

СПЕКТРАЛЬНО-ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫЕ СВОЙСТВА НАНОЧАСТИЦ БАКТЕРИОХЛОРИНА И ФТАЛОЦИАНИНА АЛЮМИНИЯ В КАЧЕСТВЕ ПОВЕРХНОСТНОГО ПОКРЫТИЯ ИМПЛАНТОВ НА ОСНОВЕ ГИДРОКСИАПАТИТА

Ю.С. Маклыгина¹, А.С. Шарова², В. Kundu³, V. K. Balla³, R. Steiner^{2,4}, В.Б. Лощенов^{1,2}

¹Институт общей физики им. А.М. Прохорова РАН, Москва, Россия

²Национальный исследовательский ядерный университет МИФИ, Москва, Россия

³Bioceramics and Coating Division, CSIR-Central Glass and Ceramic Research Institute, Kolkata, India

⁴The Institute for Laser Technology in Medicine and Measurement Technique, Ulm, Germany

Резюме

Разработана перспективная технология покрытия поверхности имплантов нанокристаллами фотосенсибилизаторов для придания им фотобактерицидных свойств. В ходе работы было проведено исследование спектрально-люминесцентных свойств покрытий на основе наночастиц фотосенсибилизаторов, поглощающих в ближнем инфракрасном диапазоне спектра: бактериохлорина и фталоцианина алюминия. Было показано, что при взаимодействии с полярным растворителем, что моделирует процесс взаимодействия импланта с биоконпонентами в условиях *in vivo* (быстро пролиферирующими и иммунокомпетентными клетками), кристаллические наночастицы фотосенсибилизаторов, покрывающие имплант, меняют свои спектроскопические свойства: приобретают способность к фотолюминесценции и становятся фототоксичными. Показана устойчивость разработанного покрытия к вымыванию нанокристаллов во времени. Сделан вывод, что разработанное покрытие на основе кристаллических наночастиц фотосенсибилизаторов будет оказывать антибактериальное и противовоспалительное действие в условиях фотодинамического воздействия в околоимплантационной зоне. Результаты проведенных исследований позволяют считать данную технологию перспективной для создания имплантов с фотобактерицидными свойствами, что открывает перспективу локальной профилактики воспалительных и аутоиммунных реакций в области имплантации.

Ключевые слова: фотосенсибилизаторы, нанокристаллы, бактериохлорин, фталоцианин алюминия, фотолюминесценция, импланты на основе гидроксиапатита, фотобактерицидный эффект.

Для цитирования: Маклыгина Ю.С., Шарова А.С., Kundu В., Balla V.K., Steiner R., Лощенов В.Б. Спектрально-люминесцентные свойства наночастиц бактериохлорина и фталоцианина алюминия в качестве поверхностного покрытия имплантов на основе гидроксиапатита // *Biomedical Photonics*. – 2016. – Т. 5, № 2. – С. 4-12.

Контакты: Лощенов В.Б., e-mail: loschenov@mail.ru

SPECTRAL LUMINESCENT PROPERTIES OF BACTERIOCHLORIN AND ALUMINUM PHTHALOCYANINE NANOPARTICLES AS HYDROXYAPATITE IMPLANT SURFACE COATING

Maklygina Yu.S.¹, Sharova A.S.², Kundu B.³, Balla V.K.³, Steiner R.^{2,4}, Loschenov V.B.^{1,2}

¹General Physics Institute of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

²National Research Nuclear University MEPhI (Moscow Engineering Physics Institute), Moscow, Russia

³Bioceramics and Coating Division, CSIR-Central Glass and Ceramic Research Institute, Kolkata, India

⁴The Institute for Laser Technology in Medicine and Measurement Technique, Ulm, Germany

Abstract

The development and the spectral research of unique coating as crystalline nanoparticles of IR photosensitizers were performed for the creation of hydroxyapatite implants with photobactericidal properties. It has been proved that by the interaction of nanoparticles covering implant with the polar solvent, which simulates the interaction of the implant with the biocomponents *in vivo* (fast proliferating and with immunocompetent cells), photosensitizers nanoparticles change the spectroscopic properties, becoming fluorescent and phototoxic. Thus, the developed coating based on crystalline photosensitizer nanoparticles with studied specific properties should have antibacterial, anti-inflammatory effect by the photodynamic treatment in the near implant area. This research opens the prospect of the local prevention of inflammatory and autoimmune reactions in the area of implantation. The results of the study suggest a promising this technology in order to create implants with photobactericidal properties.

Keywords: nanophotosensitizers, bacteriochlorin, aluminum phthalocyanine, photoluminescence, hydroxyapatite implants, photobactericidal effect of photodynamic therapy.

For citations: Maklygina Yu.S., Sharova A.S., Kundu B., Balla V.K., Steiner R., Loschenov V.B. Spectral luminescent properties of bacteriochlorin and aluminum phthalocyanine nanoparticles as hydroxyapatite implant surface coating, *Biomedical Photonics*, 2016, T. 5, No. 2, pp. 4-12 (in Russian).

Contacts: Loschenov V.B., e-mail: loschenov@mail.ru

Введение

Изучение процессов интеграции органических соединений и искусственных материалов в биологическую ткань имеет большое значение для улучшения качества жизни больных, нуждающихся в регенерации или замещении тканевых дефектов [1-6]. Имплантационные методы нашли применение во многих областях медицины (ортопедия, нейрохирургия, кардиохирургия, стоматология, травматология и др.). Хирургическое вмешательство с последующей имплантацией является сложным процессом с точки зрения послеоперационного восстановления, предотвращения воспалительных реакций и процессов отторжения импланта. При имплантации в организм любого чужеродного материала иммунная система индуцирует развитие макрофагального воспалительно-репаративного ответа соединительной ткани, приводящего к отторжению импланта [7-17]. Подобное обстоятельство препятствует биоинтеграции импланта и влечет за собой развитие сопутствующих заболеваний.

Наиболее перспективным материалом, который получил широкое клиническое применение в области имплантации, в настоящее время является гидроксиапатит, характеризующийся высокой устойчивостью, биоактивностью и биосовместимостью [18-23]. Кроме того, сейчас ведутся разработки имплантов с антисептическими и противовоспалительными свойствами ввиду потенциальной эффективности их применения для сокращения длительности протекания естественных иммунных процессов в биотканях на ранних стадиях приживления, минимизации воспалительных реакций организма в отдаленный период имплантации, обеспечения максимально комфортных условий для биоинтеграции и надежного закрепления имплантов [24-29]. В настоящее время самыми перспективными методиками для достижения бактерицидного эффекта являются физические методы, в частности антимикробная фотодинамическая терапия, которая обладает выраженной фотобактерицидной активностью, противовоспалительным действием, предупреждает дистрофические и склеротические процессы, что может эффективно снижать риск отторжения имплантов и ускорять процесс биоинтеграции [30-35].

