

**Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина
Российской академии наук**

На правах рукописи

Макринский Кирилл Игоревич

**ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИЕ СПОСОБЫ НАНЕСЕНИЯ И IN
VIVO КОНТРОЛЯ БИОАКТИВНЫХ ПОКРЫТИЙ НА
МЕДИЦИНСКИХ ИЗДЕЛИЯХ**

Специальность: 1.4.6. Электрохимия

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени

кандидата физико-математических наук

Научный руководитель:

**Батищев Олег Вячеславович,
доктор физико-математических наук**

Москва – 2026

ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	5
ВВЕДЕНИЕ.....	7
Актуальность темы исследования.....	7
Цель и задачи.....	9
Научная новизна	10
Научно-практическая значимость работы	11
Положения, выносимые на защиту.....	12
Степень достоверности и апробация результатов.....	13
Публикации	14
Структура и объем работы.....	14
Личный вклад автора.....	14
ГЛАВА 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР.....	15
1.1. Медицинские изделия с покрытиями: электрохимический вызов.....	15
1.2. Электрохимические процессы при электроосаждении биополимерных покрытий	17
1.3. Электрохимия коррозии и пассивные методы её мониторинга.....	23
1.4. Шумовая спектроскопия Чебышёва: теоретические основы и место среди методов анализа электрохимического шума	29
1.5. Проблема параметрического пространства электроосаждения и вычислительные подходы к систематизации данных	32
1.6. Постановка научной проблемы: электрохимия как единая сквозная методология жизненного цикла покрытия	35
ГЛАВА 2. МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	38
2.1. Алгоритмы на основе БЯМ для извлечения структурированных данных из научной литературы.....	38
2.1.1. Предварительная обработка статей.....	39
2.1.2. Извлечение параметров и валидация	40
2.1.3. База данных и интерфейс запросов	41

2.2. Методика исследования электроосаждения и биоактивности композитных покрытий на Ti6Al4V	42
2.2.1. Материалы, подготовка поверхности и растворы	42
2.2.2. Электрохимические измерения, поляризационные кривые и электроосаждение.....	43
2.2.3. Постобработка, характеристика и биологические тесты <i>in vitro</i>	44
2.3. Регистрация и обработка электрохимических шумов (СЭШ на основе дискретного преобразования Чебышёва)	46
2.3.1. Аппаратура и ZRA-конфигурация.....	46
2.3.2. Алгоритм обработки данных: параметры реализации и парциальная дисперсия	47
2.4. Методика биокоррозионных испытаний алюминиевых сплавов <i>in vitro</i> в бактериальной среде	48
2.4.1. Материалы, изготовление электродов и приготовление бактериальной среды	48
2.4.2. Протокол инкубации, измерений и обработки данных.....	49
2.5. Методика вычислительного моделирования электрохимических измерений <i>in vivo</i> (BioElectroSynth)	50
2.5.1. Моделирование сигнала: электрохимический шум, биоэлектрические помехи	51
2.5.2. Эквивалентные схемы и двухзонная модель покрытия	53
2.5.3. Дизайн Монте-Карло и статистический анализ.....	55
2.6. Методика эксперимента <i>in vivo</i> на мышинной модели.....	56
2.6.1. Материалы, изготовление электродов и хитозановое покрытие	56
2.6.2. Хирургическая процедура и протокол измерений.....	57
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ: ВЫБОР ПАРАМЕТРОВ И НАНЕСЕНИЕ БИОАКТИВНЫХ ПОКРЫТИЙ	59
3.1. Результаты БЯМ-анализа параметров электроосаждения хитозана из базы научных публикаций.....	59

3.2. Электроосаждение композитного покрытия Chit/HAp/VEGF на лазерно-обработанном Ti6Al4V	63
3.3. Биологические свойства композитного покрытия <i>in vitro</i>	67
ГЛАВА 4. РЕЗУЛЬТАТЫ: ПОШАГОВАЯ ВАЛИДАЦИЯ ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА ПОКРЫТИЙ.....	72
4.1. Валидация <i>in vitro</i> : ускоренный метод биокоррозионных испытаний алюминиевых сплавов в бактериальной среде.....	72
4.2. Предиктивное моделирование электрохимических измерений <i>in vivo</i> (BioElectroSynth).....	75
4.3. Валидация <i>in vivo</i> : мониторинг биокоррозии Mg-сплава AZ91 с хитозановым покрытием методом СЭШ Чебышёва.....	82
4.4. Сопоставление трёх этапов валидации и общие закономерности метода СЭШ для биокоррозионного мониторинга	87
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	89
ВЫВОДЫ.....	91
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	93
БЛАГОДАРНОСТИ.....	105

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

- АЦП – аналого-цифровой преобразователь
- МСК – мезенхимальные стромальные клетки
- ПРЦ – потенциал разомкнутой цепи
- СКО – среднеквадратичное отклонение
- СЭМ – сканирующая электронная микроскопия
- СЭШ – спектроскопия электрохимических шумов
- СЭИ – спектроскопия электрохимического импеданса
- ЭКГ – электрокардиограмма
- ЭМГ – электромиограмма
- API – интерфейс программирования приложений (Application Programming Interface)
- AZ91 – магниевый сплав (Mg–9%Al–1%Zn)
- Chit – хитозан (chitosan)
- CPE – элемент постоянной фазы (Constant Phase Element)
- DMEM – модифицированная среда Дульбекко (Dulbecco's Modified Eagle Medium)
- EIS – электрохимическая импедансная спектроскопия
- F1 – F1-мера (гармоническое среднее precision и recall)
- FBS – эмбриональная бычья сыворотка (Fetal Bovine Serum)
- FFT – быстрое преобразование Фурье
- GUI – графический пользовательский интерфейс
- hMSC – мезенхимальные стромальные клетки человека (human Mesenchymal Stromal Cells)
- HAp – гидроксиапатит
- JSON – формат обмена данными (JavaScript Object Notation)
- БЯМ – большая языковая модель (Large Language Model)
- NER – распознавание именованных сущностей (Named Entity Recognition)
- NSR – отношение шум/чувствительность (Noise-to-Sensitivity Ratio)
- OLS – обычный метод наименьших квадратов (Ordinary Least Squares)

PDF – переносимый формат документов (Portable Document Format)

PSD – спектральная плотность мощности (Power Spectral Density)

СКЗ – среднеквадратичное значение (Root Mean Square)

SNR – отношение сигнал/шум (Signal-to-Noise Ratio)

Ti₆Al₄V (BT6) – титановый сплав

VEGF – сосудистый эндотелиальный фактор роста (Vascular Endothelial Growth Factor)

VEGFR – рецептор сосудистого эндотелиального фактора роста

ZRA – амперметрия нулевого сопротивления (Zero Resistance Ammetry)

ДЭС – двойной электрический слой

ЭФМ – электрофоретическая миграция

NDE – эффект отрицательной разности (Negative Difference Effect)

SBF – имитированная биологическая жидкость (Simulated Body Fluid)

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Современная медицина требует создания не просто биоактивных поверхностей, а полимерных покрытий-носителей, способных доставлять и контролируемо высвобождать терапевтические агенты непосредственно в зоне имплантации. Электрохимическое осаждение хитозана признано одним из наиболее разработанных методов формирования таких матриц, благодаря технологическому удобству, рН-управляемости процесса и, что критически важно, возможности включения высокомолекулярных терапевтических белков без их денатурации. Общим для всех подобных медицинских изделий является то, что и само нанесение покрытий-носителей, и последующий мониторинг их состояния в организме базируются на единых электрохимических принципах.

Настоящая работа направлена на создание серии экспериментальных моделей, описывающих жизненный цикл хитозановых покрытий-носителей. Целевая система (Ti/Chit-NAp-VEGF) выступает в роли прототипа лекарственного биоактивного покрытия на титановом сплаве, где хитозан является модельной полимерной матрицей, а VEGF (фактор роста эндотелия сосудов) служит модельным высокомолекулярным терапевтическим белком. Валидационная *in vivo* модель (Mg/хитозан) представляет собой инструментальную систему на основе биорезорбируемого магниевое сплава, обеспечивающую быструю кинетику деградации *in vivo*. Данная модель используется для оперативной отработки методов электрохимического мониторинга, которые в дальнейшем могут быть применимы к лекарственным покрытиям с медленной деградацией. Скрининговая *in vitro* модель (Al/Zn в бактериальной среде) служит в качестве ускоренной экспериментальной системы для отработки способов регистрации спонтанных электрохимических

флуктуаций и оценки барьерных свойств покрытий-носителей в условиях микробной агрессии.

Реализация единого электрохимического подхода сталкивается с необходимостью создания комплексной методологии, охватывающей три взаимосвязанных компонента.

Первый компонент — систематизация параметров синтеза. Выбор оптимальных параметров электроосаждения полимерных матриц-носителей из массива данных, представленных в сотнях разрозненных публикаций, невозможен вручную, что требует применения больших языковых моделей (БЯМ) для извлечения искомой информации в структурированном виде.

Второй компонент — направленное формирование матрицы с заданными функциями. Электроосаждение композитных покрытий-носителей сопряжено с конкурирующими процессами (экранирование катода добавками, локальное изменение pH), оптимизация которых критична для сохранения структуры матрицы и активности модельного белка.

Третий компонент — контроль деградации *in vivo* в реальном времени. Большинство существующих методов (микро-КТ, анализ ионов) не являются непрерывными и пассивными. При этом активные электрохимические методы не применимы в условиях *in vivo* деградации из-за риска необратимого повреждения. Единственной альтернативой становится пассивный мониторинг электрохимических шумов (в частности, СЭШ Чебышёва в конфигурации ZRA), однако он требует предиктивного вычислительного моделирования порогов обнаружения дефектов матриц до начала экспериментов на животных.

Заполнение пробела между выбором параметров с помощью БЯМ, направленным электроосаждением и пассивным *in vivo* мониторингом деградации с помощью единой сквозной электрохимической методологии определяет актуальность настоящей диссертационной работы.

Цель и задачи

Целью настоящей работы является разработка электрохимических методов нанесения биоактивных покрытий на медицинские изделия и методов *in vivo* контроля их состояния с применением вычислительных подходов для оптимизации параметров.

Для достижения поставленной цели были сформулированы и решены следующие задачи:

1. Разработать и применить алгоритм на основе больших языковых моделей (БЯМ) для извлечения и систематизации параметров электроосаждения хитозана из более чем 500 научных публикаций, и на основе полученных данных определить оптимальные параметры электроосаждения композитного покрытия для титановых подложек.

2. На основе данных БЯМ-анализа разработать метод электроосаждения композитного биоактивного покрытия Chit/HAp/VEGF на лазерно-обработанном сплаве Ti_6Al_4V , и подтвердить биоактивность покрытия по независимым показателям *in vitro*.

3. Разработать ускоренный *in vitro* метод биокоррозионных испытаний алюминиевых сплавов в бактериальной среде на основе регистрации флуктуаций тока между идентичными электродами (ZRA), доказав принципиальную возможность обнаружения биокоррозии с помощью данной методики.

4. Разработать вычислительную модель для предиктивного проектирования *in vivo* электрохимических измерений, включающую анатомический фантом, модель коррозионного шума, биоэлектрические помехи и метод Монте-Карло для оценки порогов обнаружения дефектов покрытий.

5. Адаптировать метод СЭШ Чебышёва для *in vivo* мониторинга биодеградации хитозанового покрытия на магниевых имплантатах в условиях

подкожной имплантации на мышинной модели и верифицировать предсказания вычислительной модели реальными экспериментальными данными.

Научная новизна

Все результаты, представленные в настоящей работе, являются новыми.

В частности:

1. Впервые разработан и применён алгоритм на основе больших языковых моделей (БЯМ) для систематизации параметров электроосаждения хитозана из массива научных публикаций. Показано, что стандартные метрики информационного поиска (F1-мера) не отражают фактологическую точность извлечения контекстных ассоциаций параметров, что обосновывает необходимость применения двухуровневой валидации с использованием метода «БЯМ-судья» для создания достоверных баз знаний в электрохимии.

2. Впервые метод спектроскопии электрохимических шумов на основе дискретного преобразования Чебышёва адаптирован для пассивного *in vivo* мониторинга биодegradации покрытий на магниевых имплантатах. Установлено, что динамика парциальной дисперсии спектра позволяет в реальном времени оценивать интегральную кинетику изменения барьерных свойств поверхности (тенденцию к пассивации или деградации покрытия), при этом пассивный характер измерений позволяет избежать искажений, неизбежных при использовании активных электрохимических методов из-за эффекта отрицательной разности.

3. Впервые создана вычислительная модель (BioElectroSynth) электрохимических ZRA-измерений *in vivo*, включающая анатомический фантом для генерации биоэлектрических помех, двухзонную импедансную модель покрытия и факториальный дизайн Монте-Карло. Показано, что данная модель позволяет количественно спрогнозировать пороги статистического обнаружения дефектов покрытия (вплоть до 2% площади при высоком сопротивлении покрытия) на фоне кардиальных и миографических

артефактов, что обосновывает выбор оптимальной конфигурации датчиков до начала экспериментов на животных.

4. Впервые реализована ступенчатая валидация электрохимического шумового мониторинга покрытий с нарастающей сложностью среды (*in vitro* → вычислительное моделирование → *in vivo*). Установлено, что интегральные метрики интенсивности шума (среднеквадратичное отклонение и парциальная дисперсия) сохраняют высокую информативность для оценки кинетики деградации полимерных матриц-носителей, что обосновывает возможность переноса метода от ускоренных скрининговых испытаний в бактериальной среде к условиям подкожной имплантации.

Научно-практическая значимость работы

Практическая значимость полученных результатов заключается в создании сквозной электрохимической методологии, охватывающей полный жизненный цикл полимерных покрытий-носителей: от предиктивного выбора параметров их синтеза с помощью больших языковых моделей до пассивного *in vivo* мониторинга биodeградации. Данный подход способствует более глубокому пониманию функционирования матриц в биологической среде и открывает перспективы для разработки имплантатов с программируемым высвобождением терапевтических агентов, что необходимо для повышения эффективности регенеративной медицины.

Фундаментальное исследование процессов на межфазной границе «имплантат–биосреда» позволило создать вычислительную модель BioElectroSynth и прототип биоактивного покрытия (Chit/HAp/VEGF). Предложенная модель обеспечивает предиктивный дизайн *in vivo* экспериментов, позволяя отбраковывать статистически необеспеченные конфигурации датчиков до испытаний на животных. Разработанные ускоренный *in vitro* метод и пассивный шумовой мониторинг предполагают новый способ контроля целостности матриц без внешнего возмущения

системы. В результате могут быть созданы новые протоколы оценки имплантатов и медицинские изделия, механизм действия которых основан на контролируемой локальной стимуляции васкуляризации и остеоинтеграции.

Кроме того, примененный в работе подход к рассмотрению биорезорбируемых сплавов с позиций пассивной шумовой спектроскопии и вычислительного анализа может быть распространен на широкий класс медицинских материалов (цинковые, железные сплавы) и полимерных матриц. Интерпретация данных на основе метрик, свободных от артефактов эффекта отрицательной разности, позволяет взглянуть на проблему биокоррозии с новой методологической позиции и разрешить противоречия, неизбежно возникающие при экстраполяции результатов классических активных методов *in vitro* на реальную кинетику деградации *in vivo*.

Положения, выносимые на защиту

1. Для извлечения параметров электроосаждения хитозана из научной литературы стандартной количественной оценки качества больших языковых моделей по F1-мере недостаточно, поскольку она не выявляет ошибки контекстной связи между подложкой, составом раствора, режимом осаждения и результатом. Двухуровневая валидация, сочетающая F1-меры и проверку фактологических утверждений методом большой языковой модели-судьи, обеспечивает корректное формирование базы параметров электроосаждения.

2. Гальваностатическое электроосаждение при плотности тока 1 мА/см² из раствора хитозана с гидроксиапатитом при pH 5 на лазерно-текстурированную поверхность Ti6Al4V обеспечивает формирование композитного покрытия Chit/HAp/VEGF, обладающего выраженной биоактивностью *in vitro* по показателям адгезии мезенхимальных стволовых клеток, активности щелочной фосфатазы и экспрессии VEGFR.

3. Вычислительная модель BioElectroSynth, включающая анатомический фантом, биоэлектрические помехи, двухзонную импедансную модель

покрытия и факториальный дизайн Монте-Карло, позволяет до эксперимента *in vivo* количественно оценивать рабочее окно пассивной регистрации токовых шумов и минимально обнаружимую долю дефекта покрытия в заданной конфигурации электродов.

4. Пассивная регистрация спонтанных токовых флуктуаций между электродами позволяет пассивно оценивать изменение коррозионной активности систем «металл — покрытие — биосреда»: *in vitro* она выявляет снижение активности биорезорбции алюминиевого сплава с защитным покрытием, а *in vivo* расчёт парциальной дисперсии спектра Чебышёва позволяет отслеживать разнонаправленную динамику шумовой активности непокрытых и покрытых хитозаном электродов из магниевого сплава AZ91 без наложения внешней поляризации.

Степень достоверности и апробация результатов

Степень достоверности результатов проведенных исследований обеспечивается использованием комплекса современных электрохимических, физико-химических и микроскопических методов, а также совпадением экспериментальных данных *in vitro* и *in vivo* с предсказаниями вычислительных моделей.

Основные результаты диссертационной работы были доложены и обсуждены на следующих российских и международных научных конференциях:

- 1) XIX Конференции молодых учёных, аспирантов и студентов «ФИЗИКОХИМИЯ - 2025» (Москва, Россия) 2025
- 2) XVIII всероссийская научно-практическая конференция им. А.Ю. Барышникова «Новые перспективные противоопухолевые препараты и медицинские технологии: проблемы, достижения, перспективы» (Москва, Россия) 2025

- 3) Международная конференция «Биоматериалы: от исследований к практике» (Москва, Россия) 2025
- 4) IX Международная конференция "Супрамолекулярные системы на поверхности раздела" (Туапсе, Россия)
- 5) XX Конференции молодых учёных, аспирантов и студентов «ФИЗИКОХИМИЯ - 2026» (Москва, Россия) 2026

Публикации

По материалам диссертации опубликовано 6 печатных работ, из них 4 публикации в рецензируемых научных изданиях, индексируемых базами Scopus, Web of Science и RSCI, а также получено 2 патента РФ на изобретение.

