

Формирование электропроводящих поверхностей на основе углеродных наноматериалов для нейростимуляционных устройств

© А.Ю. Герасименко,^{1,2} А.В. Куксин,¹ Д.Т. Мурашко,¹ К.Д. Попович,^{1,2} У.Е. Курилова,^{1,2} М.С. Савельев,^{1,2} И.А. Суетина,³ Л.И. Руссу,³ М.В. Мезенцева,³ Ю.П. Шаман,^{1,4} Е.П. Кюцюк,^{1,4} И.В. Нестеренко,^{1,2} О.Е. Глухова,^{2,5} С.В. Селищев¹

¹ Институт биомедицинских систем, Национальный исследовательский университет „МИЭТ“, 124498 Москва, Зеленоград, Россия

² Институт бионических технологий и инжиниринга, Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, 119991 Москва, Россия

³ Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. почетного акад. Н.Ф. Гамалеи Министерства здравоохранения Российской Федерации, 123098 Москва, Россия

⁴ Научно-производственный комплекс „Технологический центр“, 124498 Москва, Россия

⁵ Саратовский национальный исследовательский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, 410012 Саратов, Россия
e-mail: gerasimenko@bms.zone

Поступило в Редакцию 26 декабря 2024 г.

В окончательной редакции 26 декабря 2024 г.

Принято к публикации 26 декабря 2024 г.

Предложены методы получения лазерно-индуцированных углеродных наноматериалов для формирования электропроводящих поверхностей нейростимуляционных устройств. Установлено, что под действием лазерного излучения с плотностью энергии в диапазоне $0.001\text{--}2.2\text{ Дж/см}^2$ в зависимости от типа нанотрубок образуется углеродная каркасная структура со связанными углеродными нанотрубками и их пучками в неупорядоченных массивах одностенных углеродных нанотрубок и в вертикально ориентированных массивах многостенных углеродных нанотрубок в матрице бычьего сывороточного альбумина и без нее. Для поверхности на основе одностенных нанотрубок в матрице альбумина получен эффект вертикальной ориентации нанотрубок перпендикулярно поверхности. Исследовано влияние добавления сывороточного альбумина и лазерной обработки на электропроводность массива нанотрубок. Показано, что сформированные образцы поверхностей обеспечили наибольшее значение пролиферации клеток нервной ткани по сравнению с контрольным образцом.

Ключевые слова: углеродные нанотрубки, альбумин, лазерно-индуцированный метод, электропроводность, электропроводящая поверхность, нейроинтерфейсы, нейростимуляционные устройства.

DOI: 10.61011/JTF.2025.05.60283.453-24

Введение

В современном мире бурно развиваются технологии нейрорепротезирования и нейростимулирования, которые направлены на восстановление частей нервной системы или модуляцию импульсов, нарушенных в результате заболеваний, в том числе нейродегенеративных заболеваний или травм. Для контроля хронической боли, вызванной неудачной операцией на позвоночнике, стенокардией, заболеваниями периферических сосудов, рефлекторной нейроваскулярной дистрофией или фантомной болью, с помощью стимуляции электрическими импульсами спинного мозга необходимы биоэлектронные устройства, способные принимать электрические импульсы от нервной ткани и отправлять их в случае стимуляции. К таким нервным тканям можно отнести головной и спинной мозг, а также области периферических нервов [1]. Нервная система отвечает за транспортировку электрических сигналов, которые идут от

мозга к мышцам для вызывания мышечного движения и, наоборот, от органов чувств к мозгу (например, ощущения, слух и зрение). Устройства, обеспечивающие контакт с нервной тканью для выполнения диагностических и терапевтических функций, должны быть имплантируемыми на долгосрочный период времени. При этом для управления передачей болевых сигналов в мозг такие устройства имплантируются в область спины, а их электродная часть выступает в качестве нейроинтерфейса живых технических систем между генератором или приемником электрических сигналов и нервной тканью спинного мозга [2–7]. Нейроинтерфейсы изготавливаются со специфическими размерами и геометрией, а также электрическими и механическими свойствами, чтобы соответствовать биологическим требованиям с точки зрения их инвазивности, селективности и производительности [8,9]. Например, выгодной топологией нейроинтерфейса является микроэлектродная матрица, представляющая собой тонкий слой, несущий встроен-

ные структуры проводника [10,11]. Плотное расположение носителей заряда позволяет активировать большее количество дискретных нейронов или групп нейронов, что приводит к повышению локализации и контроля желаемого биологического ответа [12]. Поэтому для эффективной стимуляции нервной ткани необходимо получить микроэлектродные матрицы с высокой плотностью контактных областей [13]. В большинстве имплантируемых устройств высокопроизводительные нейроинтерфейсы характеризуются низким импедансом, высокой электропроводностью и емкостью инъекции заряда для зондирования и регистрации, а также безопасной и обратимой стимуляции [14].

С одной стороны, для создания эффективных имплантируемых нейроинтерфейсов необходимо уменьшать их размер, а с другой — уменьшение проводящего участка неизбежно сопровождается увеличением импеданса, следовательно, уменьшением отношения сигнал/шум. Поэтому размер нейроинтерфейса для клинического использования определяется компромиссом между размером и чувствительностью [15]. Electrodes с большей геометрической площадью поверхности могут инжектировать больше заряда до превышения электрохимически безопасных пределов [16], однако большие геометрические размеры ограничивают пространственную селективность и разрешение нейроинтерфейсов [17]. Чтобы увеличить емкость инъекции заряда, высокую способность переноса заряда и низкий импеданс для доставки сигнала с более высоким разрешением необходимо увеличить удельную поверхность электродной части нейроинтерфейса, особенно учитывая ограниченность пространства в таком органе, как спинной мозг. Это позволит разместить большое количество электродов для повышения селективности, точности и снижения энергопотребления. Повышения удельной поверхности можно достичь с помощью двух типов модификаций нейроинтерфейсов:

1) физические и химические методы для создания шероховатости поверхности;

2) методы формирования поверхности при нанесении пленок, композитов и наноматериалов с более высокой удельной поверхностью и необходимыми электрохимическими характеристиками.

При этом второй тип модификации обладает большей степенью управления структурными, механическими и электрофизическими параметрами поверхности за счет применения наноматериалов и их композиций с полимерами [18–22].