В роли фотобактерицидных веществ наиболее перспективными представляются фотосенсибилизаторы (ФС). Из них наибольший интерес представляют ФС, которые при контакте с поверхностью импланта не теряют своих бактерицидных свойств, при этом достаточно крепко держатся на пористой поверхности гидроксиапатита, чтобы исключить возможность его вымывания со временем. Таким образом, максимально эффективными представляются ФС в форме наночастиц – нанофотосенсибилизаторы, которые

не проявляют своей фотодинамической активности в отсутствие агентов воспаления (микробы, некоторые иммунокомпетентные клетки), однако в контакте со специфическими биокомпонентами становятся фототоксичными и фотодинамически активными [36-38]. Степень активности наночастиц оценивается по уровню интенсивности сигнала фотолюминесценции, которая возникает при контакте с агентами воспаления и может детектироваться как в режиме мониторинга, так и в режиме контрольного исследования. В свою очередь, бактерицидное и противовоспалительное действие фотоактивных имплантов связано с проявлением наночастицами фотосенсибилизатора специфических свойств под воздействием лазерного излучения в зоне имплантации. Импланты на основе гидроксиапатита имеют незначительные размеры, однако за счет своей пористой структуры обладают большой площадью поверхности с осажденным слоем наночастиц ФС, которая непосредственно входит в контакт с биологической тканью в условиях *in vivo*. Пористая структура хорошо рассеивает излучение, возбуждающее фотолюминесценцию, что способствует эффективной активации наночастиц на всей поверхности импланта и обеспечивает последующее фотодинамическое воздействие.

Материал и методы

Для исследований в качестве фотосенсибилизаторов использовали мезо-тетра(3-пиридил)бактериохлорин (далее: бактериохлорин, Bch) и несурьфированный фталоцианин алюминия (далее: фталоцианин алюминия, PcAl), которые способны обеспечить наибольшую глубину фотодинамического воздействия, обладая пиком поглощения в ближнем инфракрасном диапазоне, соответствующем области максимальной оптической прозрачности биологических тканей, что делает их наиболее перспективными из существующих фотосенсибилизаторов [37-45].

Структурная формула мезо-тетра(3-пиридил)бактериохлорина (ФГУП «ГНЦ «НИОПИК», Россия) представлена на рис. 1.

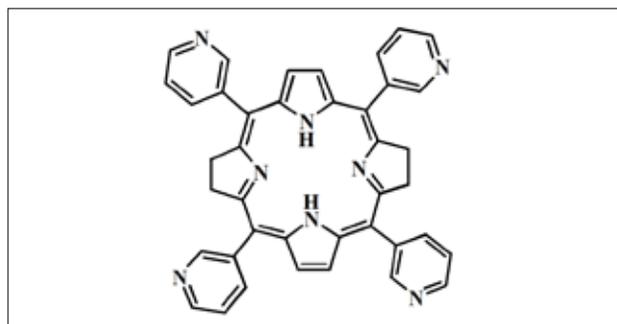


Рис. 1. Химическая формула мезо-тетра(3-пиридил)бактериохлорина
Fig. 1. The chemical formula of the *meso*-tetra(3-pyridyl)chlorophyllin molecule

Структурная формула фталоцианина алюминия (ФГУП «ГНЦ «НИОПИК», Россия) представлена на рис. 2.

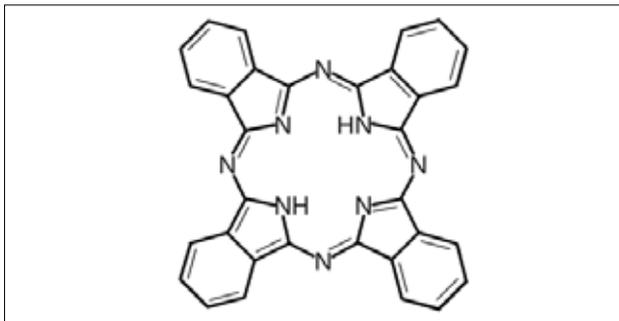


Рис. 2. Химическая формула фталоцианина алюминия
Fig. 2. The chemical formula of the aluminum phthalocyanine molecule

В ходе исследования были приготовлены водные коллоидные растворы молекулярных нанокристаллов бактериохлорина (nVch) и фталоцианина алюминия (nPcAl). В обоих случаях поликристаллический порошок добавляли в дистиллированную воду до получения концентрации 1 мг/мл. Полученную суспензию подвергали диспергированию в ультразвуковом гомогенизаторе Bandelin SONOPLUS HD2070 с насадкой KE76 (20 кГц, амплитуда 165 мкм). С помощью многоугольного спектрометра динамического рассеяния света Photocor Complex (Россия), позволяющего путем анализа корреляционной функции флуктуаций интенсивности рассеянного света получить распределение по размерам наночастиц, было установлено, что средний диаметр частиц в водном коллоиде составил 220÷240 нм. Важно отметить, что полученные коллоиды nVch и nPcAl не люминесцировали при возбуждении лазерами с длинами волн 532 и 632,8 нм, соответственно, то есть в свободном виде нанокристаллы ФС не проявляли фотоактивности.

Имплант на основе гидроксиапатита был синтезирован научно-исследовательской группой в Индии под руководством профессора V.K. Balla. Путем инкубации ($t = 30$ мин) пористого импланта в коллоидном растворе проводилось осаждение наночастиц на поверхность импланта. Пористая структура гидроксиапатита позволяет наночастицам проникать глубоко внутрь, о чем свидетельствует изменение окраски в толще импланта за счет характерного цвета коллоидных растворов фотосенсибилизаторов.

Спектроскопические свойства наночастиц в диапазоне 0,4÷1,1 мкм при взаимодействии с поверхностными молекулами гидроксиапатита в различных условиях были изучены с помощью волоконного спектрометра ЛЭСА-01-«Биоспек» (ЗАО «Биоспек», Россия) [46,47].

Результаты и обсуждение

Для изучения динамики накопления фотосенсибилизаторов в пористой структуре гидроксиапатита, составляющего имплант, был проведен ряд экспериментальных исследований. Процесс биоинтеграции импланта был смоделирован в условиях *in vitro* следующим образом:

1 этап: были изучены спектрально-люминесцентные свойства наночастиц при взаимодействии с поверхностными молекулами гидроксиапатита с учетом того, что свободные нанокристаллы в водном коллоиде не обладают способностью к люминесценции;

2 этап: были изучены спектрально-люминесцентные свойства наночастиц в условиях взаимодействия поверхности импланта (гидроксиапатит с поверхностным слоем наночастиц ФС) с полярным растворителем диметилсульфоксидом (ДМСО), что имитировало процесс взаимодействия с биокомпонентами (иммунокомпетентными клетками, бактерии и пр. в условиях *in vivo*);

3 этап: были изучены спектрально-люминесцентные свойства после вымывания полярного растворителя с поверхности пористой структуры импланта путем водного диспергирования в ультразвуковом гомогенизаторе.

Результаты поэтапного воздействия на поверхность импланта представлены в виде спектров люминесценции на рис. 3 и рис. 4 для образцов с поверхностным покрытием nVch и nPcAl, соответственно.

Анализ спектров люминесценции и динамики пика люминесценции при различных условиях для обоих типов кристаллических наночастиц (бактериохлорина и фталоцианина алюминия) показывает, что изначально не обладающие фотоактивностью нанокристаллы ФС при взаимодействии с поверхностными молекулами гидроксиапатита изменяют свои спектроскопические свойства и приобретают способность к люминесценции. Подобное явление вероятно можно объяснить взаимодействием поверхностных молекул наночастиц со сложной и неоднородной поверхностной структурой гидроксиапатита. В зависимости от локализации в пористой структуре гидроксиапатита и ближайшего окружения нанокристаллов ФС, их поверхностные молекулы могут "лежать", принимая пара-положение относительно поверхности наночастицы, или "вставать", принимая орто-положение, удерживаясь на поверхности и проявляя спектроскопические свойства раствора ФС, которые продемонстрированы в условиях взаимодействия поверхности импланта с ДМСО.

