

УДК 678.07:617

Biodegradation of Polymers

Mikhail I. Shtilman*

*D. Mendeleyev University
of Chemical Technology of Russia
7 Miusskaya sq., Moscow, 125047, Russia*

Received 24.12.2014, received in revised form 18.02.2015, accepted 20.05.2015

The paper discusses different aspects concerning obtaining, properties and application of appropriate biopolymers for making goods which are degrading under influence of biological media and applicable for medicine as implants and drug components, for biotechnology as carriers for cell, tissue and genetic engineering, and also for packaging materials destroying in the environment. Mechanisms of biodegradation, peculiarities of interconnection of biodegradable goods and their polymeric components with different biological media are considered. Most perspective polymeric materials for making biodegradable polymers are defined, and the information on their production is given.

Keywords: biodegradation, mechanism, influence of material structure, products of biodisintegration, extracellular and intracellular biodegradation, biodegradable goods.

DOI: 10.17516/1997-1389-2015-8-2-113-130.

Биодеградация полимеров

М.И. Штильман

*Московский химико-технологический университет
им. Д.И. Менделеева
Россия, 125047, Москва, Миусская площадь, 7*

В статье рассмотрены различные аспекты, связанные с получением, свойствами и применением полимеров, на основе которых создаются изделия, подвергающиеся распаду под действием биологических сред. Эти полимеры находят применение в медицине в качестве имплантатов и компонентов лекарственных систем; в биотехнологии – в качестве носителей в клеточной,

тканевой и генной инженерии; в качестве упаковочных материалов, отходы которых распадаются в окружающей среде. Рассмотрены механизмы биodeградации, особенности взаимодействия биodeградируемых изделий и полимеров, из которых они изготовлены, с различными биологическими средами. Определены наиболее перспективные полимерные материалы, пригодные для создания биodeградируемых полимеров, и приведены некоторые сведения об их производстве.

Ключевые слова: биodeградация, механизм, влияние строения материала, продукты биораспада, внеклеточная и внутриклеточная биodeградация, биodeградируемые изделия.

Введение

Материалы (преимущественно полимеры), пригодные для создания различных изделий, подвергающихся распаду под действием биологических сред, в последние десятилетия привлекают широкое внимание. Это определяется расширением сфер использования таких изделий, в первую очередь в качестве имплантатов, рассасывающихся в организме, а также в качестве различной упаковки, отходы которой не оказывают отрицательного влияния на состояние окружающей среды. Острая потребность в таких полимерах привела к значительному расширению исследовательских работ в данной области, которые в целом ряде случаев вышли на уровень промышленного выпуска. В то же время данная область нуждается в расширенном исследовании технологических (как химических, так и биотехнологических) процессов производства полимеров, пригодных для создания биodeградируемых изделий, с целью их оптимизации и унификации выпускаемых продуктов. С другой стороны, важным направлением работ в области биodeградируемых систем является изучение их взаимодействия с биологическими средами, что должно оптимизировать сроки распада и обеспечить их безвредное использование.

Определение и механизм процесса биodeградации

Биodeградация – разрушение физического объекта под действием биологической среды, проявляющееся в уменьшении его массы и объема во время этого процесса.

Можно отметить ряд групп материалов, которые должны быть устойчивы к биodeградации в биологической среде или, наоборот, распадаться в ней с той или иной скоростью.

А. Объекты, которые длительное время должны быть устойчивы в условиях функционирования в контакте с агрессивной биологической средой (поверхности, устойчивые к биоповреждению, антиобрастающие покрытия, имплантаты с длительными сроками пребывания в организме).

Б. Объекты, функционирующие в течение длительного времени, но по возможности быстро распадающиеся в биологической среде после использования.

В. Объекты, распадающиеся с контролируемой скоростью.

В подавляющем большинстве случаев процесс биodeградации наблюдается у изделий из полимеров. Реже он встречается у изделий из неорганических материалов (специальные типы стекол и керамики, предназначенные для применения в медицине), еще реже у изделий из металлов, входящих в состав медицинских изделий.

Для случая биodeградации изделия в окружающей среде биологической средой является почва, компостирующие системы, вода различных водоемов, т.е. водосодержащие системы, в которых помимо других веществ содержатся различные микроорганизмы, характерные для этой среды (например, почвенные бактерии, грибы, микроскопические водоросли и др.). Наиболее важное значение процесс биodeградации имеет для некоторых типов имплантатов (например, крепежных деталей, костных пломбировочных составов, шовных материалов), ряда лекарственных форм (например, таблеток, капсул, микрокапсул), подложек (матриц), используемых в тканевой инженерии, а также упаковочных изделий, которые должны разрушиться после использования, что важно с точки зрения экологии. Биологической средой в этих случаях служат кровь, лимфа, интерстициальная (межклеточная) жидкость, другие жидкие среды организма, например, желудочный сок, сок поджелудочной железы, слюна и т.п., т.е. водные системы, содержащие различные неорганические и органические вещества, в том числе ферменты, а также различные типы клеток.

Биodeградация является результатом ряда физических, химических и биохимических (т.е. протекающих с участием ферментов) процессов. Процесс биodeградации имеет определенные особенности для различных объектов.

В принципе, биodeградация полимерного материала может протекать:

- в поверхностном слое – внешней диффузионно-кинетической области, т.е. в слое, диффузионно доступном для жидкой окружающей среды. При этом свойства материала, в том числе молекулярная масса полимера, за пределами этой области не изменяются до разрушения внешнего слоя. Такой

процесс приводит к *биоэрозии* поверхности объекта, т.е. появлению на ней неровностей, впадин и т.д.;

- в объеме полимерного изделия, когда скорость проникновения жидкой биологической среды в массу изделия превышает скорость распада полимера, например, при высокой набухаемости изделия в биологической среде, когда проникновение факторов, способствующих биотрансформации, в том числе ферментов, облегчено.

Первый из этих механизмов встречается наиболее часто. На биodeградацию материала (изделия) в этом случае, кроме химического строения полимера, влияют такие факторы, как форма изделия, размер, наличие перфорации, степень пористости, наличие наполнителя (для композитов) и т.п.

Контакт жидкой биологической среды с поверхностью изделия, а следовательно, с макромолекулами полимера, из которого он изготовлен, в случае соответствующего химического строения и структуры полимера вызывает начало протекания процесса биodeградации.

Эта стадия биodeградации проходит без участия клеток (*неклеточная биodeградация*).