Перспективными материалами для создания нейроинтерфейсов могут являться углеродные наноматериалы по причине их высокой механической прочности и стабильности sp^2 -гибридизованной структуры при высоком аспектном соотношении размеров. Углеродные наноматериалы характеризуются высокой тепло- и электропроводностью при том, что размеры и структура сопоставимы с размерами и структурой основных белков внеклеточного матрикса [23]. С помощью внешне-

го воздействия возможно создавать каркасные структуры с соединениями, которые характеризуются sp^3 -гибридизацией [24]. К внешнему прецизионному воздействию можно отнести обработку лазерным излучением. Такая обработка слоев на основе углеродных нанотрубок на подложке и в объеме биосовместимой матрицы позволяет добиться управления структурой, механическими и электрофизическими характеристиками [25–28]. При электростимуляции важно доставлять заряд для активации потенциала действия без негативного воздействия на клетки. По этой причине необходимо обеспечить тесный контакт между нейроинтерфейсом и нервной тканью с взаимным соответствием структур с обеих сторон [29]. Применение одномерного материала углеродных нанотрубок, обладающего высокой подвижностью электронов при высоком аспектном соотношении и площади поверхности, обеспечивает уровень чувствительности биоэлектронных компонентов для измерения электрофизиологических свойств человека при долговременном мониторинге [30]. Таким образом, углеродные нанотрубки могут быть использованы для формирования эффективных нейроинтерфейсов с малыми площадями контактных площадок, но с высоким значением удельной поверхности при низком импедансе и высокой электропроводности как для стимулирующего воздействия и передачи электрических импульсов в ткани, так и для считывания сигналов с поверхности тканей.

В связи с вышеописанным в настоящей работе рассмотрены методы формирования электропроводящих поверхностей на основе углеродных нанотрубок и их композитных материалов в биополимерных матрицах с заданной структурой с высокой плотностью расположения носителей заряда, а также получены зависимости электропроводности и биосовместимости от структуры и состава сформированных покрытий для нейроинтерфейсов.

1. Материалы и методы исследований

1.1. Используемые материалы

Для формирования электропроводящих поверхностей для нейростимуляционных устройств использовались углеродные нанотрубки. Благодаря уникальным электрофизическим свойствам, нанотрубки используются в качестве активных элементов в функциональных устройствах и являются перспективными материалами для нанoeлектроники в виде вертикально ориентированных, неупорядоченных массивов на подложке или в объеме полимерной матрицы. Эффективным себя зарекомендовал метод, позволяющий контролируемо изменять форму, структуру и связи между нанотрубками при воздействии электромагнитным полем лазерного излучения. В связи с этим в настоящей работе предложено четыре вида сформированных лазерно-индуцированным методом образцов электропроводящих поверхностей на основе:

1) вертикально ориентированных массивов многостенных углеродных нанотрубок (МУНТ);

2) неупорядоченных массивов одностенных углеродных нанотрубок (ОУНТ);

3) вертикально ориентированных массивов МУНТ в матрице полимера;

4) неупорядоченных массивов ОУНТ в матрице полимера.

Для формирования композитных материалов на основе МУНТ и ОУНТ, в том числе биodeградируемых композитов, хорошо себя зарекомендовал биополимер бычьего сывороточного альбумина (БСА) [31,32]. Альбумин является транспортным белком крови благодаря наличию на внешней поверхности его молекулы аминокислотных остатков; молекулы альбумина имеют способность к сшивке под действием лазерного излучения [33].

1.2. Формирование лазерно-индуцированных образцов из вертикально ориентированных массивов МУНТ

Массивы МУНТ синтезировались методом плазменного химического осаждения паров из газовой фазы. В качестве исходных подложек использовались сильно легированные монокристаллические кремниевые пластины с проводимостью электронного типа. Изначально на подложку наносилась каталитическая пара металлов Ti (10 nm) и Ni (2 nm), обработанная в растворе Пирания, путем испарения электронным пучком. Далее были проведены стадии окислительного и восстановительного отжига для образования наночастиц катализатора на подложке. Синтез массива МУНТ проводился с использованием системы Oxford PlasmaLab System 100. Отжиг воспроизводился при окислении 280 °C в течение 5 min в среде газов O₂ и Ar с обработкой радиочастотным источником плазмы с мощностью 100 W. Восстановление осуществлялось при 700 °C в течение 5 min в среде газов NH₃ и Ar с обработкой радиочастотным источником плазмы с мощностью 100 W. Средний диаметр нанотрубок в массивах образца определялся в основном размером сформированных наночастиц катализатора на подложке. МУНТ имели длину 4–5 μm, диаметр 11–13 nm, а число стенок варьировалось в диапазоне 8–10.

Далее образец с вертикально ориентированным массивом МУНТ устанавливался на оптической оси, перпендикулярной сфокусированному лазерному излучению. Для лазерного воздействия на массив МУНТ параметры сканирования устанавливались в специализированном программном обеспечении. Использовался иттербиевый волоконный лазер с длиной волны 1064 nm, длительностью импульса 100 ns и частотой следования импульсов 100 kHz. Энергия импульса варьировалась в диапазоне 1.21–4.16 μJ, плотность энергии импульса находилась в диапазоне 0.4–2.2 J/cm². Для позиционирования лазерного луча над поверхностью образца использовался

гальванометрический сканер с двумя зеркалами. Затем излучение фокусировалось на поверхности образца с образованием лазерного пятна диаметром 35 μm. При определении траектории облучения был выбран вариант заполнения квадрата линиями с перекрытием лазерных точек. Степень перекрытия лазерных точек и скорость движения луча по траектории рассчитывалась с точки зрения сообщения одинакового количества энергии в заданную область массива МУНТ для компенсации интенсивности профиля гауссова пучка. Линии лазерных импульсов имели длину 5 mm и располагались параллельно друг другу на расстоянии 17 μm. Таким образом, были сформированы равномерно подвергшиеся одинаковому количеству лазерного излучения области массива МУНТ 10 × 10 mm.

1.3. Формирование лазерно-индуцированных образцов из неупорядоченных массивов ОУНТ

ОУНТ синтезировались электродуговым методом на Ni/Y-катализаторе, очищались в смеси HNO₃/H₂SO₄ с последующей промывкой до нейтральной реакции. Средний диаметр нанотрубок ~ 1.4–1.8 nm, длина — 0.3–0.8 μm, удельная поверхность — ~ 400 m²/g. Степень чистоты ОУНТ составляла 98%. На первом этапе формирования образцов изготавливалась дисперсная среда ОУНТ (концентрация 0.001 mg/ml) и органических растворителей, в состав которых входили этанол, изопропанол и диметилформамид. Для гомогенного распределения по объему ОУНТ дисперсная среда подвергалась обработке погружным ультразвуковым гомогенизатором Q700 Sonicator Qsonica при температуре 30–37 °C в течение 10 min с удельной мощностью 150 W/cm². Затем дисперсную среду обрабатывали ультразвуком в ванне Elmasonic S30N Elma с мощностью 80 W в течение 60 min. Концентрация нанотрубок составляла 0.001 mg/ml. На втором этапе готовая дисперсная среда наносилась на подложку из диоксида кремния размером 10 × 10 mm и толщиной оксидного слоя 0.52 μm. Предварительно подложка обрабатывалась ацетоном, этанолом и дистиллированной водой в ультразвуковой ванне в течение 5 min, а также ультрафиолетовым излучением в течение 20 min для обеспечения адгезии нанотрубок. Последовательное нанесение слоев на подложку осуществлялось при температуре подложки 120 °C для полного испарения растворителя из объема нанесенных слоев. Давление для подачи дисперсной среды через пневматическое сопло диаметром 0.5 mm составляло 2 bar. Вертикально установленный дозатор на трехмерную систему перемещения E2V Nordson EFD за счет равномерного длительного прохода вдоль подложки обеспечивал формирование равномерного слоя неупорядоченной системы ОУНТ толщиной около диаметра единичных ОУНТ и их пучков. Соответственно, для формирования слоя системы из ОУНТ толщиной

$\sim 500 \pm 100$ nm осуществлялось 500–1000 шагов спрей-нанесения. На третьем этапе использовалось лазерное воздействие на заданную площадь неупорядоченной системы ОУНТ в сканирующем режиме с плотностью энергии и мощности излучения 0.061 J/cm^2 и 343 kW/cm^2 соответственно. Площадь образца квадратной формы равномерно покрывалась лазерными пятнами диаметром $35 \mu\text{m}$. Таким образом, образцы представляли собой пленки из сваренных ОУНТ толщиной $0.8\text{--}1.2 \mu\text{m}$ на кремниевой подложке.

