнезі [238]. Дослідження нанокомпозитів PCL-MХене не виявило значних антибактеріальних властивостей, але спостерігало певну бактеріостатичну активність у короткостроковому періоді після контакту бактерій з МХене. Проте PCL-мембрани з двома та трьома шарами покриття МХене показали підвищену здатність запобігати утворенню біоплівки для обох бактерій. Крім того, додатковий шар покриття МХене не призвів до подальшого підвищення антибактеріальної ефективності.

Ми припустили, що застосування PCL-MХене-мембрани до пошкодженої тканини серця покращить проведення електричних сигналів від здорової до ішемізованої тканини, завдяки МХене, що, в свою чергу, покращить скоротливу функцію серця.

Крім того, ми припустили, що нановолокнисті електропрядені PCL-MХене мембрани будуть мати мінімальну перспективу на активацію імунної системи при імплантації *in vivo* завдяки здатності МХене зменшувати рекрутування імунних клітин, Т-лімфоцитів людини, сприяти імуносупресивним регуляторним Т-клітинам і обмежувати вторинне пошкодження серця [239]. Крім того, певні МХене (такі як  $Ta_4C_3$ ) можуть пригнічувати небажані клітинні імунні відповіді під час процесу загоєння, регулюючи поверхневі молекули ко-активатора та ко-інгібітора [240]. Більше того,  $Ti_3C_2T_x$  МХене показали здатність сприяти дозріванню кардіоміоцитів,

отриманих з iPSC, контролюючи експресію *cx43* [241].

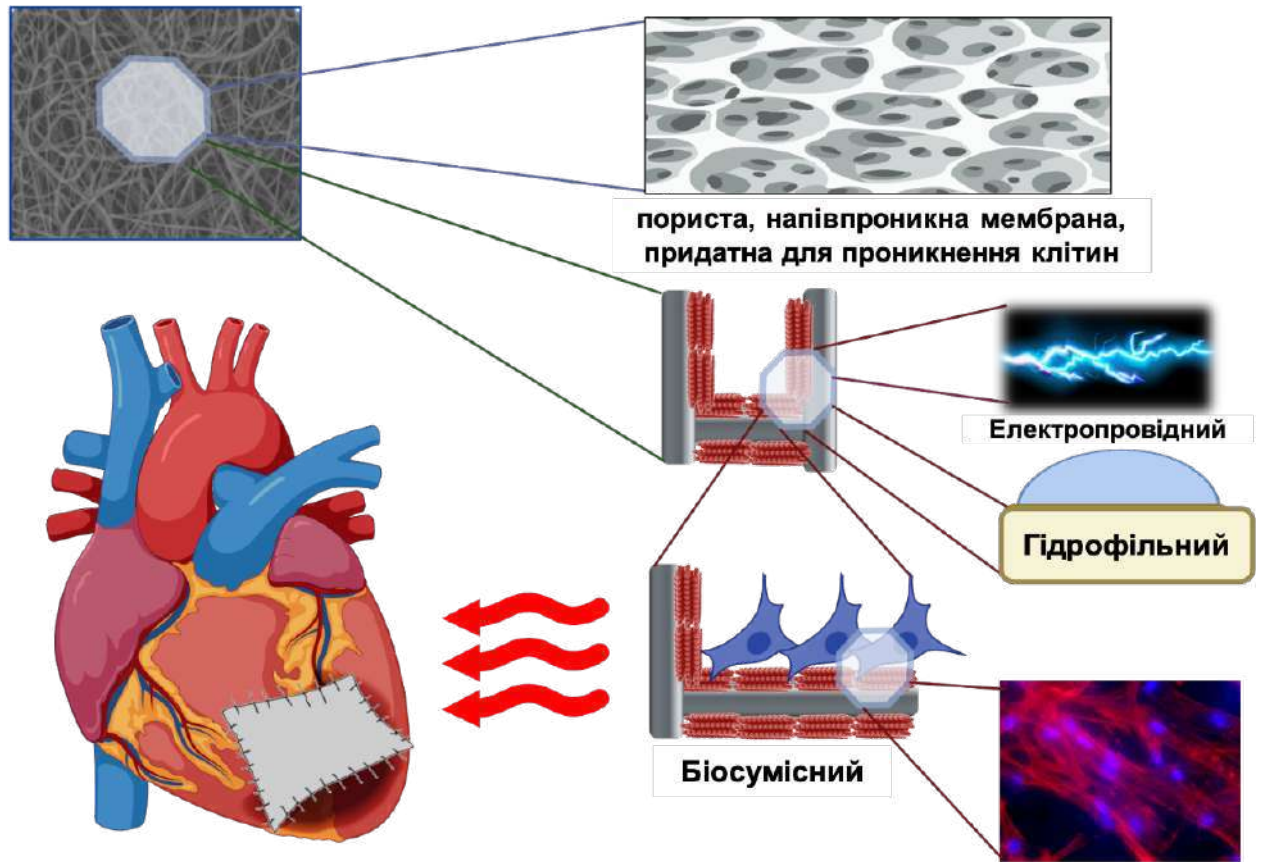


Рисунок 4.2. Схематичне зображення нової розробки на основі тривимірного електропровідного полімерного скафолду.

Як зображено на рисунку 4.2 ця нова тканинно-інженерна конструкція має величезний потенціал для забезпечення механічної підтримки пошкоджених провідних тканини та передачі електричного сигналу, тим самим імітуючи критично важливу електропровідність, необхідну для нормальної роботи серця, нервів або м'язів. Враховуючи відсутність різниці у провідності та проліферації клітин, для розробки заміника серцевої тканини достатньо лише одного циклу осадження МХене за новою методикою. Основні результати цього розділу опубліковані в працях [158-162], [168], [169],[191]–[193].

## ВИСНОВКИ

У дисертації наведені теоретичне узагальнення та нові результати, що вирішують наукове завдання, суть якого полягає у створенні нового матеріала для регенерації провідної тканини з відновленням скоротливої функції та визначення особливості їх структури та біосумісності.

1. Дослідження розкриває особливості створення пористого, електропровідного тривимірного скафолду, сприятливого для адгезії та проліферації кардіоміоцитів. В дисертації описана технологія синтезу нановолокнистих 3D скафолдів на основі полікапролактону методом електропрядіння. Аналіз структурних і фізико-хімічних характеристик матеріалів показав переваги методу електропрядіння, зокрема його здатність виробляти мембрани, що характеризуються як високою пористістю, так і рівномірним розподілом нановолокон. Нами створений новий тривимірний пористий матеріал з полікапролактону (PCL) з використанням методу електропрядіння, здатний підтримувати проліферації клітин та забезпечувати електропровідність для підтримки проведення нервового імпульсу. Оптимальні параметри процесу електропрядіння при цьому забезпечувались за рахунок швидкості току полімеру до 1 мл/год з напругою на голці – 17 кВ та відстанню до колектору – 17,0 см. Метод електропрядіння дозволив одержати мембрану з хаотично орієнтованих волокон з переважанням тонких волокон менше 500 нм. Завдяки їхній рандомній орієнтації утворюються мембрани з взаємопов'язаними порами, де частка пористої поверхні складається з дрібних пор діаметром до 0,5 мкм<sup>2</sup>.
2. Для забезпечення оптимальних умов процесу іммобілізації MXene на поверхні мембрани розроблені методи їх постобробки за допомогою 20% сірчаної кислоти (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), 1М гідроксиду натрію (NaOH) та кисневою плазмою потужністю 15 Вт. Контактний кут поверхні PCL мембран при цьому знижується зі 130<sup>0</sup> до нульового контактного кута (статичний та динамічний) в залежності від метода постобробки, що дозволяє

використовувати метод *deep coating* для іммобілізації  $Ti_3C_2T_x$  MXene. Порівняння різних методів обробки PCL-мембрани продемонструвало, що обробка кисневою плазмою найкраще з усіх збільшує гідрофільні властивості електропряденої мембрани з контактним кутом  $0^\circ$ , що у свою чергу дозволяє глибоке проникнення двовимірних частинок MXene у товщу скафолду. На відміну від хімічних методів обробки киснева плазма зберігає тривимірні структурні властивості нановолокнистої мембрани.

3. Отримання гідрофільної електропряденої нановолокнистої PCL мембрани дозволило іммобілізувати двовимірні частинки MXene методом занурення у розчин, що зі свого боку придало тривимірному скафолду електропровідних властивостей продемонстрованих у ході дослідження на електропровідність наноконкомпозитів. Всі зазначені методи дозволили значно підвищити гідрофільні властивості мембран, необхідні для іммобілізації двовимірних наноматеріалів, проте кислотна та лужна обробка призвели до збільшення товщини волокон та зменшення пористості мембран, що може негативно вплинути на проліферацію клітин у товщі скафолду. Обробка кисневою плазмою дозволила збільшити пористість за рахунок зменшення кількості волокон субмікронного діаметру.
4. Аналізуючи контактний кут електропрядених тривимірних скафолдів було виявлено, що наноламінати MXene надають гідрофобних властивостей нановолокнистій PCL-мембрані збільшуючи контактний кут з  $0^\circ$  до  $82,7^\circ$ . Проте додаткова обробка кисневою плазмою наноконкомпозитів PCL-MXene зменшила контактний кут з  $82,7^\circ$  до  $0^\circ$ , без впливу на електропровідні властивості тривимірної конструкції.
5. Вивчення швидкості деградації та водопоглинання тривимірних конструкцій PCL-MXene в статичних та динамічних умовах показав, що додаткова обробка кисневою плазмою чистих мембран та з нанесеними двовимірними наноламінатами MXene прискорює швидкість деградації разом зі збільшенням водопоглинання. У свою чергу швидкість деградації

нанокомпозитів при динамічних умовах була більшою за статичну. При динамічній деградації мембран на 28 день відсоток втрати ваги становив приблизно 70%, коли при статичній становив близько 35 %.

6. PCL-MXene мембрани показали високу біосумісність, здатність до адгезії клітин та їх проліферації. Ми не спостерігали достовірної різниці між показниками проліферації фібробластів на матеріалах з різними видами обробки, окрім незначного зменшення кількості клітин на третю добу в групі з попередньою обробкою гідроксидом натрію. Флюорисцентна мікроскопія продемонструвала рандомне розташування клітин звичної форми вздовж волокон мембран з формуванням «симпласту». При цьому матеріали не показали наявності антибактеріальних властивостей.
7. У дослідженні структурних, фізико-хімічних, електропровідних, адгезивних, проліферативних та антибактеріальних властивостей з одно-, дво- та тришаровим покриттям нанокомпозитів PCL-MXene, зразок з двошаровим покриттям найбільш оптимальний варіант, який сприяє прикріпленню та проліферації клітин.
8. Комплексний аналіз результатів структурних, фізико-хімічних і біологічних досліджень, а також досліджень гідрофільності нанокомпозитів PCL-MXene, оброблених різними методами обробки, підкреслив значні переваги застосування киснево-плазмової обробки. Використовуючи техніку електропрядіння, стає можливим виготовлення тривимірних скафолдів з використанням полікапролактону в якості базового матеріалу. Маніпулювання різними параметрами електропрядіння полегшує виробництво високопористих нановолокнистих мембран, на які можна наносити двовимірні частинки MXene. Це, в свою чергу, дозволяє створити електропровідний тривимірний скафолд для регенерації серцевої тканини. Цей матеріал має високу електропровідність, є абсолютно нетоксичним, сприяє проліферації клітин та забезпечує значну активну площу поверхні для взаємодії з кардіоміоцитами. Отже, отримані дані можуть слугувати



основою для розробки інноваційних матеріалів для застосування в інженерії серцевої тканини.

**СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ**

1. F. Weinberger, I. Mannhardt, and T. Eschenhagen, “Engineering Cardiac Muscle Tissue: A Maturing Field of Research,” *Circ Res*, vol. 120, no. 9, pp. 1487–1500, Apr. 2017, doi: 10.1161/CIRCRESAHA.117.310738.
2. L. Wang, V. Serpooshan, and J. Zhang, “Engineering Human Cardiac Muscle Patch Constructs for Prevention of Post-infarction LV Remodeling,” *Front Cardiovasc Med*, vol. 8, 2021, doi: 10.3389/fcvm.2021.621781.
3. P. Gil-Cabrero, I. Scacchetti, E. Garbayo, and M. J. Blanco-Prieto, “Cardiac tissue engineering for myocardial infarction treatment,” *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 185, 2023, doi: 10.1016/j.ejps.2023.106439.
4. D. Selvakumar, L. Reyes, and J. J. H. Chong, “Cardiac Cell Therapy with Pluripotent Stem Cell-Derived Cardiomyocytes: What Has Been Done and What Remains to Do?,” *Curr Cardiol Rep*, vol. 24, no. 5, pp. 445–461, 2022, doi: 10.1007/s11886-022-01666-9.
5. L. A. Reis, L. L. Y. Chiu, N. Feric, L. Fu, and M. Radisic, “Biomaterials in myocardial tissue engineering,” *J Tissue Eng Regen Med*, vol. 10, no. 1, pp. 11–28, 2016, doi: 10.1002/term.1944.
6. S. Correa *et al.*, “Translational Applications of Hydrogels,” *Chem Rev*, vol. 121, no. 18, pp. 11385–11457, 2021, doi: 10.1021/acs.chemrev.0c01177.
7. B. Kato, G. Wisser, D. K. Agrawal, T. Wood, and F. G. Thankam, “3D bioprinting of cardiac tissue: current challenges and perspectives,” *J Mater Sci Mater Med*, vol. 32, no. 5, 2021, doi: 10.1007/s10856-021-06520-y.
8. A. Gloria *et al.*, “The influence of poly(ester amide) on the structural and functional features of 3D additive manufactured poly( $\epsilon$ -caprolactone) scaffolds,” *Materials Science and Engineering C*, vol. 98, pp. 994–1004, 2019, doi: 10.1016/j.msec.2019.01.063.
9. S. Ahadian *et al.*, “Moldable elastomeric polyester-carbon nanotube scaffolds for cardiac tissue engineering,” *Acta Biomater*, vol. 52, pp. 81–91, Apr. 2017, doi: 10.1016/J.ACTBIO.2016.12.009.

10. Y. Yao *et al.*, “Multifunctional elastomer cardiac patches for preventing left ventricle remodeling after myocardial infarction in vivo,” *Biomaterials*, vol. 282, 2022, doi: 10.1016/j.biomaterials.2022.121382.
11. H. Chen *et al.*, “Galunisertib-Loaded Gelatin Methacryloyl Hydrogel Microneedle Patch for Cardiac Repair after Myocardial Infarction,” *ACS Appl Mater Interfaces*, vol. 14, no. 36, pp. 40491–40500, 2022, doi: 10.1021/acsami.2c05352.
12. H. Kim *et al.*, “Enhancement strategy for effective vascular regeneration following myocardial infarction through a dual stem cell approach,” *Exp Mol Med*, vol. 54, no. 8, pp. 1165–1178, 2022, doi: 10.1038/s12276-022-00827-8.
13. T. Kitsuka *et al.*, “Advances in Cardiac Tissue Engineering,” *Bioengineering*, vol. 9, no. 11, 2022, doi: 10.3390/bioengineering9110696.
14. T. Su *et al.*, “Cardiac Stromal Cell Patch Integrated with Engineered Microvessels Improves Recovery from Myocardial Infarction in Rats and Pigs,” *ACS Biomater Sci Eng*, vol. 6, no. 11, pp. 6309–6320, 2020, doi: 10.1021/acsbiomaterials.0c00942.
15. L. Wang and J. Zhang, “Layer-By-Layer Fabrication of Thicker and Larger Human Cardiac Muscle Patches for Cardiac Repair in Mice,” *Front Cardiovasc Med*, vol. 8, 2022, doi: 10.3389/fcvm.2021.800667.
16. X. Lin *et al.*, “A viscoelastic adhesive epicardial patch for treating myocardial infarction,” *Nat Biomed Eng*, vol. 3, no. 8, pp. 632–643, 2019, doi: 10.1038/s41551-019-0380-9.
17. O. Kwon, Y. Choi, E. Choi, M. Kim, Y. C. Woo, and D. W. Kim, “Fabrication Techniques for Graphene Oxide-Based Molecular Separation Membranes: Towards Industrial Application,” *Nanomaterials 2021, Vol. 11, Page 757*, vol. 11, no. 3, p. 757, Mar. 2021, doi: 10.3390/NANO11030757.
18. M. Alhabeab *et al.*, “Guidelines for Synthesis and Processing of Two-Dimensional Titanium Carbide (Ti<sub>3</sub>C<sub>2</sub>T<sub>x</sub> MXene),” *Chemistry of Materials*, vol. 29, no. 18, pp. 7633–7644, 2017, doi: 10.1021/acs.chemmater.7b02847.

19. A. Sundaram, B. M. Francis, S. C. Dhanabalan, and J. S. Ponraj, “Transition metal carbide—MXene,” *Handbook of Carbon-Based Nanomaterials*, pp. 671–709, Jan. 2021, doi: 10.1016/B978-0-12-821996-6.00017-8.
20. N. Driscoll *et al.*, “MXene-infused bioelectronic interfaces for multiscale electrophysiology and stimulation,” *Sci Transl Med*, vol. 13, no. 612, Sep. 2021, doi: 10.1126/SCITRANSLMED.ABF8629/SUPPL\_FILE/SCITRANSLMED.ABF8629\_DATA\_FILE\_S1.ZIP.
21. “Mortality and global health estimates.” Accessed: Aug. 31, 2023. [Online]. Available: <https://www.who.int/data/gho/data/themes/mortality-and-global-health-estimates>
22. “Cardiovascular diseases (CVDs).” Accessed: Sep. 01, 2023. [Online]. Available: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-%28cvds%29>
23. “Cardiovascular disease death rate, 2019.” Accessed: Sep. 01, 2023. [Online]. Available: <https://ourworldindata.org/grapher/cardiovascular-disease-death-rates>
24. D. M. Greenfield and J. A. Snowden, “Cardiovascular Diseases and Metabolic Syndrome,” *The EBMT Handbook: Hematopoietic Stem Cell Transplantation and Cellular Therapies*, pp. 415–420, Dec. 2019, doi: 10.1007/978-3-030-02278-5\_55.
25. “EAPC Country of the month - Ukraine.” Accessed: Sep. 01, 2023. [Online]. Available: <https://www.escardio.org/Sub-specialty-communities/European-Association-of-Preventive-Cardiology-%28EAPC%29/Advocacy/Prevention-in-your-country/country-of-the-month-ukraine>
26. “Серцево-судинні захворювання — головна причина смерті українців. Висновки з дослідження Глобального тягаря хвороб у 2019 році | Центр громадського здоров’я.” Accessed: Sep. 01, 2023. [Online]. Available:

<https://phc.org.ua/news/sercevo-sudinni-zakhvoryuvannya-golovna-prichina-smerti-ukrainciv-visnovki-z-doslidzhennya>

27. D. Jenča *et al.*, “Heart failure after myocardial infarction: incidence and predictors,” *ESC Heart Fail*, vol. 8, no. 1, pp. 222–237, 2021, doi: 10.1002/ehf2.13144.
28. C. H. Han, H. Kim, S. Lee, and J. H. Chung, “Knowledge and Poor Understanding Factors of Stroke and Heart Attack Symptoms,” *Int J Environ Res Public Health*, vol. 16, no. 19, Oct. 2019, doi: 10.3390/IJERPH16193665.
29. O. Bergmann *et al.*, “Dynamics of Cell Generation and Turnover in the Human Heart,” *Cell*, vol. 161, no. 7, pp. 1566–1575, 2015, doi: 10.1016/j.cell.2015.05.026.
30. F. See, A. Kompa, J. Martin, D. Lewis, and H. Krum, “Fibrosis as a Therapeutic Target Post-Myocardial Infarction,” *Curr Pharm Des*, vol. 11, no. 4, pp. 477–487, 2005, doi: 10.2174/1381612053382098.
31. A. A. Damluji *et al.*, “Mechanical Complications of Acute Myocardial Infarction: A Scientific Statement From the American Heart Association,” *Circulation*, vol. 144, no. 2, pp. E16–E35, Jul. 2021, doi: 10.1161/CIR.0000000000000985.
32. Y. Saito, K. Oyama, K. Tsujita, S. Yasuda, and Y. Kobayashi, “Treatment strategies of acute myocardial infarction: updates on revascularization, pharmacological therapy, and beyond,” *J Cardiol*, vol. 81, no. 2, pp. 168–178, Feb. 2023, doi: 10.1016/J.JJCC.2022.07.003.
33. F. M. Kusumoto *et al.*, “2018 ACC/AHA/HRS Guideline on the Evaluation and Management of Patients With Bradycardia and Cardiac Conduction Delay: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines and the Heart Rhythm Society,” *Circulation*, vol. 140, no. 8, pp. e382–e482, Aug. 2019, doi: 10.1161/CIR.0000000000000628.

34. P. Baei, M. Hosseini, H. Baharvand, and S. Pahlavan, “Electrically conductive materials for in vitro cardiac microtissue engineering,” *J Biomed Mater Res A*, vol. 108, no. 5, pp. 1203–1213, 2020, doi: 10.1002/jbm.a.36894.
35. A. F. J. De Kanter, K. R. Jongsma, M. C. Verhaar, and A. L. Bredenoord, “The Ethical Implications of Tissue Engineering for Regenerative Purposes: A Systematic Review,” *Tissue Eng Part B Rev*, vol. 29, no. 2, pp. 167–187, 2023, doi: 10.1089/ten.teb.2022.0033.
36. R. G. Carbone, A. Monselise, G. Bottino, S. Negrini, and F. Puppo, “Stem cells therapy in acute myocardial infarction: a new era?,” *Clin Exp Med*, vol. 21, no. 2, pp. 231–237, 2021, doi: 10.1007/s10238-021-00682-3.
37. A. Deb, S. Wang, K. A. Skelding, D. Miller, D. Simper, and N. M. Caplice, “Bone marrow-derived cardiomyocytes are present in adult human heart: A study of gender-mismatched bone marrow transplantation patients,” *Circulation*, vol. 107, no. 9, pp. 1247–1249, 2003, doi: 10.1161/01.CIR.0000061910.39145.F0.
38. A. Hosseinpour, F. Kheshti, A. Kazemi, and A. Attar, “Comparing the effect of bone marrow mono-nuclear cells with mesenchymal stem cells after acute myocardial infarction on improvement of left ventricular function: a meta-analysis of clinical trials,” *Stem Cell Res Ther*, vol. 13, no. 1, 2022, doi: 10.1186/s13287-022-02883-3.
39. S. Jiang and S. Zhang, “Differentiation of cardiomyocytes from amniotic fluid-derived mesenchymal stem cells by combined induction with transforming growth factor  $\beta$ 1 and 5-azacytidine,” *Mol Med Rep*, vol. 16, no. 5, pp. 5887–5893, 2017, doi: 10.3892/mmr.2017.7373.
40. S. Golpanian, A. Wolf, K. E. Hatzistergos, and J. M. Hare, “Rebuilding the damaged heart: Mesenchymal stem cells, cell-based therapy, and engineered heart tissue,” *Physiol Rev*, vol. 96, no. 3, pp. 1127–1168, 2016, doi: 10.1152/physrev.00019.2015.