Таким образом, процесс активации кристаллических наночастиц ФС подтверждается резким возрастанием интенсивности сигнала фотолюминесценции (рис. 3-4) при взаимодействии с полярным растворителем, что позволило имитировать процесс взаимо-

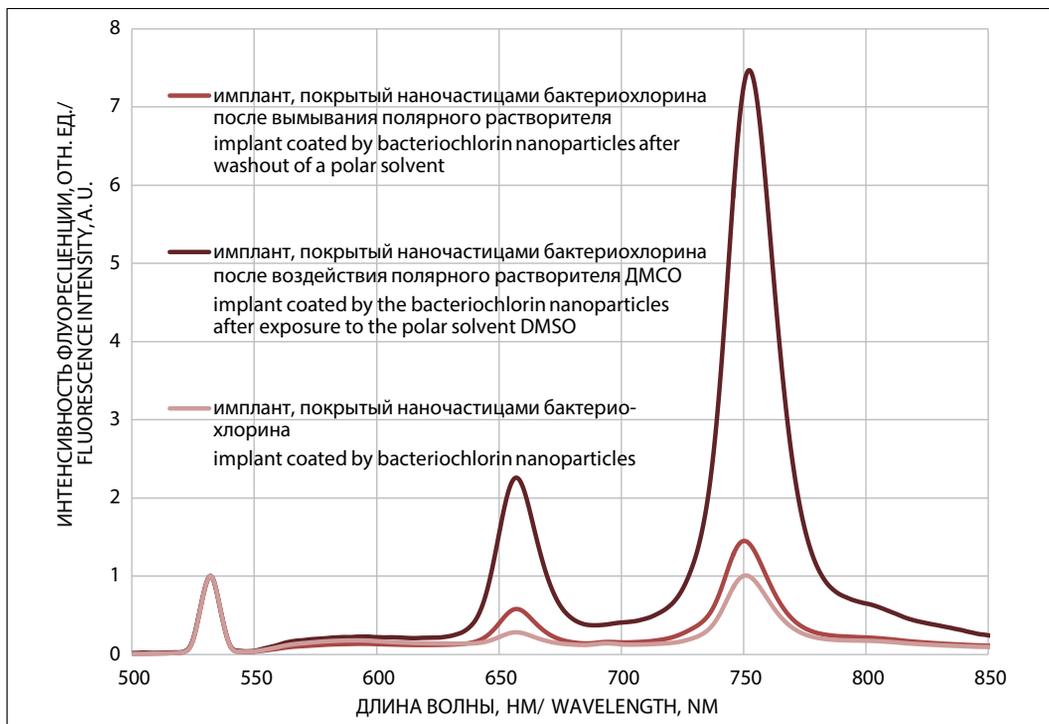


Рис. 3. Спектр люминесценции импланта на основе гидроксиапатита, покрытого наночастицами бактериохлорина при различных условиях ($\lambda_{ex} = 532$ nm)

Fig. 3. The luminescence spectrum of the hydroxyapatite implant coated by bacteriochlorin nanoparticles under the different conditions ($\lambda_{ex} = 532$ nm)

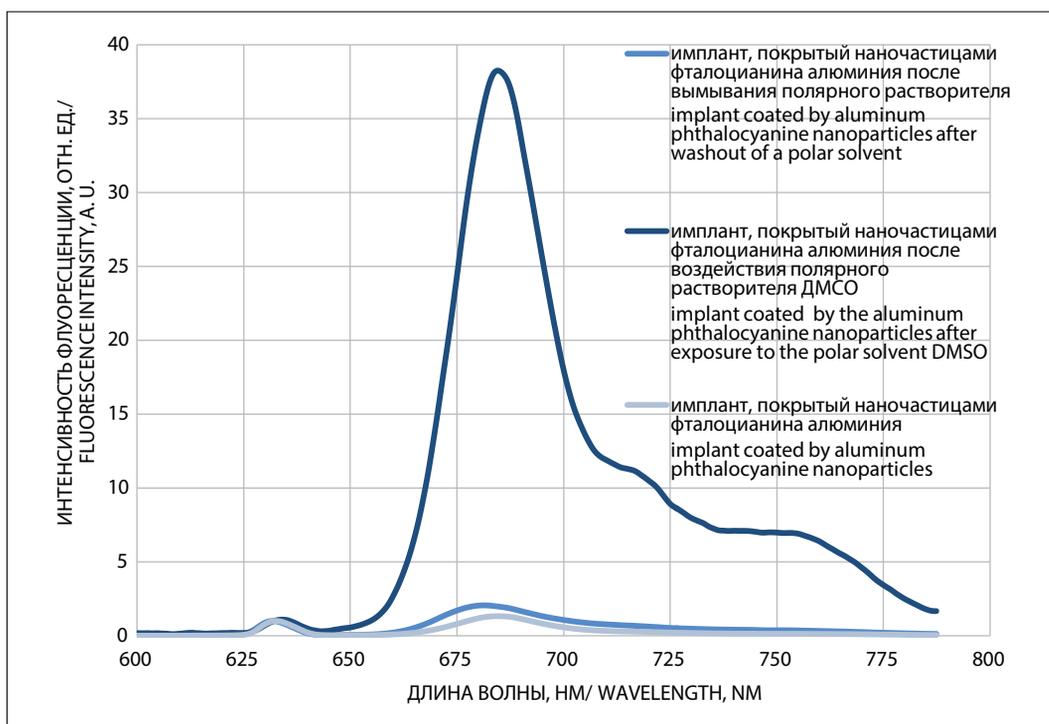


Рис. 4. Спектр люминесценции импланта на основе гидроксиапатита, покрытого наночастицами фталоцианина алюминия при различных условиях ($\lambda_{ex} = 632.8$ nm)

Fig. 4. The luminescence spectrum of the hydroxyapatite implant coated by aluminum phthalocyanine nanoparticles under the different conditions ($\lambda_{ex} = 632.8$ nm)

действия имплантата с поверхностным слоем наночастиц ФС с биокомпонентами *in vivo*.

В ходе исследования также было установлено, что поверхностные молекулы наночастиц ФС имеют достаточно сильное взаимодействие с поверхностной структурой гидроксиапатита, поскольку даже путем водного диспергирования не удалось добиться вымывания нанокристаллов из пористой структуры имплантата, что подтверждает наличие сигнала люминесценции для обоих типов наночастиц после 3-го этапа воздействия (рис. 3-4).

В ходе работы также было проведено исследование временной динамики спектров люминесценции поверхности имплантата на основе гидроксиапатита, покрытого наночастицами ФС. Анализ динамики во времени спектров люминесценции для обоих типов кристаллических наночастиц (nVch и nPcAl) показал, что изначально фотонеактивные нанокристаллы ФС при взаимодействии с поверхностными молекулами гидроксиапатита приобретают способность к люминесценции, однако интенсивность пика люминесценции изменяется во времени под воздействием возбуждающего лазерного излучения соответствующей длины волны (nVch: $\lambda_{ex} = 532$ нм, nPcAl: $\lambda_{ex} = 632.8$ нм).