1.4. Формирование лазерно-индуцированных образцов из вертикально ориентированных массивов МУНТ в матрице БСА

Как и в случае лазерно-индуцированных образцов из вертикально ориентированных массивов МУНТ, для формирования образцов из вертикально ориентированных массивов МУНТ в матрице БСА МУНТ были синтезированы методом плазменного химического осаждения паров из газовой фазы на кремниевой пластине при аналогичных условиях. Далее сформированная поверхность помещалась в матрицу БСА. Для этого была изготовлена соответствующая суспензия дистиллированной воды и БСА с концентрацией 5 mass%, гомогенное распределение по объему которого достигалось путем обработки в ультразвуковой ванне с мощностью 80 W в течение 60 min. Впоследствии готовая суспензия наносилась на массивы МУНТ методом спрей-осаждения. В случае использования БСА, температура столика, оснащенного нагревательным элементом, который необходим для испарения жидкой компоненты суспензии, не превышала 50°C , чтобы не допустить денатурации белка, которая возникает при более высоких температурах. Для полного покрытия массивов МУНТ наносилось до 50 слоев.

На следующем этапе формирования образца была использована лазерная установка с быстрым сканированием, в которой сфокусированный пучок импульсного лазерного излучения перемещался по заданной траектории. Шаг лазерного сканирования составлял $100 \mu\text{m}$, а плотность энергии варьировалась в диапазоне от 0.001 до 0.017 J/cm^2 . Луч перемещался по траектории, описывающей квадрат, с наложением лазерных пятен друг на друга для компенсации интенсивности профиля гауссова пучка. Скорость движения луча по заданной траектории равнялась 500 mm/s , при этом линии лазерных импульсов имели длину 5 mm и располагались параллельно друг другу на расстоянии $17 \mu\text{m}$.

1.5. Формирование лазерно-индуцированных образцов из неупорядоченных массивов ОУНТ в матрице БСА

Первоначально, как описывалось ранее, неупорядоченные массивы ОУНТ были сформированы методом спрей-осаждения на кремниевой подложке. Для этого

аналогично была изготовлена гомогенная дисперсная среда с концентрацией ОУНТ 0.001 mg/ml , которая впоследствии с помощью распылительной установки слоями наносилась на нагретую подложку с целью формирования стабильного слоя неупорядоченных сетей ОУНТ толщиной $\sim 500 \pm 100$ nm.

Далее изготовленная система помещалась в матрицу БСА методом спрей-осаждения гомогенной суспензии полимера с концентрацией 5 mass% на нагретую углеродную поверхность. Параметры напыления подобны для образцов из вертикально ориентированных массивов МУНТ в матрице БСА, а именно температура 50°C , а количество нанесенных слоев 50. На заключительном этапе образцы из неупорядоченных массивов ОУНТ в матрице БСА были подвержены лазерно-индуцированному процессу с плотностью энергии $0.001\text{--}0.017 \text{ J/cm}^2$ и аналогичными параметрами сканирования.

1.6. Исследование структуры и электропроводности образцов

Исследование структурных характеристик образцов на кремниевых пластинах осуществлялось методом растровой электронной микроскопии (РЭМ) с использованием устройства FEI Helios NanoLab 650. Для массивов ОУНТ и МУНТ была установлена величина ускоряющего напряжения электронного столба на уровне 5 kV , а ток электронного зонда составлял 50 pA . Для образцов, покрытых БСА, ускоряющее напряжение и ток были заданы на уровнях 1 kV и 25 pA соответственно. Давление в вакуумной камере поддерживалось на уровне $3.9 \cdot 10^{-4} \text{ Pa}$. Образцы фиксировались на проводящей подложке с использованием углеродной ленты.

С использованием метода низкотемпературной азотной порометрии с помощью комплекса „Сорбтометр-М“ Катакон была исследована удельная поверхность наноматериалов. Образцы подвергались дегазации и охлаждению до температуры 77 K в жидком азоте. Далее происходила адсорбция азота на поверхности образца. Увеличивалась доля азота до достижения парциального давления, близкого к насыщенному. После этого образец нагревался и происходила десорбция азота с поверхности образца. Объемная доля азота в смеси детектировалась с помощью детектора теплопроводности. Выходным рабочим сигналом детектора являлся преобразованный в электрический сигнал пик повышенной концентрации азота при его тепловой десорбции с поверхности образца. Площадь этого пика пропорциональна объему азота, десорбированного с поверхности образца. После достижения парциального давления производилось построение изотермы десорбции. Для построения изотермы десорбции образец сначала насыщался азотом, затем менялся состав газовой среды и измерялось количество десорбированного азота. Удельная поверхность образцов рассчитывалась с использованием метода Barrett-Joyner-Halenda (BJH) [34].

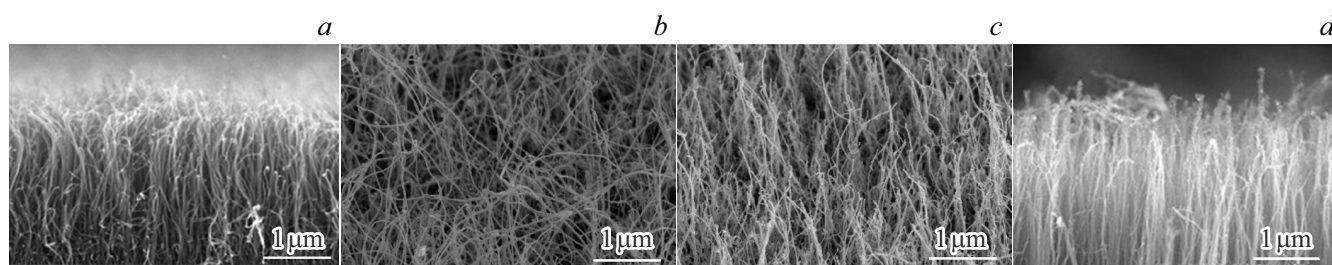


Рис. 1. Вертикально ориентированные массивы МУНТ на кремниевой подложке в исходном виде (*a, b*) и после лазерного воздействия (*c, d*).

