

КЛЕТОЧНО-МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ВОПРОСЫ ГЕМО- И БИОСОВМЕСТИМОСТИ АЛМАЗОПОДОБНЫХ УГЛЕРОДНЫХ ПЛЕНОК. КРАТКИЙ КРИТИЧЕСКИЙ ОБЗОР

© 2021 г. А. Е. Полухина^{1,2}, В. В. Малащенко^{1,3}, А. С. Гренадёр¹, К. А. Юрова³, А. А. Соловьёв¹,
Л. С. Литвинова^{3,*}, И. А. Хлусов^{3,4,5}

¹Институт сильноточной электроники Сибирского отделения Российской академии наук, Томск, 634055 Россия

²Кафедра биохимии и молекулярной биологии с курсом клинической лабораторной диагностики
Сибирского государственного медицинского университета, Томск, 634050 Россия

³Центр иммунологии и клеточных биотехнологий Балтийского федерального университета им. И. Канта,
Калининград, 236041 Россия

⁴Кафедра морфологии и общей патологии Сибирского государственного медицинского университета, Томск, 634050 Россия

⁵Исследовательская школа химических и биомедицинских технологий Томского политехнического университета,
Томск, 634050 Россия

*E-mail: larisalitinova@yandex.ru

Поступила в редакцию 03.02.2021 г.

После доработки 16.02.2021 г.

Принята к публикации 16.02.2021 г.

По публикациям последних 20 лет проведен обзор тонких аморфных пленок, состоящих из углерода в состоянии sp^3 (алмаз) и sp^2 (графит) гибридизации атомных орбиталей, и называемых поэтому алмазоподобными (diamond-like carbon, DLC). Основной акцент сосредоточен на связи биомедицинских и физико-химических параметров анализируемых покрытий. Представлены: методы формирования и общие требования к DLC покрытиям для сердечнососудистых имплантатов; *in vitro* реакция белков крови, тромбоцитов, лейкоцитов, фибробластов, эндотелиальных и гладкомышечных клеток; влияние легирования DLC-покрытий кремнием и его оксидами на клеточные и молекулярные параметры их гемо- и биосовместимости. Широкие вариации физико-химических, механических и трибологических свойств DLC-пленок, разброс методов их биомедицинского тестирования *in vitro* не позволяют пока выделить наиболее подходящие покрытия для конкретных приложений в области стентов, сердечных клапанов и перфузионных насосов. Сделано заключение о необходимости смещения разрозненных фундаментальных исследований DLC-покрытий в направлении прикладных разработок, а также изучения поведения конкретных покрытий, исходя из конструкторских, (био)механических, физико-химических и биомедицинских требований для каждого вида медицинских изделий, контактирующих с кровью.

Ключевые слова: клетки крови, клетки сосудистой стенки, фибриноген, альбумин, *in vitro* реакция, тонкое углеродное покрытие, легирование кремнием, физико-химические свойства

DOI: 10.31857/S0041377121030093

Сердечнососудистые заболевания (ССЗ) широко распространены во всем мире и являются одной из ведущих причин смертности населения (Чазова и др., 2015). Несмотря на то, что общее число сердечнососудистых операций и манипуляций, проведенных в США, снизилось на 6% в сравнении с 2004 г., в 2014 г. кардиохирургическим манипуляциям были

подвергнуты 8 миллионов пациентов (Benjamin et al., 2019). А согласно прогнозам American Heart Association, к 2030 г. 40.5% жителей США будут страдать одной из форм ССЗ (болезни коронарных сосудов, сердечная недостаточность, заболевания клапанов, кардиомиопатия, гипертензия и инсульт) (Roger et al., 2012). В Российской Федерации в 2016 году смертность от ССЗ более чем в 1.5–9 раз превышала соответствующие показатели в США и европейских странах (Benjamin et al., 2019).

Ведущими инвазивными методами лечения ССЗ остаются стентирование, замена клапанов сердца, ангиопластика, шунтирование сосудов и трансплан-

Принятые сокращения: АЧТВ – активированное частичное тромбопластиновое время; ГМК – гладкомышечные клетки; КОЕ-Ф – колониеобразующие единицы фибробластов; МСК – мезенхимные стволовые клетки; ССЗ – сердечнососудистые заболевания; DLC – алмазоподобные углеродные (diamond like carbon) покрытия; МСР-1 – моноцитарный хемотаксический протеин 1; PDGF – тромбоцитарный фактор роста.

тация сердца. Для этого применяются кардиоваскулярные имплантаты (стенды, катетеры, клапаны, протезы сосудов) и компоненты экстракорпорального кровообращения (трубки, мембраны, насосы) активно контактирующие с кровью (Hedayati et al., 2019). А одним из основных классов современных материалов и покрытий в приложении к биологии и медицине, включая кардиологию, является углерод (Ratner et al., 2004). Существует не менее 9 известных аллотропных модификаций углерода в интервале аморфных, графитоподобных, алмазоподобных и полностью кристаллических форм, содержащих атомы углерода в нескольких состояниях гибридизации атомных орбиталей углерода: в sp^1 (линейно-цепочечный карбин), sp^2 (слоевой графит) и sp^3 (алмаз), а также в смешанных и промежуточных состояниях sp^n (Беленков, Грешняков, 2013). Такое структурное разнообразие углерода обуславливает многообразие его физико-химических свойств и соответствующих биомедицинских приложений (Ratner et al., 2004).

Углеродсодержащие покрытия в начале XXI в. рассматривались как перспективные решения в сердечнососудистой хирургии, ортопедии и дентальной имплантологии, а также для модификации контактных линз (Roy, Lee, 2007). К 2019 году добавились такие направления, как системы доставки лекарств, тканевая инженерия и регенеративная медицина (Owonubi et al., 2019). Во многом благодаря графену (sp^2 пленка толщиной в один атом углерода), как новой перспективной форме карбоновых наноматериалов и покрытий, к ним прибавились и разработки в области молекулярных биосенсоров, биологической визуализации, фототермической и генной терапии (Yang et al., 2013; Ansari et al., 2019), покрытий на стентах (Podila et al., 2013) и искусственных сердечных клапанов (Lancelotti et al., 2016).

Растущий интерес к биоматериалам на основе углерода показывает анализ публикаций в базе Pubmed Национального института здоровья США (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov>). Согласно запросу по ключевому словосочетанию “carbon coatings” обнаружено 13920 работ, начиная с 1961 г. Публикационная активность постепенно нарастала до 100 статей в год к 1997 г., затем составляла более 100 публикаций в год и в 2015 г. превысила ежегодный предел в 1000 статей. Максимальная активность отмечена в 2019 г. — 1380 публикаций по теме запроса. В XXI в. резко возрос интерес к покрытиям, выполненным из графена и его оксидов, выражающийся ростом соответствующих публикаций: с 9 статей в 2000 г. до 642 публикаций в 2020 г. Однако покрытие из графена для кардиохирургического применения встречается лишь в единичных публикациях (например: Lancelotti et al., 2016).

Своеобразной оказалась ситуация с открытыми источниками, касающимися так называемых алмазоподобных углеродных (diamond like carbon, DLC) покрытий. Подобные аморфные углеродные пленки являются твердыми, гладкими и в высшей степени биоинертными; до 50% их физических и механических свойств, особенно твердость, определяются sp^3 типом гибридизации при возможном наличии в составе высоких концентраций кислорода, водорода и азота (Nistor, May, 2017). По мнению некоторых авторов, sp^3/sp^2 -гибридизация атомов углерода сочетается с хорошей гемосовместимостью (Kwok et al., 2005; Sheeja et al., 2005). По конфигурации углеродных связей и содержанию водорода DLC-пленки классифицируют как: 1) тетрагональный аморфный углерод (*ta-C*) с высокой долей (более 70%) sp^3 -гибридизации электронных орбиталей и малой концентрацией водорода; 2) аморфный углерод (*a-C*) с sp^3/sp^2 соотношением в диапазоне 0.4–0.7; 3) гидрогенизированный аморфный углерод (*a-C : H*) с высоким содержанием водорода (Santos et al., 2015).

Поиск в базе Pubmed по словосочетанию diamond like carbon (DLC) coatings обнаружил 394 ссылки в приложении к различным направлениям биомедицины (ортопедические и дентальные имплантаты, антимикробные свойства, кардиохирургия). Единичные публикации в первые 15 лет (1981–1996 гг.) впоследствии сменились постепенным нарастанием числа выходящих статей до 32 в год к 2017 г. Тем не менее, по запросу diamond like coatings for cardiovascular surgery/implants выявлено всего 8–12 публикаций, рассматривающих, начиная с 1999 г., вопросы гемо- и биосовместимости подобного типа покрытий для стентов, искусственных клапанов сердца и частей насосов для искусственного кровообращения. Проведенный поиск по ключевым словам не отражает степень интереса кардиохирургов к данным покрытиям за последние 20 лет, поскольку уже проведены клинические испытания DLC-покрытий на стентах, как с позитивными (Salahas et al., 2007; Wöhrle et al., 2009), так и неудовлетворительными результатами (Airoldi et al., 2004; Meireles et al., 2007).

В связи с этим, в настоящем обзоре анализируются публикации, вышедшие, в основном, в XXI в. и посвященные клеточным и молекулярным аспектам *in vitro* гемо- и биосовместимости DLC-покрытий, а также их форм, модифицированных кремнием, с акцентом на связь биомедицинских и физико-химических параметров.

МЕТОДЫ ФОРМИРОВАНИЯ И ОБЩИЕ ТРЕБОВАНИЯ К АМОРФНЫМ УГЛЕРОДНЫМ ПОКРЫТИЯМ ДЛЯ СЕРДЕЧНОСУДИСТЫХ ИМПЛАНТАТОВ

Тонкие аморфные углеродные пленки, состоящие из углерода в состоянии sp^3 - и sp^2 -гибридизации (соотношение варьирует в пределах ~ 10 – 90%), называемые поэтому алмазоподобными (DLC), включающие до 40–50% водорода, известны с 1971 г. (Aisenberg, Chabot, 1971; Ohtake et al., 2021) и рассматриваются в последние 20 лет как многообещающие покрытия для защиты подложки имплантатов от коррозии, разрушения, выхода токсичных элементов и частиц износа, улучшения гемо- и биосовместимости материалов (Santos et al., 2015).