41. S. Arbatlı, G. S. Aslan, and F. Kocabaş, “Stem cells in regenerative cardiology,” *Adv Exp Med Biol*, vol. 1079, pp. 37–53, 2018, doi: 10.1007/5584\_2017\_113.
42. Y. W. Liu *et al.*, “Human embryonic stem cell-derived cardiomyocytes restore function in infarcted hearts of non-human primates,” *Nat Biotechnol*, vol. 36, no. 7, pp. 597–605, 2018, doi: 10.1038/nbt.4162.
43. D. Kumar, T. Anand, and W. A. Kues, “Clinical potential of human-induced pluripotent stem cells: Perspectives of induced pluripotent stem cells,” *Cell Biol Toxicol*, vol. 33, no. 2, pp. 99–112, 2017, doi: 10.1007/s10565-016-9370-9.
44. H. Osada *et al.*, “Therapeutic potential of clinical-grade human induced pluripotent stem cell-derived cardiac tissues,” *JTCVS Open*, vol. 8, pp. 359–374, 2021, doi: 10.1016/j.xjon.2021.09.038.
45. L. He, N. B. Nguyen, R. Ardehali, and B. Zhou, “Heart regeneration by endogenous stem cells and cardiomyocyte proliferation: Controversy, fallacy, and progress,” *Circulation*, vol. 142, no. 3, pp. 275–291, 2020, doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.119.045566.
46. S. T. Lee *et al.*, “Intramyocardial injection of autologous cardiospheres or cardiosphere-derived cells preserves function and minimizes adverse ventricular remodeling in pigs with heart failure post-myocardial infarction,” *J Am Coll Cardiol*, vol. 57, no. 4, pp. 455–465, 2011, doi: 10.1016/j.jacc.2010.07.049.
47. D. G. Phinney and M. F. Pittenger, “Concise Review: MSC-Derived Exosomes for Cell-Free Therapy,” *Stem Cells*, vol. 35, no. 4, pp. 851–858, 2017, doi: 10.1002/stem.2575.
48. S. Nikfarjam, J. Rezaie, N. M. Zolbanin, and R. Jafari, “Mesenchymal stem cell derived-exosomes: a modern approach in translational medicine,” *J Transl Med*, vol. 18, no. 1, 2020, doi: 10.1186/s12967-020-02622-3.

49. C. Sid-Otmane, L. P. Perrault, and H. Q. Ly, “Mesenchymal stem cell mediates cardiac repair through autocrine, paracrine and endocrine axes,” *J Transl Med*, vol. 18, no. 1, 2020, doi: 10.1186/s12967-020-02504-8.
50. R. Xu *et al.*, “Exosomes derived from pro-inflammatory bone marrow-derived mesenchymal stem cells reduce inflammation and myocardial injury via mediating macrophage polarization,” *J Cell Mol Med*, vol. 23, no. 11, pp. 7617–7631, 2019, doi: 10.1111/jcmm.14635.
51. A. Higuchi *et al.*, “Stem cell therapies for myocardial infarction in clinical trials: Bioengineering and biomaterial aspects,” *Laboratory Investigation*, vol. 97, no. 10, pp. 1167–1179, 2017, doi: 10.1038/labinvest.2017.100.
52. I. Chimenti *et al.*, “Relative roles of direct regeneration versus paracrine effects of human cardiosphere-derived cells transplanted into infarcted mice,” *Circ Res*, vol. 106, no. 5, pp. 971–980, 2010, doi: 10.1161/CIRCRESAHA.109.210682.
53. M. Räsänen *et al.*, “VEGF-B Promotes Endocardium-Derived Coronary Vessel Development and Cardiac Regeneration,” *Circulation*, vol. 143, no. 1, pp. 65–77, 2021, doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.120.050635.
54. F. Khosravi, N. Ahmadvand, S. Bellusci, and H. Sauer, “The Multifunctional Contribution of FGF Signaling to Cardiac Development, Homeostasis, Disease and Repair,” *Front Cell Dev Biol*, vol. 9, 2021, doi: 10.3389/fcell.2021.672935.
55. M. Cacciapuoti, B. Johnson, A. Kapdia, S. Powell, and G. Ian Gallicano, “The Role of Neuregulin and Stem Cells as Therapy Post-Myocardial Infarction,” *Stem Cells Dev*, vol. 29, no. 19, pp. 1266–1274, 2020, doi: 10.1089/scd.2020.0099.
56. L. Saludas *et al.*, “Extracellular vesicle-based therapeutics for heart repair,” *Nanomaterials*, vol. 11, no. 3, pp. 1–30, 2021, doi: 10.3390/nano11030570.
57. S. Deng *et al.*, “Exosomes from adipose-derived mesenchymal stem cells ameliorate cardiac damage after myocardial infarction by activating S1P/SK1/S1PR1 signaling and promoting macrophage M2 polarization,”



- International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, vol. 114, 2019, doi: 10.1016/j.biocel.2019.105564.
58. S. Estes, K. Konstantinov, and J. D. Young, “Manufactured extracellular vesicles as human therapeutics: challenges, advances, and opportunities,” *Curr Opin Biotechnol*, vol. 77, 2022, doi: 10.1016/j.copbio.2022.102776.
59. Q. Li *et al.*, “Small extracellular vesicles containing miR-486-5p promote angiogenesis after myocardial infarction in mice and nonhuman primates,” *Sci Transl Med*, vol. 13, no. 584, 2021, doi: 10.1126/scitranslmed.abb0202.
60. B. Liu, B. Wang, X. Zhang, R. Lock, T. Nash, and G. Vunjak-Novakovic, “Cell type-specific microRNA therapies for myocardial infarction,” *Sci Transl Med*, vol. 13, no. 580, 2021, doi: 10.1126/scitranslmed.abd0914.
61. A. Eulalio *et al.*, “Functional screening identifies miRNAs inducing cardiac regeneration,” *Nature*, vol. 492, no. 7429, pp. 376–381, 2012, doi: 10.1038/nature11739.
62. A. B. Nugroho *et al.*, “Micro RNA-411 Expression Improves Cardiac Phenotype Following Myocardial Infarction in Mice,” *JACC Basic Transl Sci*, vol. 7, no. 9, pp. 859–875, 2022, doi: 10.1016/j.jacbts.2022.05.008.
63. H. Zhou, W. Tang, J. Yang, J. Peng, J. Guo, and C. Fan, “MicroRNA-Related Strategies to Improve Cardiac Function in Heart Failure,” *Front Cardiovasc Med*, vol. 8, 2021, doi: 10.3389/fcvm.2021.773083.
64. S. Batkai *et al.*, “CDR132L improves systolic and diastolic function in a large animal model of chronic heart failure,” *Eur Heart J*, vol. 42, no. 2, pp. 192–201, 2021, doi: 10.1093/eurheartj/ehaa791.
65. J. Li *et al.*, “Fibroblast growth factor 21 inhibited inflammation and fibrosis after myocardial infarction via EGR1,” *Eur J Pharmacol*, vol. 910, 2021, doi: 10.1016/j.ejphar.2021.174470.
66. L. Saludas *et al.*, “Isolation methods of large and small extracellular vesicles derived from cardiovascular progenitors: A comparative study,” *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, vol. 170, pp. 187–196, 2022, doi: 10.1016/j.ejpb.2021.12.012.

67. G. van Niel, D. R. F. Carter, A. Clayton, D. W. Lambert, G. Raposo, and P. Vader, “Challenges and directions in studying cell–cell communication by extracellular vesicles,” *Nat Rev Mol Cell Biol*, vol. 23, no. 5, pp. 369–382, 2022, doi: 10.1038/s41580-022-00460-3.
68. A. T. Reiner *et al.*, “Concise review: Developing best-practice models for the therapeutic use of extracellular vesicles,” *Stem Cells Transl Med*, vol. 6, no. 8, pp. 1730–1739, 2017, doi: 10.1002/sctm.17-0055.
69. B. Laggerbauer and S. Engelhardt, “MicroRNAs as therapeutic targets in cardiovascular disease,” *Journal of Clinical Investigation*, vol. 132, no. 11, 2022, doi: 10.1172/JCI159179.
70. R. H. Anderson, J. Yanni, M. R. Boyett, N. J. Chandler, and H. Dobrzynski, “The anatomy of the cardiac conduction system,” *Clinical Anatomy*, vol. 22, no. 1, pp. 99–113, 2009, doi: 10.1002/ca.20700.
71. P. Menasché *et al.*, “Autologous skeletal myoblast transplantation for severe postinfarction left ventricular dysfunction,” *J Am Coll Cardiol*, vol. 41, no. 7, pp. 1078–1083, 2003, doi: 10.1016/S0735-1097(03)00092-5.
72. S. Guan, J. Li, K. Zhang, and J. Li, “Environmentally responsive hydrogels for repair of cardiovascular tissue,” *Heart Fail Rev*, vol. 26, no. 5, pp. 1273–1285, 2021, doi: 10.1007/s10741-020-09934-y.
73. Z. Wang *et al.*, “3D bioprinting in cardiac tissue engineering,” *Theranostics*, vol. 11, no. 16, pp. 7948–7969, 2021, doi: 10.7150/THNO.61621.
74. M. L. Tomov *et al.*, “Engineering Functional Cardiac Tissues for Regenerative Medicine Applications,” *Curr Cardiol Rep*, vol. 21, no. 9, 2019, doi: 10.1007/s11886-019-1178-9.
75. Z. Zheng *et al.*, “Biotherapeutic-loaded injectable hydrogels as a synergistic strategy to support myocardial repair after myocardial infarction,” *Journal of Controlled Release*, vol. 335, pp. 216–236, 2021, doi: 10.1016/j.jconrel.2021.05.023.
76. C. Zhang *et al.*, “A self-doping conductive polymer hydrogel that can restore electrical impulse propagation at myocardial infarct to prevent cardiac

- arrhythmia and preserve ventricular function,” *Biomaterials*, vol. 231, 2020, doi: 10.1016/j.biomaterials.2019.119672.
77. T. Wu *et al.*, “Coadministration of an Adhesive Conductive Hydrogel Patch and an Injectable Hydrogel to Treat Myocardial Infarction,” *ACS Appl Mater Interfaces*, vol. 12, no. 2, pp. 2039–2048, 2020, doi: 10.1021/acsami.9b17907.
78. Y. Liu *et al.*, “Chitosan Hydrogel Enhances the Therapeutic Efficacy of Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells for Myocardial Infarction by Alleviating Vascular Endothelial Cell Pyroptosis,” *J Cardiovasc Pharmacol*, vol. 75, no. 1, pp. 75–83, 2020, doi: 10.1097/FJC.0000000000000760.
79. Y. Yao *et al.*, “IGF-1C domain-modified hydrogel enhanced the efficacy of stem cells in the treatment of AMI,” *Stem Cell Res Ther*, vol. 11, no. 1, 2020, doi: 10.1186/s13287-020-01637-3.
80. B. Qian *et al.*, “Encapsulation of lyophilized platelet-rich fibrin in alginate-hyaluronic acid hydrogel as a novel vascularized substitution for myocardial infarction,” *Bioact Mater*, vol. 7, pp. 401–411, 2022, doi: 10.1016/j.bioactmat.2021.05.042.
81. M. D. Diaz *et al.*, “Injectable Myocardial Matrix Hydrogel Mitigates Negative Left Ventricular Remodeling in a Chronic Myocardial Infarction Model,” *JACC Basic Transl Sci*, vol. 6, no. 4, pp. 350–361, 2021, doi: 10.1016/j.jacbts.2021.01.003.
82. W. Liang *et al.*, “Conductive Hydrogen Sulfide-Releasing Hydrogel Encapsulating ADSCs for Myocardial Infarction Treatment,” *ACS Appl Mater Interfaces*, vol. 11, no. 16, pp. 14619–14629, 2019, doi: 10.1021/acsami.9b01886.
83. Y. Yoshizaki, H. Takai, N. Mayumi, S. Fujiwara, A. Kuzuya, and Y. Ohya, “Cellular therapy for myocardial ischemia using a temperature-responsive biodegradable injectable polymer system with adipose-derived stem cells,” *Sci Technol Adv Mater*, vol. 22, no. 1, pp. 627–642, 2021, doi: 10.1080/14686996.2021.1938212.