Для определения удельной электропроводности пленок был выбран четырехзондовый метод Ван дер Пау, который позволяет измерять удельное сопротивление пленок с высокой точностью [35]. Наноматериалам в пленочном виде на подложке придавалась квадратная форма, а измерения проводились с помощью платиновых заостренных зондов Cascade Microtech PM5, подключенных к двухканальному прецизионному параметрическому анализатору Keysight B2912A.

1.7. Проведение исследований биосовместимости

Исследования совместимости полученных образцов с клетками были проведены на клеточной линии нервной ткани Neuro 2a, предоставленной Национальным исследовательским центром эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи. Проведено два типа исследований — оценка выживаемости клеток методом МТТ-теста и флуоресцентная микроскопия для более подробного анализа клеточной морфологии и распределения клеток по поверхности образца. Для каждого из исследований образцы помещались на дно культурального планшета и заливались клеточной суспензией в количестве $3 \cdot 10^5$ cell/ml. Планшеты далее помещались в CO_2 -термостат на 72 h, по истечении указанного срока был проведен МТТ-тест. Другая часть образцов через 72 h инкубации с клетками окрашивалась красителем Hoeschst 33342 и просматривалась с использованием конфокального лазерного сканирующего микроскопа FV3000 Olympus.

2. Результаты и обсуждение

2.1. Исследование структурных особенностей электропроводящих поверхностей на основе углеродных наноматериалов

В результате были сформированы четыре вида образцов электропроводящих поверхностей лазерно-индуцированным методом на основе:

- 1) вертикально ориентированных массивов МУНТ;
- 2) неупорядоченных массивов ОУНТ;
- 3) вертикально ориентированных массивов МУНТ в матрице БСА;

4) неупорядоченных массивов ОУНТ в матрице БСА.

На рис. 1 представлены РЭМ изображения исходного вертикально ориентированного массива МУНТ (рис. 1, *a, b*) и массива МУНТ после лазерного воздействия (рис. 1, *c, d*).

Как видно из РЭМ изображений (рис. 1, *a, b*), после синтеза МУНТ в массиве выглядели недостаточно выпрямленными, верхние концы нанотрубок были ориентированы случайным образом. После синтеза массивы МУНТ подвергались воздействию лазерного излучения в режиме сканирования с параметрами, описанными ранее. Как видно из РЭМ изображений (рис. 1, *c, d*), в результате лазерного воздействия МУНТ приобретали вертикальную ориентацию относительно подложки. Часть сублимированных включений углерода осаждалась на поверхности массива нанотрубок после лазерного воздействия. Верхние концы МУНТ были связаны друг с другом, таким образом были сформированы новые каналы, обеспечивающие более эффективный транспорт электронов по сравнению с исходным массивом МУНТ. Связывание нанотрубок осуществлялось благодаря образованию ковалентных связей между дефектными участками внешних слоев соседних нанотрубок, а также за счет формирования припоя в виде аморфного углерода, который возникает в результате сублимации дефектных открытых концов МУНТ под воздействием лазерной обработки.

Следующим этапом были сформированы неупорядоченные массивы ОУНТ на подложках. На рис. 2, *a, b* представлены РЭМ изображения поверхности массива ОУНТ после нанесения на подложку.

В исходном массиве присутствовали как отдельные ОУНТ, так и их пучки, диаметр которых достигал 40 nm. В результате лазерного воздействия на массив ОУНТ был достигнут эффект связывания ОУНТ и их пучков с образованием разветвленной сети (рис. 2, *c, d*). В местах перекрестного и перпендикулярного расположения трубок образовались соединения ОУНТ с X-, T- и Y-образными формами. Из полученных РЭМ изображений видно, что практически все области связывания ОУНТ между собой имеют цвет, схожий с цветом остальной поверхности нанотрубок. Это может быть связано с равномерным стеканием заряда со всей сети ОУНТ ввиду одинаковой электропроводности.

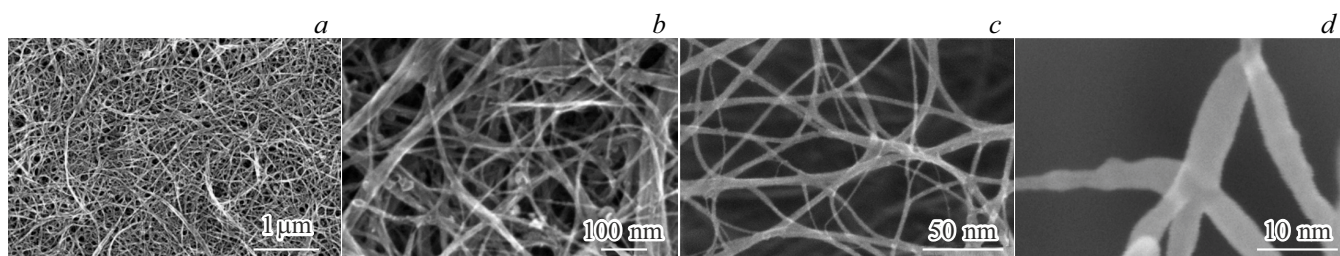


Рис. 2. Неупорядоченные массивы ОУНТ на кремниевой подложке в исходном виде (*a, b*) и после лазерного воздействия (*c, d*).

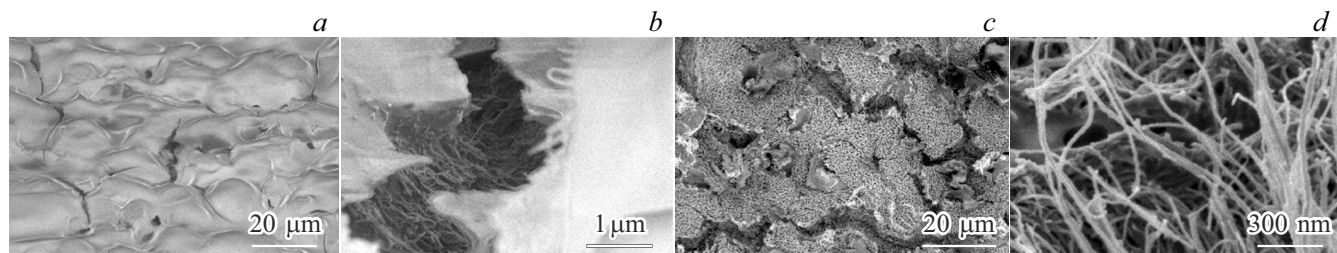


Рис. 3. Вертикально ориентированные массивы МУНТ в матрице БСА на кремниевой подложке в исходном виде (*a, b*) и после лазерного воздействия (*c, d*).

Далее методом РЭМ была проанализирована структура электропроводящей поверхности вертикально ориентированных массивов МУНТ в матрице БСА до и после лазерного воздействия с плотностью энергии в диапазоне $0.001\text{--}0.017\text{ J/cm}^2$ (рис. 3).