Технические подробности нанесения DLC-пленок (ta -C; a -C; a -C : H) с различными физико-химическими характеристиками представлены в специализированных обзорных статьях (см., например: Santos et al., 2015; Wen et al., 2017; Ohtake et al., 2021). Для получения DLC-пленок используют множество разновидностей физического (physical vapor deposition, PVD) и химического газофазного осаждения (chemical vapor deposition, CVD): магнетронное распыление (magnetron sputtering deposition, MSD); импульсное лазерное напыление (pulsed laser deposition, PLD); вакуумно-дуговое осаждение с фильтрацией (filtered cathodic vacuum arc, FCVA); ассистированное плазмой газофазное осаждение (plasma-assisted vapor deposition, PAVD); ассистированное плазмой химическое газофазное осаждение (plasma-assisted chemical vapor deposition, PACVD); стимулированное высокочастотной плазмой химическое газофазное осаждение (radio frequency plasma enhanced chemical vapor deposition, r.f.-PECVD); плазменно-иммерсионную ионную имплантацию и осаждение (plasma immersion ion implantation and deposition, PIID); комбинированное физическое и химическое газофазное осаждение (hybrid physical-chemical vapor deposition, HPCVD) и другие технологические подходы (Roy, Lee, 2007; Wen et al., 2017; Ohtake et al., 2021).

В публикациях по проблеме представлено широкое разнообразие физико-химических (толщина, шероховатость, соотношение sp^3/sp^2 , содержание водорода и легирующих добавок, смачиваемость, свободная поверхностная энергия и др.), механических и трибологических свойств (твердость, адгезионная прочность, коэффициент трения, скорость износа и др.) аморфных DLC-ленок. Свойства не всегда полностью контролируются, что обусловлено использованием разнообразных типов подложек и особенностями методов нанесения. Как следствие, к настоящему времени классифицировано не менее 74 типов аморфных DLC-пленок (Ohtake et al., 2021).

Воспалительные реакции вокруг кардиоваскулярного имплантата являются основным звеном в развитии осложнений, приводящих к его неукладу (Ratner et al., 2004). Повреждение эндотелиальных клеток и раздражение, вызываемое инородным телом, является причиной тромбоза и рестеноза (повторного сужения) просвета артерий в области стентирования (Newby, Zaltsman, 2000).

В 25–30% случаев в ранние сроки после установки на поверхности внутрисосудистого имплантата (стен-та) фиксируются фибриноген и тромбоциты крови, что приводит к образованию тромба (Virmani et al., 2004). Причина этих состояний, как правило, связана с низкой гемосовместимостью искусственного материала.

Отдаленным последствием установки внутрисосудистых имплантатов является развитие повторного сужения просвета сосуда, требующим повторного оперативного вмешательства. После установки голуметаллических стентов рестеноз развивается в течение 2 лет в 14–46% случаев (Schillinger et al., 2007; Ando et al., 2017).

В основе тканевого ремоделирования в ответ на атрофию от давления и недостаточную биосовместимость имплантата лежит миграция гладкомышечных клеток (ГМК) из стенки кровеносного сосуда в очаг посттравматического воспаления, их пролиферация, приводящие к увеличению толщины внутренней части сосудистой стенки (формированию неоинтимы) и сужению просвета артерии (Qiu et al., 2014). Покрытия для кардиоваскулярных имплантатов в идеале должны сочетать тромборезистентность, способность стимулировать миграцию и пролиферацию эндотелиальных клеток, подавлять воспалительные процессы, прикрепление и избыточный рост ГМК (Santos et al., 2015).

Многогранность проблемы привела к тому, что нашлось не так много работ, в которых аккуратно и относительно подробно были представлены физические, химические, биологические данные в сочетании с адекватной статистической обработкой результатов. Сведения, полученные разными группами исследователей, в сжатом виде отражены в табл. 1 и обсуждаются ниже в соответствующих разделах.

КЛЕТОЧНО-МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ПРОБЛЕМЫ ГЕМОСОВМЕСТИМОСТИ АМОРФНЫХ УГЛЕРОДНЫХ ПОКРЫТИЙ *IN VITRO*

В данном разделе рассмотрены результаты экспериментального *in vitro* моделирования поведения DLC-пленок на межфазной границе кровь/покрытие без акцента на гемолиз эритроцитов, который подробно изучен в конце XX в., а его отсутствие подтверждено недавно (Subramanian et al., 2018).

Таблица 1. Вариации клеточно-молекулярных реакций *in vitro* на аморфные алмазоподобные углеродные покрытия

Тип покрытия	Толщина покрытия, нм	Способ формирования покрытия	Материал подложки	Изученный субстрат	Клеточно-молекулярная реакция на покрытие	Источник литературы
I декада XXI в.						
Улучшение гемо- и биосовместимости <i>in vitro</i>						
<i>a</i> -C : H	60	IBD или IBAD	Полиметил-метакрилатовые диски	Суспензия нейтрофилов или тромбоцитов человека	Снижение в 1.45–3 раза числа адгезировавших клеток	Li et al., 1999
<i>a</i> -C : H	Не указана	PECVD	Углеродные пластины	ГМК аорты крысы	1.5–2-кратное улучшение адгезии в 1-е сут; 2–3-кратный прирост клеточности за 4 сут	Bacáková et al., 2001
<i>a</i> -C : H	70	PACVD	Стекло	Моноциты крови человека	Повышение адгезии, но снижение степени распластывания	Linder et al., 2002
<i>ta</i> -C	48–75	FCVA	Медицинская сталь	Макрофаги линии J774	2.5-кратное снижение продукции H ₂ O ₂	Maguire et al., 2005
Не указан	Не указана	MSD	Медицинская сталь 316L	Мононуклеарные лейкоциты крови	Стимуляция секреции фактора роста тромбоцитов	Santin et al., 2004a
<i>a</i> -C : H	70–310	PHPD	Кремниевые пластины	Плазма крови человека	Уменьшение адгезии тромбоцитов, пролонгация АЧТВ	Yang, Kwok et al., 2003a
<i>a</i> -C : H	Не указана	r.f.-PECVD	Не указан	Эндотелиальные клетки человека	2-кратное усиление 6-ч адгезии	Okpalugo et al., 2006
<i>a</i> -C : H	40–50	r.f.-PECVD	Поликарбонат	Бычий сывороточный альбумин, фибриноген плазмы крови быка; тромбоциты человека	Снижение адсорбции белков и увеличение отношения альбумин/фибриноген; 2.5-кратное падение адгезии тромбоцитов	Hasebe et al., 2007
Ухудшение гемосовместимости <i>in vitro</i>						
<i>a</i> -C	Не указана	PAVD с использованием неустойчивого MSD	Медицинская сталь 316L, диски	Плазма крови человека	Активация адсорбции фибриногена и альбумина, адгезии тромбоцитов	Mikhalovska et al., 2004
<i>a</i> -C : H	Не указана	PHPD	Кремниевые пластины	Плазма крови человека, обогащенная тромбоцитами	1.3-кратное усиление адгезии тромбоцитов в сравнении с изотропным углеродом	Kwok et al., 2005
<i>a</i> -C : H	70–310	PHPD	Пиролитический углерод	Плазма крови человека, обогащенная тромбоцитами	Морфологическая активация (распластывание) тромбоцитов	Yang et al., 2003b

Таблица 1. Окончание

Тип покрытия	Толщина покрытия, нм	Способ формирования покрытия	Материал подложки	Исученный субстрат	Клеточно-молекулярная реакция на покрытие	Источник литературы
II декада XXI века						
Улучшение гемо- и биосовместимости <i>in vitro</i>						
<i>a</i> -C	Не указана	Не указан	Пористый титан	Клетки костного мозга кроликов	Рост жизнеспособности миелокариоцитов; увеличение числа КОЕ-Ф	Макарова и др., 2011
<i>a</i> -C : H	Не указана	r.f.-PECVD	Полистирол	Миобласты мыши линии C2C12	Падение на 20% (в сравнении с подложкой) степени 24-ч клеточной адгезии	Stoica et al., 2015
<i>ta</i> -C <i>a</i> -C : H	34.1 37.5	FCVA r.f.-PECVD	Кремниевые диски	Плазма крови человека, обогащенная тромбоцитами; фибриноген	2.5-кратный рост 1-ч адсорбции фибриногена (<i>a</i> -C : H); падение в 1.6 раза 1-ч адгезии тромбоцитов	Nandakumar et al., 2016
<i>a</i> -C : H	Не указана	Импульсное плазменное CVD	TiNb; Ti	Плазма крови человека, обогащенная тромбоцитами	Модулирование 15-мин адгезии тромбоцитов: 2-кратное снижение площади клеток в сравнении с TiNb; 1.5-кратный рост в сравнении с Ti	Liza et al., 2017
Не указан	2000–4000	MSD	TiNi	Моноциты человека Фибробласты человека	Снижение активности дегидрогеназы в митохондриях и секреция IL-1b Снижение активности дегидрогеназы в митохондриях и экспрессия гена IL-8	Markhoff et al., 2017
<i>a</i> -C : H	75	r.f.-PECVD	Кремниевые пластины	Остеосаркома человека, линия Saos-2	Не влияет на активность щелочной фосфатазы и кальцификацию межклеточной среды	Subramanian et al., 2018
<i>a</i> -C	250	MSD	Сплав Ti6Al7Nb	Эндотелиальные клетки человека	Рост клеточности и жизнеспособности	Bociaga et al., 2019
По-видимому, <i>a</i> -C	220	MSD	Ti пластины	Лимфоидные эндотелиальные клетки SVEC Цельная кровь и плазма крови кроликов	Усиление роста в 3-сут, но не 5-сут культуре Не влияет на гемолиз, 2-кратно снижает адгезию тромбоцитов	Bhaskar et al., 2020

Примечание. Публикации представлены в хронологическом порядке; *a*-C : H – гидрогенизированный аморфный углерод; *a*-C – негидрогенизированный аморфный углерод; *ta*-C – тетрагональный негидрогенизированный аморфный углерод; FCVA – вакуумно-дуговое осаждение с фильтрацией; IBD – ионно-лучевое осаждение углеводородов на подложку; IBAD – распыление графитовой мишени с одновременной бомбардировкой углеводородами (ассистирование ионным пучком) растущей DLC-пленки; MSD – магнетронное распыление; PAVD – ассистированное плазмой газофазное осаждение; PИИД – плазменно-иммерсионная ионная имплантация и осаждение; r.f.-PECVD – стимулированное высокочастотной плазмой химическое газофазное осаждение.