84. Z. Fan *et al.*, “Spatiotemporal delivery of basic fibroblast growth factor to directly and simultaneously attenuate cardiac fibrosis and promote cardiac tissue vascularization following myocardial infarction,” *Journal of Controlled Release*, vol. 311–312, pp. 233–244, 2019, doi: 10.1016/j.jconrel.2019.09.005.
85. A. J. Rucker, M. Cavasin, N. R. Johnson, R. Shandas, and D. Park, “Sulfonated Thermoresponsive Injectable Gel for Sequential Release of Therapeutic Proteins to Protect Cardiac Function after Myocardial Infarction,” *ACS Biomater Sci Eng*, vol. 8, no. 9, pp. 3883–3898, 2022, doi: 10.1021/acsbiomaterials.2c00616.
86. Q. Yang, J. Fang, Z. Lei, J. P. G. Sluijter, and R. Schiffelers, “Repairing the heart: State-of-the art delivery strategies for biological therapeutics,” *Adv Drug Deliv Rev*, vol. 160, pp. 1–18, 2020, doi: 10.1016/j.addr.2020.10.003.
87. J. Leor, N. Landa, and S. Cohen, “Renovation of the injured heart with myocardial tissue engineering,” *Expert Rev Cardiovasc Ther*, vol. 4, no. 2, pp. 239–252, 2006, doi: 10.1586/14779072.4.2.239.
88. S. J. Park *et al.*, “Dual stem cell therapy synergistically improves cardiac function and vascular regeneration following myocardial infarction,” *Nat Commun*, vol. 10, no. 1, 2019, doi: 10.1038/s41467-019-11091-2.
89. K. Huang *et al.*, “An off-the-shelf artificial cardiac patch improves cardiac repair after myocardial infarction in rats and pigs,” *Sci Transl Med*, vol. 12, no. 538, 2020, doi: 10.1126/scitranslmed.aat9683.
90. D. Zhu *et al.*, “Nitrate-functionalized patch confers cardioprotection and improves heart repair after myocardial infarction via local nitric oxide delivery,” *Nat Commun*, vol. 12, no. 1, 2021, doi: 10.1038/s41467-021-24804-3.
91. M. Ghovvati, M. Kharaziha, R. Ardehali, and N. Annabi, “Recent Advances in Designing Electroconductive Biomaterials for Cardiac Tissue Engineering,” *Adv Healthc Mater*, vol. 11, no. 13, 2022, doi: 10.1002/adhm.202200055.

92. M. Solazzo, F. J. O'Brien, V. Nicolosi, and M. G. Monaghan, "The rationale and emergence of electroconductive biomaterial scaffolds in cardiac tissue engineering," *APL Bioeng*, vol. 3, no. 4, 2019, doi: 10.1063/1.5116579.
93. L. Wang *et al.*, "Injectable and conductive cardiac patches repair infarcted myocardium in rats and minipigs," *Nat Biomed Eng*, vol. 5, no. 10, pp. 1157–1173, 2021, doi: 10.1038/s41551-021-00796-9.
94. S. Liang *et al.*, "Paintable and Rapidly Bondable Conductive Hydrogels as Therapeutic Cardiac Patches," *Advanced Materials*, vol. 30, no. 23, 2018, doi: 10.1002/adma.201704235.
95. X. Wang *et al.*, "Chitosan/Calcium Silicate Cardiac Patch Stimulates Cardiomyocyte Activity and Myocardial Performance after Infarction by Synergistic Effect of Bioactive Ions and Aligned Nanostructure," *ACS Appl Mater Interfaces*, vol. 11, no. 1, pp. 1449–1468, 2019, doi: 10.1021/acsami.8b17754.
96. B. W. Walker *et al.*, "Engineering a naturally-derived adhesive and conductive cardiopatch," *Biomaterials*, vol. 207, pp. 89–101, 2019, doi: 10.1016/j.biomaterials.2019.03.015.
97. B. A. Chinnappan, M. Krishnaswamy, H. Xu, and M. E. Hoque, "Electrospinning of Biomedical Nanofibers/Nanomembranes: Effects of Process Parameters," *Polymers (Basel)*, vol. 14, no. 18, 2022, doi: 10.3390/polym14183719.
98. C. Lyu *et al.*, "Electrospinning of nanofibrous membrane and its applications in air filtration: A review," *Nanomaterials*, vol. 11, no. 6, 2021, doi: 10.3390/nano11061501.
99. M. Shin, O. Ishii, T. Sueda, and J. P. Vacanti, "Contractile cardiac grafts using a novel nanofibrous mesh," *Biomaterials*, vol. 25, no. 17, pp. 3717–3723, 2004, doi: 10.1016/j.biomaterials.2003.10.055.
100. R. Ajdary *et al.*, "Multifunctional 3D-Printed Patches for Long-Term Drug Release Therapies after Myocardial Infarction," *Adv Funct Mater*, vol. 30, no. 34, 2020, doi: 10.1002/adfm.202003440.

101. B. W. Walker *et al.*, “Engineering a naturally-derived adhesive and conductive cardiopatch,” *Biomaterials*, vol. 207, pp. 89–101, 2019, doi: 10.1016/j.biomaterials.2019.03.015.
102. B. Yan, Y. Zhang, Z. Li, P. Zhou, and Y. Mao, “Electrospun nanofibrous membrane for biomedical application,” *SN Appl Sci*, vol. 4, no. 6, 2022, doi: 10.1007/s42452-022-05056-2.
103. R. Balint, N. J. Cassidy, and S. H. Cartmell, “Conductive polymers: Towards a smart biomaterial for tissue engineering,” *Acta Biomater*, vol. 10, no. 6, pp. 2341–2353, 2014, doi: 10.1016/j.actbio.2014.02.015.
104. J. Y. Wong, R. Langer, and D. E. Ingber, “Electrically conducting polymers can noninvasively control the shape and growth of mammalian cells,” *Proc Natl Acad Sci U S A*, vol. 91, no. 8, pp. 3201–3204, 1994, doi: 10.1073/pnas.91.8.3201.
105. B. S. Spearman *et al.*, “Conductive interpenetrating networks of polypyrrole and polycaprolactone encourage electrophysiological development of cardiac cells,” *Acta Biomater*, vol. 28, pp. 109–120, Dec. 2015, doi: 10.1016/J.ACTBIO.2015.09.025.
106. A. Gelmi *et al.*, “Electroactive 3D materials for cardiac tissue engineering,” *Electroactive Polymer Actuators and Devices (EAPAD) 2015*, vol. 9430, p. 94301T, 2015, doi: 10.1117/12.2084165.
107. D. Kai, M. P. Prabhakaran, G. Jin, and S. Ramakrishna, “Polypyrrole-contained electrospun conductive nanofibrous membranes for cardiac tissue engineering,” *J Biomed Mater Res A*, vol. 99 A, no. 3, pp. 376–385, 2011, doi: 10.1002/jbm.a.33200.
108. Y. Liang and J. C. H. Goh, “Polypyrrole-Incorporated Conducting Constructs for Tissue Engineering Applications: A Review,” *Bioelectricity*, vol. 2, no. 2, pp. 101–119, 2020, doi: 10.1089/bioe.2020.0010.
109. P. Zarrintaj, I. Rezaeian, B. Bakhshandeh, B. Heshmatian, and M. R. Ganjali, “Bio - Conductive Scaffold Based on Agarose - Polyaniline for Tissue

- Engineering,” *Journal of Skin and Stem Cell*, vol. In Press, no. In Press, 2017, doi: 10.5812/jssc.67394.
110. R. Liu *et al.*, “Regulated Surface Morphology of Polyaniline/Poly(lactic Acid) Composite Nanofibers via Various Inorganic Acids Doping for Enhancing Biocompatibility in Tissue Engineering,” *Nanoscale Res Lett*, vol. 16, no. 1, 2021, doi: 10.1186/s11671-020-03457-z.
  111. K. D. McKeon, A. Lewis, and J. W. Freeman, “Electrospun poly(D,L-lactide) and polyaniline scaffold characterization,” *J Appl Polym Sci*, vol. 115, no. 3, pp. 1566–1572, 2010, doi: 10.1002/app.31296.
  112. L. Wang, Y. Wu, T. Hu, B. Guo, and P. X. Ma, “Electrospun conductive nanofibrous scaffolds for engineering cardiac tissue and 3D bioactuators,” *Acta Biomater*, vol. 59, pp. 68–81, 2017, doi: 10.1016/j.actbio.2017.06.036.
  113. X. Zhao, P. Li, B. Guo, and P. X. Ma, “Antibacterial and conductive injectable hydrogels based on quaternized chitosan-graft-polyaniline/oxidized dextran for tissue engineering,” *Acta Biomater*, vol. 26, pp. 236–248, 2015, doi: 10.1016/j.actbio.2015.08.006.
  114. E. N. Zare, P. Makvandi, B. Ashtari, F. Rossi, A. Motahari, and G. Perale, “Progress in Conductive Polyaniline-Based Nanocomposites for Biomedical Applications: A Review,” *J Med Chem*, vol. 63, no. 1, pp. 1–22, 2020, doi: 10.1021/acs.jmedchem.9b00803.
  115. J. H. T. Luong, T. Narayan, S. Solanki, and B. D. Malhotra, “Recent advances of conducting polymers and their composites forelectrochemical biosensing applications,” *J Funct Biomater*, vol. 11, no. 4, 2020, doi: 10.3390/JFB11040071.
  116. R. Dwivedi *et al.*, “Polycaprolactone as biomaterial for bone scaffolds: Review of literature,” *J Oral Biol Craniofac Res*, vol. 10, no. 1, pp. 381–388, 2020, doi: 10.1016/j.jobcr.2019.10.003.
  117. P. R. Schmitt, K. D. Dwyer, and K. L. K. Coulombe, “Current Applications of Polycaprolactone as a Scaffold Material for Heart Regeneration,” *ACS Appl Bio Mater*, vol. 5, no. 6, pp. 2461–2480, 2022, doi: 10.1021/acsabm.2c00174.

118. M. Shin, O. Ishii, T. Sueda, and J. P. Vacanti, "Contractile cardiac grafts using a novel nanofibrous mesh," *Biomaterials*, vol. 25, no. 17, pp. 3717–3723, 2004, doi: 10.1016/j.biomaterials.2003.10.055.
119. P. R. Schmitt, K. D. Dwyer, A. J. Minor, and K. L. K. Coulombe, "Wet-Spun Polycaprolactone Scaffolds Provide Customizable Anisotropic Viscoelastic Mechanics for Engineered Cardiac Tissues," *Polymers (Basel)*, vol. 14, no. 21, 2022, doi: 10.3390/polym14214571.
120. S. Boroumand, A. Haeri, N. Nazeri, and S. Rabbani, "Review Insights In Cardiac Tissue Engineering: Cells, Scaffolds and Pharmacological Agents," *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, vol. 20, no. 4, pp. 467–496, 2021, doi: 10.22037/IJPR.2021.114730.15012.
121. M. Tallawi *et al.*, "Strategies for the chemical and biological functionalization of scaffolds for cardiac tissue engineering: A review," *J R Soc Interface*, vol. 12, no. 108, 2015, doi: 10.1098/rsif.2015.0254.
122. M. Namhongsa *et al.*, "Plasma surface modification of two-component composite scaffolds consisting of 3D-printed and electrospun fiber components from biodegradable PLGA and PLCL," *Eur Polym J*, vol. 194, 2023, doi: 10.1016/j.eurpolymj.2023.112135.
123. O. Lotz, D. R. McKenzie, M. M. Bilek, and B. Akhavan, "Biofunctionalized 3D printed structures for biomedical applications: A critical review of recent advances and future prospects," *Prog Mater Sci*, vol. 137, 2023, doi: 10.1016/j.pmatsci.2023.101124.
124. H. S. Yoo, T. G. Kim, and T. G. Park, "Surface-functionalized electrospun nanofibers for tissue engineering and drug delivery," *Adv Drug Deliv Rev*, vol. 61, no. 12, pp. 1033–1042, 2009, doi: 10.1016/j.addr.2009.07.007.
125. L. A. Bosworth, W. Hu, Y. Shi, and S. H. Cartmell, "Enhancing Biocompatibility without Compromising Material Properties: An Optimised NaOH Treatment for Electrospun Polycaprolactone Fibres," *J Nanomater*, vol. 2019, 2019, doi: 10.1155/2019/4605092.