Структура и объем работы

Диссертационная работа изложена на 105 страницах машинописного текста, состоит из введения, четырех глав, заключения, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы, включающего 87 наименований. Работа содержит 23 рисунка 1 таблицу.

Личный вклад автора

Автор принимал непосредственное участие на всех этапах выполнения диссертационной работы, включая постановку задач и планирование экспериментов, а также проведение исследований, обработку и интерпретацию полученных результатов, а также подготовку материалов для публикаций. Разработка алгоритма применения БЯМ, вычислительной модели BioElectroSynth, а также математический анализ электрохимических шумов и проведение *in vivo* исследований выполнены автором лично.

ГЛАВА 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

1.1. Медицинские изделия с покрытиями: электрохимический вызов

Медицинские имплантаты, вводимые в организм для замещения или поддержки повреждённых тканей и органов, составляют одну из наиболее динамично развивающихся областей биоматериаловедения. Успех имплантации определяется взаимодействием поверхности изделия с биологической средой: именно на поверхности развиваются процессы коррозии, белковой адсорбции, клеточной адгезии и воспалительной реакции [1]. Модификация поверхности нанесением функциональных покрытий признана эффективным способом управления этими процессами, позволяющим придать изделию свойства, отсутствующие у объёмного материала [2].

Процессы, протекающие на границе «имплантат–биосреда», имеют электрохимическую природу, включая окислительно-восстановительные реакции, ионный транспорт и формирование двойного электрического слоя. Это открывает возможность использовать электрохимические методы как для формирования поверхности (нанесение покрытий), так и для контроля её состояния (мониторинг коррозии и деградации). Двойственность нанесения и мониторинга в рамках единого методологического подхода составляет центральную тему настоящей диссертации.

Из всего спектра металлических медицинских изделий можно выделить 3 крупных класса. Первый класс медицинских изделий представлен биоинертными имплантатами на основе титановых сплавов (например Ti6Al4V). Титановые сплавы обладают высокой коррозионной стойкостью благодаря формированию на поверхности стабильной оксидной плёнки TiO₂, а также высокой механической прочностью (модуль упругости ~110 ГПа). Однако биоинертная природа TiO₂ не обеспечивает активной остеоинтеграции

(образования прямого контакта «имплантат-кость» без промежуточной фиброзной прослойки) [3]. Ключевым требованием успешной имплантации является формирование прочного контакта, при котором решающую роль играют свойства поверхности: микрорельеф, химический состав, гидрофильность и наличие биоактивных центров. Нанесение биоактивных покрытий, имитирующих свойства внеклеточного матрикса и индуцирующих адгезию, пролиферацию и дифференцировку остеогенных клеток, признано эффективным способом решения данной проблемы [4]. Среди материалов покрытий особый интерес представляют хитозан (Chit) – природный полисахарид из хитина ракообразных, отличающийся биоразлагаемостью, биосовместимостью и бактериостатической активностью; и гидроксипатит (НАр) – неорганический компонент костной ткани ($Ca/P = 1,67$), обладающий высокой остеоиндуктивностью [5, 6]. Совмещение НАр и Chit позволяет повысить механическую прочность и биосовместимость покрытия. Хитозан обеспечивает прочную адгезию остеобластов, тогда как прикрепление мышечных фибробластов к нему значительно слабее [7, 8]. Микрорельеф композита способствует увеличению площади контакта имплантата с костью [9].

Второй класс изделий включает биорезорбируемые имплантаты на основе магниевых (Mg), цинковых (Zn) и железных (Fe) сплавов. Концепция их использования заключается в способности временно нести механическую нагрузку с последующей деградацией с контролируемой скоростью [10, 11]. Магний привлекает внимание благодаря механической совместимости с костной тканью: модуль упругости Mg (~45 ГПа) значительно ближе к значению для кортикальной кости (10-30 ГПа), чем у титана (~110 ГПа), что снижает эффект экранирования нагрузки (stress shielding) и стимулирует ремоделирование кости. Mg является четвертым по распространенности катионом в организме и участвует в более чем 300 ферментативных реакциях, что минимизирует токсикологические риски при деградации [12]. При этом для магниевых сплавов ключевой проблемой является соответствие скорости

биокоррозии скорости регенерации ткани: чрезмерно быстрая деградация приводит к преждевременной потере механической целостности, локальному накоплению водорода и повышению pH [13].

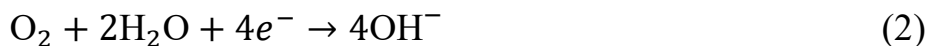
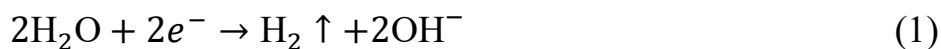
Третий класс объединяет наружные медицинские изделия из алюминиевых сплавов (шины для иммобилизации, костыли, протезы), подвергаемые биокоррозии от микрофлоры кожи при длительном плотном контакте. Микроорганизмы способны инициировать или усиливать коррозию, воздействуя на кинетику электродных реакций, образуя метаболиты с коррозионными свойствами (неорганические и органические кислоты) и создавая локальные изменения на поверхности раздела «металл-электролит» [14]. Алюминиевые сплавы, широко используемые в медицинской практике, предполагают длительный контакт с микрофлорой кожи, что способствует возникновению и развитию коррозионных повреждений.

Для всех этих классов медицинских изделий стоит актуальная задача создание биополимерных покрытий-носителей, способных осуществлять локальную доставку терапевтических агентов и управлять коррозионной активностью имплантов. В рамках данного подхода хитозан выступает как перспективная модельная полимерная матрица, благодаря своей биосовместимости и возможности электрохимического осаждения, а такие белки как фактор роста эндотелия сосудов (VEGF) служат в качестве модельных высокомолекулярных терапевтических агентов. Как нанесение подобных покрытий-носителей, так и контроль их состояния базируются на электрохимических принципах, требующих детального рассмотрения.

1.2. Электрохимические процессы при электроосаждении биополимерных покрытий

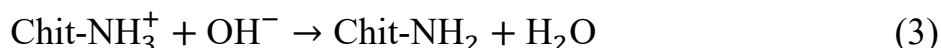
Электроосаждение хитозана на катоде реализуется посредством электрохимически индуцированного локального изменения pH в приэлектродном слое. Принципиальный механизм был экспериментально

установлен Fernandes et al. [15] и впоследствии широко использован для разработки функциональных биопокровов [16]. При приложении катодного потенциала протекают две конкурирующие реакции восстановления:



Реакция (1) — электролиз воды с выделением водорода — служит основным источником гидроксид-ионов при потенциалах более отрицательных, чем $-1,4$ В (отн. Ag/AgCl) на электродах из титана и его сплавов; реакция (2) — восстановление растворённого кислорода — вносит дополнительный вклад в формирование зоны высокого pH при менее отрицательных потенциалах [17]. Образующиеся гидроксид-ионы создают устойчивый локальный градиент pH в приэлектродном слое.

В кислой среде (pH 3-6) хитозан находится в растворимой протонированной форме: аминогруппы остатков D-глюкозамина ионизированы по схеме $-\text{NH}_2 + \text{H}^+ \rightleftharpoons -\text{NH}_3^+$, обеспечивая полимеру свойства поликатиона. При достижении pH значения $pK_a \approx 6,3$, зависящего от степени деацетилирования и молекулярной массы хитозана, аминогруппы депротонируются, нейтральные цепи утрачивают взаимное электростатическое отталкивание и самосборкой формируют нерастворимый гидрогель [18]. Это равновесие описывается реакцией нейтрализации:



Переход в гелеобразное состояние обусловлен многоточечным нековалентным сшиванием полимерных цепей: водородными связями между группами $-\text{NH}_2$ и $-\text{OH}$ соседних макромолекул, гидрофобными взаимодействиями между остаточными ацетильными группами, а также электростатическим притяжением между не полностью депротонированными участками и противоионами [19]. Степень деацетилирования (СД) хитозана определяет соотношение этих механизмов: при высокой СД увеличивается плотность аминогрупп и возрастает вклад водородных связей; при низкой СД относительная роль гидрофобных взаимодействий через ацетильные группы

усиливается. Количественные пороги перехода между этими режимами в современной литературе однозначно не установлены. Полимеры с высокой молекулярной массой формируют более массивные покрытия и способны включать большее количество компонентов-наполнителей, однако более высокая вязкость их растворов увеличивает гидродинамическое сопротивление и степень запутывания цепей, что может негативно сказываться на равномерности покрытия [20].

Гелеобразование происходит в приэлектродной зоне, что определяется структурой двойного электрического слоя (ДЭС). При катодной поляризации поверхность электрода заряжена отрицательно, и макромолекулы протонированного хитозана (Chit-NH_3^+) как массивные поликатионы концентрируются в диффузной части ДЭС [21]. Ключевой характеристикой ДЭС служит дебаевская длина экранирования:

$$\kappa^{-1} = \sqrt{\frac{\varepsilon_0 \varepsilon_r k_B T}{2 N_A e^2 I}} \quad (4)$$

При типичных ионных силах рабочих растворов хитозана (слабокислые растворы без дополнительных электролитов) величина κ^{-1} составляет несколько нанометров; введение фоновых электролитов с ионной силой выше $\sim 15\text{-}20$ мМ сжимает ДЭС, что непосредственно влияет на плотность и адгезию формирующегося покрытия [22].

По мере генерации OH^- (уравнения реакций 1, 2) значение pH в приэлектродном слое локально превышает pK_a , хитозановые цепи утрачивают заряд и коагулируют, формируя чёткий фронт гелеобразования, геометрически сопряжённый с фронтом нейтрализации [23]. Толщина зоны коагуляции определяется конкуренцией между скоростью генерации OH^- , задаваемой приложенным потенциалом и плотностью тока, и скоростью их диффузионного оттока в объём раствора. По мере роста полимерной плёнки, обладающей свойствами диэлектрика, происходит перераспределение приложенного потенциала: эффективный перепад на границе металл/раствор снижается, что ведёт к самоторможению процесса осаждения [24].



Рисунок 1. Схема механизма электроосаждения хитозанового гидрогеля на катоде: 1 — макромолекулы в объёме раствора; 2 — электрофоретическая миграция; 3 — депротонирование в зоне нейтрализации; 4 — формирование сетки гидрогеля.

Накопление хитозана в приэлектродной зоне обеспечивается двумя механизмами (рис. 1). Первый — диффузионная электрокоагуляция: растворённые поликатионы мигрируют к катоду под действием градиента концентрации и осаждаются в зоне высокого pH. Вторым — электрофоретическая миграция (ЭФМ). Поскольку протонированный хитозан несёт значительный положительный заряд (ζ -потенциал от +30 до +50 мВ при pH 3-5 [25]), его направленное движение к катоду в электрическом поле описывается уравнением Смолуховского:

$$\mu_e = \frac{\varepsilon_0 \varepsilon \zeta}{\eta} \quad (5)$$

где ε_0 , ε — диэлектрическая проницаемость вакуума и среды, соответственно, ζ — дзета-потенциал, η — динамическая вязкость раствора. При малых плотностях тока доминирует диффузионная электрокоагуляция, обеспечивающая медленный рост однородного плотного осадка. При высоких

плотностях тока вклад ЭФМ возрастает: полимер накапливается в приэлектродном пространстве ещё до завершения депротонирования, формируя рыхлую пористую структуру с повышенным содержанием дефектов [26].

Совокупный массоперенос полимера в зоне реакции описывается уравнением Нернста–Планка, объединяющим три независимых вклада:

$$J_i = -D_i \frac{\partial c_i}{\partial x} - \frac{z_i F}{RT} D_i C_i \frac{\partial \varphi}{\partial x} + C_i v \quad (6)$$

где первый член описывает диффузию по концентрационному градиенту, второй — миграцию в электрическом поле (ЭФМ-компонента), третий — конвективный перенос. При достижении критического потенциала, определяемого природой подложки и составом раствора, скорость реакции электролиза воды (уравнение 1) резко возрастает: интенсивное газовыделение водорода многократно усиливает конвективный член уравнения, он становится доминирующим фактором, необратимо нарушающим целостность формирующейся плёнки.

Природа подложки, во многом, определяет окно применимых потенциалов и конечное качество покрытия. На титановых сплавах стабильная плёнка TiO_2 обеспечивает высокое перенапряжение выделения водорода, что создаёт широкий рабочий диапазон потенциалов для управляемого осаждения [27]. Магниевые сплавы характеризуются значительно более низким перенапряжением и интенсивной коррозией в слабокислых растворах хитозана: конкуренция между анодным растворением подложки и катодным осаждением полимера принципиально сужает диапазон оптимальных параметров [28]. На стальных подложках метод обеспечивает формирование плотных и адгезивных покрытий с выраженными антикоррозионными свойствами [29].

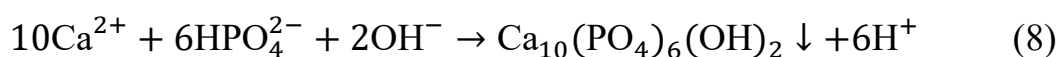
Включение гидроксиапатита (НАр) в состав покрытия качественно усложняет электрохимическую картину процесса. Микрочастицы НАр в водных растворах в диапазоне рН 4-9 несут отрицательный заряд [30]. В суспензиях НАр/хитозан при рабочих значениях рН в диапазоне 3-5

положительный суммарный ζ -потенциал суспензии обеспечивается адсорбцией хитозан-поликатиона на поверхности частиц; это электростатическое взаимодействие улучшает коллоидную стабильность суспензии и способствует совместному электрофоретическому осаждению компонентов [31]. Для достижения однородности и высокой плотности покрытия применяются дополнительные диспергирующие агенты, такие как поливинилбутираль, полиэтиленгликоль и триэтаноламин, стабилизирующие суспензию в условиях длительного осаждения.

Встраивание НАр в покрытие реализуется двумя путями: прямым электрофоретическим осаждением частиц, несущих на поверхности адсорбированный хитозан, и механическим захватом агрегатов растущей сеткой хитозанового геля [29]. Параллельно протекает частичное растворение НАр в кислой среде с образованием ионов Ca^{2+} и дигидрофосфат-ионов:



Транспортируясь к катоду, эти ионы рекристаллизуются в зоне локального защелачивания:



Данная реакция потребляет часть генерируемых гидроксид-ионов, снижает скорость нарастания рН в приэлектродном слое и, тем самым, замедляет темпы гелеобразования хитозана. Способность хитозановой матрицы включать белки и биологически активные молекулы без потери функциональности делает электроосаждение прямым методом формирования лекарственных покрытий, в которых полимерная плёнка выступает одновременно несущим каркасом и регулятором высвобождения [32, 33].

Выбор режима осаждения — потенциостатического или гальваностатического — принципиально влияет на морфологию и воспроизводимость покрытия. Гальваностатический режим обеспечивает постоянную скорость генерации OH^- , однако потенциал неконтролируемо сдвигается в катодную сторону по мере роста омического сопротивления плёнки, что может привести к переходу в область интенсивного

газовыделения. Потенциостатический режим исключает этот риск, но сопровождается экспоненциальным спадом тока вследствие самоторможения [23]. Описанные механизмы определяют практические диапазоны рабочих параметров. По данным литературы, оптимальная плотность тока для электроосаждения хитозана лежит в диапазоне 0,5–2 мА/см²; конкретные границы этого окна зависят от концентрации хитозана, pH раствора и природы подложки. Импульсный режим осаждения позволяет расширить рабочее окно: в паузы между импульсами рассеиваются пузырьки водорода и восстанавливается концентрационный градиент хитозана у поверхности, что снижает пористость и улучшает равномерность покрытия [34].

Электроосаждение хитозановых покрытий представляет собой сложный неравновесный процесс, управляемый балансом электрокоагуляции, электрофоретической миграции, кинетики гелеобразования и массопереноса, а также зависящий от природы подложки. Нанесение покрытия представляет собой лишь первый этап его жизненного цикла. Для биорезорбируемых имплантатов (Mg, Zn) и наружных изделий (Al) критически важен не только синтез защитного слоя, но и непрерывный мониторинг его состояния в процессе деградации *in vivo*. Хитозановый гель в биологической среде подвергается набуханию, ферментативному гидролизу лизоцимом по β -1,4-гликозидным связям и постепенному растворению, теряя барьерные свойства [35]. Электрохимия, обеспечившая направленный синтез покрытия, способна обеспечить и контроль его целостности, но для этого требуется принципиально иной класс методов, не возмущающих систему.

1.3. Электрохимия коррозии и пассивные методы её мониторинга

Коррозия типичных магниевых сплавов в физиологических средах (pH 7,4, наличие хлорид-ионов ~150 мМ) протекает по механизму микрогальванического взаимодействия фаз. В двухфазном сплаве AZ91 интерметаллидная фаза β -Mg₁₇Al₁₂ выступает в роли локального катода, а α -

твёрдый раствор магния — в роли анода [36]. Разность потенциалов между этими фазами может достигать 200-400 мВ, что делает процесс термодинамически обусловленным. Анодная реакция ($\text{Mg} \rightarrow \text{Mg}^{2+} + 2\text{e}^-$) сопровождается катодным восстановлением воды ($2\text{H}_2\text{O} + 2\text{e}^- \rightarrow \text{H}_2 + 2\text{OH}^-$) с выделением газообразного водорода. Селективное растворение магниевой матрицы вокруг частиц β -фазы приводит к быстрому развитию локальной питтинговой коррозии [37]. Формирующиеся на начальном этапе продукты коррозии в виде гидроксида магния $\text{Mg}(\text{OH})_2$ создают частичный барьерный слой. Однако в присутствии хлорид-ионов интерстициальной жидкости этот слой нестабилен и легко конвертируется в хорошо растворимый MgCl_2 , что обуславливает немонокотонную циклическую кинетику растворения: первичное пассивирование сменяется локальным прорывом плёнки и новой волной ускоренной коррозии [38, 39].