Считается, что адсорбция белков из крови и тканевой жидкости является определяющей для гемосовместимости медицинских изделий. При этом фибриноген и гамма-глобулины способствуют, а альбумин препятствует клеточной адгезии. В связи с этим, соотношение адсорбирующихся альбумина и фибриногена рассматривается как прогностический фактор атромбогенности (тромборезистентности) покрытий (Hauert, 2003). В то же время, адсорбция альбумина к DLC-пленкам одновременно способствует прикреплению грамположительных и грамотрицательных бактерий (Liu et al., 2016).

Адсорбция фибриногена имеет принципиальное значение для прикрепления тромбоцитов к искусственным поверхностям в статических условиях (в сравнении с фибронектином, витронектином и фактором фон Виллебранда) и в потоке жидкости (Horbett, 2018). Кроме того, белок способствует также адгезии нейтрофильных лейкоцитов, моноцитов (макрофагов) и некоторых субпопуляций лимфоцитов посредством интегринов на клеточной поверхности (Ugarova, Yakubenko, 2001).

In vitro адсорбция белков на DLC-пленку (толщиной 40–50 нм), нанесенную в атмосфере ацетилена на поликарбонатную подложку методом r.f.-PECVD, изучена в работе (Hasebe et al., 2007). Покрытие $a\text{-C} : \text{H}$ в 2.5 раза снижало 60-минутную адгезию тромбоцитов из плазмы крови человека в сравнении с подложкой, что могло быть обусловлено, по мнению авторов, преимущественным снижением осаждения фибриногена по отношению к альбумину (использовали белки крови быка). Как следствие, соотношение альбумин/фибриноген росло в сравнении с подложкой. Полученные выводы во многом повторили более ранние многочисленные результаты, представленные в обзорной статье (Hauert, 2003).

В работе Ли и коллег (Li et al., 1999) DLC-пленки (толщиной 60 нм) были нанесены на диски из полиметилметакрилата с помощью ионно-лучевого осаждения (ion beam deposition, IBD) углеводородов на подложку или распыления графитовой мишени в атмосфере аргона с одновременной бомбардировкой углеводородами (ассистированием ионным пучком) растущей DLC-пленки (ion beam-assisted deposition, IBAD). В двухчасовом *in vitro* тесте DLC-пленки, полученные методом IBD, и, в большей степени, DLC-покрытия, полученные методом IBAD, однозначно уменьшали количество адгезированных тромбоцитов (примерно в 3 раза) или нейтрофилов (до 69%) по сравнению с контролем (полимерной подложкой). По мнению авторов, обусловленный IBAD технологией рост sp^3/sp^2 соотношения в DLC-покрытии улучшает его атромбогенные и противовоспалительные свойства.

Янг с коллегами (Yang et al., 2003) синтезировали вариации пленки $a\text{-C} : \text{H}$ (толщиной 70–310 нм) на кремниевых пластинах с помощью метода PIPD в атмосфере ацетилена и аргона и изучали *in vitro* реакцию компонентов коагуляционного и тромбоцитарно-сосудистого гемостаза. Результаты показали, что в процессе двукратного увеличения $\text{sp}^2/(\text{sp}^3 + \text{C}-\text{H})$ соотношения (сдвига аллотропного состояния углерода в сторону графита) падала толщина покрытия. В сравнении с контролем (медицинская сталь) пленки $a\text{-C} : \text{H}$ в целом уменьшали долю адгезированных тромбоцитов при 15-минутном контакте с плазмой крови и пролонгировали (до 10 с) активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ). Авторы сделали вывод, что покрытия в состоянии $(\text{sp}^3 + \text{C}-\text{H})$ обладают более высоким гемосовместимым потенциалом.

Однако в сравнении с подложкой из пиролитического углерода, пленки $a\text{-C} : \text{H}$ с прогрессивным уменьшением поверхностной плотности распределения молекул углерода и толщины покрытия от 310 до 70 нм способствовали (от 0 до 15%) морфологической активации (распластыванию) тромбоцитов плазмы крови человека в 15-минутном тесте (Yang et al., 2003). В то же время отсутствие в этой публикации статистической обработки результатов затрудняет восприятие заключений авторского коллектива. Кроме того, авторы (Yang et al., 2003) не учитывают тот факт, что толщина углеродного покрытия значительно влияет на физико-химические и механические свойства его поверхности.

В частности, амплитуда отрицательного электростатического потенциала растет пропорционально увеличению толщины пленки $a\text{-C} : \text{H} : \text{SiO}_x$ (Гренадёр и др., 2021). Отрицательный знак заряда искусственной поверхности имеет известное значение для реакций клеток крови, несущих негативный дзета-потенциал (Stoltz, 1983; Lima et al., 2020), и стромальных клеток (Khlusov et al., 2018) сосудистой стенки.

Для гидрофильных пленок $a\text{-C} : \text{H}$ (краевой угол смачивания водой 68.4° ; 74.9° для изотропного углерода), изготовленных на кремниевых пластинах с помощью PIPD технологии в атмосфере ацетилена показано усиление 2-часовой адгезии тромбоцитов из плазмы крови человека (в 1.3 раза в сравнении с низкотемпературным изотропным углеродом) (Kwok et al., 2005).

В другой работе (Fedel et al., 2008) подтверждено, что коммерческие DLC-покрытия на различных субстратах (поливинилизобутиловый эфир; CoCr-сплав; Si-сколы) в 2–3 раза снижают адгезию активированных (распластанных) тромбоцитов в (5–25)-минутных тестах с плазмой человека. Число адгезировавших кровя-

ных пластинок росло линейно с увеличением соотношения фибриногена и альбумина, адсорбированных на поверхностях. Тромборезистентность DLC-покрытий обусловлена преимущественным осаждением молекул альбумина.

Противоположные результаты были получены *in vitro* другим коллективом авторов (Mikhalovska et al., 2004). Алмазоподобное (преобладание в структуре sp^3 -типа гибридизации) или графитоподобное (преобладание в структуре sp^2 -типа гибридизации) $a-C$ покрытия (99.9% углерода) на медицинской стали марки 316L повышали (примерно на 10°) гидрофобность поверхности экспериментальных образцов, резко стимулировали адсорбцию фибриногена (в 5–6 раз) и альбумина (до 900%) из плазмы крови человека. В обогащенной тромбоцитами плазме в интервале времени 30–60 мин значительно росла адгезия кровяных пластинок к покрытию в сравнении со сталью и стеклом (Mikhalovska et al., 2004).

Таким образом, в первую декаду XXI в. наиболее изученной оказалась модификация покрытия $a-C : H$. Большинство исследований подчеркивало их хорошую гемосовместимость. Однако не был достигнут консенсус о биологическом значении sp^3 -типа гибридизации, смачиваемости (свободной поверхностной энергии), поверхностного натяжения на границе кровь/покрытие, переноса заряда с белков крови на искусственную поверхность или структурировании покрытия. Тем не менее, важным для дальнейших исследований оказалось заключение, что толстые (более 1 мкм) DLC-пленки испытывают серьезные внутренние напряжения и неустойчивы к внешней нагрузке (Alakoski et al., 2008).

Кроме того, вариации даже одной технологии нанесения (в частности, магнетронного напыления) вызывали значительные изменения гемосовместимости DLC-пленок ($a-C : H$) (Lousinian et al., 2007), а также соотношения биологических и физических свойств поверхности. Так, увеличение потока аргона в рабочей камере при магнетронном распылении влияет на адгезию тромбоцитов и ухудшает твердость и износостойкость DLC-покрытия (Wen et al., 2017). В свою очередь, различные стандартные способы стерилизации (дезинфекции) способны менять морфологию DLC-пленок. Например, автоклавирование и погружение изделий в этанол не подходят для таких покрытий на пластиковой подложке (Rohrbeck et al., 2014).

Во второй декаде XXI в. результаты *in vitro* тестирования гемосовместимости DLC-покрытий оказались в целом более позитивными и комплексными (табл. 1), с некоторой детализацией для разных видов подложек и смещением акцента исследований в сторону вопросов клеточной биосовместимости. От-

меченное авторами улучшение гемо- и биосовместимости *in vitro* может быть связано с решением некоторых технических проблем, например, возможного загрязнения пленок нежелательными микропримесями во время напыления.

Ограничение 1-часовой адгезии и активации тромбоцитов на DLC-покрытиях отмечено в недавних работах. При этом наноструктурированные тонкие пленки обладали более выраженным атромбогенным эффектом в сравнении с гладким слоем (Nandakumar et al., 2016).

Однако получены неоднозначные результаты тромборезистентности ($a-C : H$)-пленок, сформированных импульсным плазменным химическим газофазным осаждением в атмосфере ацетилена на подложки из сплава TiNb (23 ат. % Nb) и титана (Ti) grade 2 (JIS H 4600). DLC-покрытие значительно уменьшало шероховатость металлических поверхностей, повышало их гидрофобность (рост контактного угла смачивания водой от 50° – 52° до 65°), модулировало в 15-минутном тесте реакцию тромбоцитов, активированных хлоридом кальция (Liza et al., 2017). Авторами отмечено 2-кратное снижение площади адгезии клеток в сравнении с TiNb и, напротив, 1.5-кратный рост в сравнении с Ti.

DLC-пленка толщиной 220 нм, нанесенная методом высокочастотного MSD в атмосфере аргона (повидимому, $a-C$ модификация) на пластины из коммерчески чистого титана, оказывала следующее действие: повышала твердость поверхности; придавала ей гидрофильность (угол смачивания водой снижался от 73° до 34°) и высокую (в 1.6 раза больше, чем для Ti) свободную поверхностную энергию за счет роста дисперсионной и полярной компонент; достоверно увеличивала *in vitro* число лимфоидных эндотелиальных клеток SVEC в 3-суточных, но не 5-суточных культурах; не влияла на степень 1-часового гемолиза цельной крови кроликов; более чем в 2 раза снижала прикрепление тромбоцитов из плазмы крови кролика в 60-минутном тесте (Bhaskar et al., 2020).

КЛЕТОЧНО-МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ВОПРОСЫ БИОСОВМЕСТИМОСТИ АМОРФНЫХ УГЛЕРОДНЫХ ПОКРЫТИЙ *IN VITRO*

Согласно работам (Farb et al., 1999; Santin et al., 2005), сужение просвета коронарных сосудов у человека в первые 11 сут после имплантации голометаллических стентов обусловлено отложением фибрина, накоплением нейтрофилов и макрофагов; к 30-м сут в неоинтима присутствуют, преимущественно, макрофаги и ГМК (появляются через 12 сут наблюдения).