126. M. Asadian *et al.*, “Fabrication and plasma modification of nanofibrous tissue engineering scaffolds,” *Nanomaterials*, vol. 10, no. 1, 2020, doi: 10.3390/nano10010119.
127. W. C. Lin and N. A. M. Razali, “Temporary wettability tuning of PCL/PDMS micro pattern using the plasma treatments,” *Materials*, vol. 12, no. 4, 2019, doi: 10.3390/ma12040644.
128. E. Stastna, K. Castkova, and J. Rahel, “Influence of hydroxyapatite nanoparticles and surface plasma treatment on bioactivity of polycaprolactone nanofibers,” *Polymers (Basel)*, vol. 12, no. 9, 2020, doi: 10.3390/POLYM12091877.
129. L. Janů *et al.*, “Enhanced Adhesion of Electrospun Polycaprolactone Nanofibers to Plasma-Modified Polypropylene Fabric,” *Polymers (Basel)*, vol. 15, no. 7, 2023, doi: 10.3390/polym15071686.
130. C. P. Mandhata, C. R. Sahoo, and R. N. Padhy, “Biomedical Applications of Biosynthesized Gold Nanoparticles from Cyanobacteria: an Overview,” *Biol Trace Elem Res*, vol. 200, no. 12, pp. 5307–5327, 2022, doi: 10.1007/s12011-021-03078-2.
131. M. Fan *et al.*, “Ultrasmall gold nanoparticles in cancer diagnosis and therapy,” *Theranostics*, vol. 10, no. 11, pp. 494–4957, 2020, doi: 10.7150/thno.42471.
132. K. Ashtari *et al.*, “Electrically conductive nanomaterials for cardiac tissue engineering,” *Adv Drug Deliv Rev*, vol. 144, pp. 162–179, 2019, doi: 10.1016/j.addr.2019.06.001.
133. K. Roshanbinfar *et al.*, “Collagen Hydrogel Containing Polyethylenimine-Gold Nanoparticles for Drug Release and Enhanced Beating Properties of Engineered Cardiac Tissues,” *Adv Healthc Mater*, 2023, doi: 10.1002/adhm.202202408.
134. H. Tohidi *et al.*, “An Electroconductive, Thermosensitive, and Injectable Chitosan/Pluronic/Gold-Decorated Cellulose Nanofiber Hydrogel as an Efficient Carrier for Regeneration of Cardiac Tissue,” *Materials*, vol. 15, no. 15, 2022, doi: 10.3390/ma15155122.

135. S. Talebian *et al.*, “Self-Healing Hydrogels: The Next Paradigm Shift in Tissue Engineering?,” *Advanced Science*, vol. 6, no. 16, 2019, doi: 10.1002/advs.201801664.
136. A. Burnstine-Townley, Y. Eshel, and N. Amdursky, “Conductive Scaffolds for Cardiac and Neuronal Tissue Engineering: Governing Factors and Mechanisms,” *Adv Funct Mater*, vol. 30, no. 18, 2020, doi: 10.1002/adfm.201901369.
137. K. Hosoyama, M. Ahumada, K. Goel, M. Ruel, E. J. Suuronen, and E. I. Alarcon, “Electroconductive materials as biomimetic platforms for tissue regeneration,” *Biotechnol Adv*, vol. 37, no. 3, pp. 444–458, 2019, doi: 10.1016/j.biotechadv.2019.02.011.
138. J. Lee *et al.*, “Nanoparticle-Based Hybrid Scaffolds for Deciphering the Role of Multimodal Cues in Cardiac Tissue Engineering,” *ACS Nano*, vol. 13, no. 11, pp. 12525–12539, 2019, doi: 10.1021/acsnano.9b03050.
139. K. Veerubhotla and C. H. Lee, “Emerging Trends in Nanocarbon-Based Cardiovascular Applications,” *Adv Ther (Weinh)*, vol. 3, no. 7, p. 1900208, 2020, doi: 10.1002/adtp.201900208.
140. S. Ahadian *et al.*, “Hybrid hydrogel-aligned carbon nanotube scaffolds to enhance cardiac differentiation of embryoid bodies,” *Acta Biomater*, vol. 31, pp. 134–143, 2016, doi: 10.1016/j.actbio.2015.11.047.
141. S. R. Shin *et al.*, “Reduced graphene oxide-GelMA hybrid hydrogels as scaffolds for cardiac tissue engineering,” *Small*, vol. 12, no. 27, pp. 3677–3689, 2016, doi: 10.1002/sml.201600178.
142. M. Mehrali *et al.*, “Blending Electronics with the Human Body: A Pathway toward a Cybernetic Future,” *Advanced Science*, vol. 5, no. 10, 2018, doi: 10.1002/advs.201700931.
143. M. Sekuła-Stryjewska *et al.*, “Graphene-based materials enhance cardiomyogenic and angiogenic differentiation capacity of human mesenchymal stem cells in vitro – Focus on cardiac tissue regeneration,”

- Materials Science and Engineering C*, vol. 119, 2021, doi: 10.1016/j.msec.2020.111614.
144. F. Zhang *et al.*, “Easy Applied Gelatin-Based Hydrogel System for Long-Term Functional Cardiomyocyte Culture and Myocardium Formation,” *ACS Biomater Sci Eng*, 2019, doi: 10.1021/acsbiomaterials.9b00515.
  145. A. J. Ryan *et al.*, “Electroconductive Biohybrid Collagen/Pristine Graphene Composite Biomaterials with Enhanced Biological Activity,” *Advanced Materials*, vol. 30, no. 15, 2018, doi: 10.1002/adma.201706442.
  146. S. R. Shin *et al.*, “Layer-by-layer assembly of 3D tissue constructs with functionalized graphene,” *Adv Funct Mater*, vol. 24, no. 39, pp. 6136–6144, 2014, doi: 10.1002/adfm.201401300.
  147. S. Mombini *et al.*, “Chitosan-PVA-CNT nanofibers as electrically conductive scaffolds for cardiovascular tissue engineering,” *Int J Biol Macromol*, vol. 140, pp. 278–287, 2019, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2019.08.046.
  148. H. Stone, S. Lin, and K. Mequanint, “Preparation and characterization of electrospun rGO-poly(ester amide) conductive scaffolds,” *Materials Science and Engineering C*, vol. 98, pp. 324–332, 2019, doi: 10.1016/j.msec.2018.12.122.
  149. A. Talebi, S. Labbaf, F. Karimzadeh, E. Masaeli, and M. H. Nasr Esfahani, “Electroconductive Graphene-Containing Polymeric Patch: A Promising Platform for Future Cardiac Repair,” *ACS Biomater Sci Eng*, vol. 6, no. 7, pp. 4214–4224, 2020, doi: 10.1021/acsbiomaterials.0c00266.
  150. M. Kharaziha *et al.*, “Tough and flexible CNT-polymeric hybrid scaffolds for engineering cardiac constructs,” *Biomaterials*, vol. 35, no. 26, pp. 7346–7354, 2014, doi: 10.1016/j.biomaterials.2014.05.014.
  151. Y. Gogotsi and B. Anasori, “The Rise of MXenes,” *ACS Nano*, vol. 13, no. 8, pp. 8491–8494, 2019, doi: 10.1021/acsnano.9b06394.
  152. C. Gokce, C. Gurcan, L. G. Delogu, and A. Yilmazer, “2D Materials for Cardiac Tissue Repair and Regeneration,” *Front Cardiovasc Med*, vol. 9, 2022, doi: 10.3389/fcvm.2022.802551.

153. A. Gazzi *et al.*, “Photodynamic therapy based on graphene and MXene in cancer theranostics,” *Front Bioeng Biotechnol*, vol. 7, no. OCT, 2019, doi: 10.3389/fbioe.2019.00295.
154. S. Kyrylenko *et al.*, “MXene-Assisted Ablation of Cells with a Pulsed Near-Infrared Laser,” *ACS Appl Mater Interfaces*, vol. 14, no. 25, pp. 28683–28696, 2022, doi: 10.1021/acsami.2c08678.
155. S. Usman *et al.*, “Robust Biocompatible Fibers from Silk Fibroin Coated MXene Sheets,” *Adv Mater Interfaces*, vol. 10, no. 9, 2023, doi: 10.1002/admi.202201634.
156. Y. Wang *et al.*, “Ti<sub>3</sub>C<sub>2</sub>TxMXene Flakes for Optical Control of Neuronal Electrical Activity,” *ACS Nano*, vol. 15, no. 9, pp. 14662–14671, 2021, doi: 10.1021/acsnano.1c04431.
157. G. Basara *et al.*, “Electrically conductive 3D printed Ti<sub>3</sub>C<sub>2</sub>Tx MXene-PEG composite constructs for cardiac tissue engineering,” *Acta Biomater*, vol. 139, pp. 179–189, 2022, doi: 10.1016/j.actbio.2020.12.033.
158. G. Ye *et al.*, “Mussel-inspired conductive Ti<sub>2</sub>C-cryogel promotes functional maturation of cardiomyocytes and enhances repair of myocardial infarction,” *Theranostics*, vol. 10, no. 5, pp. 2047–2066, 2020, doi: 10.7150/thno.38876.
159. V. Korniienko, K. Diedkova, Y. Samokhin, V. Zahorodna, I. Baginskiy, V. Balitskyi, O. Gogotsi, “PCL-MXene composite electrospun membrane for nerve regeneration: structural and biological assessment,” *Book of Abstracts International conference “YUCOMAT-2022,”* p. 97, 2022.
160. K. Diedkova, I. Yanko, V. Korniienko, U. Riekstina and M. P. V. Zahorodna, I. Roslyk, O. Gogotsi, “MXene-Based Cardiac Patches for Regenerative Medicine,” *Book of Abstracts International conference “YUCOMAT-2023,”* p. 106, 2023.
161. K. Diedkova, A. D. Pogrebnyak, S. Kyrylenko, P. Zukowski, Y. Husak, W. Simka, V. Korniienko, I. Baginskiy, V. Zahorodna, U. Riekstina, O. Gogotsi, Y. Gogotsi, “Novel PCL-MXene electrospun membranes for conductive tissue

- regeneration,” *Book of Abstracts International conference “YUCOMAT-2023,”* p. 43, 2023.
162. K. Diedkova, Ye. Husak, S. Kyrylenko, “Polycaprolactone MXene nanocomposites for cardiac tissue engineering,” *Book of Abstracts 81th International scientific conference of the University of Latvia*, pp. 18–19, 2023.
163. K. Diedkova *et al.*, “Polycaprolactone-MXene Nanofibrous Scaffolds for Tissue Engineering,” *ACS Appl Mater Interfaces*, 2022, doi: 10.1021/acsami.2c22780.
164. S. Lama *et al.*, “Polydatin Incorporated in Polycaprolactone Nanofibers Improves Osteogenic Differentiation,” *Pharmaceuticals*, vol. 15, no. 6, 2022, doi: 10.3390/ph15060727.
165. M. Aliabadi *et al.*, “A novel method for measuring dynamic contact angles of fibers with spindle-knots,” *J Appl Polym Sci*, vol. 138, no. 28, 2021, doi: 10.1002/app.50673.
166. T. F. Bahamondez-Canas, L. A. Heersema, and H. D. C. Smyth, “Current status of in vitro models and assays for susceptibility testing for wound biofilm infections,” *Biomedicines*, vol. 7, no. 2, 2019, doi: 10.3390/biomedicines7020034.
167. B. L. Zaret and G. A. Beller, “Clinical nuclear cardiology: State of the art and future directions,” *Clinical Nuclear Cardiology: State of the Art and Future Directions*, pp. 1–878, 2010, doi: 10.1016/C2009-0-53360-0.
168. Diedkova K., Samokhin Y., Baginskyi I., Varava Y. , Roshchupkin A., Zahorodna V., Pogorielov M., Kornienko V., “The multistep process of coating PCL membranes with MXene solution,” *IEEE 12th International Conference on Nanomaterials: Applications & Properties NAP*, vol. № 22242175, 2022, doi: 10.1109/NAP55339.2022.9934231.
169. T. N. Kołtunowicz *et al.*, “Investigation of ac electrical properties of mxene-pcl nanocomposites for application in small and medium power generation,” *Energies (Basel)*, vol. 14, no. 21, 2021, doi: 10.3390/en14217123.