Влияние особенностей строения материала на процесс биodeградации

Важнейшее влияние на биodeградацию оказывает доступ окружающей биологической среды к молекулам материала биodeградируемого изделия в результате сорбции и диффузии, т.е. гидрофильность материала. Протекание этих процессов в полимере начинается с поверхности и реализуется после проникновения в поверхностные слои материала (изделия) окружающей его жидкой среды, представляющей собой растворы различ-

ных неорганических и органических веществ, с участием которой и происходит последующая биodeградация. Именно взаимодействие с окружающей средой является первой стадией комплекса химических, физико-химических и биологических воздействий, которому подвергается объект, вступающий в процесс биodeградации.

Одними из факторов, оказывающих большое влияние на устойчивость полимера к биodeградации, выступают его способность к сорбции воды и интенсивность диффузии в него окружающей водной среды (Barris, 1968; Iordanskii et al., 1994). В то же время, хотя проникновение водных растворов в массу или как минимум в поверхностные слои изделия, подвергающегося биodeградации, является необходимой стадией, сами по себе высокие значения способности материала к сорбции воды и диффузии водяного пара не гарантируют высокой скорости этого процесса. Так, изделия из полисилоксанов (полидиметилсилоксана), для которых характерен высокий коэффициент диффузии водяного пара, не склонны к биodeградации. Умеренная скорость биodeградации изделия (причем за счет гидролиза боковых сложноэфирных групп полимера) наблюдается для изделий из поли-(2-гидроксиэтил) метакрилата, обладающего высокой сорбцией воды. С другой стороны, изделия из таких полимеров, как полигидроксикарбоновые кислоты (полигликолиды и полилактиды), широко используемых для создания биodeградируемых упаковки и имплантатов, характеризуются относительно умеренными значениями сорбции и диффузии. Как правило, полимеры, способные к распаду в биологических средах, обладают более высоким сродством к воде за счет наличия в них полярных групп. Однако неполярные или низкополярные полимеры (полиуглеводороды, кремнийорганические и галоидсодержа-

щие карбоцепные полимеры) небиodeградируемы в организме.

Таким образом, для протекания биodeструкции необходимо сочетание определенных характеристик полимера, в первую очередь особенностей строения и структуры, обеспечивающих проникновение в полимер окружающих жидких сред, и наличие в нем функциональных групп, способных к гидролизу. Для протекания биodeградации изделия необходимо наличие и других факторов, в первую очередь способности полимера, из которого изготовлено изделие, растворяться в воде и вступать в химические процессы, сопровождающиеся распадом основной цепи с образованием растворимых в воде продуктов распада.

Когда объект, подвергающийся воздействию биологической среды, вступает непосредственно в процесс биodeградации, то последний может явиться результатом ряда химических, физико-химических и биохимических процессов, в число которых входят:

А. Растворение в биологической среде химически неизмененного полимера. Эти процессы протекают в случаях, когда биodeградируемый объект изготовлен из водорастворимого полимера.

Б. Растворение в биологической среде продуктов химических и биохимических реакций, претерпеваемых материалом, из которого изготовлен (состоит) биodeградируемый объект, т.е. продуктов, образующихся в результате процессов изменения химического строения материала:

Б.1. Гидролитический распад цепи полимера:

Б.1.1. Гидролиз групп, содержащихся в цепи полимера.

Б.1.2. Гидролиз групп, образующихся в цепи полимера после предварительных химических реакций.

Б.2. Образование водорастворимых продуктов в результате протекания в полимере реакций, не влияющих на длину полимерной цепи.

Б.2.1. Образование водорастворимого полимера в результате протекания реакций, в результате которых образуются лиофилизующие группы, способствующие его растворению.

Б.2.2. Разрушение полимер-полимерных комплексов.

Простое разрушение (растворение) объекта наблюдается тогда, когда он изготовлен из материала, растворимого в окружающей биологической среде. В этом случае его биодegradация может протекать без каких-либо химических превращений материала. Применительно к полимерам такие материалы не должны иметь пространственного строения и должны содержать в основной цепи или в боковых ответвлениях полярные функциональные группы, обеспечивающие растворимость полимера в водной среде.

Растворение материала имплантата протекает в соответствии с хорошо изученными для обычного растворения полимера стадиями – диффузией среды в полимерную массу, сольватацией макромолекул полимера молекулами растворителя (в данном случае – воды) и десорбцией сольватированных макромолекул из массы в раствор. Растворение сопровождается изменением надмолекулярной структуры полимера, соотношения аморфных и кристаллических областей и т.п. структурными изменениями. Склонность материала, например полимера, к растворению можно регулировать, вводя в него различные функциональные группы. Для синтетических полимеров такими функциональными группами являются гидроксильная ($-OH$), карбоксилатная ($-COO^-$ Катион $^+$), амидная ($-CONH_2$) и замещенные амидные группы ($-CO-NHR$ и

$-CONR_2$). Данные группы вводят в полимер для придания ему растворимости в воде в виде боковых групп соответствующих звеньев макромолекулярной цепи. К таким полимерам в большинстве случаев относятся гомо- и сополимеры винилового спирта, акриламида, N-винилпирролидона, солей акриловых кислот, N-(2-гидроксипропил)-метакриламида, акриламида, алкил и диалкилзамещенного акриламида.

Растворимостью в воде обладают также полимеры, содержащие в цепи группировки простых алифатических эфиров, например полиэтиленоксид. Водорастворимые изделия могут быть получены при использовании в качестве материалов для их изготовления также природных полимеров – глобулярных белков (альбумины), низкомолекулярных фракций фибриллярных белков (желатины), а также некоторых полисахаридов (декстран, соли альгиновой кислоты и карбоксиметилцеллюлозы, крахмал, мукополисахариды). В большинстве случаев водорастворимые полимеры используются для создания биодegradируемых лекарственных форм, распадающихся в организме, и для изготовления некоторых упаковочных изделий.

Процессы изменения химического строения материала под действием биологических сред объединяются понятием *биотрансформация* (биореакционная способность). Частным случаем биотрансформации является *биодеструкция* (относится к макромолекулярным системам) – это химический распад основной цепи полимера, сопровождающийся уменьшением его молекулярной массы. Можно выделить ряд направлений распада полимера в результате биотрансформации, в том числе – распад основной цепи линейных полимеров, реакции в боковых ответвлениях при сохранении основной цепи, распад пространственных полимерных структур с со-

хранением полимерных фрагментов, полный распад пространственных полимеров.