Картина деградации существенно усложняется при переходе от *in vitro* симуляций к реальным условиям *in vivo*, где на коррозию оказывает влияние биологическая среда. Определяющим фактором является адсорбция белков плазмы крови, прежде всего альбумина (концентрация в крови около 40 г/л). Альбумин обладает двойственной природой: формирующийся на поверхности динамический белковый слой действует как физический барьер, временно ингибируя растворение; одновременно с этим белки способны образовывать растворимые металлоорганические комплексы с ионами магния, химически провоцируя и ускоряя питтинговую коррозию. Эта разнонаправленность, наряду с буферной ёмкостью крови и воздействием механических нагрузок, приводит к тому, что экстраполяция данных *in vitro* часто оказывается ошибочной — скорость коррозии Mg-сплавов *in vitro*, как правило, переоценивает деградацию *in vivo* в 2-4 раза [40]. При этом клиническим последствием слишком быстрой коррозии *in vivo* является интенсивное выделение водорода, превышающее консервативно установленный пороговый уровень $\sim 0,01$ мл/(см²·сут) [41], что приводит к образованию подкожных

газовых мешков, локальной ишемии, сдвигу локального pH выше 9,0 и последующему некрозу тканей [42].

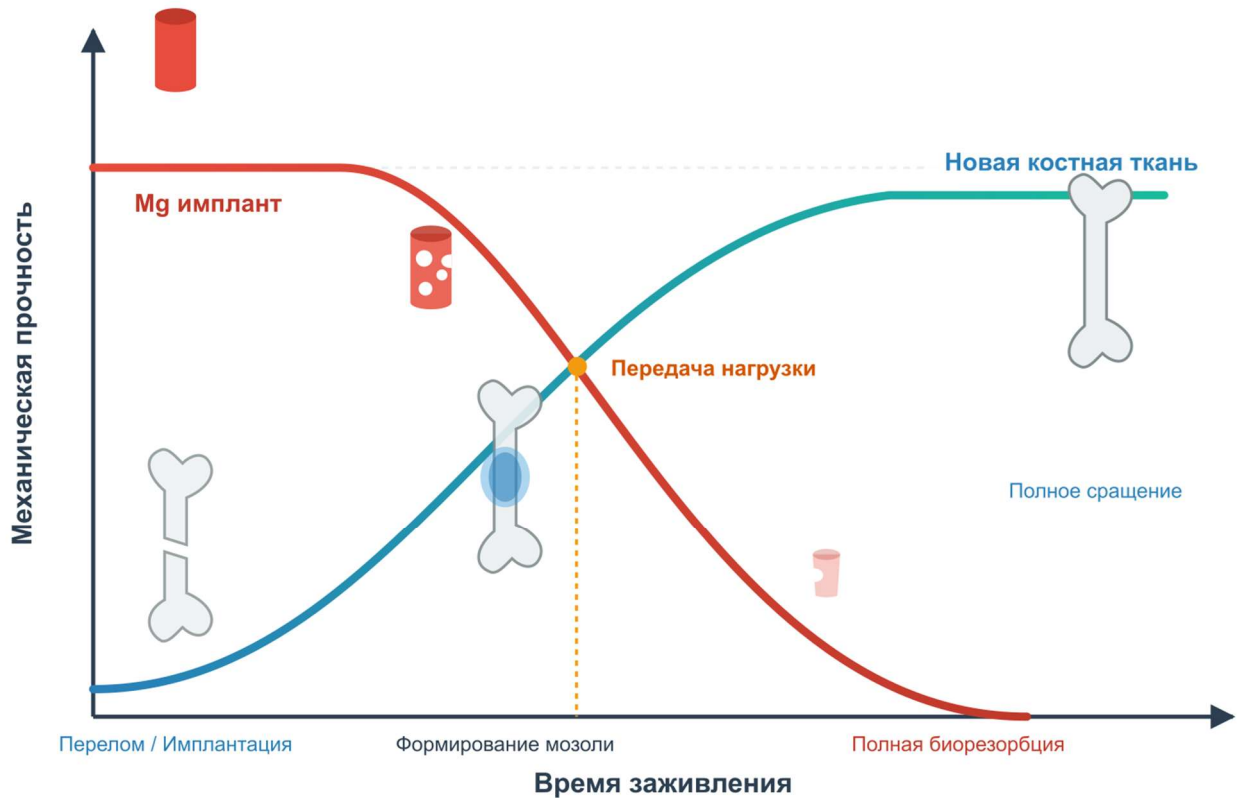


Рисунок 2. Связь кинетики деградации биорезорбируемого имплантата и процесса восстановления костной ткани.

Фундаментальной задачей при разработке биорезорбируемых имплантатов является достижение баланса между кинетикой их деградации и скоростью регенерации ткани. В идеальном случае снижение механической прочности имплантата по мере его биокоррозии должно точно компенсироваться ростом несущей способности новообразованной кости (Рисунок 2). Если деградация протекает слишком быстро, имплантат теряет механическую целостность до того, как кость сможет перенять на себя нагрузку.

Для управляемого замедления деградации на Mg-сплавы наносят защитные покрытия, снижающие эффективную площадь контакта металла с агрессивной средой и ограничивающие диффузионный транспорт ионов.

Хитозановое покрытие существенно снижает плотность тока коррозии [43]. Однако *in vivo* хитозановый гель подвергается набуханию, что может на порядки увеличивать его ионную проницаемость [44]. Сопровождающая данный процесс энзиматическая деградация покрытия требует применения надёжных методов непрерывного мониторинга его целостности.

Классические электрохимические методы исследования коррозии (поляризационные кривые, спектроскопия электрохимического импеданса — СЭИ) предполагают наложение внешнего электрического возмущения (потенциала или тока) [45]. Для пассивирующихся сплавов (нержавеющая сталь, Ti) поляризационные измерения *in vivo* были успешно продемонстрированы ещё в 1960-х годах [46, 47]. Однако ни один из этих активных подходов не применим к биорезорбируемым магниевым сплавам *in vivo*. В отличие от стали или титана, магний не образует стабильной пассивной плёнки в физиологических условиях, и наложение любой анодной поляризации вызывает необратимое растворение имплантационного материала, а не его зондирование. СЭИ, хотя и использует малые амплитуды (обычно 5-10 мВ), требует внешнего синусоидального возмущения, что сложно реализуемо на свободно движущихся животных без внесения артефактов от изменения сопротивления тканей и движения кабелей.

Фундаментальная неприменимость активных методов к магнию усугубляется специфическим аномальным явлением — эффектом отрицательной разности (Negative Difference Effect, NDE). В электрохимии нормальных металлов катодная реакция (выделение водорода) закономерно подавляется при смещении потенциала в анодную область. Для магния наблюдается парадоксальная обратная картина: при увеличении анодного тока скорость выделения водорода не падает, а существенно возрастает. В современной литературе NDE объясняется тремя конкурирующими механизмами [48]. Первый механизм заключается в формировании унивалентного магния: анодное растворение протекает через промежуточный ион Mg^+ , который затем химически (а не электрохимически) окисляется водой

до Mg^{2+} с выделением H_2 , поэтому рост анодного тока стимулирует химическую генерацию водорода. Второй механизм связан с обогащением поверхности катодными примесями: при быстром анодном растворении магния поверхность обогащается частицами более благородных металлов (Fe, Ni, Cu), что резко увеличивает площадь локальных катодов для реакции выделения водорода. Третий механизм объясняет NDE нестабильностью поверхностной оксидно-гидроксидной плёнки. При анодной поляризации интенсивное растворение магния и сопутствующее газовыделение способствуют растрескиванию, локальному разрушению и отслоению защитного слоя, вследствие чего обнажается свежая активная поверхность магния, где одновременно ускоряются анодное растворение и выделение водорода. Независимо от преобладающего механизма, практическим следствием NDE является то, что вольтамперные кривые магния вблизи коррозионного потенциала нелинейны: даже малая анодная поляризация сопровождается непропорциональным ростом скорости выделения водорода, что приводит к систематическому занижению реальной скорости деградации при использовании стандартных электрохимических методов [49]. Следовательно, данные СЭИ и поляризационных измерений не могут служить надёжной основой для оценки целостности покрытия *in vivo*.

Помимо биорезорбируемых имплантатов, серьёзным вызовом является биокоррозия наружных конструкций из алюминиевых сплавов (шины, костыли, элементы протезов). При длительном контакте с кожей их поверхность колонизируется микрофлорой, прежде всего *Staphylococcus epidermidis* и *Escherichia coli*. Микробные биоплёнки создают локальные градиенты pH, выделяют органические кислоты и деполяризуют катодные участки, инициируя питтинговую коррозию [50]. Электрохимический мониторинг флуктуаций тока между двумя электродами в бактериальной среде позволяет обнаружить начало биокоррозии значительно раньше, чем визуальные методы, и количественно оценить эффективность защитных покрытий.

Mg-сплавы с хитозановым покрытием и алюминиевые конструкции в бактериальной среде выступают удобными экспериментальными моделями для отработки методов электрохимического мониторинга, релевантных для более широкого класса покрытий-носителей: Mg даёт быструю кинетику *in vivo*, Al — возможность ускоренных *in vitro* испытаний.

Поскольку активные методы (поляризация, СЭИ) искажаются эффектом NDE, а неэлектрохимические объёмные методы контроля (микро-КТ, анализ водорода) инвазивны, ретроспективны и обладают низкой чувствительностью к ранним стадиям разрушения, единственной методической альтернативой становятся пассивные электрохимические методы. Они основаны на регистрации спонтанных флуктуаций тока и/или потенциала, возникающих в корродирующей системе в её естественном равновесном состоянии без наложения внешнего возмущения. Метод амперметрии нулевого сопротивления (ZRA, Zero Resistance Ammetry) предполагает соединение двух идентичных электродов через усилитель тока с нулевым входным сопротивлением [51, 52]. Флуктуации гальванического тока являются прямым откликом на стохастическую природу элементарных актов коррозии — зарождение микропиттингов, локальное растворение, отрыв пузырьков газа. Коррозионные события зарождения и репассивации метастабильных питтов можно рассматривать как пуассоновский процесс с экспоненциальным распределением времён жизни. Спектральная плотность мощности такого процесса имеет характерный вид $1/f^2$ в низкочастотной области [53]. Амплитуда флуктуаций тока пропорциональна среднему коррозионному току и частоте событий. Выделение пузырьков H_2 диаметром d создаёт дискретные импульсы тока (дробовой шум) с зарядом, пропорциональным объёму пузырька. При типичном коррозионном токе I_{corr} и выходе водорода по закону Фарадея, частота пузырьков событий вносит дополнительный существенный вклад в общую шумовую дисперсию. Ключевым преимуществом ZRA для мониторинга хитозановых покрытий является исключительная чувствительность к изменениям импеданса: даже небольшое

нарушение целостности покрытия приводит к формированию макрогальванической пары между покрытым (высокоимпедансным) и обнажённым участками. Это генерирует значительный шумовой ток, позволяя выявлять дефекты на самых ранних стадиях.

Для биорезорбируемых магниевых сплавов в физиологических условиях единственным методическим выбором, свободным от артефактов NDE и не требующим внешнего возмущения, является регистрация спонтанных флуктуаций тока в конфигурации ZRA. Регистрация спонтанных электрохимических флуктуаций ставит перед исследователем сложную задачу их математической обработки. В условиях *in vivo* сигналы неизбежно короткие (ограниченные временем удержания животного, порядка нескольких минут), зашумлены мощными биоэлектрическими помехами организма (ЭКГ, ЭМГ) и содержат нелинейные тренды от дрейфа коррозионного потенциала. Всё это делает классические спектральные методы анализа, такие как быстрое преобразование Фурье, малопригодными для практического применения.

1.4. Шумовая спектроскопия Чебышёва: теоретические основы и место среди методов анализа электрохимического шума

Электрохимический шум как источник информации о коррозионных процессах характеризуется устойчивой методологической базой, сформированной за последние десятилетия. Исторически эволюция методов анализа двигалась от простейших статистических оценок (дисперсия, *pitting index*) к частотным методам (FFT), а затем к вейвлет-анализу и ортогональным разложениям, что отражало потребность во всё более точном извлечении сигнала из нестационарных данных. Современные обзоры [54, 55] систематизируют накопленный опыт и подчёркивают необходимость развития методов анализа, адаптированных к условиям реальных *in vivo* экспериментов.

Классические подходы к анализу электрохимического шума опираются на FFT-спектроскопию для получения спектральной плотности мощности

(PSD) и идентификации характерных частот. Однако этот метод сталкивается с фундаментальными ограничениями при работе с короткими реализациями, неизбежными при *in vivo* измерениях из-за ограничений на длительность фиксации животного в рестрейнере. При длине записи порядка 30-60 с, типичной для *in vivo* сессий, частотное разрешение FFT не превышает 0,02–0,04 Гц. Более того, FFT критически подвержен спектральной утечке (spectral leakage) — «размазыванию» энергии непериодического сигнала по соседним частотным бинам, что приводит к искажению формы спектра. Вейвлет-анализ обеспечивает лучшую локализацию во временной области, но его интерпретация применительно к электрохимическим системам не всегда однозначна [56].

Спектроскопия электрохимических шумов Чебышёва (СЭШ Чебышёва), предложенная в работах [57, 58, 59], основана на разложении сигнала по ортогональным полиномам Чебышёва дискретного аргумента вместо тригонометрического базиса FFT. Ключевые преимущества метода перед классическим FFT-подходом сводятся к следующему.

Ортогональность полиномов Чебышёва обеспечивает автоматическое отделение постоянной составляющей ($k=0$) и линейного тренда ($k=1$) первыми двумя спектральными линиями. Это устраняет необходимость предварительной обработки сигнала — удаления тренда (detrending) или применения оконных функций, которые обязательны при FFT-анализе и искажают исходные данные.

На коротких реализациях метод Чебышёва свободен от спектральной утечки, поскольку полиномы точно аппроксимируют непериодические флуктуации на конечном интервале. Это критично для *in vivo* экспериментов, где длительность одной записи ограничена.

Для реализаций длиной $N=16$ парциальная дисперсия σ^2 , вычисляемая по теореме Парсеваля–Планшереля как среднее квадратов спектральных коэффициентов (исключая линии $k = 0$ и $k = 1$):

$$\sigma^2 = \frac{1}{14} \sum_{k=2}^{15} C_k^2 \quad (9)$$

является надёжной интегральной мерой интенсивности шума, устойчивой к мешающим факторам и биоэлектрическим наводкам. В силу ортогональности полиномов Чебышёва, на равномерной сетке выполняется соотношение $\sum_{k=0}^{N-1} C_k^2 = \frac{1}{N} \sum_{i=0}^{N-1} x_i^2$. При исключении линий $k = 0$ и $k = 1$ парциальная дисперсия $\sigma^2 = \frac{1}{N-2} \sum_{k=2}^{N-1} C_k^2$ точно равна дисперсии сигнала после устранения из него линейного тренда. Это свойство делает излишними предварительную обработку и оконные функции.

Применение классического FFT с оконной функцией Ханна даёт спектральную утечку в низкочастотной области, искажая оценку наклона спектра. Вейвлет-преобразование (например, базис Добеши) на короткой выборке (порядка 256 точек) не позволяет надёжно отделить тренд от низкочастотных флуктуаций. Чебышёвское же преобразование без предварительной обработки математически строго выделяет спектральные линии $k = 0$ и $k = 1$, соответствующие смещению и тренду, оставляя шумовую составляющую во 2-15 линиях неискажённой.

Наклон усреднённого спектра Чебышёва $\langle C_k^2 \rangle$ в двойных логарифмических координатах как функция номера линии k (эквивалентного частоте $f \sim k/T$) несёт информацию о стохастической природе коррозионных событий: наклон, соответствующий $1/f^2$ (броуновский шум), свидетельствует о питтинговой коррозии с дискретными актами зарождения и репассивации; $1/f$ (фликкер-шум) — о генерализованном растворении; белый шум — о незначительной коррозионной активности или пассивном состоянии [60]. Коррозионный шум магниевых сплавов имеет характерную PSD типа $1/f^2$, обусловленную стохастическими событиями метастабильного питтинга, с присутствием дополнительного вклада дробового шума от дискретных пузырьковых событий выделения водорода [61]. Амплитуда флуктуаций тока при питтинговой коррозии существенно превышает амплитуду при равномерном растворении, что позволяет разграничивать механизмы по форме огибающей PSD.

В литературе СЭШ Чебышёва применён к коррозии сталей [62]. Принципиальный пробел состоит в том, что СЭШ Чебышёва никогда не применялся для *in vivo* мониторинга и никогда не подвергался вычислительному моделированию с оценкой порогов обнаружимости. Именно количественная оценка порога обнаружения дефекта покрытия, статистически значимо регистрируемой на фоне биоэлектрических помех и инструментального шума, определяет практическую применимость метода. Отсутствие такого моделирования означает, что исследователи вынуждены выявлять неадекватность дизайна сенсора уже после проведения эксперимента на животных. Построение соответствующей математической модели является одной из центральных задач настоящей диссертации.

1.5. Проблема параметрического пространства электроосаждения и вычислительные подходы к систематизации данных

СЭШ Чебышёва решает задачу мониторинга состояния покрытия, однако остаётся нерешённой проблема выбора оптимальных параметров его первоначального нанесения. Для целенаправленного синтеза хитозановых матриц-носителей с заданной морфологией и кинетикой деградации необходим систематический анализ накопленных экспериментальных данных об электроосаждении хитозана. Параметрическое пространство электроосаждения определяется сложным балансом электрокоагуляции, электрофоретической миграции, кинетики нуклеации и массопереноса (см. раздел 1.2) и включает не менее семи независимых переменных: материал подложки (Ti, Mg, сталь, стекло), концентрация хитозана (0,5-3 мас.%), молекулярная масса, степень деацетилирования, pH (3-6), плотность тока (0,1-10 мА/см²), время осаждения и наличие функциональных добавок. Число публикаций по данной теме превысило 500 за последние два десятилетия. Ручной сбор такого объёма данных требует обработки экспертом каждого источника и неоправданно трудоёмок: например, формирование

сопоставимого по размеру датасета из 587 статей по фитоэкстракции заняло 7 месяцев экспертной работы [63]. Ситуацию усугубляют противоречия в литературе: оптимальная плотность тока, по данным разных авторов, варьирует от 0,5 до 10 мА/см², что делает невозможным выбор единого значения без анализа скрытых корреляций между параметрами.