170. R. Syamsai, P. Kollu, S. Kwan Jeong, and A. Nirmala Grace, "Synthesis and properties of 2D-titanium carbide MXene sheets towards electrochemical energy storage applications," *Ceram Int*, vol. 43, no. 16, pp. 13119–13126, 2017, doi: 10.1016/j.ceramint.2017.07.003.
171. H. Alnoor *et al.*, "Exploring MXenes and their MAX phase precursors by electron microscopy," *Mater Today Adv*, vol. 9, 2021, doi: 10.1016/j.mtadv.2020.100123.
172. D. Gupta, A. K. Singh, N. Kar, A. Dravid, and J. Bellare, "Modelling and optimization of NaOH-etched 3-D printed PCL for enhanced cellular attachment and growth with minimal loss of mechanical strength," *Materials Science and Engineering C*, vol. 98, pp. 602–611, 2019, doi: 10.1016/j.msec.2018.12.084.
173. A. Pogrebniak *et al.*, "Comparative measurements and analysis of the mechanical and electrical properties of Ti-Zr-C nanocomposite: Role of stoichiometry," *Measurement (Lond)*, vol. 176, 2021, doi: 10.1016/j.measurement.2021.109223.
174. T. N. Koltunowicz *et al.*, "Capacitive properties of nanocomposite (FeCoZr)<sub>x</sub>(PZT)(100–x) produced by sputtering with the use of argon and oxygen ions beam," *Journal of Materials Science: Materials in Electronics*, vol. 27, no. 2, pp. 1171–1176, 2016, doi: 10.1007/s10854-015-3868-4.
175. I. A. Svito, A. K. Fedotov, A. Saad, P. Zukowski, and T. N. Koltunowicz, "Influence of oxide matrix on electron transport in (FeCoZr)<sub>x</sub>(Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>)<sub>1-x</sub> nanocomposite films," *J Alloys Compd*, vol. 699, pp. 818–823, 2017, doi: 10.1016/j.jallcom.2017.01.043.
176. J. Johansson, K. Cedergren, T. Bauch, and F. Lombardi, "Properties of inductance and magnetic penetration depth in (103)-oriented YBa<sub>2</sub> Cu<sub>3</sub> O<sub>7-δ</sub> thin films," *Phys Rev B Condens Matter Mater Phys*, vol. 79, no. 21, 2009, doi: 10.1103/PhysRevB.79.214513.
177. S. Miki, M. Takeda, M. Fujiwara, M. Sasaki, A. Otomo, and Z. Wang, "Superconducting nbtin nanowire single photon detectors with low kinetic

- inductance,” *Applied Physics Express*, vol. 2, no. 7, 2009, doi: 10.1143/APEX.2.075002.
178. W. L. Lim, S. R. Chowdhury, M. H. Ng, and J. X. Law, “Physicochemical properties and biocompatibility of electrospun polycaprolactone/gelatin nanofibers,” *Int J Environ Res Public Health*, vol. 18, no. 9, 2021, doi: 10.3390/ijerph18094764.
179. U. Arif *et al.*, “Biocompatible Polymers and their Potential Biomedical Applications: A Review,” *Curr Pharm Des*, vol. 25, no. 34, pp. 3608–3619, 2019, doi: 10.2174/1381612825999191011105148.
180. V. Korniienko *et al.*, “Functional and biological characterization of chitosan electrospun nanofibrous membrane nucleated with silver nanoparticles,” *Applied Nanoscience (Switzerland)*, vol. 12, no. 4, pp. 1061–1070, 2022, doi: 10.1007/s13204-021-01808-5.
181. S. Abdulghani and G. R. Mitchell, “Biomaterials for in situ tissue regeneration: A review,” *Biomolecules*, vol. 9, no. 11, 2019, doi: 10.3390/biom9110750.
182. H. Riazi, G. Taghizadeh, and M. Soroush, “MXene-Based Nanocomposite Sensors,” *ACS Omega*, vol. 6, no. 17, pp. 11103–11112, 2021, doi: 10.1021/acsomega.0c05828.
183. M. A. Pfaller, D. J. Sheehan, and J. H. Rex, “Determination of Fungicidal Activities against Yeasts and Molds: Lessons Learned from Bactericidal Testing and the Need for Standardization,” *Clin Microbiol Rev*, vol. 17, no. 2, pp. 268–280, 2004, doi: 10.1128/CMR.17.2.268-280.2004.
184. K. Rasool, K. A. Mahmoud, D. J. Johnson, M. Helal, G. R. Berdiyrov, and Y. Gogotsi, “Efficient Antibacterial Membrane based on Two-Dimensional Ti<sub>3</sub>C<sub>2</sub>T<sub>x</sub> (MXene) Nanosheets,” *Sci Rep*, vol. 7, no. 1, 2017, doi: 10.1038/s41598-017-01714-3.
185. T. Tayebi *et al.*, “Biofabrication of chitosan/chitosan nanoparticles/polycaprolactone transparent membrane for corneal endothelial tissue engineering,” *Sci Rep*, vol. 11, no. 1, 2021, doi: 10.1038/s41598-021-86340-w.

186. S. S. Mukrimaa *et al.*, “No Fourier-transform infrared studies of polymer blends. II. Poly( $\epsilon$ -caprolactone)–poly(vinyl chloride) system,” *Jurnal Penelitian Pendidikan Guru Sekolah Dasar*, vol. 6, no. August, p. 128, 2016, doi: <https://doi.org/10.1002/pol.1979.180170509>.
187. A. Cipitria, A. Skelton, T. R. Dargaville, P. D. Dalton, and D. W. Hutmacher, “Design, fabrication and characterization of PCL electrospun scaffolds - A review,” *J Mater Chem*, vol. 21, no. 26, pp. 9419–9453, 2011, doi: [10.1039/c0jm04502k](https://doi.org/10.1039/c0jm04502k).
188. H. S. Azevedo, F. M. Gama, and R. L. Reis, “In vitro assessment of the enzymatic degradation of several starch based biomaterials,” *Biomacromolecules*, vol. 4, no. 6, pp. 1703–1712, 2003, doi: [10.1021/bm0300397](https://doi.org/10.1021/bm0300397).
189. Y. Liang, A. Mitriashkin, T. T. Lim, and J. C. H. Goh, “Conductive polypyrrole-encapsulated silk fibroin fibers for cardiac tissue engineering,” *Biomaterials*, vol. 276, 2021, doi: [10.1016/j.biomaterials.2021.121008](https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2021.121008).
190. M. Sang *et al.*, “Advanced MXene/shear stiffening composite-based sensor with high-performance electromagnetic interference shielding and anti-impacting Bi-protection properties for smart wearable device,” *Chemical Engineering Journal*, vol. 440, 2022, doi: [10.1016/j.cej.2022.135869](https://doi.org/10.1016/j.cej.2022.135869).
191. Varava Y., Samokhin Y., Diedkova K., Kyrylenko S., Savchenko A., “Antimicrobial electrospun chitosan nanofibrous membranes functionalized with silver nanoparticles,” *IEEE 11th International Conference on Nanomaterials: Applications & Properties. NAP*, vol. № 21387912, 2021.
192. V. Korniienko *et al.*, “BIOLOGICAL BEHAVIOUR OF CHITOSAN ELECTROSPUN NANOFIBROUS MEMBRANES AFTER DIFFERENT NEUTRALISATION METHODS,” *Prog Chem Appl Chitin Deriv*, vol. 27, pp. 135–153, Sep. 2022, doi: [10.15259/PCACD.27.010](https://doi.org/10.15259/PCACD.27.010).
193. V. Korniienko, Y. Husak, J. Radwan-pragłowska, V. Holubnycha, and M. Pogorielov, “Impact of Electrospinning Parameters and Post-Treatment Method on Antibacterial and Antibiofilm Activity of,” 2022.



194. N. Alegret, A. Dominguez-Alfaro, and D. Mecerreyes, "3D Scaffolds Based on Conductive Polymers for Biomedical Applications," *Biomacromolecules*, vol. 20, no. 1, pp. 73–89, 2019, doi: 10.1021/acs.biomac.8b01382.
195. F. Guilak, D. M. Cohen, B. T. Estes, J. M. Gimble, W. Liedtke, and C. S. Chen, "Control of Stem Cell Fate by Physical Interactions with the Extracellular Matrix," *Cell Stem Cell*, vol. 5, no. 1, pp. 17–26, Jul. 2009, doi: 10.1016/j.stem.2009.06.016.
196. S. Abdulghani and G. Mitchell, "Biomaterials for In Situ Tissue Regeneration: A Review," *Biomolecules*, vol. 9, no. 11, p. 750, Nov. 2019, doi: 10.3390/biom9110750.
197. Y. M. Ju, A. Atala, J. J. Yoo, and S. J. Lee, "In situ regeneration of skeletal muscle tissue through host cell recruitment," *Acta Biomater*, vol. 10, no. 10, pp. 4332–4339, Oct. 2014, doi: 10.1016/j.actbio.2014.06.022.
198. P. R. Schmitt, K. D. Dwyer, and K. L. K. Coulombe, "Current Applications of Polycaprolactone as a Scaffold Material for Heart Regeneration," *ACS Appl Bio Mater*, vol. 5, no. 6, pp. 2461–2480, 2022, doi: 10.1021/acsabm.2c00174.
199. L. S. Nair and C. T. Laurencin, "Biodegradable polymers as biomaterials," *Prog Polym Sci*, vol. 32, no. 8–9, pp. 762–798, Aug. 2007, doi: 10.1016/j.progpolymsci.2007.05.017.
200. F. Copes, N. Pien, S. Van Vlierberghe, F. Boccafroschi, and D. Mantovani, "Collagen-Based Tissue Engineering Strategies for Vascular Medicine," *Front Bioeng Biotechnol*, vol. 7, Jul. 2019, doi: 10.3389/fbioe.2019.00166.
201. S. Ricard-Blum, "The Collagen Family," *Cold Spring Harb Perspect Biol*, vol. 3, no. 1, pp. a004978–a004978, Jan. 2011, doi: 10.1101/cshperspect.a004978.
202. A. P. Rickel, X. Deng, D. Engebretson, and Z. Hong, "Electrospun nanofiber scaffold for vascular tissue engineering," *Materials Science and Engineering: C*, vol. 129, p. 112373, Oct. 2021, doi: 10.1016/j.msec.2021.112373.
203. S. Iravani, "MXenes and MXene-based (nano)structures: A perspective on greener synthesis and biomedical prospects," *Ceram Int*, vol. 48, no. 17, pp. 24144–24156, Sep. 2022, doi: 10.1016/j.ceramint.2022.05.137.