В подавляющем большинстве случаев для протекания биодеструкции в основной цепи должны содержаться функциональные группы, способные к гидролизу. Чаще всего в качестве гидролизуемых групп выступают сложная эфирная, карбонатная, амидная, ангидридная, уретановая, мочевиная, семикарбазидная и т.п. группы, имеющие аналогию со сложной эфирной и пептидной (амидной) группами, входящими в состав многих природных низкомолекулярных веществ и полимеров – липидов, пептидов, белков. Следует отметить, что скорость химического и ферментативного гидролиза этих групп в значительной мере зависит от строения радикалов, с которыми они связаны. Поэтому, например, изделия из полиэтилентерефталата, сложная эфирная группа которого образована алифатическим спиртом (этиленгликоль) и ароматической кислотой (терефталевая кислота), биодеградируют в организме медленно и этот полимер широко используется для изготовления имплантатов, предназначенных для длительного функционирования в организме (эндопротезы сосудов, компоненты конструкции эндопротезов сердечных клапанов и др.). С другой стороны, полимеры гидроксикарбоновых кислот (полигликолиды, полилактиды, поли-3-гидроксibuтират), сложная эфирная группа которых расположена между алифатическими фрагментами полимерной цепи, распадаются с участием химического и ферментативного гидролиза.

В ряде случаев распада под действием биологических сред подвергаются и карбоцепные полимеры. Это может происходить из-за разноразветвленности полимеров, возникающей на стадии синтеза, когда в основной цепи оказываются гидролизуемые группы. Например, такая ситуация имеет место в случае по-

ливинилового спирта, когда при радикальной полимеризации винилацетата в результате передачи цепи на метильную группу мономера часть его молекул вступает в реакцию аномально, в результате чего в основную цепь включается сложная эфирная группа. Это приводит к уменьшению степени полимеризации полимера при гидролитическом получении поливинилового спирта из поливинилацетата. С другой стороны, распад основной цепи карбоцепных полимеров в биологических средах может происходить и по другим механизмам. Так, для некоторых полимеров, непосредственно не содержащих гидролизуемых групп в основной цепи, ее биодеструкция может протекать после предварительной трансформации имеющихся в полимере других групп, в результате чего в цепи появляются фрагменты, способные к гидролизу. В частности, изделия из поливинилового спирта биодеградируют при имплантации в живые ткани или при воздействии микроорганизмов с участием ряда ферментов (Chiellini et al., 2003). В этих случаях распад полимерной цепи протекает через стадию образования дикетонных структур. Биодеградации в организме подвергаются и такие карбоцепные полимеры, как эфиры поли- α -цианакриловой кислоты, которые в организме подвергаются биодеструкции. Этот процесс важен для различных лекарственных форм, эмболизирующих и костных пломбировочных систем, клеев на основе полицианакрилатов. Возможность распада карбоцепных макромолекул этих полимеров связана с наличием при α -атоме углерода звеньев цианакриловой кислоты двух мощных электроноакцепторных групп – нитрильной и карбонильной, что вызывает сильную поляризацию пары электронов связи C-C (Wide, Leonard, 1980; Yin-Chao Tseng, 1990; Vauther et al., 2003). Этот процесс может протекать по схеме, в которой одним из образующихся продуктов является

формальдегид, не являющийся безвредным для организма. Процесс деструкции цепи поли- α -цианакрилатов начинается уже при pH 7,0 и заметно ускоряется при увеличении значения pH до 8,0. При этом уменьшение размеров спиртового радикала также повышает скорость гидролиза. Наибольшей скоростью распада обладает полимер метилового эфира. Полимеры, содержащие более длинноцепные спиртовые радикалы, распадаются медленнее, накапливая в тканях меньшее количество формальдегида, что позволяет использовать их в реальной медицинской практике. Изделия на основе полимеров эфиров α -цианакриловой кислоты (на примере клеев) деградируют в организме со значительной скоростью – на 60–80 % уже за первые месяцы.

Значительное влияние на процесс гидролиза поли- α -цианакрилатов оказывает их молекулярный вес, причем начальная скорость гидролиза выше для более низкомолекулярных полимеров. Скорость распада образца в организме (оцениваемая по уменьшению его массы) зависит от значения pH, молекулярной массы полимера, длины спиртового радикала, причем эта реакция может катализироваться солями переходных металлов. Кроме того, в ходе биодеструкции поли- α -цианакрилатов может протекать гидролиз их боковых сложноэфирных групп.

Улучшение растворимости полимера и вовлечение изделия, из которого оно изготовлено, в процесс биодеградациии наблюдается и в результате ряда превращений функциональных групп полимера, в первую очередь их ионизации. Типичный пример таких превращений полимеров – программированное растворение полимеров, содержащих ионогенные группы, предназначенных для создания оболочек лекарственных форм, например таблеток. В частности, к таким полимерам относятся акриловые сополимеры группы

Eudragit® (EvonikInd., FRG), содержащие кислые (карбоксильные) или основные (третичные аминные) группы, позволяющие после ионизации растворяться этим полимерам, соответственно, в основной среде кишечника или в кислой среде желудка.

Образование боковых гидрофильных групп в полимере может происходить и в результате гидролиза боковых функциональных групп, введенных в полимер при синтезе, например, сложноэфирных производных винилового спирта или эфиров акриловых кислот, в частности полимеров винилацетата, метил-, этил-, бутилметакрилатов. При этом в полимере образуются гидроксильные или карбоксильные группы.

Полимер-полимерные комплексы (интерполимерные комплексы) представляют собой системы, образованные из двух или нескольких полимеров за счет сильного кооперативного (многоточечного) межмолекулярного (например, с участием водородной связи) или ионного взаимодействия. Такие системы используются для создания некоторых имплантатов, мембранных систем. Их разрушение с растворением компонентов системы может происходить в результате воздействия конкурентного комплексообразователя. В качестве таких конкурентных комплексообразователей могут выступать низкомолекулярные агенты (в том числе ионы), способные вступать в более сильное межмолекулярное или ионное взаимодействие с отдельными компонентами поликомплекса, чем их взаимодействие между собой.