Спектр люминесценции поверхности имплантата на основе гидроксиапатита, покрытого nVch, при возбуждении лазерным излучением ($\lambda_{ex} = 532$ нм) имеет

два пика люминесценции: $\lambda_{em} = 758$ нм и $\lambda_{em} = 654$ нм. При постоянном непрерывном воздействии возбуждающего лазерного излучения интенсивность пиков люминесценции изменяется во времени, причем интенсивность сигнала люминесценции пика, соответствующего $\lambda_{em} = 654$ нм, со временем возрастает, в то время как интенсивность сигнала люминесценции пика, соответствующего $\lambda_{em} = 758$ нм, со временем уменьшается (рис. 5).

По-видимому, в зависимости от длительности воздействия, что соответствует изменению уровня сообщаемой системе энергии, поверхностные молекулы изменяют свое положение относительно друг друга и поверхностной структуры гидроксиапатита, проявляя спектроскопические свойства раствора бактериохлорина ($\lambda_{em} = 758$ нм) или хлорина ($\lambda_{em} = 654$ нм).

Необходимо отметить обратимость данного процесса, что свидетельствует о невозможности структурного изменения самой молекулы фотосенсибилизатора, а именно образования самостоятельной молекулы хлорина. Из рис. 6 видно, что различие в структуре между молекулами бактериохлорина и хлорина состоит в наличии еще одной двойной связи в структурной формуле хлорина. Поэтому, вероятно, под действием возбуждающего лазерного излучения может происходить взаимодействие двух близлежащих молекул бактериохлорина путем образова-

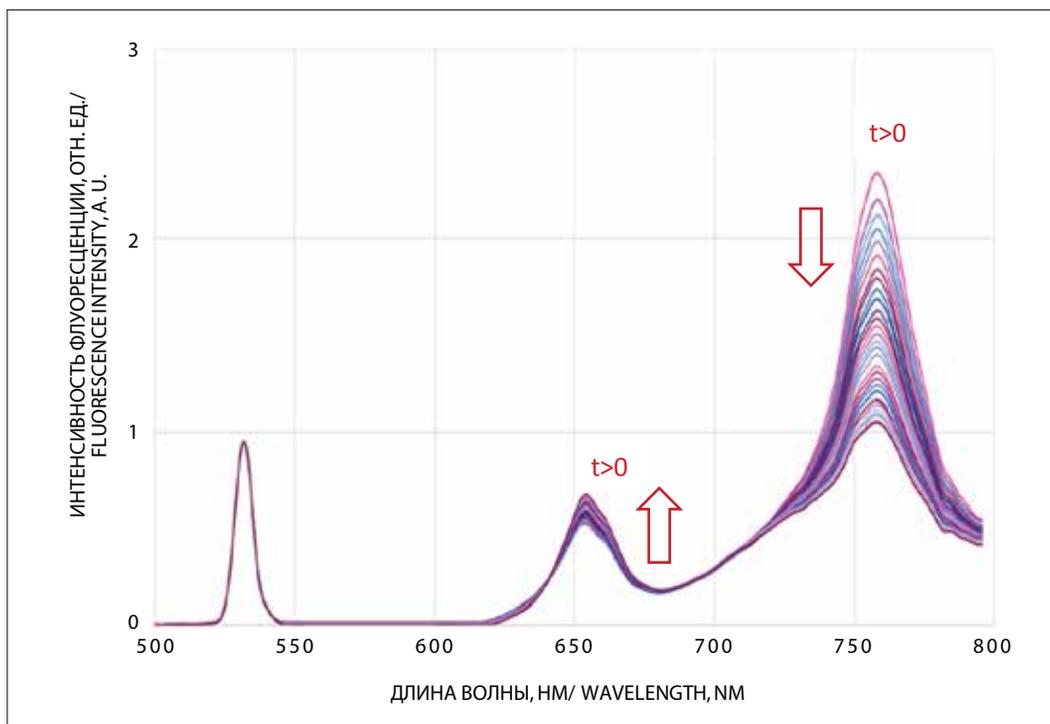


Рис. 5. Динамика изменения во времени спектра люминесценции имплантата на основе гидроксиапатита, покрытого наночастицами бактериохлорина ($\lambda_{ex} = 532$ нм)

Fig. 5. The dynamics of the luminescence spectrum time transforming of the implant based on hydroxyapatite coated by bacteriochlorin nanoparticles ($\lambda_{ex} = 532$ nm)

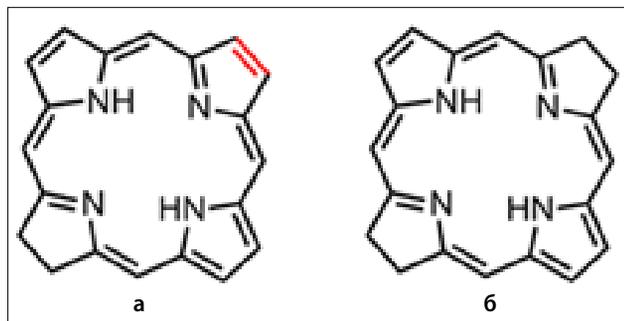


Рис. 6. Химическая формула: а – хлорина; б – бактериохлорина

Fig. 6. The chemical formula of: a – chlorin molecule; б – bacteriochlorin molecule

ния общей временной двойной связи между ними, которая разрушается в отсутствие возбуждающего излучения. В таком случае одна из молекул может проявлять спектроскопические свойства молекулы хлорина. На основании полученных результатов сделан вывод, что наночастицы бактериохлорина взаимодействуют как попарно между собой, так и со сложной пористой структурой гидроксиапатита. В зависимости от характера и силы взаимодействия, а также локализации и окружения наночастиц, они могут принимать различное положение относительно друг друга и поверхностной структуры гидроксиапатита,

изменяя при этом спектроскопические свойства, но не претерпевая необратимых изменений структуры молекулы.

На рис. 7 приведена динамика спектра люминесценции поверхности импланта на основе гидроксиапатита, покрытого nPcAl. Спектр люминесценции поверхности импланта на основе гидроксиапатита, покрытого nPcAl, при возбуждении лазерным излучением $\lambda_{ex} = 632.8$ нм имеет пик люминесценции $\lambda_{em} = 682$ нм. При постоянном непрерывном воздействии возбуждающего лазерного излучения в течение некоторого промежутка времени интенсивность пика люминесценции уменьшается во времени.

По-видимому, также как в случае с nVch, в процессе облучения поверхностные молекулы изменяют свое положение относительно друг друга и поверхностной структуры гидроксиапатита, что приводит к спектральным изменениям. Необходимо отметить обратимость данного процесса, что свидетельствует об отсутствии структурного изменения самой молекулы нанофотосенсибилизатора или выгорания красителя.