Применение больших языковых моделей для автоматического извлечения структурированных данных из научной литературы стало одним из наиболее активно развивающихся направлений в электрохимии в 2024–2026 гг. Ключевым преимуществом данного подхода служит способность обрабатывать сотни публикаций за часы, заменяя месяцы ручного анализа. Наиболее интересные результаты получены в трёх смежных областях. Leong et al. (2024) разработали систему MERMES, использующую мультимодальные БЯМ (GPT-4V, Gemini Pro, Claude 3) для анализа схем реакций электрохимического синтеза и разрешения перекрёстных ссылок между рисунками и текстом; точность извлечения ключевых параметров реакции составила $\geq 96\%$ [64]. Na et al. (2025) применили архитектуру retrieval-augmented generation (RAG) с методологией «Tree of Clarity» для извлечения данных о катодных материалах натрий-ионных батарей из 312 публикаций; достигнута F1-мера 0,937 при скорости обработки ~ 20 секунд на статью [65]. Chen et al. (2024) создали крупнейший открытый массив данных по CO₂-электрокаталитическому восстановлению, используя БЯМ для извлечения сведений о катализаторах, условиях синтеза и значениях фарадеевской эффективности из более чем 1000 публикаций [66]. Во всех трёх случаях архитектура конвейера сводится к общей схеме: PDF-документ → извлечение текста и графики → мультимодальный БЯМ-анализ → структурированный файл формата JSON → база знаний с интерфейсом запросов.

Помимо извлечения данных, БЯМ начинают применяться для интерпретации результатов электрохимических измерений. В 2026 г. опубликована работа, демонстрирующая автоматизированный анализ спектроскопии электрохимического импеданса (СЭИ) органических покрытий

с помощью БЯМ: интеграция с инструментами аппроксимации эквивалентными схемами позволила классифицировать покрытия с точностью до 96% без специализированного обучения модели [67]. Этот результат непосредственно примыкает к тематике настоящей диссертации, подтверждая принципиальную применимость БЯМ к обработке электрохимических данных о состоянии покрытий.

Центральной нерешённой проблемой БЯМ-извлечения научных данных остаётся обеспечение фактологической достоверности. Стандартные метрики информационного поиска (точность, полнота, F1-мера) оперируют на уровне отдельных текстовых единиц (токенов) и не учитывают контекстных ассоциаций между извлечёнными сущностями. В результате модель может правильно извлечь значение плотности тока, но ошибочно привязать его к неверной экспериментальной группе, и токен-уровневая метрика не зафиксирует эту ошибку. Риск галлюцинаций — генерации химически некорректных структур или условий — признаётся системной проблемой во всех обзорных работах по БЯМ в электрохимии [68] и требует обязательной экспертной верификации. Для преодоления данного ограничения предложена валидация, дополняющая стандартные количественные метрики качественной проверкой методом «БЯМ-судьи» [69]. Метод предполагает генерацию дискретных фактологических утверждений на основе структурированного вывода модели-экстрактора и последующую независимую верификацию каждого утверждения языковой моделью-судьёй, которая выносит суждение о его верности по полному тексту исходной публикации.

Принципиальный пробел, выявленный в ходе анализа литературы, состоит в том, что ни одна из существующих БЯМ-систем извлечения данных не была применена к вопросу электроосаждения биополимерных покрытий. Параметрическое пространство электроосаждения хитозана сопоставимо по размерности и сложности с задачами, успешно решёнными в электрокатализе и аккумуляторных технологиях, что обосновывает перенос методологии. Дополнительной спецификой электрохимии осаждения хитозана является

наличие конкурирующих механизмов осаждения и чувствительность к материалу подложки, что делает задачу извлечения данных более сложной, чем распознавание именованных сущностей, и требующей верификации контекстных ассоциаций между параметрами. Результирующая база знаний, прошедшая двухуровневую валидацию, предоставляет распределения подложек, концентраций, плотностей тока, добавок и режимов осаждения, создавая эмпирическую основу для объективного выбора параметров электроосаждения. Данный вычислительный подход в сочетании с электрохимическими механизмами нанесения (раздел 1.2) и мониторинга (разделы 1.3–1.4) образует методологический комплекс, охватывающий все этапы жизненного цикла покрытия.

1.6. Постановка научной проблемы: электрохимия как единая сквозная методология жизненного цикла покрытия

Систематизация литературных данных позволяет выделить три положения, объединяющих разнородные аспекты настоящей диссертации.

(I) Электрохимические процессы при нанесении покрытий. Катодный электролиз воды и сопутствующая электростатика ДЭС создают условия для гелеобразования хитозана. Однако кинетика и морфология осадка управляются тонким балансом между диффузионной электрокоагуляцией и электрофоретической миграцией полимера, а также механизмом нуклеации (раздел 1.2). Этот процесс критически зависит от подложки, плотности тока, pH и добавок. Выбор оптимальных параметров из этого многомерного и часто противоречивого литературного пространства невозможен без вычислительной систематизации.

(II) Электрохимический контроль покрытия. Пассивный мониторинг через спонтанные электрохимические флуктуации (ZRA/СЭШ) является единственным методом, применимым *in vivo* для биорезорбируемых магниевых имплантатов. В отличие от методов, предполагающих внешнюю

поляризацию, он не требует возмущающего воздействия и свободен от артефактов, вызываемых эффектом отрицательной разности (NDE), радикально искажающим результаты поляризации магния (раздел 1.3). Спектроскопия Чебышёва, в свою очередь, решает проблему спектральной утечки на коротких записях *in vivo* (раздел 1.4), позволяя использовать парциальную дисперсию σ^2 как меру коррозионной активности. Однако метод требует валидации *in silico* для порогов обнаружения.

(III) Систематизация электрохимических данных с помощью вычислительных методов. Применение больших языковых моделей (БЯМ) с двухуровневой валидацией (F1-мера и БЯМ-судья) решает проблему извлечения фактологически корректных ассоциаций параметров из сотен разрозненных научных текстов (раздел 1.5). Это обеспечивает эмпирическую основу для объективного выбора оптимальных условий электроосаждения, преодолевая ограничения ручного анализа литературы.

Проведённый анализ выявляет методологический разрыв: вычислительный выбор параметров, электрохимическое нанесение покрытия и пассивный электрохимический мониторинг его состояния никогда не объединялись в сквозную методологию, целенаправленно ориентированную на разработку лекарственных покрытий на основе электроосаждаемых биополимерных матриц. Отсутствует также количественный инструмент предиктивного проектирования экспериментов *in vivo*, позволяющий до испытаний на животных оценивать наличие дефектов покрытия.

Сформулированная научная проблема диссертации состоит в разработке сквозной электрохимической методологии полного жизненного цикла биоактивного покрытия-носителя от автоматизированного выбора параметров электроосаждения на основе БЯМ-систематизации литературных данных до направленного нанесения покрытия и мониторинга *in vivo* его деградации с помощью анализа СЭШ. Решение данной проблемы достигается за счет использования последовательности экспериментальных моделей, а именно целевой (Ti/Chit-NAp-VEGF), валидационной *in vivo* (Mg/хитозан) и

скрининговой *in vitro* (Al/Zn). Валидация метода мониторинга осуществляется пошагово. Сначала проводится тестирование *in vitro* (ускоренная скрининговая модель). За ним следует вычислительное моделирование (предсказательный симулятор BioElectroSynth для измерений *in vivo*). Финальным этапом выступает эксперимент *in vivo* (подкожная имплантация на валидационной мышинной модели). Данная последовательность минимизирует число животных, требуемых для экспериментов, за счёт правильного проектирования эксперимента.

ГЛАВА 2. МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Экспериментальная часть работы организована вокруг создания единой методологической платформы для электроосаждения биополимерных покрытий-носителей и контроля их деградации *in vivo*. В диссертации использованы три системы. Первая — целевая (прототип биоактивного покрытия Ti/Chit-NAp-VEGF), вторая – валидационная *in vivo* (Mg/хитозан для быстрой отработки ZRA-мониторинга) и третья – скрининговая *in vitro* (Al/Zn в бактериальной среде для оценки чувствительности ZRA к биокоррозии). Вычислительные методы, включая алгоритмическую цепочку на основе БЯМ и предсказательную модель BioElectroSynth, обслуживают все три уровня данной методологии.

Настоящая глава описывает методики, применённые в диссертационном исследовании. Методы сгруппированы в соответствии с тремя ключевыми этапами работы: (1) компьютерный анализ литературы для выбора параметров электроосаждения, (2) экспериментальные методы нанесения и характеристики целевых покрытий, (3) электрохимический скрининг и мониторинг *in vitro* и *in vivo*, а также его математическое моделирование.

2.1. Алгоритмы на основе БЯМ для извлечения структурированных данных из научной литературы

Алгоритмическая цепочка на основе больших языковых моделей была разработана для систематизации параметрического пространства электроосаждения хитозана из более чем 500 научных публикаций. Архитектура аналитического алгоритма включает следующие последовательные стадии: загрузка PDF → конвертация в формат Markdown → извлечение параметров → валидация → импорт в базу данных. Адаптация заключалась в замене специфичной схемы извлечения. Вместо параметров фитоэкстракции (растение, металл, BCF) использовалась схема,

ориентированная на электроосаждение (подложка, раствор, режим осаждения и т.п.). Визуальная схема работы алгоритма представлена на рисунке 3.

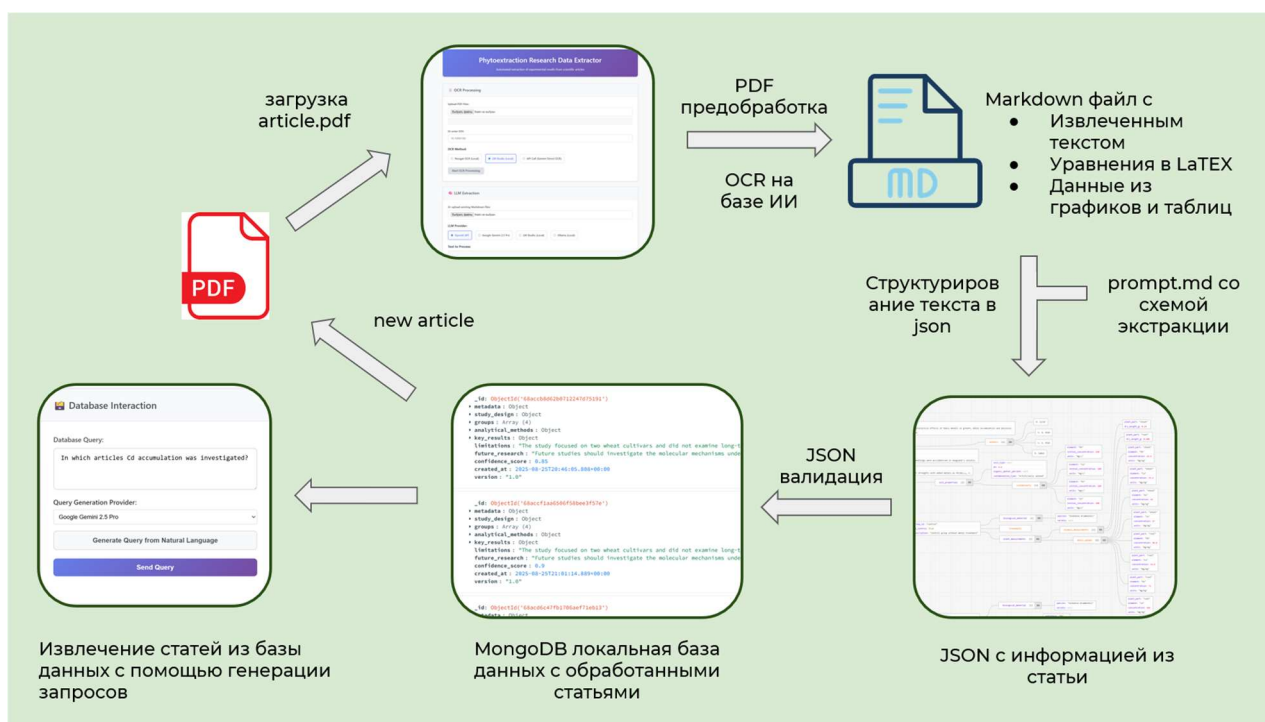


Рисунок 3. Схема аналитического алгоритма обработки научных статей: PDF → формат Markdown → файл JSON → база данных.

2.1.1. Предварительная обработка статей

Загрузка научных статей в формате PDF осуществлялась через специализированный веб-интерфейс. Каждый загруженный PDF обрабатывался библиотекой PyMuPDF для извлечения отдельных страниц. Каждая страница преобразовывалась в изображение формата PNG с разрешением 300 точек на дюйм; для обработки изображений применялась библиотека Pillow.

Мультимодальная конвертация каждой страницы из формата PNG в структурированный формат Markdown выполнялась с помощью модели Gemini-3-flash (доступ через публичный API), благодаря её продвинутым мультимодальным возможностям. Модель получала инструкцию сгенерировать исчерпывающее представление в формате Markdown,

сохраняющее логическую структуру документа. Выходные данные включали иерархические заголовки и текст, таблицы, конвертированные в формат Pandas DataFrame (представленные в виде строк и программного кода на языке программирования Python); математические формулы и уравнения, извлечённые в формате LaTeX; описания графических элементов (диаграмм, схем) с текстовыми сводками ключевых трендов и данных. Индивидуальные файлы формата Markdown для каждой страницы соединялись в единый документ для последующей обработки.

2.1.2. Извлечение параметров и валидация

Консолидированный документ в формате Markdown обрабатывался тремя моделями: Qwen3.5-4B, GPT-OSS-120b и Gemini-3-Pro (через API). Для локального вывода Qwen3.5-4B и GPT-OSS-120b использовался программный пакет llama.cpp, предназначенный для работы с БЯМ. Логика извлечения определялась детализированным запросом, задающим целевые параметры, их ожидаемые типы данных и схему файла формата JSON. В отличие от фитоэкстракции, схема извлечения для электроосаждения хитозана включала несколько расширенных категорий. Например, к ним относились подложка (материал, геометрия, предобработка поверхности), раствор (концентрация хитозана, pH, добавки, растворитель), режим осаждения (потенциостатический/гальваностатический, плотность тока, время), результат (толщина покрытия, морфология, биологический отклик).

Корректность извлечённых данных в формате файла JSON оценивалась двухуровневой процедурой валидации на случайной выборке обработанных статей. На этапе количественной валидации выходы каждой БЯМ сравнивались независимой моделью GPT-OSS-120b, выступающей в качестве «БЯМ-судьи», с размеченными экспертами эталонными записями. Вычислялись стандартные метрики информационного поиска — точность, полнота и F1-мера — по каждому целевому полю. «Судья» выполнял

семантическое сравнение полей: нормализовывал варианты терминологии (например, «хитозан» и «Chitosan» как эквивалентные), разрешал преобразования единиц и числовые представления. На этапе качественной валидации независимая БЯМ (GPT-OSS-120b) использовалась для проверки фактологической корректности — генерации утверждений на основе файла формата JSON и их верификации по исходному тексту статьи (например, “*В статье осаждали хитозан гальваностатически из раствора с pH 3*”). Данная процедура направлена на выявление контекстных ошибок, таких как неправильные ассоциации «параметр ↔ экспериментальная группа», которые не обнаруживаются метриками F1-меры.

2.1.3. База данных и интерфейс запросов

Валидированные строки файла JSON импортировались в базу данных MongoDB. Схема базы данных была спроектирована для прямого отображения вложенной структуры файла JSON на документы формата MongoDB, что обеспечивало эффективное хранение и выполнение сложных запросов.

Система оснащена интерфейсом запросов на естественном языке. Свободный текстовый запрос пользователя обрабатывался БЯМ, которая генерировала синтаксически корректный запрос к базе данных. Сгенерированный запрос выполнялся к базе данных, а извлечённые результаты передавались обратно в БЯМ для формирования связного ответа на естественном языке. Данный интерфейс позволяет исследователям генерировать произвольные выборки данных без необходимости составления запросов формата MongoDB вручную.

2.2. Методика исследования электроосаждения и биоактивности композитных покрытий на Ti6Al4V

Методика охватывает полный цикл исследований от подготовки поверхности титанового диска и приготовления растворов до электрохимического осаждения композитного покрытия Chit/HAp/VEGF и оценки его биоактивности *in vitro*. Параметры электроосаждения (плотность тока, pH, состав электролита) были обоснованы результатами БЯМ-анализа литературы (раздел 3.1).

2.2.1. Материалы, подготовка поверхности и растворы

В качестве подложки использовали стержни диаметром 10 мм из сплава Ti6Al4V (BT6 по ГОСТ 19807-91, производитель «ВСМПО-АВИСМА»), полученные холодной пластической деформацией и разрезанные на диски толщиной 2 мм методом электроэрозионной обработки.

Подготовка поверхности включала последовательное шлифование абразивной бумагой на основе карбида кремния (SiC) с зернистостью 220, 400, 600, 1000 и 1200. Шлифование проводили на специально изготовленном шлифовальном устройстве при давлении 40 кПа в течение 2 мин. На подготовленные образцы методом лазерной гравировки наносили серии параллельных линейных канавок с использованием волоконного лазерного излучателя «LDesigner Fm» (ООО «АтекоТМ», Россия). Регулярные канавки имели глубину 0,1 мм, номинальную ширину 0,15 мм, а шаг по оси варьировался в диапазоне от 0,20 до 0,29 мм. Профиль канавок контролировали методом растровой электронной микроскопии на приборе Dual Beam VERSA 3D HighVac (FEI, США). Лазерная гравировка приводила к двукратному увеличению эффективной площади поверхности по сравнению с гладким образцом. Перед электрохимическими измерениями диски очищали

изопропиловым спиртом, слабокислым раствором лимонной кислоты и бидистиллированной водой.