Изучение *in vitro* ответа клеток, которые могут обуславливать развитие рестеноза сосудистой стен-

ки в ответ на DLC (*a*-C : H)-покрытия, полученные ионно-пучковыми, PAVD или PACVD методами, было массовым в 90-х годах XX в. В различных исследованиях, представленных в одной из глав монографии (Thull, Grant, 2001), DLC-пленки либо не проявляли цитотоксичности, либо даже стимулировали адгезию и пролиферацию фибробластов и макрофагов без явных маркеров активной воспалительной реакции.

Макрофаги (Roy, Lee, 2007), фибробласты и мезенхимные стволовые клетки (МСК) активно участвуют в воспалительных реакциях во всех видах тканей (Slany et al., 2014). Гидрогенизированное (*a*-C : H) DLC-покрытие (толщиной 70 нм) на стекле, полученное методом PACVD (в атмосфере метана/гелия в соотношении 1.5 об. %/98.5 об. %), на 10% усиливало адгезию моноцитов крови человека в 6-суточной культуре клеток, но не влияло на их поляризацию (удлинение) и снижало (~ на 12%) распластывание на подложке и образование филоподий (Linder et al., 2002). Макрофаги линии J774 уменьшали продукцию перекиси водорода в ответ на *in vitro* контакт с *ta*-C (доля sp^3 -гибридизации >80%) вариантом DLC-пленки (толщиной 48–75 нм), сформированной на медицинской стали FCVA-способом (Maguire et al., 2005).

В свою очередь, в другом исследовании DLC-пленка, нанесенная на диски из стали марки AISI 316L методом магнетронного распыления, не влияла на секрецию провоспалительных цитокинов (IL-1, TNF α) мононуклеарными лейкоцитами крови при 3-часовом культивировании. В то же время, активация секреции фактора роста из тромбоцитов (PDGF), одного из стимуляторов пролиферации ГМК, позволила авторам предположить потенциальную неэффективность DLC-покрытий для предупреждения рестеноза артерий при их стентировании (Santin et al., 2004a).

Пленки *a*-C : H, сформированные методом r.f.-PECVD (подложка и толщина пленки не указаны), содержащие 85–90 ат. % углерода и 10–15 ат. % кислорода, двукратно повышали 6-часовую адгезию эндотелиальных клеток человека *in vitro* (Okpalugo et al., 2006; Ogwu et al., 2007). Однако показатели МТТ-теста падали ниже значений в контроле (подложка без покрытия) (Ogwu et al., 2007).

В 2011 г. группа российских авторов (Макарова и др., 2011) показала, что DLC-покрытие (*a*-C модификация) на пористом титане не влияет *in vitro* на адгезию миелокариоцитов кроликов, но снижает их гибель при 4-часовом контакте с тестируемыми изделиями. В 1.4–1.5 раз выросли (в сравнении с подложкой без напыления): число колониеобразующих единиц фибробластов (КОЕ-Ф) через 7 сут, а также площадь

культуры и количество фибробластоподобных клеток в лунках через 18–32 сут.

По мнению других авторов (Liao et al., 2016) низкое соотношение sp^2/sp^3 (сдвиг в сторону алмазоподобности) для гидрофобных (контактный угол смачивания 80.4°–92.3°) DLC-пленок, полученных методом FCVA, существенно усиливает (в сравнении с дисками CoCrMo) 2-часовую адсорбцию бычьего сывороточного альбумина, что способствует росту (24–72)-часовой жизнеспособности фибробластов мыши линии 3T3, снижению секреции провоспалительных цитокинов (IL-6, TNF- α) и повышению концентрации противовоспалительного IL-10 в (12–24)-часовых культурах макрофагов мыши линии RAW 264.7. В то же время, лучшая адгезия и пролиферация фибробластов с ростом sp^3 -фазы алмаза в покрытии (Wen et al., 2017) может провоцировать, на наш взгляд, процессы рестеноза.

Комплексный анализ физико-химического состояния DLC-покрытий и его влияния на поведение клеток *in vitro* проведен в немногочисленных работах. Например, показано, что число эндотелиальных клеток человека линии ECV304, адгезирующих к DLC-пленке (состава *a*-C : H) на кремниевой подложке, нанесенной способом r.f.-PECVD, снижается в 3 раза в 72-часовой культуре с увеличением индекса шероховатости образцов *Ra* с 10 до 25 нм. При этом гидрофобность покрытия, его низкая свободная поверхностная энергия, малое содержание водорода и высокое остаточное напряжение в пленке также негативны для роста эндотелиальных клеток (Wei et al., 2013). В то же время, не совсем понятны однозначные выводы авторов этой работы, поскольку клетки контактировали с покрытием не напрямую, а опосредовано, через слой предварительно нанесенного коллагена крысы.

Покрытие DLC (*a*-C : H), полученное на Ti6Al7Nb-сплаве в атмосфере аргона и метана способом r.f.-PACVD, в сравнении с металлической подложкой повышало контактный угол смачивания водой (примерно с 65° до 90°) и дисперсную компоненту свободной поверхностной энергии, способствовало росту и жизнеспособности эндотелиальных клеток человека линии EA.hy926 в 48-часовой культуре (Swiatek et al., 2016).

В одном исследовании (Hang et al., 2012) DLC-покрытие (80 ат. % C, 16 ат. % O, 2 ат. % N, 2 ат. % Ar) на пластинах никелида титана, сформированное в атмосфере аргона MSD-методом с электродуговым усилением, напротив, повышало гидрофильность поверхности (контактный угол смачивания водой снизился с 63° до 55°) и величину свободной поверхностной энергии (на ~7 мДж/см²). Среди биологических эффектов покрытия следует отметить резкое

ограничение выхода Ni с подложки на протяжении 10 сут, статистически значимое уменьшение 30–120 мин адгезии бычьего сывороточного альбумина. Однако эндотелиальные клетки линии CRL-2922 увеличивали свою адгезию к покрытию, измеренную в течение 30–120 мин. Кроме того, покрытие усиливало жизнеспособность клеток на протяжении всего эксперимента (1–6 сут). В то же время, в эндотелиальных клетках на DLC-пленке в 1.5–2.5 раза повышалась относительная экспрессия генов, кодирующих факторы свертывания крови: ингибитора активатора плазминогена 1 (на 3-е и 7-е сут), тканевого тромбoplastина, тромбомодулина и фактора фон Виллебранда (в течение всего периода наблюдений – 7 сут).

DLC-пленка (89.48 ат. % C, 9.84 ат. % O, 0.68 ат. % N; состояние *a*-C), полученная методом MSD на Ti₆Al₇Nb-сплаве, имеющая соотношение sp^2/sp^3 , равное 3.3 при толщине примерно 250 нм, повышает дисперсионную компоненту свободной поверхностной энергии, статистически значимо увеличивает клеточность и жизнеспособность 48-часовой культуры эндотелиальных клеток человека линии EA.hy926 (Bociaga et al., 2019).

В другой работе (Markhoff et al., 2017) изучена клеточная биосовместимость достаточно толстой DLC-пленки (толщина 2–4 мкм, индекс шероховатости $R_a = 0.15$ мкм), нанесенной на подложку из никелида титана (TiNi) MSD-способом на постоянном токе. Авторы использовали 72–96-часовые культуры клеток человека (первичные остеобласты, опухолевые остеобласты линии MG-63, фибробласты кожи, а также моноциты (макрофаги) крови) и тестировали различные показатели: активность дегидрогеназы митохондрий, экспрессию генов матриксной металлопротеиназы 1 типа (MMP-1), IL-6, IL-8, моноцитарного хемотаксического протеина 1 (MCP-1), провоспалительных цитокинов (хемокинов) IL-1b, IL-6, IL-8, MCP-1, фактора роста эндотелия сосудов VEGF), а также синтез проколлагена I типа остеобластами или фибробластами. В сравнении с металлической подложкой, покрытие выборочно ингибировало ферментативную активность (фибробласты, моноциты), экспрессию гена IL-8 в фибробластах, секрецию моноцитами IL-1. Полученные авторами результаты можно считать позитивными в плане определенного противовоспалительного потенциала DLC-покрытия и отсутствия его *in vitro* влияния на остеобласты, которые могут формироваться из МСК в условиях постимплантационного воспаления сосудистой стенки.

Согласно данным из литературы (Subramanian et al., 2018), DLC-пленка (*a*-C : H; толщиной ~75 нм), сформированная способом r.f.-PECVD в атмосфере

ацетилена (C₂H₂) на кремниевых пластинах, несмотря на изменение контактного угла смачивания водой (74° с DLC-пленкой, 65° для исходной подложки) и свободной поверхностной энергии (19.7 мДж/м² с DLC-пленкой, 30.65 мДж/м² для Si-подложки), также не обладала способностью индуцировать остеогенную дифференцировку (по показателям активности щелочной фосфатазы и концентрации кальция) клеток остеосаркомы человека линии Saos-2 в 28-суточной культуре в присутствии остеогенных добавок (бета-глицерофосфата, дексаметазона и аскорбиновой кислоты).

В литературе удивительно мало публикаций на протяжении последних 20 лет, посвященных *in vitro* реакции ГМК на DLC-покрытия. Известно, что повреждение эндотелия кровеносных сосудов при установке стентов вызывает избыточную миграцию и пролиферацию ГМК, вызывающую гиперплазию неоинтимы и повторное сужение (рестеноз) просвета сосудов (Kornowski et al., 1998).

Бакакова с соавторами (Bacáková L. et al., 2001) изучали углеродный матрикс, усиленный углеволокном, с нанесенным двухслойным PECVD-покрытием из титана (внутренний слой толщиной 1 мкм) и углерода *a*-C : H (наружный слой толщиной 2.3 мкм). На образцы засеивали ГМК аорты крысы (после 9-го пассажа). Через 1 сут клетки в 1.5–2 раза лучше прикреплялись к покрытию; через 4 сут культивирования количество ГМК на покрытии в 2–3 раза превышало таковое на углеродной подложке. Уменьшение шероховатости подложки (снижение индекса R_a от 1.39–3.24 до 0.5–0.86 мкм) с помощью предварительного шлифования усиливало пролиферативную реакцию клеток.

ГМК склонны *in vitro* к выраженной пролиферации и секреции цитокинов в ответ на фактор роста из тромбоцитов (PDGF) в присутствии медицинской стали (Santin et al., 2004b). Поэтому ограничение адгезии тромбоцитов к искусственным поверхностям, включая DLC-пленки, способно снижать риск рестеноза (Santin et al., 2005).