Заключение

В ходе работы была доказана возможность активации наночастиц бактериохлорина и фталоцианина алюминия, которая оценивалась по уровню сигнала

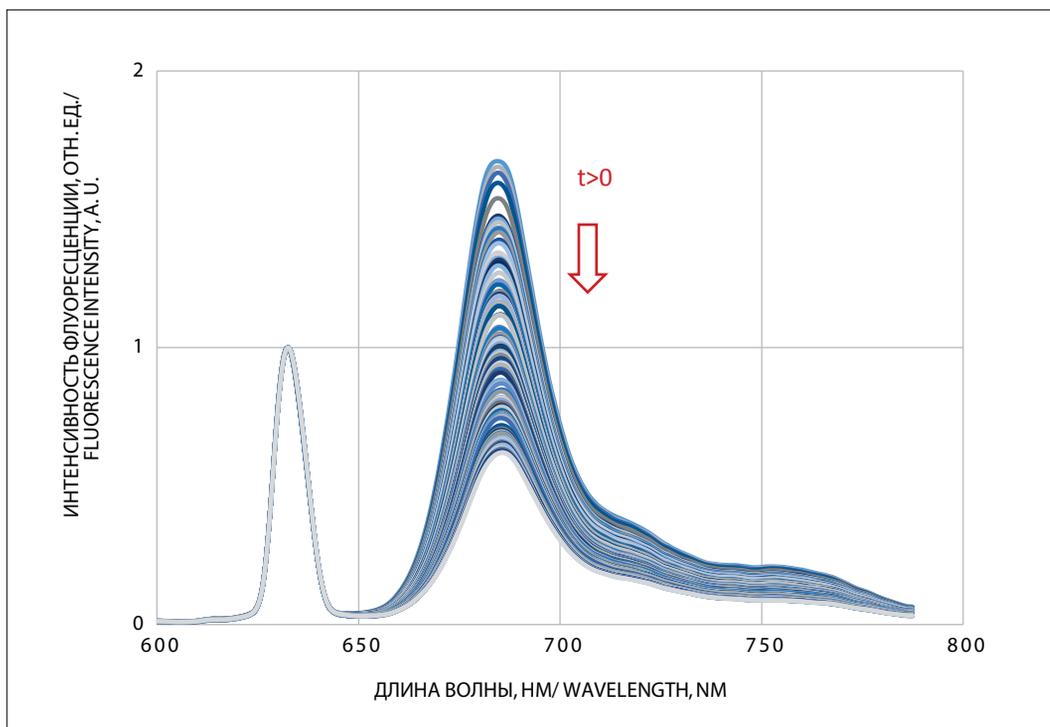


Рис. 7. Динамика во времени спектра люминесценции импланта на основе гидроксиапатита, покрытого наночастицами фталоцианина алюминия ($\lambda_{ex} = 632.8$ нм)

Fig. 7. The dynamics of the luminescence spectrum time transforming of the implant based on hydroxyapatite coated by aluminum phthalocyanine nanoparticles ($\lambda_{ex} = 632.8$ nm)

фотолюминесценции в режиме контрольного исследования. Также было установлено наличие сильного взаимодействия между поверхностными молекулами нанокристаллов фотосенсибилизаторов и поверхностной структурой гидроксиапатита, что в дальнейшем исключит возможность вымывания поверхностного слоя наночастиц.

Проведенный анализ динамики во времени спектров люминесценции для обоих типов кристаллических наночастиц показал, что изначально фотон-активные нанокристаллы ФС при взаимодействии с поверхностными молекулами гидроксиапатита приобретают способность к люминесценции, однако интенсивность пика люминесценции изменяется во времени под воздействием возбуждающего лазер-

ного излучения. На основе проведенных исследований был сделан вывод о том, что наночастицы ФС взаимодействуют как между собой, так и со сложной пористой структурой импланта. В зависимости от характера и силы взаимодействия, а также локализации и собственного окружения наночастиц они могут принимать различное положение относительно друг друга и поверхностной структуры гидроксиапатита, изменяя спектроскопические свойства. Структура молекул при этом не претерпевает необратимых изменений.

Полученные результаты в ходе исследования позволяют считать данную технологию перспективной для создания имплантов с фотобактерицидными свойствами.

ЛИТЕРАТУРА

1. Amini A.R., Laurencin C.T., Nukavarapu S.P. Bone tissue engineering: recent advances and challenges // *Crit. Rev. Biomed. Eng.* – 2012. – Vol. 40. – P. 363-408.
2. Noh Y.K., Du P., Kim I.G. et al. Polymer mesh scaffold combined with cell-derived ECM for osteogenesis of human mesenchymal stem cells // *Biomater Res.* – 2016. – Vol. 20(6).
3. Legemate K., Tarafder S., Jun Y., Lee C.H. Engineering Human TMJ Discs with Protein-Releasing 3D-Printed Scaffolds // *J Dent Res.* – 2016. – Vol. 6.
4. Padmanabhan S.K., Gervaso F., Carrozzo M. et al. Wollastonite/hydroxyapatite scaffolds with improved mechanical, bioactive and biodegradable properties for bone tissue engineering // *Ceram. Int.* – 2013. – Vol. 39(1) – P. 619-627.
5. Hosseinkhani M., Mehrabani D., Karimfar M.H. et al. Tissue engineered scaffolds in regenerative medicine // *World J. Plast. Surg.* – 2014. – Vol. 3(1). – P. 3-7.
6. Tevlin R., McArdle A., Atashroo D. et al. Biomaterials for craniofacial bone engineering // *J. Dent. Res.* – 2014. – Vol. 93. – P. 1187-1195.
7. Gallili U., Avoiding detrimental human immune response against Mammalian extracellular matrix implants // *Tissue Eng. Part B Rev.* – 2015. – Vol. 21. – P. 231-241.
8. Kharraz Y., Guerra J., Mann C.J. et al. Macrophage plasticity and the role of inflammation in skeletal muscle repair // *Mediators Inflamm.* – 2013. – Vol. 2013.
9. Brown B.N., Sicari B.M., Badylak S.F. Rethinking regenerative medicine: a macrophage-centered approach // *Front Immunol.* – 2014. – Vol. 5.
10. Boehler R.M., Graham J.G., Shea L.D. Tissue engineering tools for modulation of the immune response // *Biotechniques.* – 2011. – Vol. 51, No. 4. – P. 239-254.
11. Gardner A.B., Lee S.K., Woods E.C., Acharya A.P. Biomaterials-based modulation of the immune system // *Biomed. Res. Int.* – 2013. – Vol. 2013.
12. Franz S., Rammelt S., Scharnweber D., Simon J.C. Immune responses to implants – a review of the implications for the design of immunomodulatory biomaterials // *Biomaterials.* – 2011. – Vol. 32. – P. 6692-6709.
13. Anderson J.M. Inflammatory response to implants // *ASAIO Trans.* – 1988. – Vol. 34. – P. 101-107.
14. Major M.R., Wong V.W., Nelson E.R. et al. The foreign body response: at the interface of surgery and bioengineering // *Plast. Reconstr. Surg.* – 2015. – Vol. 135. – P. 1489-1498.
15. Londono R., Badylak S.F. Biologic scaffolds for regenerative medicine: mechanisms of in vivo remodeling // *Ann. Biomed. Eng.* – 2014. – Vol. 43. – P. 577-592.