Для приготовления раствора для электроосаждения хитозан с молекулярной массой 150 кДа и степенью деацетилирования выше 95% (ООО «Объединенная компания ОК», Россия) растворяли в бидистиллированной воде до концентрации 10 г/л, после чего рН раствора доводили до значения 5 с использованием 1 М раствора HCl. Полученную систему выдерживали в течение ночи при непрерывном перемешивании для полного протонирования аминогрупп хитозана. Затем в раствор при интенсивном перемешивании добавляли мелкодисперсный порошок гидроксиапатита (Kalident, Италия), после чего повторно корректировали рН до значения 5.

2.2.2. Электрохимические измерения, поляризационные кривые и электроосаждение

Электрохимические измерения и процесс нанесения покрытия проводили в цилиндрической прижимной электрохимической ячейке, изображенной на рисунке 4, по трёхэлектродной схеме. Рабочий электрод — диск из лазерно-обработанного сплава Ti6Al4V с поверхностью, контактирующей с раствором. Вспомогательный электрод — платиновая сетка, расположенная на расстоянии 1 см от рабочего электрода. Электрод сравнения — хлорсеребряный, помещенный в капилляр, который размещался на расстоянии 0,5 см от поверхности рабочего электрода. Во всех экспериментах потенциалы приводятся относительно хлорсеребряного электрода сравнения.

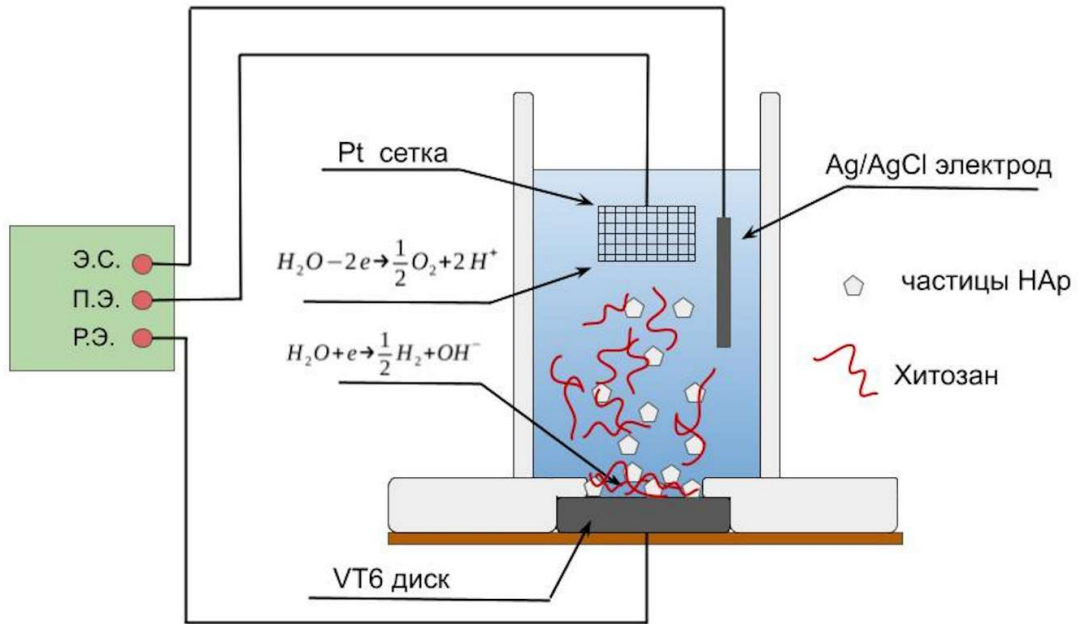


Рисунок 4. Схема электрохимической ячейки для электроосаждения покрытий.

Поляризационные кривые регистрировали с использованием потенциостата Р-45Х (Electrochemical instruments, Россия). Перед каждой поляризацией выдерживали паузу продолжительностью около 5 мин до стабилизации потенциала разомкнутой цепи (ПРЦ), после чего осуществляли катодную развёртку от значения ПРЦ до -2 В со скоростью сканирования 1 мВ/с. Исследовали три состава электролита: (1) 1% хитозан без HA; (2) 1% хитозан + 1% HA; (3) 1% хитозан + 1% HA с последующей адсорбцией VEGF. Электроосаждение композитного покрытия проводили в гальваностатическом режиме при трёх плотностях тока: $-0,1$; -1 и -10 мА/см² в течение 5 мин.

2.2.3. Постобработка, характеристика и биологические тесты *in vitro*

После электроосаждения покрытие подвергали дегидратации путём погружения диска в изопропиловый спирт. В процессе шоковой дегидратации слабо сшитый хитозан частично вымывается, оставляя тонкую плёнку

перекрёстно сшитого хитозана с вкраплениями кальций-фосфатной керамики. После испарения спирта на поверхность покрытия в асептических условиях наносили раствор человеческого сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF) (Pepro Tech, Thermo Fisher Scientific Inc., США) из расчёта 1 мкг на диск, после чего образцы сушили при комнатной температуре в стерильной атмосфере.

Морфологию и толщину покрытия исследовали методом растровой электронной микроскопии (СЭМ) на приборах Tescan Vega и Dual Beam VERSA 3D HighVac (FEI, США).

Биологическая активность покрытия оценивалась по трём показателям с использованием мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток человека (hMSC). Перед биологическими тестами образцы стерилизовали в 60% растворе этанола в течение 1 ч.

Адгезия hMSC. Клетки суспендировали в концентрации 5000 клеток в 10 мкл питательной среды RPMI-1640, дополненной 10% эмбриональной бычьей сыворотки (Thermo Scientific Inc., США), 2 mM глутамина и стрептомицином/пенициллином в концентрации 5000 ME/мл (ПанЭко, Россия). Клетки культивировали на поверхности дисков в течение 30 мин при 37 °C и 5% CO₂. Неадгезированные клетки удаляли промыванием раствором Хэнкса. Адгезированные клетки окрашивали красителем Calcein AM (Sigma-Aldrich, США), визуализировали на автоматическом микроскопе Lionheart™ FX (Perkin Elmer, США), после чего обрабатывали трипсином и измеряли флуоресценцию на флуориметре Spark (Tecan Group Ltd., Швейцария) при длинах волн возбуждения/эмиссии Ex/Em = 495/515 нм.

Остеоиндуктивность. hMSC инкубировали на поверхности образцов в течение 21 сут в полной питательной среде на основе DMEM, дополненной 20% эмбриональной бычьей сыворотки (Thermo Scientific, США), с обновлением среды каждые 2 сут. Оценку остеогенной дифференцировки проводили по уровню щелочной фосфатазы с использованием набора Alkaline Phosphatase Assay Kit (Abcam, США).

Проангиогенный эффект. hMSC инкубировали на поверхности имплантатов в течение 10 сут в питательной среде DMEM + 10% FBS. Оценку ангиогенной дифференцировки осуществляли методом проточной цитофлуориметрии по доле VEGFR(+) клеток с использованием антител к VEGF-рецепторам 1 и 2 (Abcam, США) и проточного цитофлуориметра Novocyte (ACEA Bioscience, США) в соответствии с описанным протоколом [70].

Статистическая обработка. В каждой серии экспериментов исследовали свойства не менее трёх образцов ($n \geq 3$). Результаты представлены в виде среднего \pm стандартное отклонение. Статистическая значимость различий определялась критерием Манна-Уитни (остеогенные и проангиогенные свойства) и t-критерием Стьюдента (адгезия клеток). Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

2.3. Регистрация и обработка электрохимических шумов (СЭШ на основе дискретного преобразования Чебышёва)

Метод спектроскопии электрохимических шумов (СЭШ) на основе дискретного преобразования Чебышёва применён в настоящей работе как универсальный инструмент пассивного мониторинга коррозионного состояния покрытий. Метод использован как в экспериментах *in vitro* с алюминиевыми сплавами (раздел 2.4), так и в экспериментах *in vivo* на мышинной модели (раздел 2.6). Теоретические основы метода и его преимущества перед классическими подходами (FFT, вейвлет-анализ) изложены в разделе 1.4.

2.3.1. Аппаратура и ZRA-конфигурация

Регистрация флуктуаций тока (электрохимических токовых шумов) между двумя идентичными электродами проводилась с помощью 24-битного

аналого-цифрового преобразователя (АЦП) AD7176-2 с сигма-дельта модулятором, входящего в состав оценочного комплекса EVAL-AD7176-2SDZ (Analog Devices, США). Токовые шумы регистрировались на прецизионном шунтирующем резисторе номиналом 10 Ом (точность $\pm 0,1\%$), включённом в цепь между двумя электродами. Частота дискретизации составляла 10 Гц. Длительность каждой непрерывной записи (реализации) – 4096 точек, что соответствует временному интервалу 409,6 с.

Для верификации корректности измерений и исключения вклада электронных шумов измерительной схемы проводили контрольные измерения фонового шума. Контрольные измерения выполнялись с использованием прецизионного резистора номиналом 10 Ом без подключённых изучаемых электродов при соблюдении идентичных условий регистрации (частота дискретизации, длительность записи, алгоритм обработки). Среднеквадратичное значение фонового шума составило величину на порядок меньшую, чем у сигналов, регистрируемых от имплантированных электродов.

2.3.2. Алгоритм обработки данных: параметры реализации и парциальная дисперсия

Временные ряды преобразовывались в частотную область с помощью дискретного преобразования Чебышёва с размерностью $N = 16$ без предварительной обработки сигнала. Данное преобразование устойчиво к влиянию постоянной составляющей и тренда (нулевая и первая спектральные линии автоматически исключаются из анализа) и позволяет получать спектральную характеристику процесса напрямую [71].

Вся реализация (4096 точек) разбивалась на 256 сегментов по 16 отсчётов каждый (длительность одного сегмента — 1,6 с при частоте дискретизации 10 Гц). Над каждым сегментом производилось дискретное преобразование Чебышёва, полученные спектры усреднялись по всем 256 сегментам.

Для интегральной оценки усреднённого спектра вычислялась парциальная дисперсия σ^2 в соответствие с формулой 7. Результатом обработки одной записи является одно значение σ^2 , характеризующее общую интенсивность электрохимического шума за период регистрации 409,6 с.

2.4. Методика биокоррозионных испытаний алюминиевых сплавов *in vitro* в бактериальной среде

Методика предназначена для ускоренной оценки подверженности алюминиевых сплавов биокоррозии, опосредованной микроорганизмами — представителями нормальной микрофлоры тела человека. Метод основан на регистрации флуктуаций силы тока между двумя идентичными электродами, инкубируемыми в бактериальной среде.

2.4.1. Материалы, изготовление электродов и приготовление бактериальной среды

В качестве исследуемого материала использовали алюминиевый сплав с 6% Mg после обработки кручением под высоким давлением с предварительным отжигом при 300 °С. Изучали два типа образцов: непокрытые электроды и электроды с цинковым покрытием, модифицированным железом (98 мас.% Zn, 2 мас.% Fe, толщина покрытия 15 мкм).

Электроды изготавливали в виде пластинок квадратной формы площадью 25 мм² и толщиной 2 мм. Каждый электрод соединяли с медным изолированным проводом при помощи механического обжима с использованием никелированного латунного коннектора для обеспечения электрического контакта. Изоляцию нерабочей поверхности электрода и места соединения с проводом осуществляли с помощью биосовместимой фотополимерной смолы HarzLabs Dental Clear (ООО «Харц Лабз», Россия).

Перед началом эксперимента электроды стерилизовали погружением в 60% этанол в течение 30 мин.

Коррозионная среда представляла собой водный раствор с pH $7,3 \pm 0,2$, содержащий мясной отвар 3 г/л, гидролизат казеина 17 г/л и крахмал 1,5 г/л. В качестве тест-микроорганизма использовали бактерии *Escherichia coli* штамма ATCC 25922. Концентрация бактерий в питательной среде соответствовала $1,5 \times 10^6$ клеток в миллилитре.

2.4.2. Протокол инкубации, измерений и обработки данных

Пару идентичных электродов погружали в лунку культурального планшета, наполненную коррозионной средой, таким образом, что вся открытая поверхность электродов находилась в контакте со средой. Инкубацию проводили при температуре 37 °С в течение 3 суток, ежедневно добавляя питательную среду в объёме 30% от исходного объёма культуры.

Измерения силы тока, протекающего между электродами, производили не менее 5 раз в сутки с использованием амперметра с передачей данных на персональный компьютер (ПК). Электрическая схема продемонстрирована на рисунке 5. Она включала два электрода, соединённые медным проводом через амперметр, с регистрацией данных на ПК.

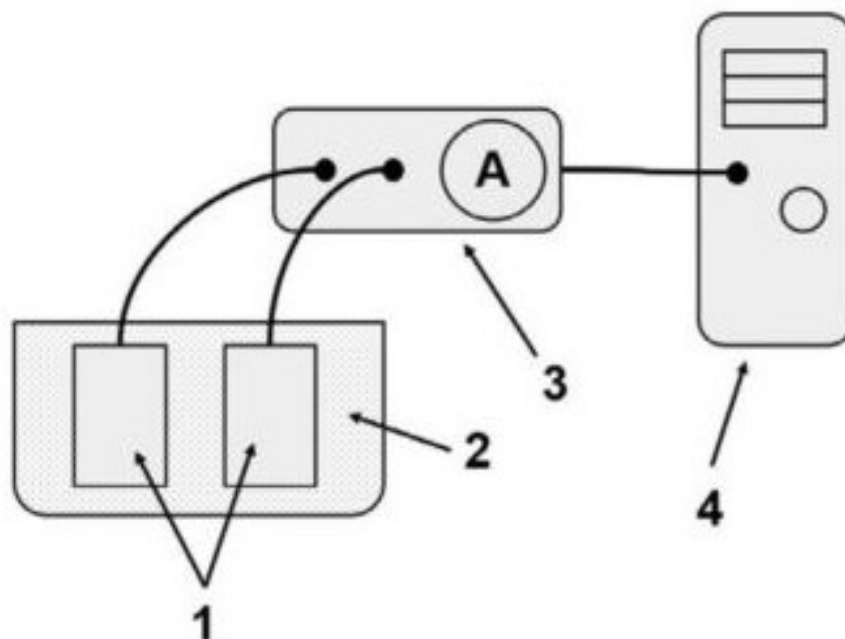


Рисунок 5. Электрическая схема для регистрации флуктуаций тока между идентичными электродами: 1 — электроды, 2 — лунка с коррозионной средой, 3 — амперметр, 4 — ПК.

Обработка данных включала выделение флуктуаций тока вычитанием скользящего среднего и расчёт среднеквадратичного отклонения (СКО) флуктуаций для каждого измерения и вычисление медианы СКО за сутки. Медиана СКО использовалась как интегральная мера интенсивности биокоррозии. Сравнение медианных значений СКО для непокрытых электродов и электродов с защитным покрытием позволяло количественно оценить эффективность противокоррозионной защиты. Динамика изменения медианы СКО по суткам отражала ежедневное развитие биокоррозионных процессов.

2.5. Методика вычислительного моделирования электрохимических измерений *in vivo* (BioElectroSynth)

BioElectroSynth – цифровой симулятор имплантируемого ZRA-датчика в модели мыши, предназначенный для предиктивного проектирования экспериментов *in vivo*. Симулятор позволяет установить, при каких

конфигурациях электродов, параметрах покрытия и протоколах записи нарушение целостности покрытия заданного размера может быть статистически обнаружено, до проведения эксперимента на животных.

2.5.1. Моделирование сигнала: электрохимический шум, биоэлектрические помехи

Реализация осуществлена на языке программирования Python с использованием библиотек NumPy, SciPy (обработка сигналов), NeuroKit2 (генерация физиологических помех) и PyQt6 (графический интерфейс).

Ток, измеряемый ZRA в двухэлектродной конфигурации, моделируется как сумма:

$$I(t) = Q_{ADC} [I_{corr}(t) + I_{bio}(t) + I_{instr}(t)] \quad (10)$$

где I_{corr} — коррозионный шум, I_{bio} — биоэлектрические помехи, I_{instr} — инструментальный шум, Q_{ADC} — оператор квантования АЦП. Все компоненты генерируются на высокой внутренней частоте дискретизации 10 кГц с последующим ресэмплингом до 10 или 100 Гц. Схема формирования сигнала представлена на рисунке 6.

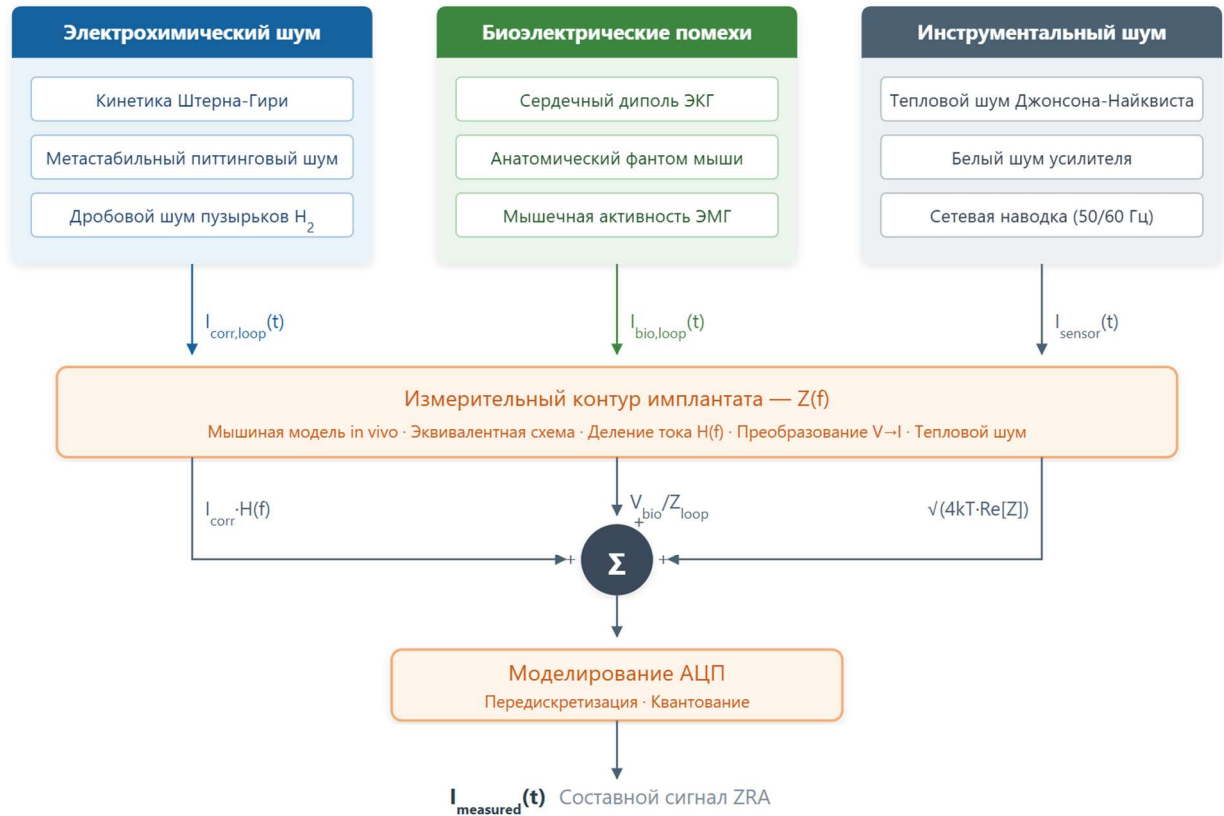


Рисунок 6. Блок-схема конвейера генерации сигналов BioElectroSynth: три независимых группы источников (электрохимический шум, биоэлектрические помехи, инструментальный шум), фильтрация через импеданс измерительного контура и оцифровка АЦП.