Миобласты мыши линии C2C12, способные активно пролиферировать и дифференцироваться в клетки скелетной мускулатуры и кардиомиоциты, снижали на 20% (в сравнении с подложкой) степень своей 24-часовой адгезии к гидрофобному (контактный угол смачивания водой 71°–81°) *a*-C : H покрытию (62% C, 31% H, 2% O, 5% N), полученному способом r.f.-PECVD в атмосфере метана на полистироловой подложке культуральных планшетов. Напротив, 6-месячное “старение” покрытий в ambientных условиях (на воздухе при комнатной температуре) вызывало увеличение концентрации кислорода в ущерб углероду и водороду; 1-суточный прирост числа при-

крепившихся миобластов при этом достигал 10–30% только в течение 2–7 нед. после изготовления покрытия. Введение SiO_x в DLC-пленку (14–20%) nivelировало клеточную реакцию (Stoica et al., 2015). Авторы рассуждают о клеточной пролиферации, что сомнительно, исходя из времени культивирования (24 ч) и обычного подсчета клеточности с помощью проточного цитометра после открепления миобластов от подложки.

ВЛИЯНИЕ КРЕМНИЯ И ЕГО ОКСИДОВ НА ГЕМО- И БИОСОВМЕСТИМОСТЬ АМОРФНЫХ УГЛЕРОДНЫХ ПОКРЫТИЙ *IN VITRO*

Аморфная природа DLC-покрытий позволяет внедрить в них различные химические элементы (Asakawa et al., 2011); начиная с 2000-х гг. модификация DLC-пленок легированием различными химическими элементами стала устойчивой тенденцией.

Одним из перспективных направлений является силиконирование DLC-покрытий, благодаря возможности с помощью введения Si и его оксидов модифицировать механические (твердость, коэффициент трения, устойчивость к износу) и биомедицинские свойства тонких пленок (Bociaga et al., 2017).

Физико-химические свойства SiO_x -DLC-пленок представлены в специализированном обзоре (Meškiniš, Tamulevičiene, 2011), согласно которому в них падает остаточное напряжение, что позволяет формировать пленки толщиной до 10 мкм; ударопрочность выше, чем в DLC-покрытии; контактный угол смачивания водой может варьироваться в пределах 56° – 100° .

Группа авторов (Maguire et al., 2005) с помощью метода r.f.-PECVD в атмосфере аргона и ацетилена с добавлением тетраметилсилана получила на стальной подложке $a\text{-C} : \text{H}$ и $a\text{-C} : \text{H} : \text{Si}$ пленки толщиной 100–400 нм с содержанием Si до 10%. Ими было показано, что введение Si в состав покрытия $a\text{-C} : \text{H}$ повышало его гидрофобность (контактный угол смачивания водой возрастал на 17° с ростом содержания Si до 7%), усиливало в 4 раза 6-часовую адгезию эндотелиальных клеток человека и тормозило 30-минутную адгезию тромбоцитов. Максимальный эффект проявлялся при концентрации Si в покрытии порядка 7–8%.

Похожие данные для пленок $a\text{-C} : \text{H} : \text{Si}$ (5–10% Si), полученных r.f.-PECVD-технологией на кремниевой подложке в атмосфере аргона и ацетилена с добавлением тетраметилсилана, представлены в другой работе (Okpalugo et al., 2004). В сравнении с DLC-покрытием в состоянии $a\text{-C} : \text{H}$, рост концентрации Si до 5% приводил, как минимум, к 3-кратному усилению 6-часовой адгезии микрососудистых

эндотелиальных клеток человека с последующим выходом на плато. При этом поверхностная энергия слоев $a\text{-C} : \text{H} : \text{Si}$ значительно уменьшалась по отношению к значению для $a\text{-C} : \text{H}$. В концентрации 7.6% Si авторы отметили двукратное падение числа агрегатов тромбоцитов человека в 15-минутном тесте (Okpalugo et al., 2004).

В еще одной работе (Ong et al., 2007) приведены результаты исследования DLC-пленок ($a\text{-C}$), содержащих кремний в диапазоне 0–37 ат. %, наносимых методом магнетронного распыления графитового и кремниевого катода на кремниевую подложку. Рост содержания Si вызывал снижение уровня sp^2 в пользу sp^3 -гибридизированных атомов углерода и прогрессивное 2-кратное уменьшение адгезии кровяных пластинок из плазмы крови, обогащенной тромбоцитами. Изменение структуры углерода и повышение полярной компоненты свободной поверхностной энергии рассмотрены как механизмы улучшения гемосовместимости искусственной поверхности.

Другим механизмом атромбогенных свойств Si-DLC-покрытий (толщиной 182–239 нм), нанесенных методом r.f.-PECVD в атмосфере тетраметилсилана, считается повышение *in vitro* адгезии альбумина с ростом содержания Si в покрытии (4.5–17 ат. %). Как описано выше, это снижает адсорбцию фибриногена и адгезию тромбоцитов. Прогрессивно увеличивается и шероховатость поверхности Si-DLC (Ahmed et al., 2015), что может иметь, на наш взгляд, негативные последствия для контакта с кровью *in vivo*.

Пленки $a\text{-C} : \text{H} : \text{Si}$, сформированные методом r.f.-PECVD (подложка и толщина пленки не указаны), содержащие (10–15)–(18–20) ат. % кремния, 13–24 ат. % кислорода и 62–69 ат. % углерода, линейно повышают 6-часовую адгезию эндотелиальных клеток человека в сравнении с покрытием $a\text{-C} : \text{H}$ (Okpalugo et al., 2006). Авторы заключили, что усиление гидрофобности поверхности (рост на 12° – 15° контактного угла смачивания водой) улучшает в 5–6 раз *in vitro* взаимодействие с эндотелиальным слоем кровеносных сосудов. В похожей работе установлено, что при 5–11 ат. % Si в DLC-покрытии формируются положительно заряженные диполи, что также способствует *in vitro* адгезии негативно заряженных эндотелиальных клеток без снижения их жизнеспособности (Ogwu et al., 2007).

В то же время существует предел содержания фаз кремния и его оксидов ($\text{Si-C/SiO}_x\text{C}_y$) в DLC-пленке, оказывающий *in vitro* положительный эффект на рост и поведение клеток. Напыление пленок одинаковой толщины (~250 нм) на сплав $\text{Ti}_6\text{Al}_7\text{Nb}$ авторы проводили в одинаковых условиях в атмосфере аргона и воздуха в гибридной магнетронной распылительной системе, высокочастотной и на постоянном

токе. С ростом концентрации Si (0–22 ат. %) и кислорода (10–29 ат. %) соотношение sp^2/sp^3 в DLC-покрытии варьировало в пределах 3.14–5.3; росла гидрофильность (угол смачивания водой прогрессивно падал от 70° до 25°). Si-DLC-пленки линейно повышали (в сравнении с титановым сплавом и DLC-слоем) число и жизнеспособность эндотелиальных клеток человека линии EA.hy926 в 48-часовой культуре только до концентрации Si 14 ат. %. При максимальном силиконировании покрытия (22 ат. %) показатели не отличались от таковых для металлического сплава без покрытия (Bociaga et al., 2019). При этом ранее авторский коллектив показал однозначное подавление адгезии и активации тромбоцитов (в сравнении со сталью 316L) на DLC-покрытии при увеличении в нем концентрации Si в пределах 4–16 ат. % (Bociaga et al., 2016).

Снижение степени прикрепления и агрегации тромбоцитов в течение 24 ч, отсутствие токсического влияния на мононуклеарные лейкоциты крови человека обнаружено *in vitro* для пленок $a-C:H:SiO_x$ толщиной 400 нм, приготовленных на полипропиленовых пластинах методом PACVD в атмосфере аргона и полифенилметилсилоксана (Grenadyorov et al., 2020). Негативный (по знаку заряда) поверхностный потенциал пленки DLC-SiO_x рассматривается как механизм их биомедицинского эффекта (Grenadyorov et al., 2021).

В то же время, пленка Si-DLC (83.5 ат. % C, 2 ат. % N, 11 ат. % O, 3.3 ат. % Si) толщиной 30 нм, полученная ионно-ассистированным напылением, ингибировала активность калликреин-кининовой системы плазмы крови человека (в 4 раза по отношению к стальной подложке SUS316L; время тестирования 1 ч), но 1-часовая адгезия тромбоцитов повышалась в 2.5–3 раза в сравнении с контрольными подложками (полиэтилентерефталат; SUS 316L), несмотря на отрицательный заряд поверхности покрытия (Mochizuki et al., 2011).

Существуютстораживающие в плане потенциальной минерализации покрытий Si-DLC в кровеносных сосудах в условиях постимплантационного воспаления данные (Subramanian et al., 2018). Гидрофобное (угол смачивания водой 84.4°; свободная поверхностная энергия 7.1 мДж/м²) покрытие $a-C:H:Si$ (толщиной ~75 нм), сформированное на кремниевых пластинах способом r.f.-PECVD в атмосфере тетраметилсилана, при близком коэффициенте шероховатости R_a (0.416–0.652 нм) способствовало, в отличие от чистой пленки $a-C:H$ (угол смачивания водой 74.3°; свободная поверхностная энергия 19.7 мДж/м²), остеогенной дифференцировке клеток остеосаркомы человека линии Saos-2 (28-суточная культура) в присутствии остеогенных добавок

(бета-глицерофосфата, дексаметазона, аскорбиновой кислоты). При этом достоверно возрастала активность щелочной фосфатазы (на 25%) и концентрация кальция в межклеточной среде (более чем на 1000%).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Широкие вариации физико-химических, механических и трибологических свойств аморфных DLC-пленок (толщины, шероховатости, соотношения sp^3/sp^2 , смачиваемости, твердости, адгезионной прочности, коэффициента трения, скорости износа и др.), не всегда полностью контролируемых и обусловленных, в том числе, разнообразными подложками и методами нанесения (Ohtake et al., 2021), а также разброс методов биомедицинского тестирования *in vitro* (Wen et al., 2017) и неоднозначные клинические данные (Meireles et al., 2007; Salahas et al., 2007) не позволяют пока выделить наиболее подходящие покрытия по их гемо- (био-) совместимости для стентов, сердечных клапанов или перфузионных насосов.

В последние годы предприняты попытки связать физико-химические свойства DLC-пленок различных типов ($ta-C$, $a-C$, $a-C:H$) между собой и с технологией их формирования, в том числе, в виде международного стандарта ISO 20523:2017 (Carbon based films – classification and designations. The international organization for standardization. Vernier: Geneva, Switzerland, 2017). Например, установлено линейное убывание sp^3 -фазы алмаза и нанотвердости покрытий с ростом в них содержания водорода, сделано предположение о наибольшей пригодности слоев $a-C:H$ для биомедицинских изделий (Ohtake et al., 2021).