REFERENCES

1. Amini A.R., Laurencin C.T., Nukavarapu S.P. Bone tissue engineering: recent advances and challenges, *Crit. Rev. Biomed. Eng.*, 2012, Vol. 40, pp. 363-408.
2. Noh Y.K., Du P., Kim I.G., Ko J., Kim S.W., Park K. Polymer mesh scaffold combined with cell-derived ECM for osteogenesis of human mesenchymal stem cells, *Biomater Res.*, 2016, Vol. 20(6).
3. Legemate K., Tarafder S., Jun Y., Lee C.H. Engineering Human TMJ Discs with Protein-Releasing 3D-Printed Scaffolds, *J Dent Res.*, 2016, Vol. 6.
4. Padmanabhan S.K., Gervaso F., Carrozzo M., Scalera F., Sannino A., Licciulli A. Wollastonite/hydroxyapatite scaffolds with improved mechanical, bioactive and biodegradable properties for bone tissue engineering, *Ceram. Int.*, 2013, Vol. 39(1), pp. 619-627.
5. Hosseinkhani M., Mehrabani D., Karimfar M.H., Bakhtiyari, S., Manafi A., Shirazi R. Tissue engineered scaffolds in regenerative medicine, *World J. Plast. Surg.*, 2014, Vol. 3(1), pp. 3-7.
6. Tevlin R., McArdle A., Atashroo D., Walmsley G.G., Senarath-Yapa K., Zielins E.R., Paik K.J. Biomaterials for craniofacial bone engineering, *J. Dent. Res.*, 2014, Vol. 93, pp. 1187-1195.
7. Gallili U., Avoiding detrimental human immune response against Mammalian extracellular matrix implants, *Tissue Eng. Part B Rev.*, 2015, Vol. 21, pp. 231-241.
8. Kharraz Y., Guerra J., Mann C.J., Serrano A.L., Munoz-Canoves P. Macrophage plasticity and the role of inflammation in skeletal muscle repair, *Mediators Inflamm.*, 2013, Vol. 2013. Available at: <http://dx.doi.org/10.1155/2013/491497>
9. Brown B.N., Sicari B.M., Badylak S.F. Rethinking regenerative medicine: a macrophage-centered approach, *Front Immunol.*, 2014, Vol. 5. Available at: <http://dx.doi.org/10.3389/fimmu.2014.00510>
10. Boehler R.M., Graham J.G., Shea L.D. Tissue engineering tools for modulation of the immune response, *Biotechniques*, 2011, Vol. 51, No. 4, pp. 239-254.
11. Gardner A.B., Lee S.K., Woods E.C., Acharya A.P. Biomaterials-based modulation of the immune system, *Biomed. Res. Int.*, 2013, Vol. 2013. Available at: <http://dx.doi.org/10.1155/2013/732182>
12. Franz S., Rammelt S., Scharnweber D., Simon J.C. Immune responses to implants – a review of the implications for the design of immunomodulatory biomaterials, *Biomaterials*, 2011, Vol. 32, pp. 6692-6709.
13. Anderson J.M. Inflammatory response to implants, *ASAIO Trans.*, 1988, Vol. 34, pp. 101-107.
14. Major M.R., Wong V.W., Nelson E.R., Longaker M.T., Gurtner G.C. The foreign body response: at the interface of surgery and bioengineering, *Plast. Reconstr. Surg.*, 2015, Vol. 135, pp. 1489-1498.
15. Londono R., Badylak S.F. Biologic scaffolds for regenerative medicine: mechanisms of in vivo remodeling, *Ann. Biomed. Eng.*, 2014, Vol. 43, pp. 577-592.