Электрохимический коррозионный шум электрода состоит из трёх компонент. Первая компонента — метастабильный питтинг (PSD типа $1/f^2$, амплитуда $\sim 10\% I_{corr}$), пузырьковый дробовой шум и тренд деградации покрытия:

$$I_{corr}(t) = I_{corr}^{baseline} + I_{pit}(t) + I_{H_2}(t) + I_{trend}(t) \quad (11)$$

Базовый коррозионный ток $I_{corr}^{baseline}$ рассчитывается по уравнению Штерна-Гири:

$$I_{corr}^{baseline} = \frac{B \cdot A}{R_{ct}} \quad (12)$$

где $B = -36,6$ мВ для Mg-сплавов, A — площадь оголённой зоны, R_{ct} — сопротивление переноса заряда из данных СЭИ *in vitro* для AZ91 [72].

Биоэлектрические помехи включают два источника. ECG: токовый диполь сердца, расположенный в анатомическом фантоме мыши,

представляющем собой набор из девяти ориентированных эллипсоидов (торс, грудная клетка, голова, уши, конечности) с изотропной электропроводностью $\sigma = 0,5$ См/м. Дипольный момент калиброван для воспроизведения поверхностной амплитуды ЭКГ мышцы $\sim 1,5$ мВ [73]. Временная форма ЭКГ генерируется при частотах сердцебиения 300–600 уд/мин с использованием библиотеки NeuroKit2 [74]. Для моделирования EMG использованы случайные всплески широкополосного шума с трапецеидальной огибающей [75].

Инструментальный шум включает тепловой шум Джонсона-Найквиста, шум усилителя (среднеквадратичное отклонение 0,05 мкА), наводку сети 50/60 Гц и модель АЦП с настраиваемым шагом квантования и поддержкой нескольких стратегий повторной дискретизации суммарного сигнала.

2.5.2. Эквивалентные схемы и двухзонная модель покрытия

Межфазная граница моделируется стандартными элементами эквивалентных схем (R, CPE, L и т.д.), обычно применяемых для AZ91 в моделируемой биологической жидкости [72]: однородная (одна постоянная времени), двухзонная (два RC-контура), диффузионная (элемент Варбурга) и индуктивная (адсорбционные промежуточные продукты).

В настоящем исследовании во всех расчётах Монте-Карло использовалась двухзонная модель, при которой поверхность электрода разделяется на покрытую зону и оголённую зону с долей обнажения θ . Используемая эквивалентная электрическая схема представлена на рисунке 7.

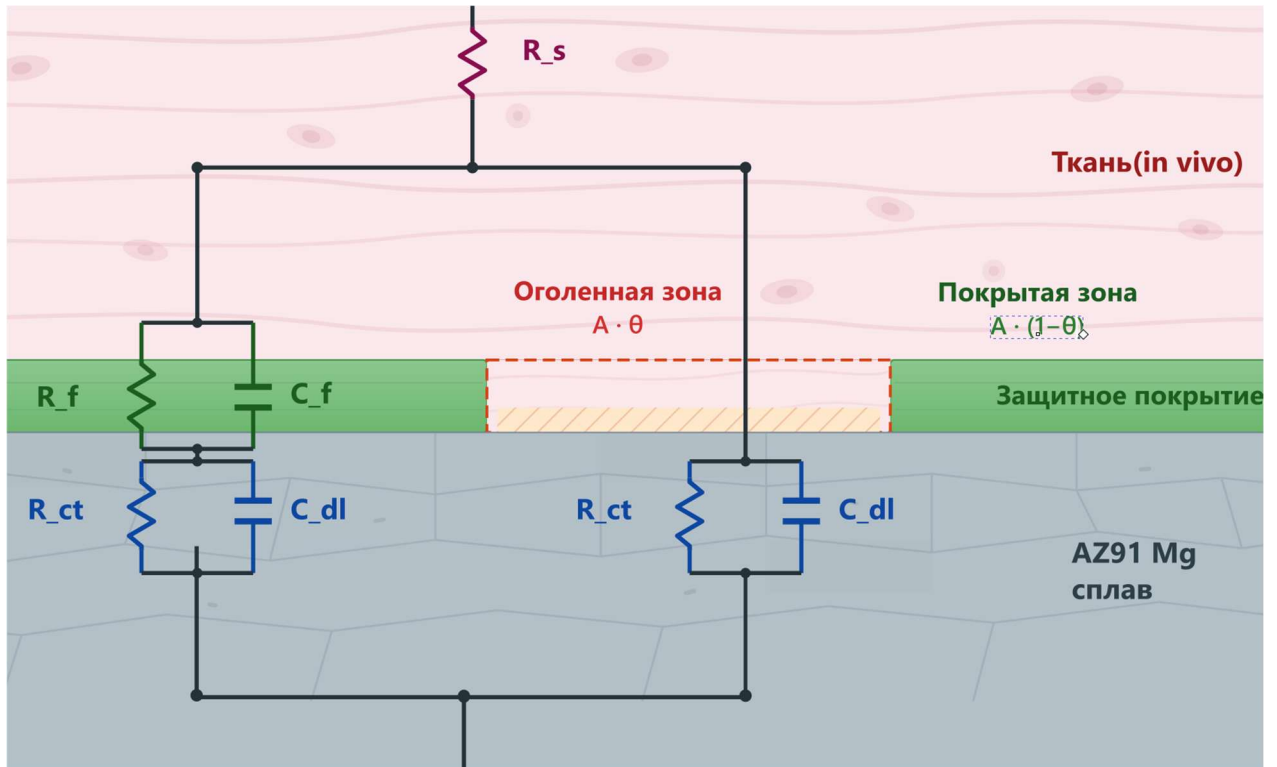


Рисунок 7. Двухзонная модель нарушения целостности покрытия: физическое сечение электрода с покрытой/оголённой зонами и эквивалентная электрическая схема.

Базовые токи коррозии для каждой зоны масштабируются пропорционально их площади согласно соотношению Штерна–Гири [76]:

$$I_{\text{покрытый}} = (1 - \theta) \frac{B \cdot A}{R_{ct}}, \quad I_{\text{оголенный}} = \theta \frac{B \cdot A}{R_{ct}} \quad (13)$$

где $B \approx 0,03 \text{ В}$ — коэффициент Штерна–Гири, определяемый из тафельских наклонов, A — полная площадь электрода [см^2], R_{ct}^{sp} — удельное сопротивление переноса заряда [$\text{Ом} \cdot \text{см}^2$].

Покрытая зона содержит дополнительный импеданс плёнки $R_f \parallel C_f$ ($R_f = 120 \text{ Ом} \cdot \text{см}^2$, $C_f = 80 \text{ мкФ/см}^2$), тогда как оголённая зона контактирует с электролитом непосредственно и представлена только межфазным импедансом $R_{ct} \parallel C_{dl}$. Зоны электрически соединены параллельно, формируя общий импеданс поверхности электрода $Z_{\text{электрода}}$:

$$Z_{\text{электрода}} = Z_{\text{покрытая}} \parallel Z_{\text{оголенная}} \quad (14)$$

Параметры металлического интерфейса соответствуют AZ91 в имитированной биологической жидкости (SBF) в условиях ранней экспозиции: $R_{ct}^{sp} = 300 \text{ Ом} \cdot \text{см}^2$, $C_{dl} = 25 \text{ мкФ/см}^2$. Параметры покрытия приняты

в консервативном сценарии, соответствующем сильно гидратированному гидрогелеподобному состоянию хитозановой плёнки: $R_f^{sp} = 100 \text{ Ом} \cdot \text{см}^2$, $C_f = 800 \text{ мкФ/см}^2$.

Полный импеданс измерительного контура ZRA для пары идентичных электродов составляет:

$$Z_{\text{цепи}}(\omega) = 2Z_{\text{электрода}}(\omega) + R_{\text{ткани}} + R_{\text{шунта}} \quad (15)$$

где $R_{\text{ткани}}$ — сопротивление растекания в окружающей ткани, $R_{\text{шунта}}$ — сопротивление шунта измерительного прибора (10 Ом). Импедансная фильтрация контуром $Z_{\text{цепи}}(\omega)$ обеспечивает корректное разделение частотных компонент: коррозионный шум низкочастотно фильтруется емкостью двойного слоя C_{dl} ; биоэлектрическая помеха проходит через весь Z_{loop} ; инструментальный шум добавляется непосредственно к измеряемому сигналу.

2.5.3. Дизайн Монте-Карло и статистический анализ

Факториальный дизайн Монте-Карло: 5 площадей электрода (0,05–1,0 см²) × 11 значений доли дефекта (0–100%) × 2 частоты дискретизации (10 и 100 Гц) × 30 начальных значений генератора случайных чисел = 3300 реализаций по 30 с каждая. Детерминированное задание начальных значений обеспечивает полную воспроизводимость результатов.

Для каждой реализации вычислялись четыре метрики обнаружения: полное СКО, скользящее среднее СКО (окно 1 с), остаточное СКО (после вычитания скользящего среднего) и коэффициенты спектроскопии Чебышёва. Для каждой конфигурации методом наименьших квадратов проводилась регрессия метрики против доли дефектов, что давало наклон b_1 (чувствительность) и остаточное стандартное отклонение σ .

Безразмерный критерий качества noise-to-sensitivity ratio (NSR) = σ/b_1 не зависит от числа записей N и позволяет сравнивать конфигурации

напрямую. Минимальная обнаружимая доля дефекта рассчитывается по формуле:

$$\delta_{min} = \frac{2 \cdot NSR \cdot t_{\alpha, \nu}}{\sqrt{N}} \quad (16)$$

где $t_{\alpha, \nu}$ — критическое значение распределения Стьюдента для уровня значимости $\alpha = 0,05$, ν — число степеней свободы, N — число независимых записей. Порог обнаружения пробоя убывает как $1/\sqrt{N}$ в соответствии с центральной предельной теоремой.

2.6. Методика эксперимента *in vivo* на мышинной модели

Методика описывает подкожную имплантацию Mg-электродов с хитозановым покрытием и мониторинг *in vivo* их биodeградации методом СЭШ Чебышёва. Дизайн эксперимента (площадь электрода $\approx 2,5$ мм², число записей 3–5 в день) определён результатами вычислительного моделирования (раздел 2.5), установившего рабочее окно обнаружения для данных параметров.

2.6.1. Материалы, изготовление электродов и хитозановое покрытие

В качестве материала для рабочих электродов использовали биорезорбируемый магниевый сплав AZ91 (Mg-9%Al-1%Zn). Электроды изготавливали в виде цилиндрических стержней диаметром 1 мм и длиной 10 мм (рабочая поверхность $\approx 2,5$ мм²).

Для обеспечения электрического контакта каждый стержень соединялся с медным изолированным проводом при помощи механического обжима с использованием никелированного латунного коннектора. Изоляция нерабочей поверхности электрода и места соединения с проводом осуществлялась с помощью биосовместимой фотополимерной смолы HarzLabs Dental Clear

(ООО «Хард Лабз», Россия), сертифицированной для медицинского применения. Смола наносилась в несколько слоёв с последующим отверждением под УФ-излучением (длина волны 405 нм) в течение 10 мин.

Покрытие наносили методом капельного нанесения: на рабочую поверхность электрода наносили микропипеткой 20 мкл 2 мас.% водного раствора хитозана (CAS 9012-76-4, степень деацетилирования >85%, ООО «Объединённая компания ОК», Россия) и высушивали на воздухе при 22 ± 1 °С в течение 24 ч до формирования однородной стабильной плёнки. Раствор хитозана готовили растворением порошка хитозана в Milli-Q воде с подкислением 1 М HCl до pH 5; перед нанесением раствор фильтровали через шприцевой фильтр с размером пор 0,22 мкм (Sartorius, Германия). Перед имплантацией все электроды стерилизовали в 70% растворе этанола в течение 30 мин с последующей промывкой в стерильном физиологическом растворе. Использовали два типа электродов: контрольные (непокрытые) и покрытые хитозаном.

2.6.2. Хирургическая процедура и протокол измерений

В исследовании использовали двух белых мышей-самцов массой 22–25 г. Животных содержали в стандартных условиях вивария при контролируемой температуре (21 ± 2 °С), относительной влажности ($50 \pm 10\%$) и 12-часовом цикле день/ночь с неограниченным доступом к стандартному лабораторному корму и питьевой воде.

Подкожную имплантацию производили в области холки после депиляции шерсти с последующей обработкой кожи 60% этанолом на фоне общей анестезии. После рассечения кожи под ней формировали два симметричных кармана на расстоянии 10–15 мм друг от друга. В каждый карман помещали по одному идентичному электроду (контрольный и/или покрытый). Раны ушивали с использованием хирургического шёлка, фиксируя положение каждого электрода, кожу дезинфицировали этанолом. Подкожные

выводы, объединённые в гибкий двухжильный кабель, выводили в межлопаточной области и герметизировали фотополимерной изоляцией.

Для проведения измерений мышей аккуратно помещали в пластиковый держатель (рестрейнер), который ограничивал их подвижность и минимизировал артефакты движения. Измерения начинали сразу после имплантации и проводили 3–5 раз в день в течение 4 суток. Был выбран режим измерения токовых шумов, поскольку регистрация потенциала в условиях *in vivo* существенно осложнена электрическими наводками от самого животного (миографические артефакты, сердечная активность), а также внешними электромагнитными помехами, которые невозможно полностью устранить без использования экранирующей камеры Фарадея, несовместимой с длительным мониторингом живого объекта.

Регистрация и обработка данных осуществлялись в соответствии с протоколом СЭШ Чебышёва, подробно описанным в разделе 2.3: АЦП AD7176-2, шунтирующий резистор 10 Ом, частота дискретизации 10 Гц, длительность записи 4096 точек (409,6 с), вычисление парциальной дисперсии σ^2 по спектральным линиям $k = 2-15$.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ: ВЫБОР ПАРАМЕТРОВ И НАНЕСЕНИЕ БИОАКТИВНЫХ ПОКРЫТИЙ

3.1. Результаты БЯМ-анализа параметров электроосаждения хитозана из базы научных публикаций

По результатам количественной валидации модель ИИ Gemini 3-Pro продемонстрировала наилучшее среднее значение F1-меры, составивший 0,95. Модель Qwen3.5-4B достигла $F1 = 0,90$, а GPT-OSS-120b — $F1 = 0,93$. Все модели показали высокие результаты при извлечении простых, хорошо определённых сущностей — например, материала подложки и типа добавки, — что аналогично задаче распознавания именованных сущностей (NER), где современные БЯМ демонстрируют высокую точность.

Таблица 1. Результаты оценки качества определения именованных сущностей несколькими БЯМ.