204. S. Iravani and R. S. Varma, "MXenes in photomedicine: advances and prospects," *Chemical Communications*, vol. 58, no. 53, pp. 7336–7350, 2022, doi: 10.1039/D2CC01694J.
205. L. Li *et al.*, "A Ti<sub>2</sub>N MXene-based nanosystem with ultrahigh drug loading for dual-strategy synergistic oncotherapy," *Nanoscale*, vol. 13, no. 44, pp. 18546–18557, 2021, doi: 10.1039/D1NR04008A.
206. S. Iravani and R. S. Varma, "Bioinspired and biomimetic MXene-based structures with fascinating properties: recent advances," *Mater Adv*, vol. 3, no. 12, pp. 4783–4796, 2022, doi: 10.1039/D2MA00151A.
207. G. P. Lim *et al.*, "Cytotoxicity of MXene-based nanomaterials for biomedical applications: A mini review," *Environ Res*, vol. 201, p. 111592, Oct. 2021, doi: 10.1016/j.envres.2021.111592.
208. M. Carey and M. W. Barsoum, "MXene polymer nanocomposites: a review," *Mater Today Adv*, vol. 9, p. 100120, Mar. 2021, doi: 10.1016/j.mtadv.2020.100120.
209. L. Gao *et al.*, "MXene/Polymer Membranes: Synthesis, Properties, and Emerging Applications," *Chemistry of Materials*, vol. 32, no. 5, pp. 1703–1747, Mar. 2020, doi: 10.1021/acs.chemmater.9b04408.
210. Y. Wei, P. Zhang, R. A. Soomro, Q. Zhu, and B. Xu, "Advances in the Synthesis of 2D MXenes," *Advanced Materials*, vol. 33, no. 39, Oct. 2021, doi: 10.1002/adma.202103148.
211. G. Shan, Z. Ding, and Y. Gogotsi, "Two-dimensional MXenes and their applications," *Front Phys (Beijing)*, vol. 18, no. 1, 2023, doi: 10.1007/s11467-022-1254-2.
212. H. Tong *et al.*, "Efficient Pervaporation for Ethanol Dehydration: Ultrasonic Spraying Preparation of Polyvinyl Alcohol (PVA)/Ti<sub>3</sub>C<sub>2</sub>T<sub>x</sub> Nanosheet Mixed Matrix Membranes," *Membranes (Basel)*, vol. 13, no. 4, 2023, doi: 10.3390/membranes13040430.

213. L. P. Nan *et al.*, “Ti<sub>3</sub>C<sub>2</sub>T<sub>x</sub> MXene-Coated Electrospun PCL Conduits for Enhancing Neurite Regeneration and Angiogenesis,” *Front Bioeng Biotechnol*, vol. 10, 2022, doi: 10.3389/fbioe.2022.850650.
214. G. P. Awasthi *et al.*, “Synthesis, characterizations, and biocompatibility evaluation of polycaprolactone–MXene electrospun fibers,” *Colloids Surf A Physicochem Eng Asp*, vol. 586, 2020, doi: 10.1016/j.colsurfa.2019.124282.
215. L. Ghasemi-Mobarakeh, M. P. Prabhakaran, M. Morshed, M. H. Nasr-Esfahani, and S. Ramakrishna, “Electrical Stimulation of Nerve Cells Using Conductive Nanofibrous Scaffolds for Nerve Tissue Engineering,” *Tissue Eng Part A*, vol. 15, no. 11, pp. 3605–3619, Nov. 2009, doi: 10.1089/ten.tea.2008.0689.
216. B. Guo, A. Finne-Wistrand, and A.-C. Albertsson, “Facile Synthesis of Degradable and Electrically Conductive Polysaccharide Hydrogels,” *Biomacromolecules*, vol. 12, no. 7, pp. 2601–2609, Jul. 2011, doi: 10.1021/bm200389t.
217. S. Shafei, J. Foroughi, L. Stevens, C. S. Wong, O. Zabihi, and M. Naebe, “Electroactive nanostructured scaffold produced by controlled deposition of PPy on electrospun PCL fibres,” *Research on Chemical Intermediates*, vol. 43, no. 2, pp. 1235–1251, Feb. 2017, doi: 10.1007/s11164-016-2695-4.
218. S. Shafei, J. Foroughi, Z. Chen, C. Wong, and M. Naebe, “Short Oxygen Plasma Treatment Leading to Long-Term Hydrophilicity of Conductive PCL-PPy Nanofiber Scaffolds,” *Polymers (Basel)*, vol. 9, no. 11, p. 614, Nov. 2017, doi: 10.3390/polym9110614.
219. I. Bružauskaitė, D. Bironaitė, E. Bagdonas, and E. Bernotienė, “Scaffolds and cells for tissue regeneration: different scaffold pore sizes—different cell effects,” *Cytotechnology*, vol. 68, no. 3, pp. 355–369, 2016, doi: 10.1007/s10616-015-9895-4.
220. S. J. Lee, J. J. Yoo, and A. Atala, “Fundamentals of In Situ Tissue Regeneration,” in *In Situ Tissue Regeneration*, Elsevier, 2016, pp. 3–17. doi: 10.1016/B978-0-12-802225-2.00001-5.

221. E. Cosgriff-Hernandez and L. H. Timmins, “Model-Directed Design of Tissue Engineering Scaffolds,” *ACS Biomater Sci Eng*, vol. 8, no. 11, pp. 4622–4624, Nov. 2022, doi: 10.1021/acsbio.1c01386.
222. G. Turnbull *et al.*, “3D bioactive composite scaffolds for bone tissue engineering,” *Bioact Mater*, vol. 3, no. 3, pp. 278–314, Sep. 2018, doi: 10.1016/j.bioactmat.2017.10.001.
223. D. Sengupta, S. D. Waldman, and S. Li, “From In Vitro to In Situ Tissue Engineering,” *Ann Biomed Eng*, vol. 42, no. 7, pp. 1537–1545, Jul. 2014, doi: 10.1007/s10439-014-1022-8.
224. B. K. Mann, A. S. Gobin, A. T. Tsai, R. H. Schmedlen, and J. L. West, “Smooth muscle cell growth in photopolymerized hydrogels with cell adhesive and proteolytically degradable domains: synthetic ECM analogs for tissue engineering,” *Biomaterials*, vol. 22, no. 22, pp. 3045–3051, Nov. 2001, doi: 10.1016/S0142-9612(01)00051-5.
225. M. Bazgir *et al.*, “Degradation and Characterisation of Electrospun Polycaprolactone (PCL) and Poly(lactic-co-glycolic acid) (PLGA) Scaffolds for Vascular Tissue Engineering,” *Materials*, vol. 14, no. 17, p. 4773, Aug. 2021, doi: 10.3390/ma14174773.
226. E. Díaz, I. Sandonis, and M. B. Valle, “In Vitro Degradation of Poly(caprolactone)/nHA Composites,” *J Nanomater*, vol. 2014, pp. 1–8, 2014, doi: 10.1155/2014/802435.
227. R. Dwivedi *et al.*, “Polycaprolactone as biomaterial for bone scaffolds: Review of literature,” *J Oral Biol Craniofac Res*, vol. 10, no. 1, pp. 381–388, Jan. 2020, doi: 10.1016/j.jobcr.2019.10.003.
228. S. Coveney, C. Cantwell, and C. Roney, “Atrial conduction velocity mapping: clinical tools, algorithms and approaches for understanding the arrhythmogenic substrate,” *Med Biol Eng Comput*, vol. 60, no. 9, pp. 2463–2478, 2022, doi: 10.1007/s11517-022-02621-0.
229. S. W. Crowder, V. Leonardo, T. Whittaker, P. Papathanasiou, and M. M. Stevens, “Material Cues as Potent Regulators of Epigenetics and Stem Cell

- Function,” *Cell Stem Cell*, vol. 18, no. 1, pp. 39–52, Jan. 2016, doi: 10.1016/j.stem.2015.12.012.
230. A. Seddighian, F. Ganji, M. Baghaban-Eslaminejad, and F. Bagheri, “Electrospun PCL scaffold modified with chitosan nanoparticles for enhanced bone regeneration,” *Prog Biomater*, vol. 10, no. 1, pp. 65–76, 2021, doi: 10.1007/s40204-021-00153-8.
231. C. Gokce, C. Gurcan, L. G. Delogu, and A. Yilmazer, “2D Materials for Cardiac Tissue Repair and Regeneration,” *Front Cardiovasc Med*, vol. 9, 2022, doi: 10.3389/fcvm.2022.802551.
232. G. Ye *et al.*, “Mussel-inspired conductive Ti<sub>2</sub>C-cryogel promotes functional maturation of cardiomyocytes and enhances repair of myocardial infarction,” *Theranostics*, vol. 10, no. 5, pp. 2047–2066, 2020, doi: 10.7150/thno.38876.
233. M. S. Salmi, U. Ahmed, N. Aslfattahi, S. Rahman, J. G. Hardy, and A. Anwar, “Potent antibacterial activity of MXene-functionalized graphene nanocomposites,” *RSC Adv*, vol. 12, no. 51, pp. 33142–33155, 2022, doi: 10.1039/d2ra04944a.
234. X. Santos *et al.*, “Antibacterial Capability of MXene (Ti<sub>3</sub>C<sub>2</sub>T<sub>x</sub>) to Produce PLA Active Contact Surfaces for Food Packaging Applications,” *Membranes (Basel)*, vol. 12, no. 11, 2022, doi: 10.3390/membranes12111146.
235. K. Rasool, M. Helal, A. Ali, C. E. Ren, Y. Gogotsi, and K. A. Mahmoud, “Antibacterial Activity of Ti<sub>3</sub>C<sub>2</sub>T<sub>x</sub> MXene,” *ACS Nano*, vol. 10, no. 3, pp. 3674–3684, 2016, doi: 10.1021/acsnano.6b00181.
236. M. H. Norahan, M. Pourmokhtari, M. R. Saeb, B. Bakhshi, M. Soufi Zomorrod, and N. Baheiraei, “Electroactive cardiac patch containing reduced graphene oxide with potential antibacterial properties,” *Materials Science and Engineering: C*, vol. 104, p. 109921, Nov. 2019, doi: 10.1016/j.msec.2019.109921.
237. T. K. Lauridsen, M. Arpi, T. Fritz-Hansen, N. Frimodt-Møller, and N. E. Bruun, “Infectious endocarditis caused by *Escherichia coli*,” *Scand J Infect*

- Dis*, vol. 43, no. 6–7, pp. 545–546, Jul. 2011, doi: 10.3109/00365548.2011.554432.
238. J. R. McDonald, “Acute Infective Endocarditis,” *Infect Dis Clin North Am*, vol. 23, no. 3, pp. 643–664, Sep. 2009, doi: 10.1016/j.idc.2009.04.013.
239. A. Rafieerad *et al.*, “Quantum Dots: Application of Ti<sub>3</sub>C<sub>2</sub> MXene Quantum Dots for Immunomodulation and Regenerative Medicine (Adv. Healthcare Mater. 16/2019),” *Adv Healthc Mater*, vol. 8, no. 16, p. 1970067, 2019, doi: 10.1002/adhm.201970067.
240. A. Rafieerad *et al.*, “Fabrication of Smart Tantalum Carbide MXene Quantum Dots with Intrinsic Immunomodulatory Properties for Treatment of Allograft Vasculopathy (Adv. Funct. Mater. 46/2021),” *Adv Funct Mater*, vol. 31, no. 46, 2021, doi: 10.1002/adfm.202170341.
241. G. A. Asaro *et al.*, “MXene functionalized collagen biomaterials for cardiac tissue engineering driving iPSC-derived cardiomyocyte maturation,” *NPJ 2D Mater Appl*, vol. 7, no. 1, 2023, doi: 10.1038/s41699-023-00409-w.