Особенности взаимодействия биодеградируемого полимерного материала с биологической средой

Имплантация изделия, представляющая собой хирургическую операцию, наносит

естественную травму организму и приводит к запуску нормального воспалительного процесса. Процесс воспаления начинается после хирургической травмы кровеносных сосудов и ткани с образованием в зоне введения имплантата активной среды, содержащей смесь биологических жидкостей (крови, лимфы, межклеточной и внутриклеточной жидкости) и фрагменты разрушенных клеток. В результате всех этих процессов изменяется состав среды, окружающей имплантат, в ней уменьшается pH, активируется деятельность ферментов, активность которых различна по отношению к различным полимерам. Кроме того, как результат защитного действия организма в зону введения имплантата перемещаются различные клетки. С одной стороны, в окружении имплантата появляются молодые клетки новой растущей ткани, которые в случае низкой способности имплантата к биодegradации формируют вокруг имплантата изолирующую его тканевую капсулу. С другой стороны, это защитные клетки, стремящиеся разрушить и метаболизировать находящиеся в этой зоне фрагменты разрушенных клеток, биополимеры, а также введенный чужеродный объект. Среди таких защитных клеток важную роль играют моноциты – макрофаги, а также гигантские клетки инородного тела (*внутриклеточная биодegradация*). Таким образом, именно на стадии воспалительного процесса закладывается выбор организмом двух путей защиты от введенного в него постороннего объекта – его биодegradация (разрушение) или образование тканевой капсулы.

Превалирование того или иного из этих процессов и конкретные особенности их протекания определяются целым рядом факторов, в первую очередь химическим строением и структурой материала, особенностью конструкции имплантата и его поверхности.

Существенное влияние на соотношение этих процессов оказывает также место введения имплантата в организм, так как состав активной среды, в частности состав и количество ферментов и клеток, участвующих во взаимодействии с имплантатом, в различных тканях различен.

При разрушении объекта в желудке или в кишечнике важную роль играют pH среды, кислотный, основной и ферментативный гидролиз материала объекта. Переход полимеров в раствор, в том числе после их химического и биохимического распада, протекает в желудочно-кишечном тракте в основном под влиянием кислых (желудок) и основных (кишечный тракт) сред и содержащихся там ферментов. Ферменты, главным образом гидролазы, принимающие участие в переваривании пищи – пептидазы (в первую очередь пепсин), эстеразы, липазы, нуклеазы, в естественных условиях способствуют распаду входящих в состав пищи белков и других природных полимеров. Могут они принимать участие с той или иной активностью и в гидролизе синтетических полимеров, содержащих функциональные группы, характерные для природных объектов, – пептидные, сложные эфирные и т.п.

Биодegradация различных объектов в окружающей среде имеет большое значение, во-первых, с точки зрения ее защиты, поскольку многие объекты устойчивы в течение длительного времени. Например, если бумажные салфетки или полотенца разрушаются в морской воде за 2-4 недели, то массово распространенные изделия из полиэтилена разрушаются сотни лет (данные Mote Marine Laboratory, USA). Это подтверждает необходимость замены таких изделий на биодegradуемые.

В случае разрушения объекта в окружающей среде существенное значение имеют

внешние условия – температура, pH системы, наличие в ней соответствующих микроорганизмов и взаимодействие их с поверхностью разрушаемого объекта. Можно выделить несколько стадий микробной атаки – адгезионное связывание микроорганизмов на поверхности, колонизация ее, обрастание, поверхностная биоэрозия, разрушение (биодegradация) объекта.

В природных условиях в микробной атаке на биодegradируемый объект участвует не один вид, а ассоциация микроорганизмов, анаэробов и аэробов, взаимно влияющих друг на друга и вырабатывающих ферменты, участвующие в разрушении материала. На рост и активность этих микроорганизмов влияют условия окружающей среды, состав и химическое строение материала, из которого изготовлен биодegradируемый объект (Allsopp et al., 2004; Прикладная эко-биотехнология, 2010; Прудникова, Волова, 2012). Наибольшую роль в микробной атаке играют бактерии – *Cytophaga*, *Bacillus*, *Streptomyces*, *Micobacterium*, *Pseudomonas* – и мицеллярные грибы и дрожжи – *Aspergillus*, *Alternaria*, *Penicillium*, *Trichoderma*, *Phanerochaete chrysosporium* и ряд других.

Влияние на биодegradацию в окружающей среде может оказывать искусственное ее ускорение, например подкислением системы при силосовании и компостировании, когда полимерные отходы помещают в землю. На протекание всех приведенных выше процессов могут оказывать различное действие низкомолекулярные вещества и ферменты, находящиеся в системе, а образовавшиеся продукты деструкции могут вступать в дальнейшие превращения. Можно отметить ряд химических и физико-химических факторов, определяемых особенностями биологической среды, которые могут влиять на протекание процессов неклоточной биодegradации с уча-

стием материала объекта. В том числе это относится к биодegradации в условиях живого организма. При этом химический гидролиз протекает с каталитическим участием присутствующих в системе веществ в соответствии с различными механизмами (основной, кислотный, нуклеофильный, мицеллярный катализ, катализ ионами металлов, гидролиз при наличии катализаторов фазового переноса). Например, существенное влияние на скорость гидролиза полимеров оказывает присутствие в биологических жидкостях различных солей и pH среды, которые влияют на протекание различных реакций на поверхности и в объеме биодegradируемого объекта.

Определенную роль в суммарном процессе биодegradации полимерных материалов может играть *автоокисление*. К автоокислению – автокаталитической реакции с кислородом – склонны все органические полимеры. Автоокисление является комплексной реакцией, которая, как известно, распространяется по цепному механизму. В результате иницирующей реакции создаются продукты, которые могут сами спонтанно реагировать с молекулами полимера. Существенную роль в процессах окисления и автоокисления могут играть содержащиеся в системе ионы металлов.

Полимеры содержат значительное число звеньев, отличных от основного звена (разнозвенные полимеры), что создает предпосылки для протекания таких реакций. Такими группами в полимерах могут выступать углеводородные радикалы в местах разветвления, различные функциональные группы.

В биодegradации полимерных имплантатов, испытывающих переменные динамические нагрузки (клапаны сердца, эндопротезы связок, сухожилий и т.п.), существенную роль может играть механодеструкция. Учитывая особенности биодеструкции материалов в

среде организма, можно схематически представить механохимический процесс как совокупность следующих стадий:

- образование реакционной цепи, или механоиницирование;
- рост реакционной цепи, развитие цепного процесса в самых разнообразных направлениях в зависимости от условий (температура, состав среды, строение макроцепей и макрорадикалов);
- обрыв реакционной цепи, образование конечных стабильных продуктов механохимических превращений данного биоматериала и окружающей среды.

При изготовлении изделий в материале могут возникать преднапряженные состояния, технологические дефекты (микротрещины, пузырьки воздуха), которые при взаимодействии имплантата со средой живого организма способны инициировать и ускорять последующие гидролитические и окислительные реакции биодеструкции. Первичным актом разрушения является перенапряжение химической связи под влиянием механического поля. В кристаллических полимерных материалах они возникают в аморфных участках и приводят к появлению зародышевых трещин (субмикротрещин) с размерами от 10 до 10^6 Å с последующим образованием более крупных микротрещин. Инициирование биодеструкции имплантата и сам процесс биодеструкции может происходить за счет внутренних и внешних напряжений. Постоянные статические или динамические нагрузки могут внести вклад в фрагментацию материала с последующим включением процесса внутриклеточной биодеградациии.