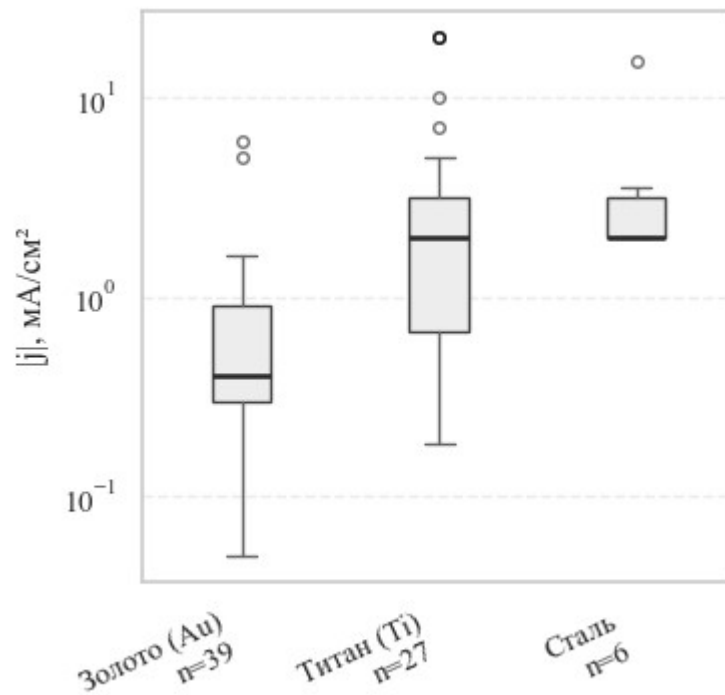
GPT-OSS-120b	Qwen3.5-4b	Gemini 3-Pro	Метрика	Определяемая сущность
0,85	0,86	0,93	точность	Экспериментальная группа
0,93	0,82	1,00	полнота	
0,89	0,84	0,96	F1	
0,93	1,00	1,00	точность	Состав раствора
1,00	1,00	1,00	полнота	
0,96	1,00	1,00	F1	
0,70	0,78	0,80	точность	Материал электрода
0,70	0,80	0,85	полнота	
0,70	0,79	0,82	F1	
1,00	1,00	1,00	точность	Режим осаждения
1,00	1,00	1,00	полнота	
1,00	1,00	1,00	F1	

Однако, как показали результаты качественной валидации («БЯМ-судья»), высокие значения F1-меры не гарантируют фактологической корректности ассоциаций между извлечёнными параметрами. В рамках данного подхода для каждого извлечённого поля система реконструировала полное иерархическое поддерево в формате JSON — от корневого объекта

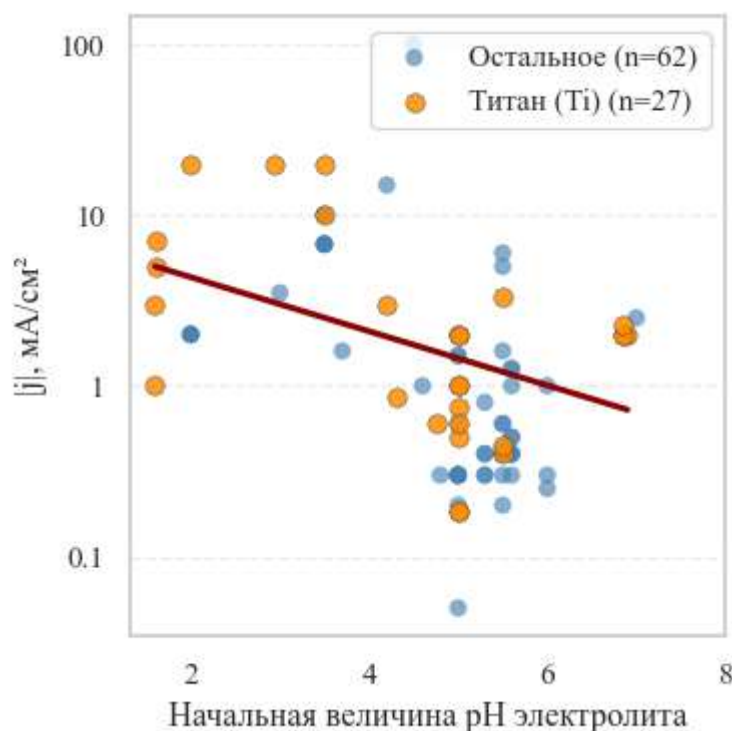
документа через экспериментальные группы, параметры раствора и режимы осаждения — с сохранением семантических отношений. На основе этого контекста модель-судья генерировала утверждение на естественном языке (например, «В данном исследовании на титановую подложку Ti_6Al_4V осаждался хитозан концентрации 10 г/л при плотности тока 1 mA/cm^2 и pH 5»), которое затем верифицировалось по исходному полнотекстовому документу формата Markdown без доступа к файлу JSON. Только при однозначном подтверждении утверждения из исходного текста извлечение считалось фактологически корректным. Результаты показали существенное снижение показателей у компактной модели: Qwen3.5-4B при $F1 = 0,9$ продемонстрировала лишь 48% смысловой точности, тогда как Gemini 3-Pro и GPT-OSS-120b показали существенно более высокие результаты (87% и 74% соответственно) что свидетельствует об их более развитой способности к аналитическому рассуждению, то есть корректному связыванию конкретных параметров (плотность тока, pH, концентрация) с соответствующими экспериментальными группами. Этот результат подтверждает гипотезу о том, что стандартные метрики на уровне определения отдельных токенов (точность, полнота, F1) не отражают контекстуальную точность извлечения научных данных, и что для создания достоверной базы знаний необходим качественный валидационный слой.

На основе проанализированной базы статей (982 публикации, 720 групп с верифицированным электроосаждением хитозана) были выявлены ключевые закономерности параметрического пространства, представленные на рисунке 8. Анализ распределения плотностей тока в гальваностатическом режиме показал, что титановые подложки образуют статистически обособленный кластер параметров: медиана $|j|$ для Ti составляет $1,7 \text{ mA/cm}^2$ (межквартильный диапазон $0,8\text{--}3,2 \text{ mA/cm}^2$), что статистически значимо превышает соответствующее значение для золотых электродов — $0,45 \text{ mA/cm}^2$ (межквартильный диапазон $0,27\text{--}0,83 \text{ mA/cm}^2$; критерий Манна–Уитни, $U = 836,5$, $p = 5,1 \times 10^{-5}$, $n_{Ti} = 27$, $n_{Au} = 39$). Это систематическое различие

отражает предметную специфику двух областей: золото используется преимущественно в биосенсорах, где минимальные токи предотвращают денатурацию функциональных слоёв, тогда как Ti применяется для формирования толстых полимерных матриц в имплантатах, где более высокое перенапряжение выделения водорода на титане позволяет использовать повышенные токи без критического отрыва формирующегося покрытия пузырьками газа.



a



б

Рисунок 8. Распределение плотности тока $|j|$ при гальваностатическом электроосаждении хитозана по данным БЯМ-анализа базы публикаций: (а) диаграммы размаха для трёх материалов рабочего электрода; (б) зависимость $|j|$ от начального рН электролита для Ti-подложек в сравнении с остальными материалами; линия — регрессия для Ti: $\log_{10}|j| = -0,158 \cdot \text{pH} + 0,95$.

Для Ti-подложек оптимальный диапазон плотностей тока, воспроизводимый в большинстве публикаций, составляет 0,1-10 мА/см² с медианой около 1-2 мА/см². Значение рН раствора в диапазоне 4,5–5,5 является критичным для обеспечения растворимости хитозана при сохранении достаточного протонирования аминогрупп: регрессионный анализ по Ti-группам выявляет отрицательную зависимость $\log|j|$ от рН ($R^2 = 0,21$, $p < 0,05$), что согласуется с механизмом катодного осаждения поликатиона — при более низкой начальной величине рН электролита требуется генерация большего количества гидроксид-ионов (ОН⁻) у поверхности катода для достижения локального порога нерастворимости хитозана (рН ~6,3), что закономерно обуславливает потребность в более высоких плотностях тока. Наиболее часто встречающиеся концентрации хитозана составляют 0,5-2 мас.%, молекулярная масса — 50-300 кДа. Среди добавок доминирует гидроксиапатит (НАр),

присутствующий в 30-40% публикаций, что отражает его роль как неорганического компонента костной ткани.

Совокупность этих результатов БЯМ-анализа послужила количественной основой для выбора параметров электроосаждения в разделе 3.2: плотность тока 1 мА/см² (мода для Ti-подложек), pH 5 (середина оптимального диапазона растворимости), концентрация хитозана 10 г/л (\approx 1 мас.%), добавка 1 мас.% НАр.

3.2. Электроосаждение композитного покрытия Chit/НАр/VEGF на лазерно-обработанном Ti6Al4V

На рисунке 9 представлены микрофотографии поверхности диска из сплава Ti6Al4V после лазерной обработки. Регулярные канавки имели глубину 0,1 мм, номинальную ширину 0,15 мм, а шаг по оси варьировался в диапазоне от 0,20 до 0,29 мм.

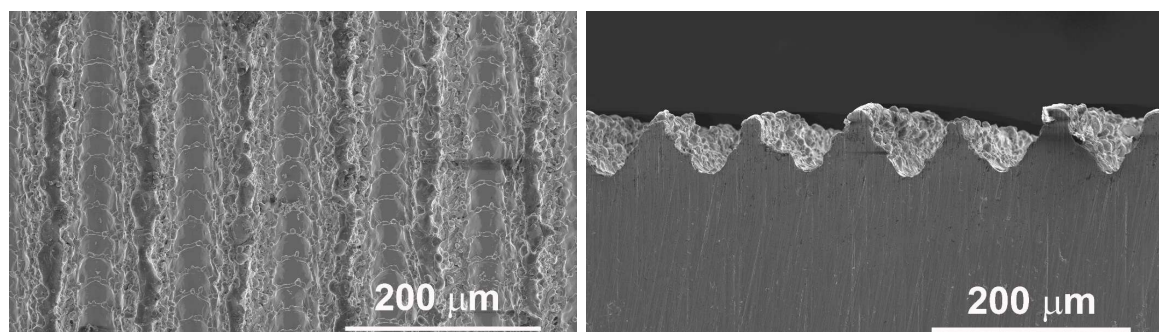


Рисунок 9. СЭМ-изображения поверхности дисков Ti6Al4V после лазерной обработки: регулярные канавки глубиной 0,1 мм, шириной 0,15 мм, шаг 0,20–0,29 мм.

Примененная в данном исследовании технология лазерной гравировки позволяет автоматически формировать микрорельеф с заданными характеристиками, в том числе на изделиях сложной формы. Такая модификация поверхности приводит к двукратному увеличению эффективной площади по сравнению с гладким образцом, что способствует увеличению объема наносимого покрытия. Дополнительно сформированные канавки

могут выполнять функцию защитного барьера для покрытия во время хирургической имплантации: выступающие элементы рельефа принимают на себя основную механическую нагрузку, в то время как покрытие, расположенное в углублениях, оказывается защищенным от значительного трения с костной тканью, обеспечивая стабильную клеточную адгезию. [77, 78]

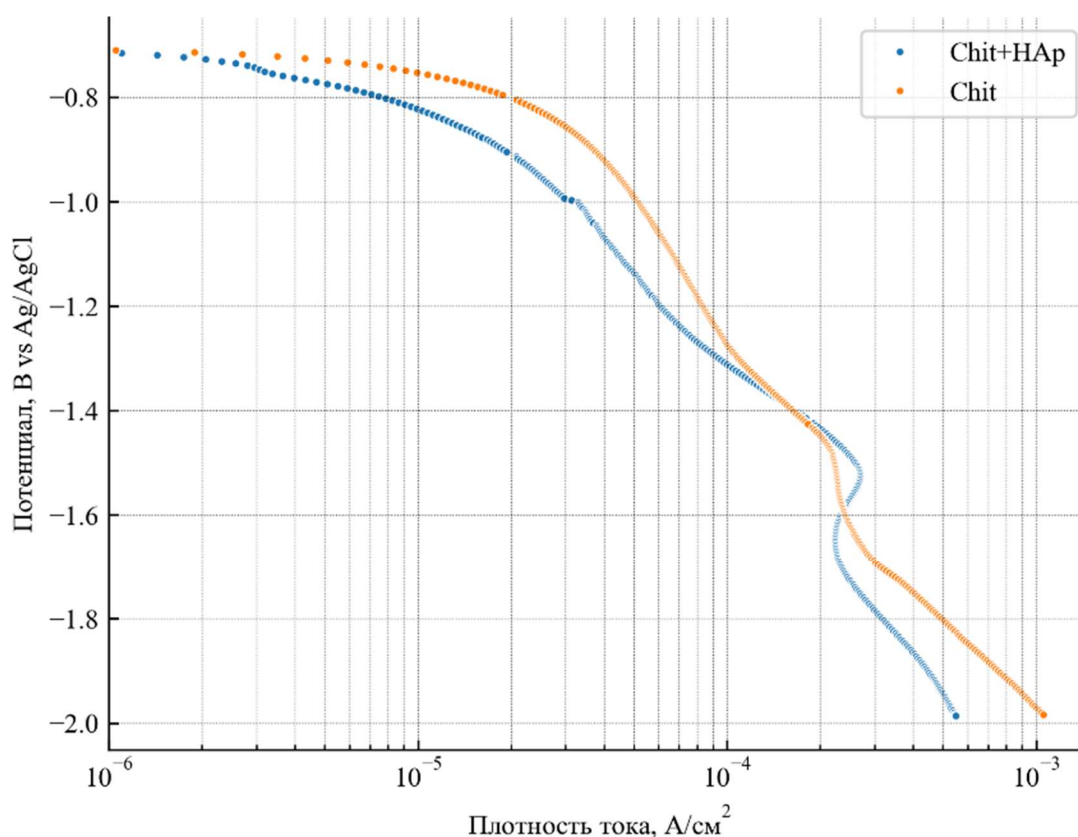


Рисунок 10. Типичные поляризационные кривые для дисков $Ti6Al4V$ с микрорельефом в растворах 1% хитозана (Chit) и 1% хитозана + 1% HA.

Для изучения электрохимического поведения системы были получены поляризационные кривые дисковых электродов с микрорельефом в растворах, содержащих 1% хитозана (Chit) и 1% хитозана с добавлением 1% гидроксиапатита (HA). Типичные поляризационные кривые представлены на рисунке 10. Потенциал разомкнутой цепи (ПРЦ) для обеих систем составил -710 ± 10 мВ (отн. Ag/AgCl). В интервале потенциалов от ПРЦ до $-1,4$ В плотность тока в растворе без гидроксиапатита была выше, чем в его присутствии. Данное отличие связано с экранирующим воздействием частиц

НАр, осаждающихся на поверхности рабочего электрода и блокирующих её во время эксперимента. В указанном диапазоне потенциалов на поверхности диска протекает восстановление растворённого кислорода (уравнение 2, раздел 1.2). При потенциалах ниже $-1,7$ В доминирует электролиз воды с интенсивным газовыделением, вызывающим формирование макродефектов покрытия (уравнение 1, раздел 1.2). На поляризационных кривых в промежуточном интервале от $-1,2$ до $-1,7$ В фиксируется пик плотности тока приблизительно при $-1,5$ В; его появление коррелирует с присутствием хитозана и не зависит от добавки НАр.

Присутствие микрочастиц гидроксиапатита в концентрациях до 1% не оказывает заметного влияния на протекание электродных процессов при низких катодных потенциалах. При повышенных концентрациях НАр, а также при снижении рН наблюдается существенный рост концентрации продуктов его частичного растворения; механизм растворения и последующей рекристаллизации НАр в приэлектродном слое подробно рассмотрен в разделе 1.2. В контексте электроосаждения хитозана растворение НАр приводит к потреблению гидроксид-ионов, что замедляет рост рН и, как следствие, снижает скорость гелеобразования; для формирования покрытия требуются более высокие плотности тока, сопровождающиеся интенсивным газовыделением и снижением равномерности плёнки.

На основании анализа поляризационных кривых и данных, полученных с помощью БЯМ (раздел 3.1), провели электроосаждение при трёх плотностях тока: 0,1, 1 и 10 мА/см². Установлено, что при 0,1 мА/см² сформированное покрытие после сушки самопроизвольно отслаивалось от титановой подложки, тогда как при -10 мА/см² оно прочно адгезировало к поверхности, но содержало критические макродефекты, обусловленные активным газовыделением. В связи с этим для гальваностатического режима была выбрана плотность катодного тока 1 мА/см² (длительность 5 мин), при которой удаётся получить покрытие без образования крупных пузырей на поверхности

диска. Выбранная плотность тока находится в оптимальном диапазоне 0,5-2 мА/см², идентифицированном при анализе литературы.

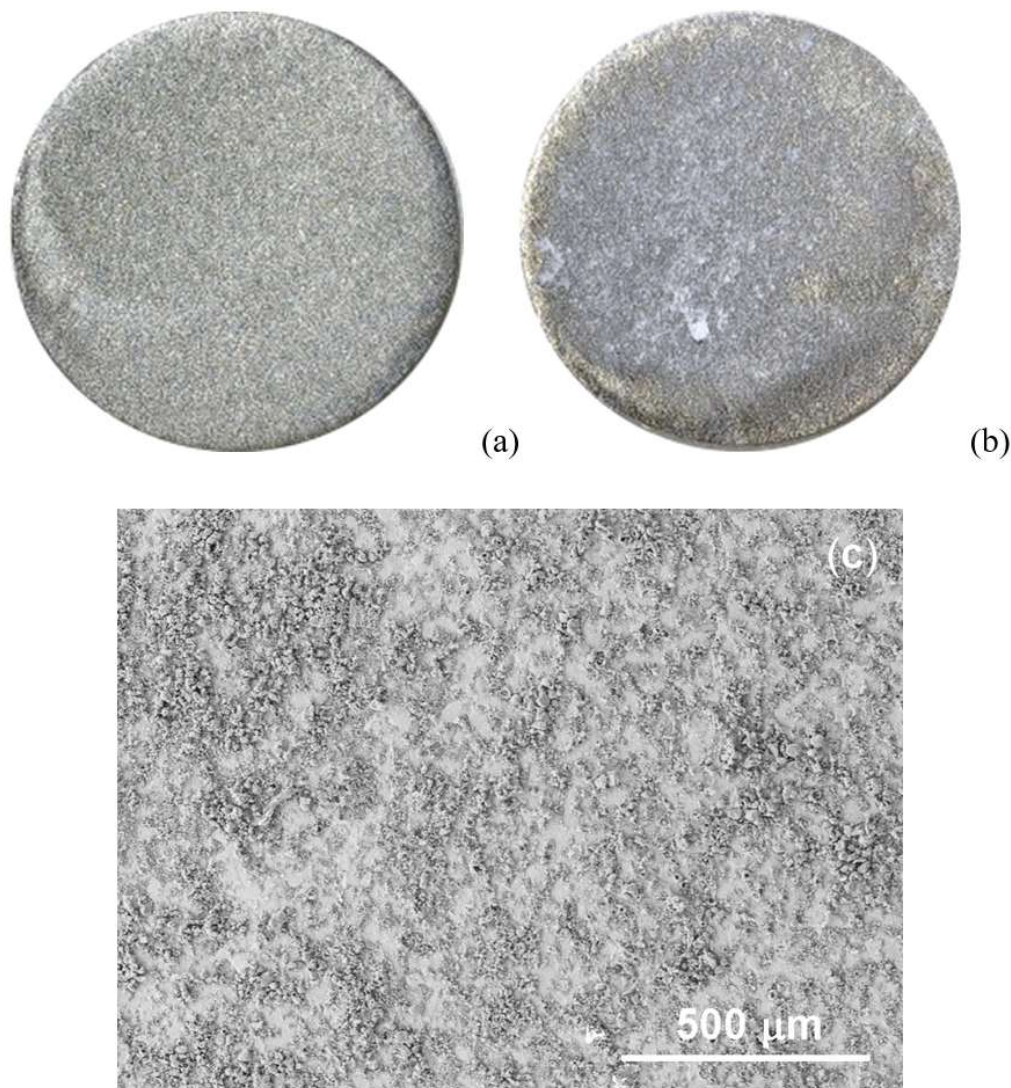


Рисунок 11. Фотографии титановых дисков (а) без покрытия и (б) с биоактивным покрытием; (в) СЭМ электроосаждённого композитного покрытия Chit/HAp.