На изображениях РЭМ массива МУНТ, покрытого слоем БСА (до лазерного воздействия)? нанотрубки не видны (рис. 3, *a*). Поверхность биополимера характеризовалась редкими трещинами размером до $30\text{ }\mu\text{m}$, в которых было выявлено присутствие МУНТ, однако нанотрубки в области контакта с биополимером имели хаотическую ориентацию (рис. 3, *b*). Вертикальное осаждение распылением суспензии БСА, направленное перпендикулярно подложке, приводило к изменению расстояния между МУНТ и проявлению энергий связи между отдельными нанотрубками. В результате происходила переориентация нанотрубок, а также их переплетение и в некоторых случаях образование жгутов.

В процессе лазерного воздействия с плотностью энергии более 0.001 J/cm^2 энергия поглощается электронами и преобразуется в энергию атомов. Столкновение фононов с атомами углерода приводит к образованию дефектов типа вакансий и междоузлий в основной цепи нанотрубок, что приводит к разрыву и образованию новых С–С-связей в различных слоях МУНТ. Химические связи образуются на контактной поверхности связанных углеродных нанотрубок. Это приводит к реконструкции поверхности внешних графеновых слоев и уменьшению их диаметра. В области внешнего графенового слоя образуются соединения МУНТ, что обеспечивает сварку с образованием пар семи- и пятиугольников атомов углерода [36–38]. На рис. 3, *c, d* видно, что при воздействии лазерного излучения количество БСА на поверхности

образца уменьшилось, а синтезированные вертикально ориентированные массивы МУНТ изменили свою морфологию, с одной стороны, изгибаясь, с другой стороны, связываясь друг с другом, образуя электропроводящую сеть. Таким образом, при воздействии лазерного излучения на поверхность вертикально ориентированных массивов МУНТ в матрице БСА образуются Х-, Y- и Т-образные соединения между нанотрубками, которые формируют ячеистую структуру в матрице полимера. Кроме того, удалось подтвердить обволакивание данной сети слоем полимера, так как диаметр нанотрубок увеличился на 20–40 %. Дальнейшее увеличение плотности энергии до величин, превышающих 0.017 J/cm^2 , приводило к разрушению структуры образцов, связанному с сублимацией углерода.

Аналогично исследована структура электропроводящей поверхности неупорядоченных массивов ОУНТ в матрице БСА в исходном виде и после лазерного воздействия (рис. 4).

Полученные РЭМ изображения позволили охарактеризовать исходную поверхность до использования лазерно-индуцированного метода как более гладкую и равномерную, без видимых трещин (рис. 4, *a, b*). Как и в случае поверхности вертикально ориентированных массивов МУНТ в матрице БСА, после воздействия лазерного излучения часть слоя полимера была удалена, в связи с чем на рис. 4, *c, d* можно увидеть систему МУНТ, диаметр которых также был увеличен на 20–40 % из-за покрытия их внешней структуры слоем БСА. Помимо этого, также установлено, что лазерное воздействие с плотностью энергии в диапазоне $0.001\text{--}0.017\text{ J/cm}^2$ обеспечивает структурирование МУНТ в матрице БСА за счет их связывания друг с другом в местах дефектов.

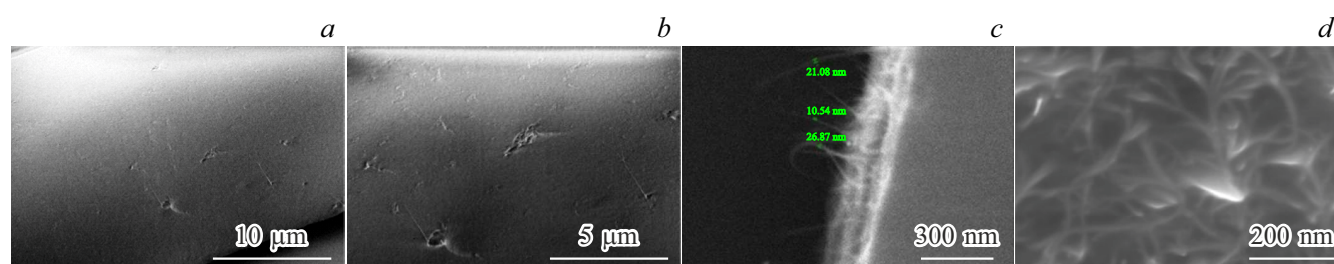


Рис. 4. Неупорядоченные массивы ОУНТ в матрице БСА на кремниевой подложке в исходном виде (*a, b*) и после лазерного воздействия (*c, d*).

Таблица 1. Удельная поверхность образцов на основе углеродных нанотрубок

Тип образца	Удельная поверхность исходных образцов, m^2/g	Удельная поверхность лазерно-индуцированных образцов, m^2/g
Вертикально ориентированные массивы МУНТ	310 ± 15	245 ± 8
Неупорядоченные массивы ОУНТ	435 ± 20	320 ± 15
Вертикально ориентированные массивы МУНТ в матрице БСА	7 ± 0.5	36 ± 4
Неупорядоченные массивы ОУНТ в матрице БСА	3 ± 0.2	27 ± 1.3

При этом после лазерного воздействия, помимо связывания нанотрубок между собой, в матрице альбумина наблюдался эффект вертикальной ориентации ОУНТ и их пучков из поверхности образца. При меньшей плотности энергии связывание нанотрубок не происходило, а при большей — структура разрушалась.

Исследование структурных особенностей и удельной поверхности в совокупности с электропроводностью сформированных образцов углеродных нанотрубок позволило выявить применимость в качестве контактных площадок для имплантируемой электродной матрицы нейроинтерфейса. Изолированные ОУНТ обладают наибольшей внешней удельной поверхностью, значение которой достигает $\sim 1300 \text{ m}^2/\text{g}$. Однако при образовании пучков из двух, трех и более нанотрубок, формирующихся под действием сил Ван-дер-Ваальса, удельная поверхность снижается до $200\text{--}400 \text{ m}^2/\text{g}$. При этом значения удельной поверхности изолированных МУНТ достигают меньших значений, чем ОУНТ, ввиду меньшего аспектного соотношения. В вертикально ориентированном массиве МУНТ значение удельной поверхности зависит, помимо морфологических особенностей отдельных нанотрубок, от плотности массива, что определяется плотностью формирования каталитических частиц в процессе синтеза нанотрубок. В табл. 1 приведены значения удельной поверхности полученных типов образцов на основе углеродных наноматериалов из МУНТ и ОУНТ, а также нанотрубок в матрице альбумина. Для каждого образца проводилось по 5 измерений, после чего рассчитывались средние значения и погрешности.

Установлено, что исходные образцы массивов МУНТ и ОУНТ характеризовались наибольшей удельной поверхностью, которая составила (310 ± 15) и $(435 \pm 20) \text{ m}^2/\text{g}$ соответственно, при этом удельная поверхность для лазерно-индуцированных образцов на основе МУНТ и ОУНТ снизилась, соответственно, на 21 и 27 %. Это может быть связано с образованием каркасного углеродного материала из нанотрубок и их пучков, характеризующихся наличием структурных элементов с большими размерами после лазерного воздействия. Покрытие слоем БСА вертикально ориентированных массивов МУНТ и неупорядоченных ОУНТ привело к резкому снижению удельной поверхности в 44 и 145 раз соответственно. Однако лазерное воздействие обеспечило удаление поверхностной части БСА и формирование каркасной структуры, совмещенной со слоем альбумина. Удельная поверхность таких слоев выросла в 5 и 9 раз для образцов на основе МУНТ и ОУНТ.