Важную роль в протекании реакций на стадии внеклеточной биодеградациии играют также ферментативные процессы. Ферментативный гидролиз играет более заметную роль

в случае имплантатов, изготовленных из природных полимеров (биополимеров), или при наличии в полимере фрагментов биополимеров. Примером таких полимеров являются полиуретаны, содержащие сахаридные и олигосахаридные фрагменты (Пхакадзе, 1990). Действуют ферменты и на синтетические полимеры, содержащие соответствующие группы и фрагменты молекулы, окружающие эти группы. Высокая специфичность ферментов обусловлена конформационной и электростатической комплементарностью между молекулами субстрата и фермента и уникальной структурой активного центра фермента. Например, ферменты с эстеразной активностью эффективны при деструкции полимеров, содержащих сложные эфирные группы. Для пепсина местом действия является пептидная –CO–NH–связь, а для действия липазы, катализирующей гидролиз жиров на глицерин и жирные кислоты, – сложноэфирная связь. Аналогичной групповой специфичностью обладают трипсин, химоотрипсин, пептидазы и т.д.

Хотя в первую очередь протекание химического и ферментативного гидролиза зависит от химического строения гидролизуемой группы и окружающих ее радикалов, на процесс биодеградациии имплантата влияют и другие особенности строения полимера. Например, изделия из высокомолекулярных полимеров при прочих равных условиях в большей степени противостоят биодеградациии, чем изделия из низкомолекулярных полимеров. При моделировании действия ферментов на материал имплантата следует учитывать пространственные затруднения, возникающие при реализации контакта распадающихся групп полимера и активным центром высокомолекулярного ферментного катализатора. Поэтому ферментативный гидролиз при внеклеточной биодеградациии

протекает легче в поверхностных слоях имплантата. Так, скорость диффузии фермента в набухший материал (гидрогель) в значительной мере определяется пространственными факторами, в том числе плотностью сшивки набухающего материала, гидрофильностью фрагментов макромолекулярной цепи, наличием неупорядоченных структур. Приведенные особенности ферментов важны при моделировании экспериментов *in vitro* по ферментативному гидролизу биоматериалов, а также при анализе биодеструкции материалов в зависимости от места имплантации, типа окружающих тканей и химического строения материала.

В ряде случаев в биodeградации имплантата участвуют микроорганизмы, находящиеся в зоне имплантации. Многие виды синтетических полимеров, содержащие различные типы групп – эфирные, амидные, мочевиные, уретановые, – подвержены биодеструкции под воздействием большого количества разнообразных микроорганизмов. К тому же последние способны утилизировать продукты деструкции полимеров, включая их в различные метаболические циклы. Поскольку большинство микроорганизмов не способны к пиноцитозу (поглощению водных растворов макромолекул) и фагоцитозу (поглощению твердых частиц), то основной путь влияния микроорганизмов на биodeградацию имплантатов связан с выделением во внешнюю среду внеклеточных ферментов, которые, как правило, являются деполимеразами и обладают низкой специфичностью. В частности, среди секретируемых микроорганизмами ферментов наиболее распространены протеазы трех классов – сериновые, металло- и кислые протеазы, рН-оптимум которых лежит в щелочной (рН 8,0-11,0), нейтральной (рН 6,0-7,8) или кислой (рН 2,5-3,5) среде соответственно. После

расщепления «внеклеточного» полимерного субстрата низкомолекулярные продукты могут усваиваться микроорганизмами. Бактерии, инфицирующие раневую поверхность, могут существенно изменять скорость деградации имплантата. В клинической практике отмечалась разная скорость рассасывания шовных материалов, таких как кетгут и полигликолевая кислота, в инфицированной и неинфицированной ранах. Показано, что бактериальные клетки содержат ферментные системы, которым требуется кислород и которые способны к окислительной деструкции полимера. Таким образом, присутствие бактерий в области имплантата может ускорять процесс биodeградации за счет ферментативной и окислительной деструкции.

Все эти процессы, протекающие на стадии неклеточной биodeградации, приводят при соответствующих условиях, в первую очередь определяемых строением полимера и активностью среды, к биоэрозии поверхности объекта, которая на глубоких стадиях ведет к образованию в его поверхностном слое пористых структур, размеры которых соизмеримы с размерами клеток, находящихся в окружающей биологической среде. Это определяет возможность активного включения клеток в процесс разрушения объекта и начало стадии внутриклеточной биodeградации.

Типичный результат поверхностной биodeградации на примере образца полилактида описан в работе (Vander et al., 1999). Структура поверхности имплантата благоприятна для перехода в раствор образовавшихся водорастворимых фрагментов макромолекул или коллоидных частиц, которые после перемещения в жидкую среду подвергаются дальнейшему химическому или более интенсивному (в результате большей пространственной доступности) ферментативному гидролизу с участием растворен-

ных ферментов. В первую очередь эрозия протекает по тем областям поверхности, где сосредоточены наиболее гидрофильные и неупорядоченные участки макромолекул. Большую роль в биодegradации играет наличие дефектов кристаллических и надмолекулярных структур.

Особенности внутриклеточной деградации полимеров связаны с тем, что с течением времени эрозия развивается, на поверхности имплантата появляются многочисленные поры и образуется губчатый слой, состоящий из хаотичных объемных переплетений, микроканалцев и т.п. При достижении размеров выступающих фрагментов ~20-30 мкм возможно включение стадии клеточной биодegradации, характерной, во-первых, для биодegradации имплантатов. Как отмечалось выше, важнейшую роль в процессе клеточной деструкции играют макрофаги и образующиеся при их слиянии гигантские клетки инородного тела (ГКИТ), обладающие высокой поглощающей и метаболизирующей способностью. Электронно-микроскопические исследования показали, что макрофаги диффундируют и прикрепляются к поверхности введенного имплантата. Действие макрофагов различного типа и гигантских клеток инородного тела включает процесс *эндоцитоза*, характерного почти для любых клеток, но наиболее выраженного для форменных элементов крови, макрофагов, клеток злокачественных опухолей и т.д. При эндоцитозе в случае высокой степени фрагментации поверхности определенный участок плазмалеммы захватывает, обволакивает внеклеточный материал, который таким образом попадает внутрь клетки. Как известно, существует три варианта эндоцитоза: фагоцитоз, пиноцитоз и специфический эндоцитоз. Первые два явления могут быть названы неспецифическим эндоцитозом. Неспецифичность