16. Crupi A., Costa A., Tarnok A. et al. Inflammation in tissue engineering: The Janus between engraftment and rejection // *Eur J Immunol.* – 2015. – Vol. 45(12). – P. 3222-36.
17. Kzhyshkowska J., Gudima A., Riabov V. et al. Macrophage responses to implants: prospects for personalized medicine // *J Leukoc Biol.* – 2015. – Vol. 98(6). – P. 953-962.
18. Van Oirschot B.A., Eman R.M., Habibovic P. et al. Osteophilic properties of bone implant surface modifications in a cassette model on a decorticated goat spinal transverse process // *Acta Biomater.* – 2016 (in press).
19. Nakata H., Kuroda S., Tachikawa N. et al. Histological and micro-computed tomographic observations after maxillary sinus augmentation with porous hydroxyapatite alloplasts: a clinical case series // *Springerplus.* 2016. – Vol. 5.
20. Pallela R., Venkatesan J., Janapala V.R., Kim S.K. Biophysicochemical evaluation of chitosan-hydroxyapatite-marine sponge collagen composite for bone tissue engineering // *J Biomed Mater Res Part A.* – 2012. – Vol. 100(2). – P. 486-495.
21. Asaoka T., Ohtake S., Furukawa K.S. et al. Development of bioactive porous α -TCP/HAP beads for bone tissue engineering // *Biomed Mater Res A.* – 2013. – Vol. 101(11). – P. 3295-300.
22. Nandi S.K., Kundu B., Mukherjee J. et al. Converted marine coral hydroxyapatite implants with growth factors: in vivo bone regeneration // *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* – 2015. – Vol. 49. – P. 816-23.
23. Balla V.K., Bodhak S., Bose S., Bandyopadhyay A. Porous tantalum structures for bone implants: fabrication, mechanical and in vitro biological properties // *Acta Biomater.* – 2010. – Vol. 6(8). – P. 3349-59.
24. Ferraz M.P., Mateus A.Y., Sousa J.C., Monteiro F.J. Nanohydroxyapatite microspheres as delivery system for antibiotics: release kinetics, antimicrobial activity, and interaction with osteoblasts // *J. Biomed. Mater. Res. A.* – 2007. – Vol. 81. – P. 994-1004.
25. Guo Y.J., Long T., Chen W. et al. Bactericidal property and biocompatibility of gentamicin-loaded mesoporous carbonated hydroxyapatite microspheres // *Mater. Sci. Eng. C.* – 2013. – Vol. 33. – P. 3583-3591.
26. Selvakumar M., Srivastava P., Pawar H.S. et al. On-Demand Guided Bone Regeneration with Microbial Protection of Ornamented SPU Scaffold with Bismuth-Doped Single Crystalline Hydroxyapatite: Augmentation and Cartilage Formation // *ACS Appl Mater Interfaces.* – 2016. – Vol. 8(6). – P. 4086-100.
27. Krishnan A.G., Jayaram L., Biswas R., Nair M. Evaluation of antibacterial activity and cytocompatibility of ciprofloxacin loaded gelatin-hydroxyapatite scaffolds as a local drug delivery system for osteomyelitis treatment // *Tissue Eng Part A.* – 2015. – Vol. 21(7-8). – P. 1422-31.
28. Mututuvvari T.M., Harkins A.L., Tran C.D. Facile synthesis, characterization, and antimicrobial activity of cellulose-chitosan-hydroxyapatite composite material: a potential material for bone tissue engineering // *J Biomed Mater Res A.* – 2013. – Vol. 101(11). – P. 3266-77.
29. Afzal M.A., Kalmudia S., Kesarwan P. et al. Bactericidal effect of silver-reinforced carbon nanotube and hydroxyapatite composites // *J Biomater Appl.* – 2013. – Vol. 27(8). – P. 967-78.
30. Haag P.A., Steiger-Ronay V., Schmidlin P.R. The in Vitro Antimicrobial Efficacy of PDT against eriodontopathogenic Bacteria // *Int J Mol Sci.* – 2015. – Vol. 16(11). – P. 27327-27338.
31. Soukos N.S., Ximenez-Fyvie L.A., Hamblin M.R. et al. Targeted antimicrobial photochemotherapy // *Antimicrob. Agents Chemother.* – 1998. – Vol. 42. – P. 2595-2601.
32. Sharman W.M., Allen C.M., van Lier J.E. Photodynamic therapeutics: Basic principles and clinical applications // *Drug Discov. Today.* – 1999. – Vol. 4. – P. 507-517.
33. Braham P., Herron C., Street C., Darveau R. Antimicrobial photodynamic therapy may promote periodontal healing
16. Crupi A., Costa A., Tarnok A., Melzer S., Teodori L. Inflammation in tissue engineering: The Janus between engraftment and rejection, *Eur J Immunol*, 2015, Vol. 45(12), pp. 3222-36.
17. Kzhyshkowska J., Gudima A., Riabov V., Dollinger C., Lavalle P, Vrana N.E. Macrophage responses to implants: prospects for personalized medicine, *J Leukoc Biol*, 2015, Vol. 98(6), pp. 953-962.
18. Van Oirschot B.A., Eman R.M., Habibovic P, Leeuwenburgh S.C., Tahmasebi Z., Weinans H., Alblas J., Meijer G.J., Jansen J.A., van den Beucken J.J. Osteophilic properties of bone implant surface modifications in a cassette model on a decorticated goat spinal transverse process, *Acta Biomater*, 2016 (in press).
19. Nakata H., Kuroda S., Tachikawa N., Okada E., Akatsuka M., Kasugai S., Kondo H. Histological and micro-computed tomographic observations after maxillary sinus augmentation with porous hydroxyapatite alloplasts: a clinical case series, *Springerplus*, 2016, Vol. 5. Available at: <http://springerplus.springeropen.com/articles/10.1186/s40064-016-1885-2>
20. Pallela R., Venkatesan J., Janapala V.R., Kim S.K. Biophysicochemical evaluation of chitosan-hydroxyapatite-marine sponge collagen composite for bone tissue engineering, *J Biomed Mater Res Part A*, 2012, Vol. 100(2), pp. 486-495.
21. Asaoka T., Ohtake S., Furukawa K.S., Tamura A., Ushida T.J. Development of bioactive porous α -TCP/HAP beads for bone tissue engineering, *Biomed Mater Res A*, 2013, Vol. 101(11), pp. 3295-300.
22. Nandi S.K., Kundu B., Mukherjee J., Mahato A., Datta S., Balla V.K. Converted marine coral hydroxyapatite implants with growth factors: in vivo bone regeneration, *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2015, Vol. 49, pp. 816-23.
23. Balla V.K., Bodhak S., Bose S., Bandyopadhyay A. Porous tantalum structures for bone implants: fabrication, mechanical and in vitro biological properties, *Acta Biomater*, 2010, Vol. 6(8), pp. 3349-59.
24. Ferraz M.P., Mateus A.Y., Sousa J.C., Monteiro F.J. Nanohydroxyapatite microspheres as delivery system for antibiotics: release kinetics, antimicrobial activity, and interaction with osteoblasts, *J. Biomed. Mater. Res. A*, 2007, Vol. 81, pp. 994-1004.
25. Guo Y.J., Long T., Chen W., Ning C.Q., Zhu Z.A., Guo Y.P. Bactericidal property and biocompatibility of gentamicin-loaded mesoporous carbonated hydroxyapatite microsphere, *Mater. Sci. Eng. C.*, 2013, Vol. 33, pp. 3583-3591.
26. Selvakumar M., Srivastava P., Pawar H.S., Francis N.K., Das B., Sathishkumar G., Subramanian B., Jaganathan S.K., George G., Anandhan S., Dhara S., Nando G.B., Chattopadhyay S. On-Demand Guided Bone Regeneration with Microbial Protection of Ornamented SPU Scaffold with Bismuth-Doped Single Crystalline Hydroxyapatite: Augmentation and Cartilage Formation, *ACS Appl Mater Interfaces*, 2016, Vol. 8(6), pp. 4086-100.
27. Krishnan A.G., Jayaram L., Biswas R., Nair M. Evaluation of antibacterial activity and cytocompatibility of ciprofloxacin loaded gelatin-hydroxyapatite scaffolds as a local drug delivery system for osteomyelitis treatment, *Tissue Eng Part A*, 2015, Vol. 21(7-8), pp. 1422-31.
28. Mututuvvari T.M., Harkins A.L., Tran C.D. Facile synthesis, characterization, and antimicrobial activity of cellulose-chitosan-hydroxyapatite composite material: a potential material for bone tissue engineering, *J Biomed Mater Res A*, 2013, Vol. 101(11), pp. 3266-77.
29. Afzal M.A., Kalmudia S., Kesarwan P., Basu B., Balani K. Bactericidal effect of silver-reinforced carbon nanotube and hydroxyapatite composites, *J Biomater Appl*, 2013, Vol. 27(8), pp. 967-78.
30. Haag P.A., Steiger-Ronay V., Schmidlin P.R. The in Vitro Antimicrobial Efficacy of PDT against eriodontopathogenic Bacteria, *Int J Mol Sci*, 2015, Vol. 16(11), pp. 27327-27338.
31. Soukos N.S., Ximenez-Fyvie L.A., Hamblin M.R., Socransky S.S., Hasan T. Targeted antimicrobial photochemotherapy, *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1998, Vol. 42, pp. 2595-2601.
32. Sharman W.M., Allen C.M., van Lier J.E. Photodynamic therapeutics: Basic principles and clinical applications, *Drug Discov. Today*, 1999, Vol. 4, pp. 507-517.