Было проведено ранжирование клеточной реакции *in vitro* на 43 вида покрытия $a-C:H$, произведенного в Японии различными компаниями и университетами методами CVD или PVD и стерилизованного ультрафиолетом (Ohgoe et al., 2012). Изучали только адгезию эмбриональных фибробластов мыши линии NIH-3T3 в 4-суточной культуре; результаты классифицировали по количеству прикрепившихся клеток по 5-бальной шкале от низкой (1 балл) до очень высокой (5 баллов). В процессе тестирования 12 покрытий отслоились от кремниевой подложки. В оставшихся образцах удалось установить интервал концентрации водорода (0–40 ат. %) и плотности покрытия (1.5–2.5 г/см³), в пределах которых широко (1–5 баллов) варьировала клеточная реакция. В этом диапазоне клетки активнее (3–5 баллов) адгезировали к пленкам, полученным методами CVD (7 из 16 тестируемых образцов), чем к покрытиям, изготовленным методами PVD (2 из 9 образцов). Для соотношения sp^2/sp^3 типов гибридизации явные за-

висимости не обнаружены (Ohgoe et al., 2012). Кроме того, авторы не учитывали шероховатость поверхности и многие другие показатели (устойчивость к износу и коррозии, электросопротивление, химическую инертность, ширину запрещенной зоны).

Наиболее сложными представляются медико-технические решения для формирования DLC-покрытий на стентах, поскольку ажурная конструкция внутрисосудистых имплантатов и наличие трех межфазных границ (кровь/покрытие, покрытие/подложка, покрытие/стенка артерии) требуют одновременного решения технологических вопросов, проблем тромборезистентности, ограничения воспалительных реакций и фиброза, рекрутирования и пролиферации эндотелиальных клеток, ингибиции миграции и избыточного роста ГМК (Santos et al., 2015).

В настоящее время требуется, по-видимому, смещение акцента с разрозненных фундаментальных исследований DLC-пленок к прикладным разработкам и изучению поведения конкретных покрытий для каждого вида медицинских изделий, контактирующих с кровью, исходя из комплекса конструкторских, (био)механических, физико-химических и биомедицинских требований.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 19-19-00186), а также государственной поддержке ведущих научных школ Российской Федерации НШ-2495.2020.7 (Балтийский федеральный университет им. И. Канта).

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Экспериментов с участием животных или людей авторы не проводили.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Беленков Е.А., Грешняков В.А. 2013. Классификация структурных разновидностей углерода. Физика твердого тела. Т. 55. № 8. С. 1640. (Belonkov E.A., Greshniakov V.A. 2013. Klassifikatsiya strukturnykh raznovidnostei ugleroda. Fizika Tverdogo Tela. V. 55. № 8. P. 1640.)
- Гренадёр А.С., Соловьёв А.А., Оскомов К.В. 2021. Влияние толщины гидрогенизированных углеродных пленок, легированных кремнием и кислородом, на свойства их поверхности. Журнал технической физики. Т. 91. № 1. С. 145. (Grenadyorov A.S., Soloviev A.A., Oskomov K.V. 2021. Vliyaniye tolschiny hidrogenizirovannykh uglerodnykh plenok, legirovannykh kremniem i kislorodom, na svoystva ih poverhnosti. Zhurnal tekhnicheskoy fiziki. T. 91. № 1. P. 145.)
- Ohgoe et al., 2012. Кроме того, авторы не учитывали шероховатость поверхности и многие другие показатели (устойчивость к износу и коррозии, электросопротивление, химическую инертность, ширину запрещенной зоны).
- Макарова Э.Б., Захаров Ю.М., Рубштейн А.П., Исайкин А.И. 2011. Интеграция костной ткани в пористые титановые импланты с алмазоподобными нанопокрывтиями. Гений ортопедии. Т. 4. С. 111. (Makarova E.B., Zakharov Yu.M., Rubshtein A.P., Isaikin A.I. 2011. Integration of bone tissue to porous titanium implants with diamond-like nanocoatings. Genij Ortopedii. V. 4. P. 111.)
- Чазова И.Е., Ощепкова Е.В. 2015. Борьба с сердечно-сосудистыми заболеваниями: проблемы и пути их решения на современном этапе. Вестник Росздравнадзора. Т. 5. С. 7. (Chazova I.E., Oshepkova E.V. Bor'ba s serdechno-sosudistymi zabolevaniyami: problemy i puti ih reshenia na sovremenom etape. Vestnik Roszdravnadzora. V. 5. P. 7.)
- Ahmed M.H., Byrne J.A., Ahmed W. 2015. Characteristic of silicon doped diamond like carbon thin films on surface properties and human serum albumin adsorption. Diam. Relat. Mater. V. 55. P. 108. <https://doi.org/10.1016/j.diamond.2015.03.016>
- Airoldi F., Colombo A., Tavano D., Stankovic G., Klugmann S., Paolillo V., Bonizzoni E., Briguori C., Carlino M., Montorfano M., Liistro F., Castelli A., Ferrari A., Sgura F., Di Mario C. 2004. Comparison of diamond like carbon coated stents versus uncoated stainless steel stent in coronary artery disease. Am. J. Cradiol. V. 93. P. 474. <https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2003.10.048>
- Alakoski E., Tiainen V.M., Soininen A., Konttinen Y.T. 2008. Load-bearing biomedical applications of diamond-like carbon coatings – current status. Open Orthop. J. V. 2. P. 43. <https://doi.org/10.2174/1874325000802010043>
- Aisenberg S., Chabot R. 1971. Ion-beam deposition of thin films of diamondlike carbon. J. Appl. Phys. V. 42. P. 2953.
- Ando K., Ishii K., Tada E., Kataoka K., Hirohata A., Goto K., Kobayashi K., Tsutsui H., Nakahama M., Nakashima H., Uchikawa S., Kanda J., Yasuda S., Yajima J., Kitabayashi H., Sakurai S., Nakanishi K., Inoue N., Noike H., Hasebe T., Sato T., Yamasaki M., Kimura T. 2017. Prospective multicenter registry to evaluate efficacy and safety of the newly developed diamond-like carbon-coated cobalt-chromium coronary stent system. Cardiovasc. Interv. Ther. V. 32. P. 225. <https://doi.org/10.1007/s12928-016-0407-z>
- Ansari M.O., Gauthaman K., Essa A., Bencherif S.A., Memic A. 2019. Graphene and Graphene-Based Materials in Biomedical Applications. Curr. Med. Chem. V. 26. P. 6834. <https://doi.org/10.2174/0929867326666190705155854>
- Asakawa R., Nagashima S., Nakamura Y., Hasebe T., Suzuki T., Hotta A. 2011. Combining polymers with diamond-like carbon (DLC) for highly functionalized materials. Surf. Coat. Technol. V. 206. P. 676. <https://doi.org/10.1016/j.surfcoat.2011.02.064>
- Bacáková L., Starý V., Kofronová O., Lisá V. 2001. Polishing and coating carbon fiber-reinforced carbon composites with a carbon-titanium layer enhances adhesion and growth of osteoblast-like MG63 cells and vascular smooth muscle cells in vitro. J. Biomed. Mater Res. V. 54. P. 567.