фагоцитоза и пиноцитоза наглядно проявляется в поглощении клеткой не нужных ей или вредных веществ. Механизмы фагоцитоза и пиноцитоза во многом сходны и различаются по объему и массе захватываемого вещества. При фагоцитозе захватываются более крупные частицы, чем при пиноцитозе. При достижении в результате гидролиза и фрагментации определенных размеров выступающих частей губчатого слоя внешняя мембрана макрофагов начинает обволакивать контактирующую с ней поверхность и при ее размерах, доступных для втягивания, поглощает образовавшиеся частицы. При этом сначала фрагмент материала включается в везикулу – сфероидную органеллу, образованную из фрагментов плазмалеммы, которая может сливаться с другими внутриклеточными структурами (Voronov et al., 1998). После попадания частиц полимера в клетку при их способности к биодegradации начинается активный метаболизм этих посторонних для организма объектов за счет ферментов, находящихся внутри специальных клеточных органелл – *лизосом и митохондрий*. После биодegradации поглощенной частицы по механизму биодеструкции с участием ферментов, находящихся внутри макрофагов, со степенью глубины, определяемой строением разлагаемого полимера, продукты распада выводятся из клетки (процесс экзоцитоза) или усваиваются ею.

Для различных полимеров и конкретно-го места введения имплантата, определяющего состав окружающей среды, внеклеточный и клеточный этапы могут протекать в течение различного времени. Суммируя известные в настоящее время данные, можно отметить, что скорость биодegradации полимерных материалов зависит от многих факторов, в частности, от их растворимости в воде и гидрофильности, химического строения и

структуры, молекулярной массы, механизма биодеструкции, места локализации имплантата, его размера, формы и назначения, а также от состояния пациента.

В типичном случае включение протекающих процессов происходит в следующей последовательности:

- концентрирование макрофагов вокруг имплантата;
- появление фагоцитов и фибробластов;
- появление гигантских клеток инородных тел и активных макрофагов;
- активизация митохондрий макрофагов и гигантских клеток инородных тел, контактирующих с полимерными фрагментами;
- обволакивание фрагментов полимера макрофагами и гигантскими клетками инородных тел;
- включение в гидролиз ферментативных систем клеток;
- полная биодеградация имплантата;
- активное участие клеток в процессах метаболизма.

В результате внеклеточных и внутриклеточных процессов биодеградации имплантатов из полимерных материалов по механизмам растворения и биодеструкции образуется набор низкомолекулярных, высокомолекулярных и олигомерных продуктов, отличающихся по химическому строению, молекулярной массе и растворимости в воде, которые затем в случае имплантатов и лекарственных систем диффундируют из места локализации имплантата в кровеносную и лимфатическую системы. Продукты биодеградации могут непосредственно быть выведены из организма через почки, вступать в процессы метаболизма или задерживаться в организме с возможными патологическими последствиями, а также подвергаться дальнейшим химическим превращениям.

Продукты биодеструкции (обычно гидролиза) полимерных материалов можно разделить на несколько групп:

1. Непосредственно принимающие участие в метаболических процессах (например, гликолевая и молочная кислоты) и практически являющиеся нетоксичными.

2. Вступающие в дополнительные химические превращения. Например, ряд таких превращений известен для этиленгликоля, выделяющегося при биодеструкции некоторых типов полиэфируретанов и полиэтилентерефталата. В частности, токсическое действие этиленгликоля связывают в том числе с образованием муравьиной и щавелевой кислот, последняя из которых вызывает отложение плохо растворимых оксалатов в почках.

3. Нерастворимые продукты гидролиза, выводимые из организма в неизменном виде. Такие продукты могут быть выведены в виде конъюгатов с белками крови, в первую очередь с альбумином, образующихся за счет ионного, гидрофобного или донорно-акцепторного взаимодействия. К таким веществам может быть отнесена, например, 6-амино-н-додекановая кислота.

4. Водорастворимые продукты гидролиза, не вступающие в процессы метаболизма и выводимые из организма в неизменном виде.

5. Продукты, не вступающие в процессы метаболизма и оседающие в тканях.

В процессе постепенной биодеградации полимерного материала продукты его распада не должны оказывать отрицательного влияния на окружающие ткани и организм в целом (острое токсическое, канцерогенное, мутагенное, аллергенное действие и т.п.) или, во всяком случае, это влияние не должно выходить за допустимые пределы.

Практические подходы к созданию материалов, предназначенных для получения биodeградируемых изделий

Целенаправленному созданию биodeградируемых материалов общего назначения в последние годы уделяют серьезное внимание. Прогнозируется, что такие материалы, имеющие важное значение с экологической точки зрения, будут широко применяться не только в медицине, но и для создания разлагающихся в окружающей среде упаковочных изделий, одноразовых предметов обихода, специальных видов одежды и т.п. В отличие от применения в медицине, где возможно использование достаточно малотоннажных полимеров (полиангидридов, полиортоэфиров, полидиоксана и т.п.), материалы общего назначения должны опираться на крупномасштабные технологии.

Можно отметить несколько групп таких материалов:

А. Традиционно продолжается использование *природных полимеров*, в первую очередь производных целлюлозы, в том числе бумажных изделий и целлофана. В 2008 г. упаковка такого типа занимала около 36 % рынка. Как материал для изготовления одноразовой посуды применяется растительный белок зеин.

В. В качестве крупнотоннажных пленочных материалов, обладающих высокой скоростью биodeградации, перспективными являются *композиты*, содержащие в качестве биodeградируемой добавки крахмал. Прежде всего это относится к композициям на основе полиэтилена, в которые для сохранения определенного уровня прочностных свойств можно вводить до 20 % крахмала. Пленочные изделия на их основе довольно быстро фрагментируются в почве. Представляют интерес также материалы на основе крахмала и других полимеров – поливинилацетата (материал

Greenfill фирма GreenLightProduction, Австралия), в том числе и самостоятельно биodeградируемых полимеров – целлюлозы (материал Bioplast фирма Monsanto, США, Ecoplast – фирма Novamont, Италия), полилактида.

С. Важной группой биodeградируемых полимеров рассматривают *полимеры гидроксикарбоновых кислот*, крупнотоннажное производство которых организовано в ряде стран.