- through multiple mechanisms // *J. Periodontol.* – 2009. – Vol. 80. – P. 1790-1798.
34. Chan Y., Lai C.H. Bactericidal effects of different laser wavelengths on periodontopathic germs in photodynamic therapy // *Lasers Med. Sci.* – 2003. – Vol. 18. – P. 51-55.
 35. Street C.N., Pedigo L.A., Loebel N.G. Energy dose parameters affect antimicrobial photodynamic therapy-mediated eradication of periopathogenic biofilm and planktonic cultures // *Photomed. Laser Surg.* – 2010. – Vol. 28 (Suppl. S1). – P. 61-66.
 36. Breymayer J., Rück A., Ryabova A.V. et al. Fluorescence Investigation of the Effect of Monocytes/Macrophages and Skin Cells on Aluminium Phthalocyanine Nanoparticles // *Journal Photodiagnosis and Photodynamic Therapy.* – 2014. – Vol. 11(3). – P. 380-390.
 37. Vasilchenko S.Yu., Volkova A.I., Ryabova A.V. et al. Application of aluminum phthalocyanine nanoparticles for fluorescent diagnostics in dentistry and skin autotransplantation // *J. Biophoton.* – 2010. – T. 3, No. 5-6. – P. 336-346.
 38. Oertel M., Schastak S.I., Tannapfel A. et al. Novel bacteriochlorin for high tissue-penetration: photodynamic properties in human biliary tract cancer cells in vitro and in a mouse tumour model // *J. Photochem. Photobiol. B.* – 2003. – Vol. 71. – P. 1-10.
 39. Mazor O., Brandis A., Plaks V. et al. WST11, a novel water-soluble bacteriochlorophyll derivative; cellular uptake, pharmacokinetics, biodistribution, and vascular targeted photodynamic activity against melanoma tumors // *Photochem. Photobiol.* – 2005. – Vol. 81. – P. 342-351.
 40. Rovers J.P., de Jode M.L., Rezzoug H., Grahn M.F. In vivo photodynamic characteristics of the near-infrared photosensitizer 5, 10, 15, 20-tetrakis (m-hydroxyphenyl) bacteriochlorin // *Photochem. Photobiol.* – 2000. – Vol. 72. – P. 358-364.
 41. Миронов А.Ф., Грин М.А., Кармакова Т.А., Плютинская А.Д., Якубовская Р.И., Феофанов А.В., Вино П. Новые фотосенсибилизаторы для ФДТ рака на основе природного бактериохлорофилла а // *Российский биотерапевтический журнал.* – 2003. – Т. 2, № 1. – С. 33-34.
 42. Якубовская Р.И., Плотникова Е.А., Морозова Н.Б., Грин М.А., Миронов А.Ф. Аминоамиды в ряду бактериохлорофилла а и их фотоиндуцированная активность в системах in vitro и in vivo // *Фотодинамическая терапия и фотодиагностика.* – 2013. – № 3. – С. 29-30.
 43. Грин М.А., Пантюшенко И.В., Плотникова Е.А., Плютинская А.Д., Малыгина А.И., Каширцева И.В., Михайловская А.А., Якубовская Р.И., Каплан М.А., Миронов А.Ф. Новые фотосенсибилизаторы на основе бактериопурпуринимида и их фотоиндуцированная противоопухолевая активность // *Фотодинамическая терапия и фотодиагностика.* – 2013. – № 3. – С. 33-34.
 44. Решетников Р.И., Грин М.А., Харитонов О.В., Козлов А.С., Красновский А.А., Феофанов А.В., Ермакова Д.Э., Миронов А.Ф. Бактериохлорин-содержащая триада для совместной флуоресцентной диагностики и фотодинамической терапии рака // *Фотодинамическая терапия и фотодиагностика.* – 2013. – № 3. – С. 34.
 45. Миронов А.Ф., Грин М.А., Ципровский А.Г., Сегеневич А.В., Дзарданов Д.В., Головин К. В., Цыганков А.А., Шим Я.К. Новые фотосенсибилизаторы бактериохлоринового ряда для фотодинамической терапии рака // *Биоорганическая химия.* – 2003. – Т. 29, № 2. – С. 214-221.
 46. Loschenov V.B., Konov V.I., Prokhorov A.M. Photodynamic therapy and fluorescence diagnostics // *Laser Physics.* – 2000. – Vol. 10, No. 6. – P. 1188-1207.
 47. Линьков К.Г., Березин А.Н., Лощенов В.Б. Аппаратура для ФД и ФДТ // *Росс. биотерапевт. журнал.* – 2004. – Т. 3, No. 2. – С. 54.
 33. Braham P., Herron C., Street C., Darveau R. Antimicrobial photodynamic therapy may promote periodontal healing through multiple mechanisms, *J. Periodontol.*, 2009, Vol. 80, pp. 1790-1798.
 34. Chan Y., Lai C.H. Bactericidal effects of different laser wavelengths on periodontopathic germs in photodynamic therapy, *Lasers Med. Sci.*, 2003, Vol. 18, pp. 51-55.
 35. Street C.N., Pedigo L.A., Loebel N.G. Energy dose parameters affect antimicrobial photodynamic therapy-mediated eradication of periopathogenic biofilm and planktonic cultures, *Photomed. Laser Surg.*, 2010, Vol. 28 (Suppl. S1), pp. 61-66.
 36. Breymayer J., Rück A., Ryabova A.V., Loschenov V.B., Steiner R.W. Fluorescence Investigation of the Effect of Monocytes/Macrophages and Skin Cells on Aluminium Phthalocyanine Nanoparticles, *Journal Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 2014, Vol. 11(3), pp. 380-390.
 37. Vasilchenko S.Yu., Volkova A.I., Ryabova A.V., Loschenov V.B., Konov V.I., Mamedov A.A., Kuzminand S.G., Lukyanets E.A. Application of aluminum phthalocyanine nanoparticles for fluorescent diagnostics in dentistry and skin autotransplantation, *J. Biophoton.*, 2010, T. 3, No. 5-6, pp. 336-346.
 38. Oertel M., Schastak S.I., Tannapfel A., Hermann R., Sack U., Mossner J., Berr F. Novel bacteriochlorin for high tissue-penetration: photodynamic properties in human biliary tract cancer cells in vitro and in a mouse tumour model, *J. Photochem. Photobiol. B.*, 2003, Vol. 71, pp. 1-10.
 39. Mazor O., Brandis A., Plaks V., Neumark E., Rosenbach-Belkin V., Salomon Y., Scherz A. WST11, a novel water-soluble bacteriochlorophyll derivative; cellular uptake, pharmacokinetics, biodistribution, and vascular targeted photodynamic activity against melanoma tumors, *Photochem. Photobiol.*, 2005, Vol. 81, pp. 342-351.
 40. Rovers J.P., de Jode M.L., Rezzoug H., Grahn M.F. In vivo photodynamic characteristics of the near-infrared photosensitizer 5, 10, 15, 20-tetrakis (m-hydroxyphenyl) bacteriochlorin, *Photochem. Photobiol.*, 2000, Vol. 72, pp. 358-364.
 41. Mironov A.F., Grin M.A., Karmakova T.A., Plyutinskaya A.D., Yakubovskaya R.I., Feofanov A.V., Vini P. New natural bacteriochlorophyll a-based photosensitizers for PDT of cancer, *Rossiiskij biotera-pevticheskij zhurnal*, 2003, T. 2, No. 1, pp. 33-34. (in Russian).
 42. Yakubovskaya R.I., Plotnikova E.A., Morozova N.B., Grin M.A., Mironov A.F. Aminoamides in the family of bacteriochlorophyll a and their in vitro and in vivo photodynamic activity, *Fotodinamicheskaya terapiya i fotodiagnostika*, 2013, No. 3, pp. 29-30. (in Russian).
 43. Grin M.A., Pantyushenko I.V., Plotnikova E.A., Plyutinskaya A.D., Malygina A.I., Kashirtseva I.V., Mikhajlovskaya A.A., Yakubovskaya R.I., Kaplan M.A., Mironov A.F. New bacteriopurpurinimide-based photosensitizers and their photodynamic antitumor activity, *Fotodinamicheskaya terapiya i fotodiagnostika*, 2013, No. 3, pp. 33-34. (in Russian).
 44. Reshetnikov R.I., Grin M.A., Kharitonova O.V., Kozlov A.C., Krasnovskij A.A., Feofanov A.V., Ermakova D.E., Mironov A.F. Bacteriochlorin-containing triplet for combined fluorescence diagnosis and photodynamic therapy of cancer, *Fotodinamicheskaya terapiya i fotodiagnostika*, 2013, No. 3, pp. 34. (in Russian).
 45. Mironov A.F., Grin M.A., Tsiprovskij A.G., Segenevich A.V., Dzaradanov D.V., Golovin K. V., Tsygankov A.A., Shim Ya.K. New bacteriochlorin-based photosensitizers for photodynamic therapy of cancer, *Bioorganicheskaya khimiya*, 2003, T. 29, No. 2, pp. 214-221. (in Russian).
 46. Loschenov V.B., Konov V.I., Prokhorov A.M. Photodynamic therapy and fluorescence diagnostics, *Laser Physics*, 2000, Vol. 10, No. 6, pp. 1188-1207.
 47. Lin'kov K.G., Berezin A.N., Loschenov V.B. Devices for FD and PDT, *Ross. bioterapevt. zhurnal.*, 2004, T. 3, No. 2, p. 54. (in Russian).