## ДОДАТКИ

### Додаток А

#### Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації

1. Diedkova K., Pogrebnyak A. D, Kyrylenko S., et al. Polycaprolactone-MXene Nanofibrous Scaffolds for Tissue Engineering. ACS Appl Mater Interfaces. 2023. № 15. (11). P. 14033–14047. DOI:10.1021/acsami.2c22780. **(Scopus)** *(Здобувач провів експериментальне дослідження, сформулював висновки, підготував статтю до друку).*
2. Gogotsi O., Kołtunowicz T.N., Diedkova K., Gałaszkiwicz P., Pogorielov M. and et al. Investigation of ac electrical properties of MXene-PCL nanocomposites for application in small and medium power generation. Energies. 2021. №14. (21). 7123. DOI: 10.3390/en14217123. **(Scopus)** *(Здобувач провів експериментальне дослідження, виконав огляд літератури).*
3. Korniienko V., Husak Ye., Yanovska A., Altundal S., Diedkova K., Samokhin Ye., Varava Y., Holubnycha V. and Pogorielov M. Biological behavior of chitosan electrospun nanofibrous membranes after different neutralization methods. Prog. Chem. Appl. Chitin and its Deriv. 2022. № 27. P. 135 – 153. DOI: 10.15259/PCACD.27.010. **(Scopus)** *(Дисертант провів дослідження цитотоксичності та описав результати дослідження).*
4. Korniienko V., Husak Y., Radwan-pragłowska J., Diedkova K. and Pogorielov M. Impact of Electrospinning Parameters and Post-Treatment Method on Antibacterial and Antibiofilm Activity of Chitosan Nanofibers. Molecules. 2022. №27. (10). 3343. DOI: 10.3390/molecules27103343. **(Scopus)** *(Автор провів дослідження морфології та опрацював результати дослідження).*

#### Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації

5. Diedkova K., Samokhin Y., Baginskyi I., Varava Y. , Roshchupkin A., Zahorodna V., Pogorielov M., Kornienko V., Kyrylenko S. The multistep process of coating PCL membranes with MXene solution. Paper presented at

- the Proceedings of the 2022 IEEE 12th International Conference on Nanomaterials: Applications & Properties NAP. 2022. № 22242175. DOI: 10.1109/NAP55339.2022.9934231. (*Scopus*) (Автор провів дослідження, опрацював результати дослідження, сформулював висновки та підготував тези до друку).
6. K. Diedkova, I. Yanko, V. Korniienko, U. Riekstina, I. Baginskiy, V. Zahorodna, I. Roslyk, O. Gogotsi, M. Pogorielov. MXene-Based Cardiac Patches for Regenerative Medicine. *Book of Abstracts International conference "YUCOMAT-2023"*. Herceg-Novi. Montenegro. 4-8 September, 2023. P.106. (Здобувач провів експериментальне дослідження, сформулював висновки, підготував тези).
  7. K. Diedkova, A. D. Pogrebnyak, S. Kyrylenko, P. Zukowski, Y. Husak, W. Simka, V. Korniienko, I. Baginskiy, V. Zahorodna, U. Riekstina, O. Gogotsi, Y. Gogotsi, M. Pogorielov. Novel PCL-MXene electrospun membranes for conductive tissue regeneration. *Book of Abstracts International conference "YUCOMAT-2023"*. Herceg-Novi. Montenegro. 4-8 September, 2023. P.43. (Дисертант провів експериментальне дослідження, підготував тези).
  8. K. Diedkova, Y. Samokhin, V. Zahorodna, I. Baginskiy, V. Balitskyi, O. Gogotsi, V. Korniienko. PCL-MXene composite electrospun membrane for nerve regeneration: structural and biological assessment. *Book of Abstracts International conference "YUCOMAT-2022"*. Herceg-Novi. Montenegro. August 29 – September 2, 2022. P.97. (Дисертант провів експериментальне дослідження, описав результати, зробив висновки та підготував тези).
  9. K. Diedkova, Ye. Husak, S. Kyrylenko, et.al. Polycaprolactone MXene nanocomposites for cardiac tissue engineering. *Book of Abstracts 81th International scientific conference of the University of Latvia*. Riga. Latvia. 14 February, 2023. P.18-19. (Дисертант провів експериментальне дослідження, описав результати та підготував тези).



10. Varava Y., Samokhin Y., Diedkova K., Kyrylenko S., Savchenko A., Korniienko V. Antimicrobial electrospun chitosan nanofibrous membranes functionalized with silver nanoparticles. Paper presented at the Proceedings of the 2021 IEEE 11th International Conference on Nanomaterials: Applications & Properties. NAP. 2021. № 21387912. DOI: 10.1109/NAP51885.2021.9568584. (*Scopus*) (Автор провів експериментальне дослідження, опрацював результати).

**Апробація результатів дисертації**

1. Міжнародна конференція «Nanomaterials: Application & Properties» (Одеса, 2021).
2. Міжнародна медична конференція «Biomedical perspectives» (Суми, 2021).
3. Конференція з матеріалознавства «YUCOMAT» (Герцег-Нові, Чорногорія, 2022).
4. Міжнародна конференція «Nanomaterials: Application & Properties» (Краков, Польща, 2022).
5. Міжнародна наукова конференція Латвійського університету (Рига, Латвія, 2023).
6. Конференція з матеріалознавства «YUCOMAT» (Герцег-Нові, Чорногорія, 2023).
7. Міжнародна конференція «Nanomaterials: Application & Properties» (Братислава, Словаччина, 2023).

## Копії актів впровадження

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Директор  
ТОВ Центр Матеріалознавства  
Олексій ГОГОЦІ



«21» серпня 2023 року

## АКТ ПРО ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження (метод профілактики, лікування, пристрій, форма організаційної праці, тощо).** Метод визначення електропровідності нановолокнистої мембрани з нанесеними електропровідними двомірними частинками MXene.
2. **Установа-розробник:** Навчально-науковий медичний інститут Сумського державного університету.
3. **Ким запропоновано:** Дедкова Катерина Андріївна, аспірантка кафедри морфології.
4. **Джерело інформації (методичні рекомендації, інформаційний лист, звіт про НДР, дисертації, монографії, матеріали з'їздів, наукових конференцій, семінарів та ін.).** Gogotsi O., Koltunowicz T.N., Diedkova K., Gałaszkiwicz P., Pogorielov M. and et al., "Investigation of ac electrical properties of MXene-PCL nanocomposites for application in small and medium power generation". Energies. 2021, Volume 14 Issue 21, P.7123. <https://doi.org/10.3390/en14217123>.
5. **Впроваджено. У виробничий процес:**
6. **Термін впровадження:** 2022-2023 р.
7. **Ефективність впровадження.** Впроваджено як метод контролю якості полімерних електропровідних мембран.
8. **Місце впровадження:** м. Київ
9. **Зауваження, пропозиції:** немає.

**Відповідальний за впровадження:**

Директор  
Олексій ГОГОЦІ



ЗАТВЕРДЖУЮ

Перший проректор з науково -  
педагогічної роботи

Полтавського державного

медичного університету

Валентин ДВОРНИК

2023р.



## АКТ ПРО ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції для впровадження (метод профілактики, лікування, пристрій, форма організаційної праці, тощо). Метод нанесення нового електропровідного матеріалу MXene на електропрядену нановолокнисту мембрану способом занурення у розчин.
2. Установа-розробник: Навчально-науковий медичний інститут Сумського державного університету.
3. Ким запропоновано: Дедкова Катерина Андріївна, аспірантка кафедри морфології.
4. Джерело інформації (методичні рекомендації, інформаційний лист, звіт про НДР, дисертації, монографії, матеріали з'їздів, наукових конференцій, семінарів та ін.). Diedkova K., Pogrebniak A. D. Kyrylenko S., et al. Polycaprolactone-MXene Nanofibrous Scaffolds for Tissue Engineering. ACS Appl Mater Interfaces. 2023. Volume 15 Issue 11. P.14033-14047. doi:10.1021/acsami.2c22780.
5. Впроваджено. В навчальний процес та наукову роботу кафедри.
6. Термін впровадження: квітень-червень 2023 р.
7. Ефективність впровадження. Введено у навчальний процес у матеріали лекцій та практичних занять.
8. Місце впровадження: кафедра патологічної анатомії та судової медицини Полтавського державного медичного університету
9. Зауваження, пропозиції: немає.

Пропозиція обговорена і затверджена на методичному засіданні кафедри патологічної анатомії та судової медицини (протокол № 1 від 30. 08.2023 року).

## Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри патологічної анатомії та  
судової медицини  
Полтавського державного медичного університету  
доктор медичних наук, професор

Іван СТАРЧЕНКО



**"ЗАТВЕРДЖУЮ"**  
 Проректор закладу вищої освіти  
 з науково-педагогічної роботи  
 Буковинського державного  
 медичного університету  
 доц. Ходоровський В.М.

« 07 » \_\_\_\_\_ 2023 р

### АКТ ПРО ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження (метод профілактики, лікування, пристрій, форма організаційної праці, тощо).** Визначення ступеню деградації електропряденої мембрани методом динамічної деградації у фосфатно-буферному розчині.
2. **Установа-розробник:** Навчально-науковий медичний інститут Сумського державного університету.
3. **Ким запропоновано:** Дедкова Катерина Андріївна, аспірантка кафедри морфології.
4. **Джерело інформації (методичні рекомендації, інформаційний лист, звіт про НДР, дисертації, монографії, матеріали з'їздів, наукових конференцій, семінарів та ін.).** V. Korniienko, Y. Samokhin, J. Varava, K. Diedkova, B. Petrović, M. Pogorielov. Processing and characterization of hybrid chitosan (Ch)/polylactic acid (PLA) composite nanofibrous scaffolds for biomedical application. "Twenty-third annual conference - YUCOMAT 2022 & Twelfth world round table conference on sintering - XII WRTCS 2022", Herceg Novi, August 29 – September 2, 2022 – p.153.
5. **Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра анатомії людини імені М.Г. Туркевича закладу вищої освіти Буковинського державного медичного університету.
6. **Термін впровадження:** травень - червень 2023 року.
7. **Форма впровадження:** введено у навчальний процес – у матеріали лекцій та практичних занять з анатомії.
8. **Зауваження та пропозиції:** не поступило.  
*Обговорено та затверджено на засіданні кафедри анатомії людини ім. М.Г. Туркевича. Протокол № 39 від 19 червня 2023 року.*

**Завідувач кафедри анатомії людини  
 імені М.Г. Туркевича  
 закладу вищої освіти  
 Буковинського державного  
 медичного університету  
 доктор медичних наук, професор**



**В.В. Кривецький**

«ЗАТВЕРДЖУЮ»



В.О. Думанський  
 професор з наукової роботи  
 доктору медичних наук, професор  
 Думанський В.О.  
 « 28 » вересня 2023 року

### АКТ ПРО ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції для впровадження (метод профілактики, лікування, пристрій, форма організаційної праці, тощо). Новий спосіб модифікації гідрофобної поверхні PCL-мембрани кисневою плазмою.
2. Установа-розробник: Навчально-науковий медичний інститут Сумського державного університету.
3. Ким запропоновано: Дедкова Катерина Андріївна, аспірантка кафедри морфології.
4. Джерело інформації (методичні рекомендації, інформаційний лист, звіт про НДР, дисертації, монографії, матеріали з'їздів, наукових конференцій, семінарів та ін.). К. Diedkova, Y. Husak, E. Bebre and et al. Polycaprolactone-MXene nanocomposites for cardiac tissue engineering. 81<sup>st</sup> International Scientific Conference of the University of Latvia 2023 – Riga, Latvia, February 16 - 17, 2023. - p.18-19.
5. Впроваджено. В наукову роботу кафедри стоматології післядипломної освіти.
6. Термін впровадження: \_\_\_\_\_ 2023 р.
7. Ефективність впровадження. Введено у навчальний процес у вигляді лекцій та практичних занять.
8. Місце впровадження: м. Запоріжжя ЗДМФУ
9. Зауваження, пропозиції: немає.

Відповідальний за впровадження:

Зав. кафедри стоматології  
 післядипломної освіти проф. Міщенко О.М.