- [https://doi.org/10.1002/1097-4636\(20010315\)54:4<567::AID-JBM140>3.0.CO;2-Y](https://doi.org/10.1002/1097-4636(20010315)54:4<567::AID-JBM140>3.0.CO;2-Y)
- Benjamin E.J., Muntner P., Alonso A., Bittencourt M.S., Callaway C.W., Carson A.P., Chamberlain A.M., Chang A.R., Cheng S., Das S.R., Delling F.N., Djousse L., Elkind M.S.V., Ferguson J.F., Fornage M. et al. American Heart Association Council on Epidemiology and Prevention Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. 2019. Heart Disease and Stroke Statistics—2019 Update: A Report From the American Heart Association. *Circulation*. V. 139. P. e56. <https://doi.org/10.1161/CIR.0000000000000659>
- Bhaskar N., Sulyaeva V., Gatapova E., Kaichev V.V., Rogilo D., Khomyakov M., Rosinova M.L., Basu B. 2020. SiC_xNyO_z coatings enhance endothelialisation, bactericidal and reduce blood cell activation. *ACS Biomater. Sci. Eng.* V. 6. P. 5571. <https://doi.org/10.1021/acsbomaterials.0c00472>
- Bociaga D., Kaminska M., Sobczyk-Guzenda A., Jastrzebski K., Swiatek L., Olejnik A. 2016. Surface properties and biological behaviour of Si-DLC coatings fabricated by a multi-target DC-RF magnetron sputtering method for medical applications. *Diam. Relat. Mater.* V. 67. P. 41. <https://doi.org/10.1016/j.diamond.2016.01.025>
- Bociaga D., Sobczyk-Guzenda A., Komorowski P., Balcerzak J., Jastrzebski K., Przybyszewska K., Kaczmarek A. 2019. Surface Characteristics and Biological Evaluation of Si-DLC Coatings Fabricated Using Magnetron Sputtering Method on Ti6Al7Nb Substrate. *Nanomater.* V. 9. P. 812. <https://doi.org/10.3390/nano9060812>
- Bociaga D., Sobczyk-Guzenda A., Szymanski W., Jedrzejczak A., Jastrzebska A., Olejnik A., Jastrzebski K. 2017. Mechanical properties, chemical analysis and evaluation of antimicrobial response of Si-DLC coatings fabricated on AISI 316 LVM substrate by a multi-target DC-RF magnetron sputtering method for potential biomedical applications. *Appl. Surf. Sci.* V. 417. P. 23. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2017.03.223>
- Farb A., Sangiorgi G., Carter A.J., Walley V.M., Edwards W.D., Schwartz R.S., Virmani R. 1999. Pathology of Acute and Chronic Coronary Stenting in Humans. *Circulation*. V. 99. P. 52. <https://doi.org/10.1161/01.cir.99.1.44>
- Fedel M., Motta A., Maniglio D., Migliaresi C. 2008. Surface properties and blood compatibility of commercially available diamond-like carbon coatings for cardiovascular devices. *J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater.* V. 90B. P. 338. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.31291>
- Grenadyorov A.S., Oskirko V.O., Solovyev A.A., Oskomov K.V., Khlusov I.A. 2021. Wear and Corrosion Resistance of a-C:H:SiO_x Coating on Medical 316L Stainless Steel. *J. Mater. Eng. Perform.* <https://doi.org/10.1007/s11665-020-05362-z>
- Grenadyorov A.S., Solovyev A.A., Ivanova N.M., Zhulkov M.O., Chernyavskiy A.M., Malashchenko V.V., Khlusov I.A. 2020. Enhancement of the adhesive strength of antithrombogenic and hemocompatible a-C:H:SiO_x films to polypropylene. *Surf. Coat. Technol.* V. 399. P. 126132. <https://doi.org/10.1016/j.surfcoat.2020.126132>
- Hang R., Zhang M., Ma S., Chu P.K. 2012. Biological response of endothelial cells to diamond-like carbon-coated NiTi alloy. *J. Biomed. Mater. Res. A*. V. 100. P. 496. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.33295>
- Hasebe T., Yohena S., Kamijo A., Okazaki Y., Hotta A., Takahashi K., Suzuki T. 2007. Fluorine doping into diamond-like carbon coatings inhibits protein adsorption and platelet activation. *J. Biomed. Mater. Res. A*. V. 83. P. 1192. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.31340>
- Hauert R. 2003. A review of modified DLC coatings for biological applications. *Diamond Relat. Mater.* V. 12. P. 583. [https://doi.org/10.1016/S0925-9635\(03\)00081-5](https://doi.org/10.1016/S0925-9635(03)00081-5)
- Hedayati M., Neufeld M.J., Reynolds M.M., Kipper M.J. 2019. The quest for blood-compatible materials: Recent advances and future technologies. *Mater. Sci. Eng. R Rep.* V. 138. P. 118. <https://doi.org/10.1016/j.mser.2019.06.002>
- Horbett T.A. 2018. Fibrinogen adsorption to biomaterials. *J. Biomed. Mater. Res. A*. V. 106. P. 2777. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.36460>
- Khlusov I.A., Dekhtyar Y., Sharkeev Y.P., Pichugin V.F., Khlusova M.Y., Polyaka N., Tjulkins F., Vendinya V., Legostaeva E.V., Litvinova L.S., Shupletsova V.V., Khaziakhmatova O.G., Yurova K.A., Prosolov K.A. 2018. Nanoscale electrical potential and roughness of a calcium phosphate surface promotes the osteogenic phenotype of stromal cells. *Materials*. V. 11. P. 978. <https://doi.org/10.3390/ma11060978>
- Kornowski R., Hong M.K., Tio F.O., Bramwell O., Wu H., Leon M.B. 1998. In-stent restenosis: contributions of inflammatory responses and arterial injury to neointimal hyperplasia. *J. Am. Coll. Cardiol.* V. 31. P. 224. [https://doi.org/10.1016/s0735-1097\(97\)00450-6](https://doi.org/10.1016/s0735-1097(97)00450-6)
- Kwok S.C.H., Wang J., Chu P.K. 2005. Surface energy, wettability, and blood compatibility phosphorus doped diamond-like carbon films. *Diam. Relat. Mater.* V. 14. P. 78. <https://doi.org/10.1016/j.diamond.2004.07.019>
- Lancelotti P., Oury C., Jerome C., Pierard L.A. 2016. Graphene coating onto mechanical heart valve prosthesis ad resistance to flow dynamics. *Acta Cardiol.* V. 71. P. 253. <https://doi.org/10.1080/AC.71.3.3152084>
- Li D.J., Cui F.Z., Gu H.Q. 1999. Diamond-like carbon coating on poly(methylmethacrylate) prepared by ion beam deposition and ion beam-assisted deposition and its effect on cell adhesion. *J. Adhes. Sci. Technol.* V. 13. P. 169. <https://doi.org/10.1163/156856199x00370>
- Liao T.T., Zhang T.F., Li S.S., Deng Q.Y., Wu B.J., Zhang Y.Z., Zhou Y.J., Guo Y.B., Leng Y.X., Huang N. 2016. Biological responses of diamond-like carbon (DLC) films with different structures in biomedical application. *Mater. Sci. Eng. C*. V. 69. P. 751. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2016.07.064>
- Lima C.N., Moura D.S., Silva Y.S.S., Souza T.H., Crisafuli F.A.P., Silva D.C.N., Peres J.C., Cesar C.L., de Araujo R.E., Fontes A. 2020. Evaluating viscoelastic properties and membrane electrical charges of red blood cells with optical tweezers and cationic quantum dots – applications to β-thalassemia intermedia hemoglobinopathy.

- Colloids Surf. B. V. 186. P. 110671.
<https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2019.110671>
- Linder S., Pinkowski W., Aepfelbacher M. 2002. Adhesion, cytoskeletal architecture and activation status of primary human macrophages on a diamond-like carbon coated surface. *Biomater.* V. 23. P. 767.
[https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(01\)00182-X](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(01)00182-X)
- Liza S., Hieda J., Akasaka H., Ohtake N., Tsutsumi Y., Nagai A., Hanawa T. 2017. Deposition of boron doped DLC films on TiNb and characterization of their mechanical properties and blood compatibility. *Sci. Technol. Adv. Mater.* V. 18. P. 76.
<https://doi.org/10.1080/14686996.2016.1262196>
- Liu Y., Guo P., He X., Li L., Wang A., Li H. 2016. Developing transparent copper-doped diamond-like carbon films for marine antifouling applications. *Diam. Relat. Mater.* V. 69. P. 144.
<https://doi.org/10.1016/j.diamond.2016.08.012>
- Lousinian S., Logothetidis S., Laskarakis A., Gioti M. 2007. Haemocompatibility of amorphous hydrogenated carbon thin films, optical properties and adsorption mechanisms of blood plasma proteins. *Biomol. Eng.* V. 24. P. 107.
<https://doi.org/10.1016/j.bioeng.2006.05.014>
- Maguire P.D., McLaughlin J.A., Okpalugo T.I.T., Lemoine P., Papakonstantinou P., McAdams E.T., Needham M., Ogwu A.A., Ball M., Abbas G.A. 2005. Mechanical stability, corrosion performance and bioresponse of amorphous diamond-like carbon for medical stents and guidewires. *Diamond Relat. Mater.* V. 14. P. 1277.
<https://doi.org/10.1016/j.diamond.2004.12.023>
- Markhoff J., Krogull M., Schulze C., Rotsch C., Hunger S., Bader R. 2017. Biocompatibility and Inflammatory Potential of Titanium Alloys Cultivated with Human Osteoblasts, Fibroblasts and Macrophages. *Mater.* V. 10. P. 52.
<https://doi.org/10.3390/ma10010052>
- Meireles G.C., de Abreu L.M., Forte A.A., Sumita M.K., Sumita J.H., Aliaga Jdel C. 2007. Randomized comparative study of diamond-like carbon coated stainless steel stent versus uncoated stent implantation in patients with coronary artery disease. *Arq. Bras. Cardiol.* V. 88. P. 390.
<https://doi.org/10.1590/S0066-782X2007000400004>
- Meškinis Š., Tamulevičiene A. 2011. Structure, Properties and Applications of Diamond Like Nanocomposite (SiO_x Containing DLC) Films: A Rev. *Mater. Sci.* V. 17. P. 358.
<https://doi.org/10.5755/j01.ms.17.4.770>
- Mikhailovska L.I., Santin M., Denyer S.P., Lloyd A.W., Teer D.G., Field S., Mikhailovsky S.V. 2004. Fibrinogen adsorption and platelet adhesion to metal and carbon coatings. *Thromb Haemost.* V. 92. P. 1032. <https://doi.org/10.1160/TH04-03-0171>
- Mochizuki A., Ogawa T., Okamoto K., Nakatani T., Nitta Y. 2011. Blood compatibility of gas plasma-treated diamond-like carbon surface—Effect of physicochemical properties of DLC surface on blood compatibility. *Mater. Sci. Eng. C.* V. 31. P. 567.
<https://doi.org/10.1016/j.msec.2010.11.019>
- Nandakumar D., Bendavid A., Martin P.J., Harris K.D., Ruys A.J., Lord M.S. 2016. Fabrication of Semiordeed Nanopatterned Diamond-like Carbon and Titania Films for Blood Contacting Applications. *ACS Appl. Mater. Interfaces.* V. 8. P. 6802.
<https://doi.org/10.1021/acsami.5b11614>
- Newby A.C., Zaltsman A.B. 2000. Molecular mechanisms in intimal hyperplasia. *J. Pathol.* V. 190. P. 300.
[https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-9896\(200002\)190:3<300::AID-PATH596>3.0.CO;2-I](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-9896(200002)190:3<300::AID-PATH596>3.0.CO;2-I)
- Nistor P.A., May P.W. 2017. Diamond thin films: giving biomedical applications a new shine. *J. R. Soc. Interface.* V. 14. P. 20170382.
<https://doi.org/10.1098/rsif.2017.0382>
- Ogwu A.A., Okpalugo T.I.T., Ali N., Maguire P.D., McLaughlin J.A.D. 2007. Endothelial cell growth on silicon modified hydrogenated amorphous carbon thin films. *J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater.* V. 85 B. P. 105.
<https://doi.org/10.1002/jbm.b.30922>
- Ohgoe Y., Hirakuri K.K., Saitoh H., Nakahigashi T., Ohtake N., Hirata A., Kanda K., Hiratsuka M., Fukui Y. 2012. Classification of DLC films in terms of biological response. *Surf. Coat. Technol.* V. 207. P. 350.
<https://doi.org/10.1016/j.surfcoat.2012.07.018>
- Ohtake N., Hiratsuka M., Kanda K., Akasaka H., Tsujioka M., Hirakuri K., Hirata A., Ohana T., Inaba H., Kano M., Saitoh H. 2021. Properties and Classification of Diamond-Like Carbon Films. *Mater.* V. 14. P. E315.
<https://doi.org/10.3390/ma14020315>
- Okpalugo T.I., Murphy H., Ogwu A.A., Abbas G., Ray S.C., Maguire P.D., McLaughlin J., McCullough R.W. 2006. Human microvascular endothelial cellular interaction with atomic N-doped DLC compared with Si-doped DLC thin films. *J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater.* V. 78. P. 222.
<https://doi.org/10.1002/jbm.b.30459>
- Okpalugo T.I.T., Ogwu A.A., Maguire P.D., McLaughlin J.A.D., Hirst D.G. 2004. In-vitro blood compatibility of a-C:H:Si and a-C:H thin films. *Diam. Relat. Mater.* V. 13. P. 1088.
<https://doi.org/10.1016/j.diamond.2003.10.064>
- Ong S.E., Zhang S., Du H., Too H.C., Aung K.N. 2007. Influence of silicon concentration on the haemocompatibility of amorphous carbon. *Biomaterials.* V. 28. P. 4033.
<https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2007.05.031>
- Owonubi S.J., Liganiso L.Z., Motaung T.E., Songca S.P., Revayrasadu N. 2019. Polymer and Carbon-Based Coatings for Biomedical Applications. In: *Photoenergy and Thin Film Materials*. Beverly, Scrivener Publishing LLC. P. 499.
<https://doi.org/10.1002/9781119580546.ch12>
- Podila R., Moore T., Alexis F., Rao A. 2013. Graphene Coatings for Biomedical Implants. *J. Vis. Exp.* V. 73. P. e50276.
<https://doi.org/10.3791/50276>
- Qiu J., Zheng Y., Hu J., Liao D., Gregersen H., Deng X., Fan Y., Wang G. 2014. Biomechanical regulation of vascular smooth muscle cell functions: from in vitro to in vivo understanding. *J. R. Soc. Interface* V. 11. P. 20130852.
<https://doi.org/10.1098/rsif.2013.0852>
- Ratner B.D., Hoffman A.S., Schoen F.J., Lemons J.E. 2004. *Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine*, 2nd ed.; San Diego, Elsevier Science Publishing Co., 864 p.