2.2. Исследование электропроводности поверхностей на основе углеродных наноматериалов

Для измерения электропроводности сформированных исходных и лазерно-индуцированных образцов использовался четырехзондовый метод. Регистрировалась электропроводность каждого образца в пяти точках, после чего были рассчитаны средние значения электропроводности и погрешности. Результаты измерений представлены в табл. 2.

Таблица 2. Электропроводность образцов на основе углеродных нанотрубок

Тип образца	Электропроводность исходных образцов, kS/m	Электропроводность лазерно-индуцированных образцов, kS/m
Вертикально ориентированные массивы МУНТ	0.8 ± 0.06	52 ± 9
Неупорядоченные массивы ОУНТ	2.3 ± 0.18	980 ± 43
Вертикально ориентированные массивы МУНТ в матрице БСА	0.1 ± 0.006	0.216 ± 0.015
Неупорядоченные массивы ОУНТ в матрице БСА	0.05 ± 0.004	0.12 ± 0.016

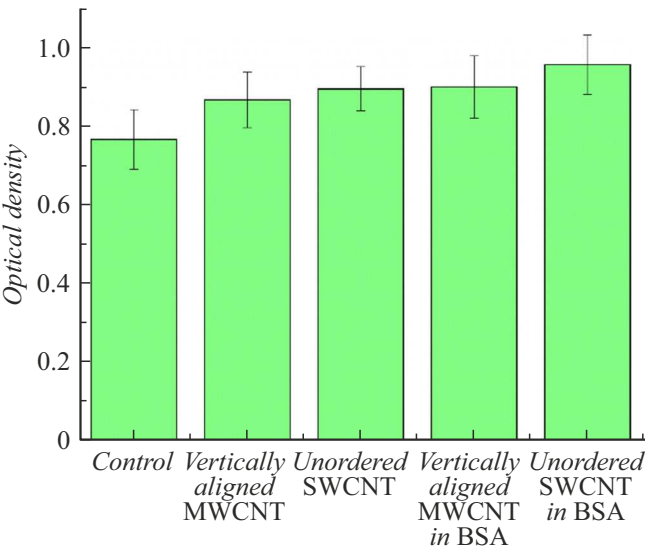


Рис. 5. Результаты МТТ-теста лазерно-индуцированных образцов на основе углеродных нанотрубок.

Из полученных результатов видно, что лазерное воздействие на вертикально ориентированный массив МУНТ привело к увеличению электропроводности в 65 раз до (52 ± 9) kS/m. Исходный неупорядоченный массив ОУНТ имел электропроводность (2.3 ± 0.18) kS/m. При этом обработка лазером привела к увеличению электропроводности в 426 раз до (980 ± 43) kS/m. Вертикально ориентированный массив МУНТ и неупорядоченный массив ОУНТ в матрице БСА имели более низкие значения электропроводности — (0.1 ± 0.007) kS/m и (0.05 ± 0.004) kS/m соответственно. В результате лазерной обработки электропроводность массива МУНТ увеличилась в 2.2 раза до (0.216 ± 0.015) kS/m, а электропроводность неупорядоченного массива ОУНТ увеличилась в 2.4 раза до (0.12 ± 0.016) kS/m. Для всех образцов лазерное воздействие приводит к увеличению электропроводности, что свидетельствует о формировании связей между углеродными нанотрубками и их пучками как в матрице БСА, так и без нее.

Таким образом, массивы вертикально ориентированных МУНТ, в том числе массивы МУНТ в матрице БСА и поднятые лазерным воздействием массивы ОУНТ с БСА могут обеспечивать высокую способность переноса заряда за счет высоких значений удельной поверхности, аспектного соотношения, электропроводности, а также высокого коэффициента усиления поля и стабильной плотности тока. Такие свойства полученных электропроводящих поверхностей на основе лазерно-индуцированных углеродных наноматериалов могут быть эффективны для стимуляции нервных тканей ввиду обеспечения низкого импеданса при доставке электрического сигнала с более высоким разрешением расположения электропроводящих областей нейроинтерфейса за счет увеличения удельной поверхности, что позволит разместить большое количество электродов для повышения селективности, точности и снижения энергопотребления, особенно при имплантации нейроинтерфейса на спинной мозг.

2.3. Биосовместимость поверхностей на основе углеродных наноматериалов

Для первоначальной оценки биосовместимости сформированных покрытий на основе углеродных наноматериалов были проведены исследования с использованием нервных клеток типа Neuro2a. Для клеточных исследований были выбраны лазерно-индуцированные образцы с высокими значениями электропроводности. По результатам проведенного МТТ-теста был построен график зависимости оптической плотности от состава образца (рис. 5). В качестве контроля выступало значение оптической плотности клеточной суспензии в пустой лунке культурального планшета. По данным графика видно, что для всех образцов клеточная выживаемость превышает контрольное значение, при этом наилучшие результаты наблюдаются для образцов из неупорядоченных массивов ОУНТ в матрице БСА. В данном случае присутствие биополимера оказывает положительное воздействие на выживаемость клеток, при этом для одностенных нанотрубок можно говорить о более эффективном оборачивании их полимером.