Д. Системы, *содержащие оксо- и УФ-биodeградирующие добавки*, в последнее время привлекают внимание как вещества, позволяющие придать биodeградируемость известным крупнотоннажным полимерам. В данном случае ускорение клеточной биodeградации полимеров достигается предшествующим или параллельным разложением макромолекул под действием кислорода воздуха и/или ультрафиолета. Эти добавки (прооксиданты), представляющие собой производные таких переходных металлов, как кобальт, железо, марганец, никель, могут быть использованы для ускорения биodeградации карбоцепных и гетероцепных полимеров. В частности, известными добавками такого типа, выпускаемыми промышленностью, являются материалы PDQ, PDQ_H, PBA, UV_H фирмы WillowRidgePlastics, США и AddiFlex (фирма VästraFrölunda, Швеция).

Полимеры, используемые для получения биodeградируемых изделий

Сведения по отдельным видам полимеров, которые могут быть использованы для создания биodeградируемых изделий, приведены в литературе (Griffin, 1994; Chiellini and Solaro, 2003; Shalaby and Burg, 2004; Halim Hamid, 2000; Bastioli, 2005). Данные по производству таких полимеров отдельными фирмами приведены в (Bioplastics MarketWorldwide 2007-2025; Yezza, 2008).

Полимеры на основе *полигидроксикарбоновых кислот* используют для создания биodeградирующих изделий, распадающихся по механизму биодеструкции, например, шовных материалов, крепежных устройств для соединения костных фрагментов, систем доставки лекарственных веществ, в меньшей степени – для упаковочных материалов. Полимеры гидроксикарбоновых кислот могут быть получены химически и микробиологически. Их распад протекает за счет деструкции их основной цепи с гидролизом сложной эфирной группы. Среди синтетических представителей этой группы полимеров следует отметить полимеры и сополимеры гликолевой и молочной кислот, а также полимеры и сополимеры из ϵ -капролактона и диоксанона, которые получают ионной полимеризацией соответственно циклических диэфиров – гликолида и лактида и низкомолекулярных циклических эфиров ϵ -капролактона и диоксанона.

Материалы на основе полимолочной кислоты выпускаются рядом фирм – Biophan (фирма Trespaphan, Англия), Ecoloju (фирма MitsubishiPlastics, Япония), EcoPla (фирма CargillDowPolymers, Голландия) и т.д. Поликапролактон выпускается под маркой Celgreen (фирма DaicelChemical, США). В настоящее время этот полимер входит в состав шовных материалов (Monocryl, EthiconEndo-Surgery, Inc., USA), эндодонтических стоматологических материалов (Resilon и др.), материалов для тканевой инженерии.

Другой группой сложных полиэфиров гидроксикарбоновых кислот являются *полигидроксикарбоновых кислот полигидроксикарбоновых кислот полигидроксикарбоновых кислот*, получаемые микробиологическим синтезом – культивированием микроорганизмов, чаще всего – это бактерии рода *Ralstonia eutropha*, *Azotobacter vinelandii*, *Pseudomonas oleovorans*, несколько штаммов метилотрофов и трансгенные штам-

мы *Escherichia coli*, *Alcaligenes eutrophus*, *Klebsiella aerogenes*. С использованием этих микроорганизмов биотехнологическим синтезом могут быть получены гомополимеры 3-гидроксимасляной кислоты (поли-3-гидроксibuтират), поли-3-гидроксивалерат, поли-3-гидроксигексаноат и др., а также их сополимеры, свойства которых варьируют в широких пределах. Полигидроксibuтират выпускается, в частности, под марками «BioMer» (фирма Biomer, Англия), «Biopol» (фирма Metabolix, США). В РФ ведущими организациями, проводящими исследования в области полигидроксикарбоновых кислот, является Сибирский федеральный университет и Институт биофизики СО РАН (г. Красноярск).

Следующая группа разрушаемых полимеров – *полимеры ортоэфиров*, т.е. сложных эфиров несуществующих ортокарбоновых и ортоугольной кислот, были синтезированы как материалы, способные к гидролизу в кислой среде, но устойчивые в щелочной. Полиортоэфиры могут быть получены, например, переэтерификацией низкомолекулярных ортоэфиров с участием гликолей. Первоначальный механизм гидролиза этих полимеров связан с гидролизом каждой ортоэфирной группы до одной карбоксильной и трех спиртовых групп. Полиортоэфиры биodeградируют через стадию поверхностной эрозии и применяются в основном в составе лекарственных систем, но могут быть использованы и для создания биodeградируемых имплантатов. В частности, рассматривалась возможность их использования для изготовления крепежных деталей для соединения костных осколков.

Полиамиды – полимеры, содержащие в основной цепи амидные группы, могут распадаться при гидролизе на фрагменты, содержащие концевые аминные и карбоксильные группы. Как и в случае сложных полиэфир-

ров, склонность полиамидов к гидролизу зависит от строения углеводородных радикалов, окружающих амидную группу. Низшие полиамиды – полигексаметиленадипамид (Полиамид-66) и поли-ε-капроамид (Полиамид-6) – нестабильны в биологических средах и могут быть использованы для создания имплантатов, постепенно распадающихся в организме, например шовных нитей. С другой стороны, полидодециламид (Полиамид-12), содержащий более длинный углеводородный радикал, более гидрофобен и менее склонен к гидролизу и биодegradации, что позволяет рассматривать его как материал для создания имплантатов длительного использования, например компонентов эндопротезов суставов. В то же время полиамиды α-аминокислот, в первую очередь имеющие L-конформацию, подвергаются биодegradации при участии пептидаз. В том числе они подвергаются распаду в лизосомах.

Сегментированные полиуретаны, широко используемые для создания имплантатов, в том числе контактирующих с кровью, представляют собой блоксополимеры (блоксополиуретаны), имеющие достаточно сложное строение. Знание влияния на процесс биодegradации сегментированных полиуретанов их строения и структуры, а также формы изделия позволило создать отдельные материалы с периодом распада в организме от нескольких недель до нескольких лет. Так, от клеевых слоев на основе полиуретанов требуется способность к достаточно быстрой биодegradации. В то же время изделия, используемые для эндопротезирования, например эндопротезы целого сердца, должны быть устойчивы к биодegradации и покрываться уже на начальных этапах после введения в организм тканевой капсулой. Как известно, под полиуретанами подразумеваются полимеры, содержащие в основной цепи между углево-

дородными радикалами уретановую (карбаматную) группу, образующуюся, в частности, при взаимодействии изоцианатных и гидроксильных групп. Однако используемые медицинские материалы под этим названием имеют более сложное строение, синтез которых состоит из ряда последовательно-параллельных реакций с участием целого ряда других реагентов. При этом образуются полимеры, включающие два типа фрагментов цепи – гибкие блоки и «жесткие» фрагменты, содержащие ароматические или циклоалифатические группы и группы, обеспечивающие образование межмолекулярных водородных связей – амидные и мочевиновые. Механизмы гидролиза полиэфируретанов аналогичны механизмам гидролиза соответствующих низкомолекулярных соединений. При этом распад полимеров может протекать как за счет химического гидролиза, так и за счет гидролиза с участием ферментных систем. В этом случае наблюдалась различная устойчивость полимеров к различным ферментам. Так, блоксополиуретаны на основе сложных полиэфиров с молекулярным весом 1000 деградировали под действием эстеразы, папаина, фицина, химотрипсина, трипсина, в то же время были стабильны относительно коллагеназы и оксидазы.