- Roger V.L., Go A.S., Lloyd-Jones D.M., Benjamin E.J., Berry J.D., Borden W.B., Bravata D.M., Dai S., Ford E.S., Fox C.S., Fullerton H.J., Gillespie C., Hailpern S.M., Heit J.A., Howard V.J., Kissela B.M. et al. 2012. Heart Disease and Stroke Statistics – 2012 Update: A Report from the American Heart Association. *Circulation*. V. 125. P. e2. <https://doi.org/10.1161/CIR.0b013e31823ac046>
- Rohrbeck M., Fischer C.B., Wehner S., Meier J., Manz W. 2014. DLC-coated pure bioplastic foil. Effect of various sterilization methods on the surface morphology. *Vak. Forschung Prax.* V. 26. P. 42. <https://doi.org/10.1002/vipr.201400549>
- Roy R.K., Lee K.-R. 2007. Biomedical Applications of Diamond-Like Carbon Coatings: A Review. *J. Biomed. Mater. Res. Part B: Appl. Biomater.* V. 83 B. P. 72. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.30768>
- Salahas A., Vrahatis A., Karabinos I., Antonellis I., Ifantis G., Gavaliatsis I., Anthopoulos P., Tavernarakis A. 2007. Success, safety, and efficacy of implantation of diamond-like carbon-coated stents. *Angiology*. V. 58. P. 203. <https://doi.org/10.1177/0003319707300360>
- Santin M., Colombo P., Bruschi G. 2005. Interfacial biology of in-stent restenosis. *Expert Rev. Med. Devices*, V. 2. P. 429. <https://doi.org/10.1586/17434440.2.4.429>
- Santin M., Mikhalovska L., Lloyd A.W., Mikhalovsky S., Sigfrid L., Denyer S.P., Field S., Teer D. 2004a. In vitro host response assessment of biomaterials for cardiovascular stent manufacture. *J. Mater. Sci.: Mater. Med.* V. 15. P. 473. <https://doi.org/10.1023/B:JMSM.0000021123.51752.11>
- Santin M., Morris C., Harrison M., Mikhalovska L., Lloyd A.W., Mikhalovsky S. 2004b. Factors inducing in-stent restenosis: an in vitro model. *Med. J. Malaysia*. V. 59 B. P. 93.
- Santos M., Bilek M.M.M., Wise S.G. 2015. Plasma-synthesized carbon-based coatings for cardiovascular applications. *Biosurf. Biotribol.* V. 1. P. 146. <https://doi.org/10.1016/j.bsbt.2015.08.001>
- Schillinger M., Sabeti S., Dick P., Amighi J., Mlekusch W., Schlager O., Loewe C., Cejna M., Lammer J., Minar E. 2007. Sustained benefit at 2 years of primary femoropopliteal stenting compared with balloon angioplasty with optional stenting. *Circulation*. V. 115. P. 2745. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.107.688341>
- Sheeja D., Tay B.K., Nung L.N. 2005. Tribological characterization of surface modified UHMWPE against DLC-coated Co–Cr–Mo. *Surf. Coat. Technol.* V. 190. P. 231. <https://doi.org/10.1016/j.surfcoat.2004.02.051>
- Slany A., Meshcheryakova A., Beer A., Ankersmit H.J., Paulitschke V., Gerner C. 2014. Plasticity of fibroblasts demonstrated by tissue-specific and function-related proteome profiling. *Clin. Proteom.* V. 11. P. 41. <https://doi.org/10.1186/1559-0275-11-41>
- Stoica A., Manakhov A., Polčák J., Ondračka P., Buršíková V., Zajíčková R., Medalová J., Zajíčková L. 2015. Cell proliferation on modified DLC thin films prepared by plasma enhanced chemical vapor deposition. *Biointerphases*. V. 10. P. 029520. <https://doi.org/10.1116/1.4920978>
- Stoltz J.F. 1983. Vascular potential and thrombosis. *Thromb. Res.* V. 5. P. 73.
- Subramanian B., Thanka Rajan S., Martin P.J., Vaithilingam V., Bean P.A., Evans M.D.M., Bendavid A. 2018. Biomineralization of osteoblasts on DLC coated surfaces for bone implants. *Biointerphases*. V. 13. P. 041002. <https://doi.org/10.1116/1.5007805>
- Swiatek L., Olejnik A., Grabarczyk J., Jedrzejczak A., Sobczyk-Guzenda A., Kaminska M., Jakubowski W., Szymanski W., Bociaga D. 2016. Multi-doped diamond like-carbon coatings (DLC-Si/Ag) for biomedical applications fabricated using the modified chemical vapour deposition method. *Diam. Relat. Mater.* V. 67. P. 54. <https://doi.org/10.1016/j.diamond.2016.03.005>
- Thull R., Grant D. 2001. Physical and Chemical Vapor Deposition and Plasma-assisted Techniques for Coating Titanium. In: *Titanium in Medicine. Engineering Materials*. Berlin, Heidelberg, Springer. P. 283. https://doi.org/10.1007/978-3-642-56486-4_10
- Ugarova T.P., Yakubenko V.P. 2001. Recognition of fibrinogen by leukocyte integrins. *Ann N-Y Acad. Sci.* V. 936. P. 368. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2001.tb03523.x>
- Virmani R., Guagliumi G., Farb A., Musumeci G., Grieco N., Motta T., Mihalec L., Tespili M., Valsecchi O., Kolodgie F.D. 2004. Localized hypersensitivity and late coronary thrombosis secondary to a sirolimus-eluting stent: should we be cautious. *Circulation*. V. 109. P. 701. <https://doi.org/10.1161/01.cir.0000116202.41966.d4>
- Wei C., Pan W.-J., Hung M.-S. 2013. The effects of substrate roughness and associated surface properties on the biocompatibility of diamond-like carbon films. *Surf. Coat. Technol.* V. 224. P. 8. <https://doi.org/10.1016/j.surfcoat.2013.02.038>
- Wen F., Liu J., Xue J. 2017. The Studies of Diamond-Like Carbon Films as Biomaterials: *Rev. Colloids Surf. Sci.* V. 2. P. 81. <https://doi.org/10.11648/j.css.20170203.11>
- Wöhrle J., Nusser T., Langenwalder S., Heombach V., Kochs M. 2009. Carbon-coated stents in patients with acute coronary syndromes. *Clin. Cardiol.* V. 32. P. E1. <https://doi.org/10.1002/clc.20295>
- Yang Y., Asiri A.M., Tang Z., Du D., Lin Y. 2013. Graphene based materials for biomedical applications. *Mater. Today*. V. 16. P. 365. <https://doi.org/10.1016/j.mattod.2013.09.004>
- Yang P., Huang N., Leng Y.X., Chen J.Y., Fu R.K.Y., Kwok S.C.H., Leng Y., Chu P. 2003. Activation of platelets adhered on amorphous hydrogenated carbon (a-C:H) films synthesized by plasma immersion ion implantation-deposition (PIII-D). *Biomater.* V. 24. P. 2821. [https://doi.org/10.1016/s0142-9612\(03\)00091-7](https://doi.org/10.1016/s0142-9612(03)00091-7)

Cellular and Molecular Problems of Hemo- and Biocompatibility of Diamond-Like Carbon Films: A Brief Critical Review

A. E. Polukhina^{a, b}, V. V. Malaschenko^{a, c}, A. S. Grenadyorov^a, K. A. Yurova^c, A. A. Solovyev^a,
L. S. Litvinova^{c, *}, and I. A. Khlusov^{c, d, e}

^aThe Institute of High Current Electronics, SB Russian Academy of Sciences, Tomsk, 634055 Russia

^bDepartment of Biochemistry and Molecular Biology, Siberian State Medical University, Tomsk, 634050 Russia

^cCenter for Immunology and Cell Biotechnology, Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, 236041 Russia

^dDepartment of Morphology and General Pathology, Siberian State Medical University, Tomsk, 634050 Russia

^eResearch School of Chemistry & Applied Biomedical Sciences at Tomsk Polytechnic University, Tomsk, 634050 Russia

*e-mail: larisalitinova@yandex.ru

Thin amorphous films consisting of sp³ (diamond) and sp² (graphite) hybridization of carbon atomic orbits and named therefore diamond-like carbon (DLC) have been reviewed according to the publications in the past two decades. A connection of biomedical and physical-chemical features of analyzed coatings was focused, mainly. The methods of coating depositions and general criteria to DLC films for cardiovascular implants, in vitro reaction of blood proteins, thrombocytes, leukocytes, fibroblasts, endothelial and smooth muscle cells, and cellular and molecular aspects of hemo- and biocompatibility influenced by DLC films doped with silicon and its oxides have been provided. Wide variation of physical-chemical, mechanical and tribological properties of DLC films, a scatter of methods of their in vitro biomedical testing make it impossible to determine the most relevant coatings for specific applications in the field of stents, cardiac valves, and blood pumps. A necessity of shift of emphasis from discrete fundamental investigations of DLC films to applied elaborations as well an observation of certain coating behavior based on the engineering, biomechanical, physical-chemical, and biomedical specifications for each type of devices contacted with blood has been concluded.

Keywords: blood cells, blood vessel cells, fibrinogen, albumin, in vitro reaction, thin carbon coating, silicon doping, physical-chemical features