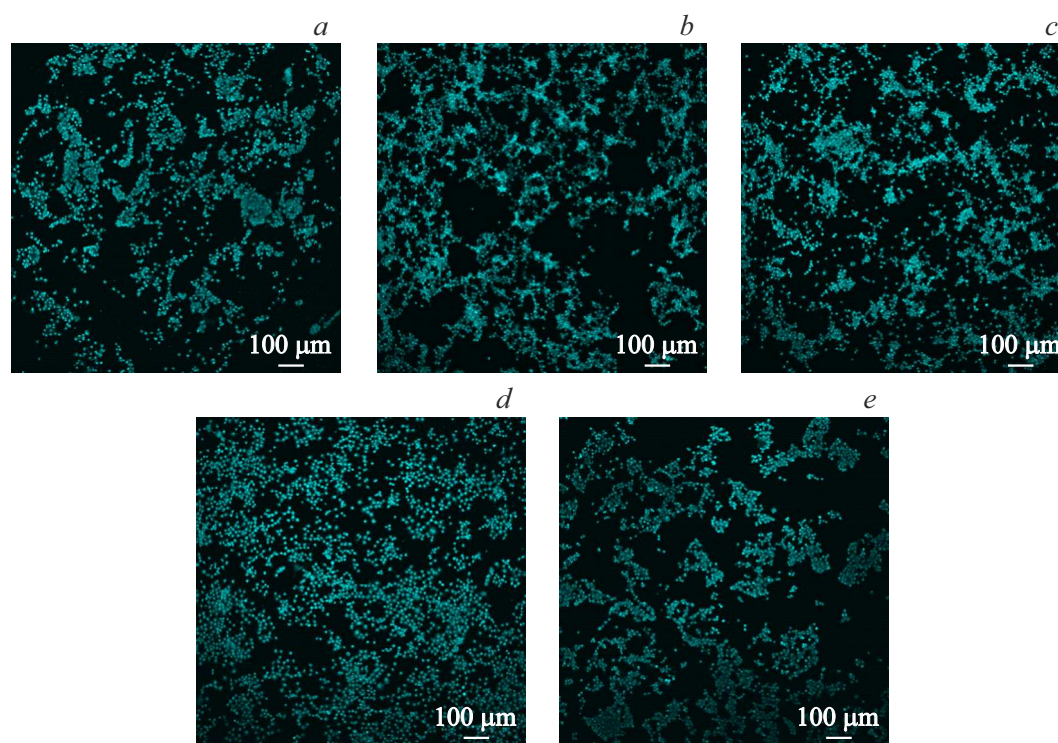


Рис. 6. Флуоресцентная микроскопия лазерно-индуцированных образцов на основе углеродных нанотрубок: вертикально ориентированных массивов МУНТ (а), неупорядоченных массивов ОУНТ (b), вертикально ориентированных массивов МУНТ в матрице БСА (с), неупорядоченных массивов ОУНТ в матрице полимера (d), контрольного образца (е).

Для исследований методом флуоресцентной микроскопии в качестве контроля использовалась чистая кремниевая пластина без образца. На экспериментальных образцах клетки более равномерно распределены по поверхности, их количество превышает количество клеток в контроле, что согласуется с данными МТТ-теста. При этом клеточная морфология сохранена, что указывает на отсутствие токсичности исследованных материалов (рис. 6).

Установлено, что для образца на основе ОУНТ в матрице БСА получено наибольшее количество клеток нервной ткани через 72 h инкубации, что на 24 % больше контрольного значения. Проведенные исследования биосовместимости указывают на возможность применения лазерно-индуцированных образцов на основе углеродных нанотрубок в качестве контактных площадок имплантируемых нейроинтерфейсов.

Заключение

В работе предложены методы формирования лазерно-индуцированных углеродных наноматериалов для создания электропроводящих поверхностей нейростимуляционных устройств. В результате были сформированы поверхности на основе вертикально ориентированных массивов МУНТ, неупорядоченных массивов ОУНТ, а также вертикально ориентированных массивов МУНТ

и неупорядоченных массивов ОУНТ в матрице БСА. Установлено, что под действием лазерного излучения с плотностью энергии в диапазоне $0.001\text{--}0.4\text{ J/cm}^2$ образуется углеродная каркасная структура со связанными углеродными нанотрубками и их пучками в неупорядоченных и в вертикально ориентированных массивах на подложке и в матрице БСА. Для поверхности на основе ОУНТ в матрице БСА получен эффект вертикальной ориентации нанотрубок перпендикулярно поверхности. Установлено, что удельная поверхность лазерно-индуцированных образцов на основе МУНТ и ОУНТ снизилась на 21 и 27 % соответственно, что может быть связано с образованием каркасного углеродного материала из нанотрубок и их пучков, характеризующихся наличием структурных элементов с большими размерами после лазерного воздействия. Удельная поверхность образцов с БСА значительно снизилась по сравнению с исходными массивами нанотрубок, однако лазерное воздействие обеспечило удаление поверхностной части БСА и формирование каркасной структуры, совмещенной со слоем альбумина. Удельная поверхность таких слоев выросла в 5 и 9 раз для образцов на основе МУНТ и ОУНТ. Установлено, что лазерное воздействие позволило увеличить электропроводность вертикально ориентированных массивов МУНТ в 65 раз до 52 kS/m, а неупорядоченных массивов ОУНТ в 426 раз до 980 kS/m. Добавление БСА к углеродным наноматериалам способствовало значительному снижению электропровод-

ности, однако в результате лазерной обработки электропроводность массива МУНТ увеличилась в 2.2 раза до 0.216 kS/m, а электропроводность неупорядоченного массива ОУНТ увеличилась в 2.4 раза до 0.12 kS/m. Таким образом, массивы вертикально ориентированных МУНТ, в том числе массивы МУНТ в матрице БСА и поднятые лазерным воздействием массивы ОУНТ с БСА могут обеспечивать высокую способность переноса заряда в нервные ткани при изготовлении из них электродных матриц имплантируемых нейроинтерфейсов с высоким разрешением для селективного взаимодействия с нервной тканью. Для этого проведены исследования с использованием клеток нервных тканей, показавшие превышение клеточной выживаемости на поверхностях из углеродных наноматериалов по сравнению с контрольным образцом. Наибольшая пролиферация клеток получена для покрытия из неупорядоченных массивов ОУНТ в матрице БСА (на 24% больше по сравнению с контрольным значением). В данном случае присутствие биополимера оказывает положительное воздействие на выживаемость клеток. Проведенные исследования биосовместимости указывают на возможность применения лазерно-индуцированных образцов на основе углеродных нанотрубок в качестве контактных площадок имплантируемых нейроинтерфейсов.

Финансирование работы

Работа выполнена в рамках крупного научного проекта при финансовой поддержке Российской Федерации в лице Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках соглашения № 075-15-2024-555 от 25 апреля 2024 года.