Волокна нативного *коллагена*, основного структурного белка соединительной ткани, достаточно устойчивы к действию протеолитических ферментов – пепсина, трипсина, папаина, химотрипсина и пр. Однако его устойчивость к ферментативному гидролизу резко снижается после денатурации, поскольку разрушение тройной спирали коллагена при денатурации приводит к легкому расщеплению ферментами. Имплантированный в организм коллагенсодержащий материал подвергается биодеструкции, интенсивность и скорость которой зависят от места имплантации, фор-

мы и структуры коллагеновых материалов и степени межмолекулярной сшивки, регулируемой консервирующей обработкой и стерилизацией. Наиболее быстрая биodeградация у образцов коллагена при внутрибрюшинной имплантации, более медленная – при подкожной имплантации, что связано с большей активностью экссудативной и пролиферативной реакций. Биodeградация имплантированного коллагенсодержащего материала имела в основном клеточный характер, причем главную роль в этом процессе играли макрофаги.

Заключение

Способность к биodeградации – одно из важнейших свойств изделий, используемых

в медико-биологических областях. Нельзя не отметить значительно возросший интерес к ним в последние десятилетия, что отражается в значительно расширившемся рынке материалов, пригодных для создания таких изделий, которые находят применение в различных областях. Можно полагать, что в ближайшие годы ключевую роль в создании материалов, пригодных для создания биodeградируемых изделий, будут играть исследования корреляции между строением и свойствами этих материалов и их способностью к распаду с заданной скоростью. Это позволит создать изделия медико-биологического назначения с заданными характеристиками, в том числе способностью к биodeградации.

Список литературы

1. Кузнецов А.Е., Градова Н.Б., Лушников С.В. (2012) Прикладная экобиотехнология: учебное пособие: в 2 т., Т. 1. Москва: Бином, 629 с. [Kuznecov A.E., Gradova N.B., Lushnikov S.V. (2012) Applied ecobiotechnology: Tutorial in 2 volumes, V.1. Moscow: Binom, 629 p. (In Russian)].
2. Прудникова С.В., Волова Т.Г. (2012) Экологическая роль полигидроксиалканоатов – аналога синтетических пластмасс: закономерности биоразрушения в природной среде и взаимодействия с микроорганизмами. Красноярск: «Красноярский писатель», 184 с. [Prudnikova S.V., Volova T.G. (2012) The ecological role of polyhydroxyalkanoates – analogue of synthetic plastics: ways of biodegradation in the environment and interaction with microorganisms. Krasnoyarsk: Krasnoyarsk writer, 184 p. (In Russian)].
3. Пхакадзе Г.А., Яценко В.П., Коломийцев А.К. (1990) Биодеструктивные полимеры. Киев: Наукова думка, 159 с. [Phakadze G.A., Yacenko V.P., Kolomyicev A.K. (1990) Biodestructible polymers. Kiev: Naukova dumka, 159 p. (In Russian)].
4. Allsopp D., Seal K.J., Gaylarde C.C. (2004) Introduction to biodeterioration (2nd Ed.). Cambridge: University Press, 10 p.
5. Barris J.A. (1968) *Water in polymers*. In: Crank J., Park G.S. (ed.) Diffusion in polymers. London: Academic Press, 259 p.
6. Bastioli C. (2005) Handbook of Biodegradable Polymers. Italy: Rapra Technol. Limited, 552 p.
7. Bioplastics Market Worldwide 2007-2025 (2015) (<http://www.hkc22.com/bioplastics.html>).
8. Chiellini E., Corti A., D'Antone S., Solaro R. (2003) Biodegradation of poly (vinyl alcohol) based materials. Progress in Polymer Science 28: 963–1014.
9. Chiellini E., Solaro R. (ed.) (2003) Recent advances in biodegradable polymers and plastics. Weinheim: WileyVCH, 516 p.

10. Griffin G.J.L. (1994) Chemistry and technology of biodegradable polymers. New York: Chapman and Hall, 172 p.
11. Halim Hamid S. (ed.) (2000) Handbook of Polymer Degradation (Second Edition). New York: Dekker, 773 p.
12. Iordanskii A.L., Rudakova T.E., Zaikov G.E. (1994) New concepts in polymer science. Interaction of Polymers with Bioactive and Corrosive Media. Utrecht: VSP, 298 p.
13. Shalaby S.W., Burg J.L.K. (ed.) (2004) Absorbable and biodegradable polymers. Boca Raton: CRC Press, 304 p.
14. Tseng Y.C., Tabata Y., Hyon S.H., Ikada Y. (1990) *In vitro* toxicity test of 2-cyanoacrylate polymers by cell culture method. Journal of Biomedical Materials Research 24: 1355–1367.
15. Vander Elst M., Klein C.P.A.T., deBileck-Hogervorst J.M. et al. (1999) Bone tissue response to biodegradable polymers used for intramedullary fracture fixation: a long-term *in vivo*. Biomaterials 20 (2): 121-128.
16. Vauthier C., Couvreur P., Dubernet C. (2003) Poly(alkylcyanoacrylates). From preparation to real application as drug delivery systems. In: Elaissari A. (ed.) Colloidal biomolecules, biomaterials, and biomedical application. London: CRC Press, 496 p.
17. Voronov I., Santere J.P., Hinek A., Callahan J.W., Sandhu J., Boynton E.L. (1998) Macrophage phagocytosis of polyethylene particulate *in vitro*. Journal of Biomedical Materials Research 39: 40-51.
18. Wide C.W.R., Leonard F. (1980) Degradation of poly(methyl-2-cyanoacrylates). Journal of Biomedical Materials Research 14: 93–106.
19. Yezza I.A. (2008) The global market for bioplastic. Helmut Kaiser Consultancy.