Конфликт интересов

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Список литературы

- [1] L.J. Epstein, M. Palmieri. *Mount Sinai J. Medicine: A. J. Translational and Personalized Medicine*, **79** (1), 123 (2012). DOI: 10.1002/msj.21289
- [2] L. Theogarajan. *Neuroscience Lett.*, **519** (2), 129 (2012). DOI: 10.1016/j.neulet.2012.02.001
- [3] S.K. Kelly, D.B. Shire, J. Chen, P. Doyle, M.D. Gingerich, S.F. Cogan, W.A. Drohan, S. Behan, L. Theogarajan, J.L. Wyatt, J.F. Rizzo III. *IEEE Transactions on Biomed. Eng.*, **58** (11), 3197 (2011). DOI: 10.1109/TBME.2011.2165713
- [4] M.L. Carlson, C.L. Driscoll, R.H. Gifford, S.O. McMenomey. *Otolaryngologic Clinics of North America*, **45** (1), 221 (2012). DOI: 10.1016/j.otc.2011.09.002
- [5] T. Wolter. *J. Pain Res.*, **2014** (7), 651 (2014). DOI: 10.2147/jpr.S37589
- [6] K.M. Alo, J. Holsheimer. *Neurosurgery*, **50** (4), 690 (2002). DOI: 10.1097/00006123-200204000-00003
- [7] R. Melzack, P.D. Wall. *Science*, **150** (3699), 971 (1965). DOI: 10.1126/science.150.3699.971
- [8] C. Boehler, T. Stieglitz, M. Asplund. *Biomaterials*, **67**, 346 (2015). DOI: 10.1016/j.biomaterials.2015.07.036
- [9] K. Bradley. *Pain Medicine*, **7** (suppl_1), S27 (2006). DOI: 10.1111/j.1526-4637.2006.00120.x
- [10] R.A. Normann, E. Fernandez. *J. Neural Eng.*, **13** (6), 061003 (2016). DOI: 10.1088/1741-2560/13/6/061003
- [11] C.J. Hayden, C. Dalton. *Appl. Surf. Sci.*, **256** (12), 3761 (2010). DOI: 10.1016/j.apsusc.2010.01.022
- [12] H. Cagnan, T. Denison, C. McIntyre, P. Brown. *Nature Biotechnol.*, **37** (9), 1024 (2019). DOI: 10.1038/s41587-019-0244-6
- [13] R.A. Green, N.H. Lovell, G.G. Wallace, L.A. Poole-Warren. *Biomaterials*, **29** (24–25), 3393 (2008). DOI: 10.1016/j.biomaterials.2008.04.047
- [14] P. Daubinger, J. Kieninger, T. Unmüssig, G. A. Urban. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **16** (18), 8392 (2014). DOI: 10.1039/c4cp00342j
- [15] C. Boehler, T. Stieglitz, M. Asplund. *Biomaterials*, **67**, 346 (2015). DOI: 10.1016/j.biomaterials.2015.07.036
- [16] S.F. Cogan. *Annu. Rev. Biomed. Eng.*, **10** (1), 275 (2008). DOI: 10.1146/annurev.bioeng.10.061807.160518
- [17] R.A. Green, P.B. Matteucci, C.W.D. Dodds, J. Palmer, W.F. Dueck, R.T. Hassarati, P.J. Byrnes-Preston, N.H. Lovell, G.J. Suaning. *J. Neural Eng.*, **11** (5), 056017 (2014). DOI: 10.1088/1741-2560/11/5/056017
- [18] E. Ben-Jacob, Y. Hanein. *J. Mater. Chem.*, **18** (43), 5181 (2008). DOI: 10.1039/b805878b
- [19] N. Driscoll, K. Maleski, A.G. Richardson, B. Murphy, B. Anasori, T.H. Lucas, Y. Gogotsi, F. Vitale. *J. Visualized Experiments*, **156**, e60741 (2020). DOI: 10.3791/60741
- [20] T. Latif, M. McKnight, M.D. Dickey, A. Bozkurt. *PLoS One*, **13** (10), e0203880 (2018). DOI: 10.1371/journal.pone.0203880
- [21] R. Green, M.R. Abidian. *Adv. Mater.*, **27** (46), 7620 (2015). DOI: 10.1002/adma.201501810
- [22] S.K. Seidlits, J.Y. Lee, C.E. Schmidt. *Nanomedicine*, **3** (2), 183 (2008). DOI: 10.2217/17435889.3.2.183
- [23] S.H. Ku, M. Lee, C.B. Park. *Adv. Healthcare Mater.*, **2** (2), 244 (2013). DOI: 10.1002/adhm.201200307
- [24] J. Kim, G.G. Kim, S. Kim, W. Jung. *Appl. Phys. Lett.*, **108**, 203110 (2016). DOI: 10.1063/1.4952397
- [25] A.Y. Gerasimenko, A.V. Kuksin, Y.P. Shaman, E.P. Kitsyuk, Y.O. Fedorova, D.T. Murashko, A.A. Shamanaev, E.M. Eganova, A.V. Sysa, M.S. Savelyev, D.V. Telyshev, A.A. Pavlov, O.E. Glukhova. *Nanomaterials*, **12** (16), 2812 (2022). DOI: 10.3390/nano12162812
- [26] A.Y. Gerasimenko, A.V. Kuksin, Y.P. Shaman, E.P. Kitsyuk, Y.O. Fedorova, A.V. Sysa, A.A. Pavlov, O.E. Glukhova. *Nanomaterials*, **11**, 1875 (2021). DOI: 10.3390/NANO11081875
- [27] A.Y. Gerasimenko, G.N. Ten, D.I. Ryabkin, N.E. Shcherbakova, E.A. Morozova, L.P. Ichkitidze. *Spectrochim. Acta Part A Mol. Biomol. Spectrosc.*, **227**, 117682 (2020). DOI: 10.1016/j.saa.2019.117682
- [28] A.Y. Gerasimenko, U.E. Kurilova, M.S. Savelyev, D.T. Murashko, O.E. Glukhova. *Compos. Struct.*, **260**, 113517 (2021). DOI: 10.1016/j.compstruct.2020.113517
- [29] B.C. Kang, T.J. Ha. *Jpn. J. Appl. Phys.*, **57** (5S), 05GD02 (2018). DOI: 10.7567/JJAP.57.05GD02

- [30] Q.L. Zhao, Z.M. Wang, J.H. Chen, S.Q. Liu, Y.K. Wang, M.Y. Zhang, J.-J. Di, G.-P. He, L. Zhao, T.-T. Su, J. Zhang, X. Liang, W.-L. Song, Z.L. Hou. *Nanoscale*, **13** (24), 10798 (2021). DOI: 10.1039/D0NR08032B
- [31] A.Y. Gerasimenko, G.N. Ten, D.I. Ryabkin, N.E. Shcherbakova, E.A. Morozova, L.P. Ichkitidze. *Spectrochim. Acta Part A Mol. Biomol. Spectrosc.*, **227**, 117682 (2020). DOI: 10.1016/j.saa.2019.117682
- [32] A.Y. Gerasimenko, U.E. Kurilova, M.S. Savelyev, D.T. Murashko, O.E. Glukhova. *Compos. Struct.*, **260**, 113517 (2021). DOI: 10.1016/j.compstruct.2020.113517
- [33] Z. Han, H. Kong, J. Meng, C. Wang, S. Xie, H. Xu. *J. Nanosci. Nanotechnol.*, **9** (2), 1400 (2009). DOI: 10.1166/jnn.2009.C165
- [34] E.P. Barrett, L.G. Joyner, P.P. Halenda. *J. American Chem. Society*, **73** (1), 373 (1951). DOI: 10.1021/ja01145a126
- [35] L.P. Ichkitidze, A.Y. Gerasimenko, V.M. Podgaetsky, S.V. Selishchev, A.A. Dudin, A.A. Pavlov. *Mater. Phys. Mechan.*, **37** (2), 140 (2018).
- [36] A.V. Krashennnikov, K. Nordlund, M. Sirviö, E. Salonen, J. Keinone. *Phys. Rev. B*, **63** (24), 245405 (2001).
- [37] A.Y. Gerasimenko, O.E. Glukhova, G.V. Savostyanov, V.M. Podgaetsky. *J. Biomed. Opt.*, **22** (6), 065003 (2017).
- [38] A.Y. Gerasimenko, A.V. Kuksin, Y.P. Shaman, E.P. Kitsyuk, Y.O. Fedorova, A.V. Sysa, A.A. Pavlov, O.E. Glukhova. *Nanomaterials*, **11**, 1875 (2021).