Во время дегидратации в изопропиловом спирте слабо сшитый хитозан частично вымывался, оставляя тонкую плёнку перекрёстно-сшитого хитозана с вкраплениями кальций-фосфатной керамики. Быстрое высыхание плёнки способствовало формированию развитой поверхности хитозана, увеличивающей площадь для последующей адсорбции VEGF. На рисунке 11 приведены фотографии титановых дисков с биоактивным покрытием и без него, а также СЭМ-изображение композитного покрытия Chit/HAp,

подтверждающее однородность плёнки и её заполнение канавок микрорельефа.

3.3. Биологические свойства композитного покрытия *in vitro*

Биологическая активность разработанного композитного покрытия Chit/HAp/VEGF оценивалась по трём независимым показателям, таким как адгезия мезенхимальных стромальных клеток человека (hMSC, МСК), остеоиндуктивность (активность щелочной фосфатазы) и проангиогенный эффект (доля VEGFR(+) клеток).

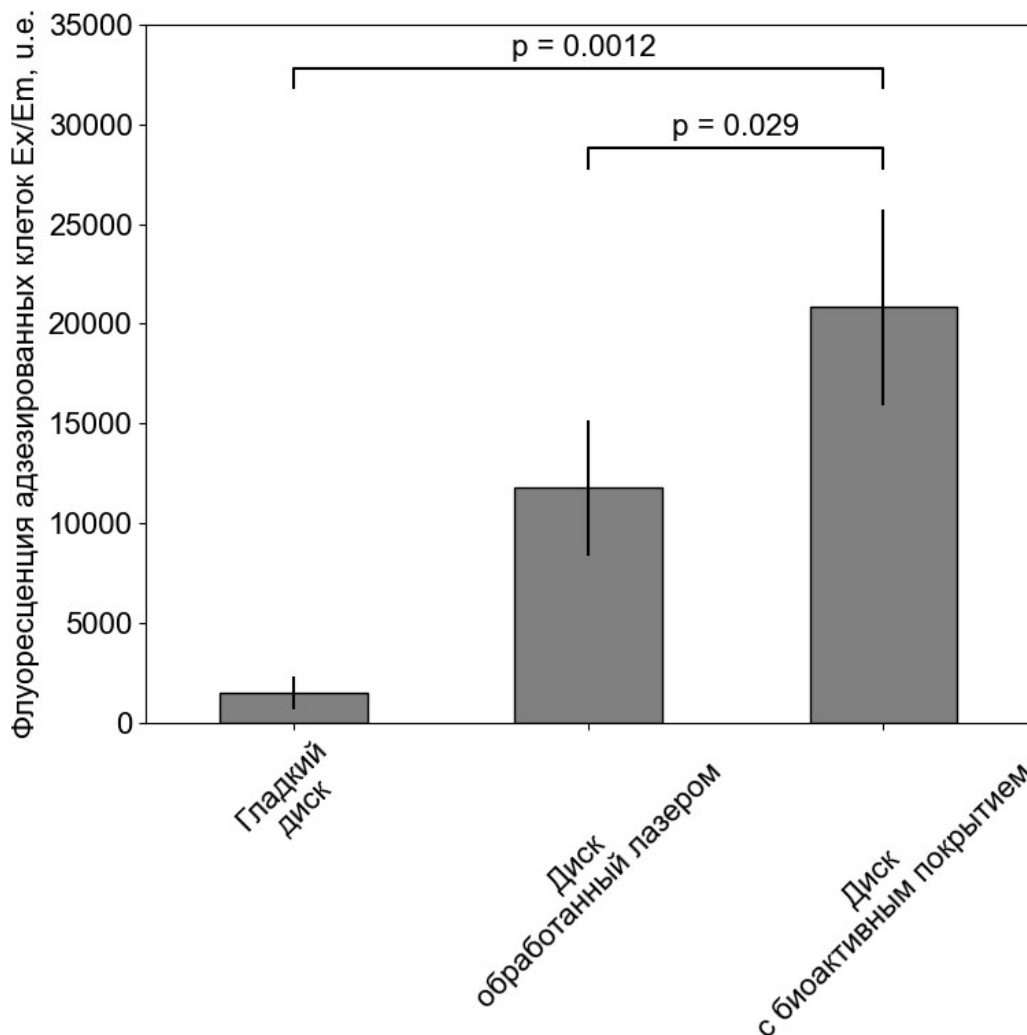


Рисунок 12. Адгезия клеток МСК на дисках Ti6Al4V: флуоресценция адгезированных клеток.

На рисунке 12 представлены результаты экспериментов по оценке числа адгезированных МСК на поверхностях образцов Ti_6Al_4V с биоактивным покрытием и без него. Интенсивность флуоресценции окрашенных кальцеином (Calcein AM, Ex/Em 495/515 нм) клеток, закрепившихся на дисках с композитным покрытием Chit/HAp/VEGF и лазерным микрорельефом, оказалась в 1,5 раза выше по сравнению с обработанными лазером дисками (только микрорельеф, без покрытия) и более чем в 10 раз выше, чем на гладких дисках ($p < 0,05$). Согласно литературным данным, хитозановые поверхности поддерживают адгезию и остеогенную дифференцировку мезенхимальных стромальных клеток; в частности, для hMSC на хитозановых покрытиях показано повышение минерализации и экспрессии генов, связанных с остеобластной дифференцировкой [79]. Это свидетельствует о целесообразности использования хитозана в качестве матрицы для частиц гидроксиапатита: наличие источника кальция стимулирует дифференцировку мезенхимальных стволовых клеток в остеобласты на поверхности имплантата [80, 81].

Для оценки остеогенной дифференцировки hMSC спустя 21 сутки совместной инкубации измеряли активность щелочной фосфатазы (Alkaline Phosphatase Assay Kit, Abcam). Результаты этой оценки представлены на рисунке 13. Культивирование клеток на дисках с биоактивным покрытием приводило к статистически значимому увеличению уровня щелочной фосфатазы в 3-5 раз по сравнению с эквивалентными дисками без покрытия ($p < 0,001$). Данный факт свидетельствует о выраженной стимуляции остеогенной дифференцировки клеток и подтверждает остеоиндуктивные свойства исследуемых образцов. Увеличение активности щелочной фосфатазы является ранним маркером остеогенной дифференцировки и отражает способность покрытия индуцировать биоминерализацию — процесс, критически важный для остеоинтеграции имплантата.

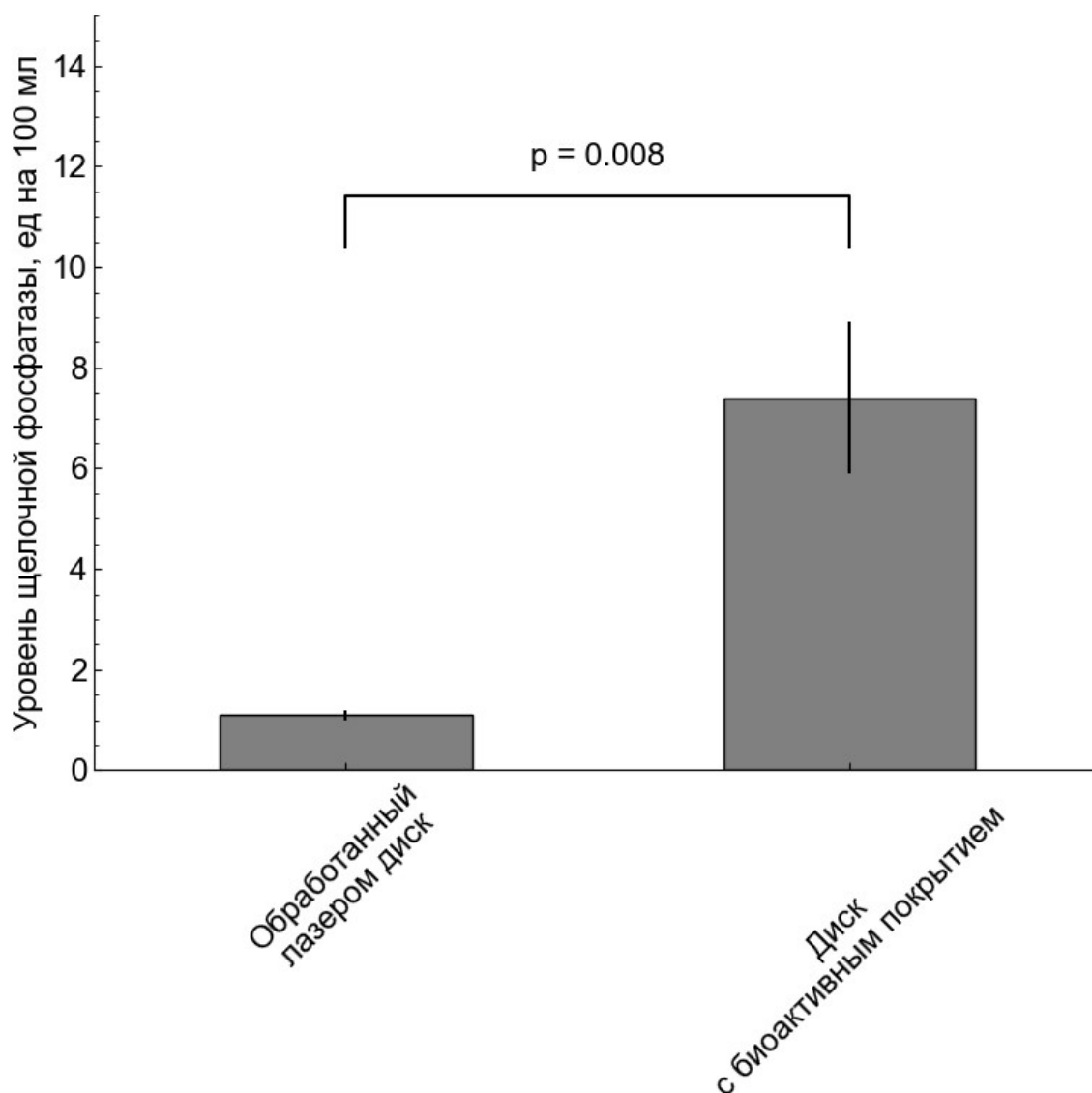


Рисунок 13. Остеоиндуктивные эффекты (активность щелочной фосфатазы) на дисках Ti6Al4V с различной обработкой поверхности.

Для оценки способности покрытия стимулировать ангиогенез измеряли долю клеток, экспрессирующих рецепторы фактора роста эндотелия сосудов (VEGFR), методом проточной цитофлуориметрии (Novocyte) после 10 суток инкубации hMSC. Результаты представлены на рисунке 14. Установлено, что культивирование клеток на дисках с биоактивным покрытием приводило к достоверному увеличению доли VEGFR(+)-клеток в 8,7-17,6 раза по сравнению с контролем. Поскольку выраженная экспрессия рецепторов VEGF коррелирует с дифференцировкой клеток по ангиогенному пути, полученные данные подчёркивают проангиогенное действие исследуемых образцов. Этот эффект имеет критическое значение для успешной имплантации: для

формирования устойчивой внутрикостной интеграции необходимо создать условия для неоостеогенеза в зоне имплантации, чему должна предшествовать быстрая васкуляризация, обеспечивающая приток к очагу остеосинтеза остеогенных клеточных предшественников и биомолекул. Стимуляция ангиогенеза является, таким образом, критически важной для успешного приживания имплантата [22].

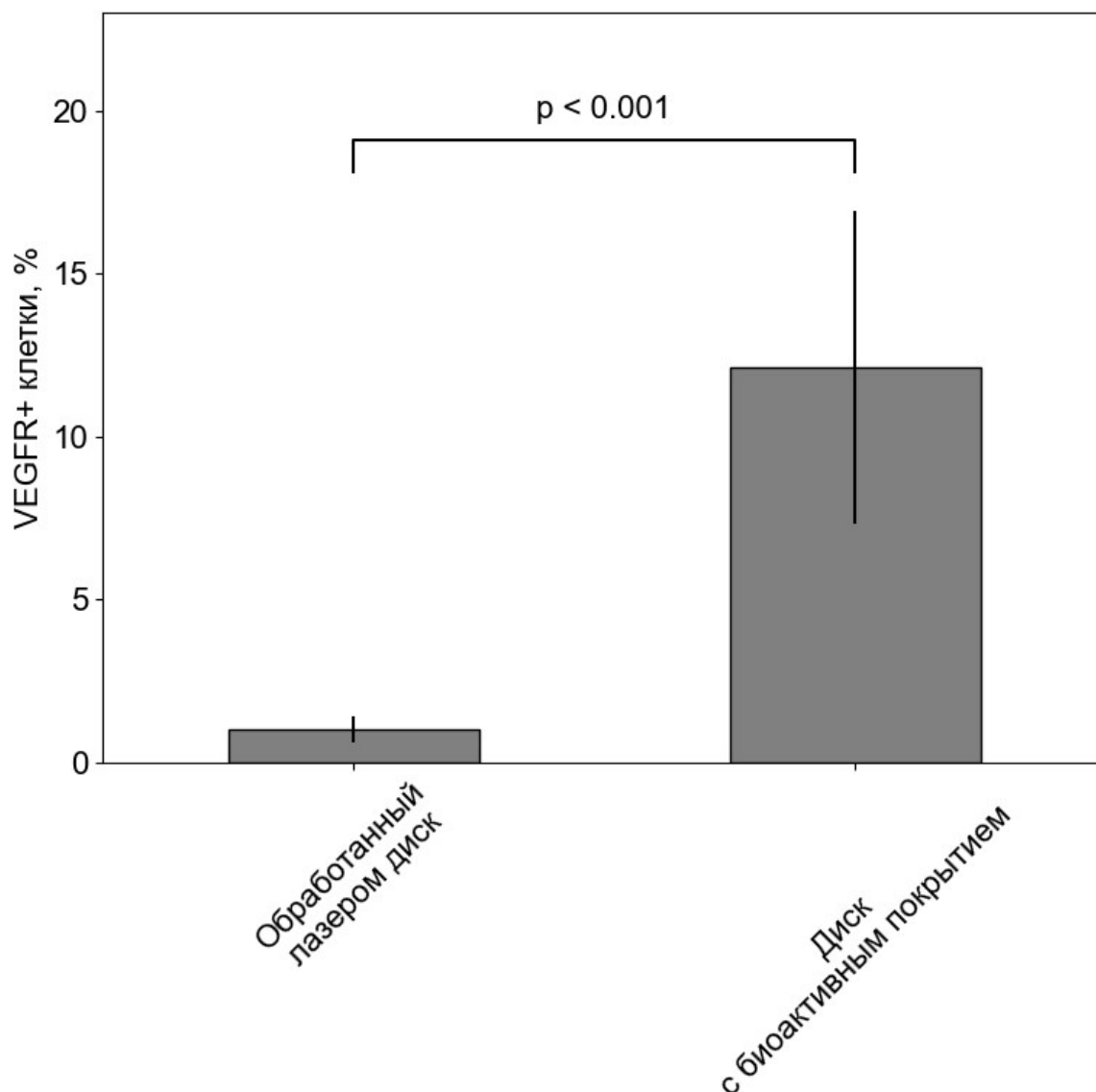


Рисунок 14. Проангиогенные эффекты (доля VEGFR(+) клеток) на дисках Ti6Al4V с различной обработкой поверхности.

Совокупность полученных данных свидетельствует о том, что композитное покрытие Chit/HAp проявляет не только остеоиндуктивные, но и выраженные проангиогенные свойства, одновременно повышая адгезию и

остеогенную дифференцировку hMSC и увеличивая долю клеток, экспрессирующих VEGF-рецептор. Предполагается, что после имплантации адсорбированный на поверхности VEGF будет индуцировать формирование капиллярной сети, способствуя васкуляризации имплантата, биодеградации хитозана, а также адгезии и остеогенной дифференцировке клеток в зоне остеореконструкции. В процессе биодеградации хитозан будет высвобождать частицы HA, которые за счёт локального увеличения концентрации кальция будут стимулировать дальнейшую остеогенную дифференцировку [82, 83]. Таким образом, биоактивность разработанного покрытия подтверждена по трём независимым показателям, а параметры электроосаждения, выбранные на основе БЯМ-анализа литературы (раздел 3.1), обеспечивают формирование функционального покрытия с заданными биологическими свойствами.

ГЛАВА 4. РЕЗУЛЬТАТЫ: ПОШАГОВАЯ ВАЛИДАЦИЯ ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА ПОКРЫТИЙ

Настоящая глава представляет результаты пошаговой валидации метода электрохимического шумового мониторинга для контроля состояния покрытий, начиная от модельных систем к целевому лекарственному покрытию. Валидация проведена в три этапа с нарастающей сложностью среды: (1) *in vitro* в контролируемой бактериальной среде на алюминиевых сплавах (ускоренная скрининговая модель, раздел 4.1), (2) вычислительное моделирование измерений *in vivo* с учётом биоэлектрических помех (раздел 4.2), (3) эксперимент *in vivo* на мышинной модели с магниевыми имплантатами (раздел 4.3). Раздел 4.4 содержит сравнительный синтез трёх этапов и их перенос на контроль целевых полимерных покрытий-носителей.

4.1. Валидация *in vitro*: ускоренный метод биокоррозионных испытаний алюминиевых сплавов в бактериальной среде

Первый этап валидации метода электрохимического шумового мониторинга выполнен в контролируемых условиях *in vitro* на алюминиевых сплавах в бактериальной среде. Цель этапа — доказать принципиальную возможность обнаружения биокоррозии, опосредованной микроорганизмами, по флуктуациям тока между идентичными электродами, а также способность метода различать покрытые и непокрытые образцы.

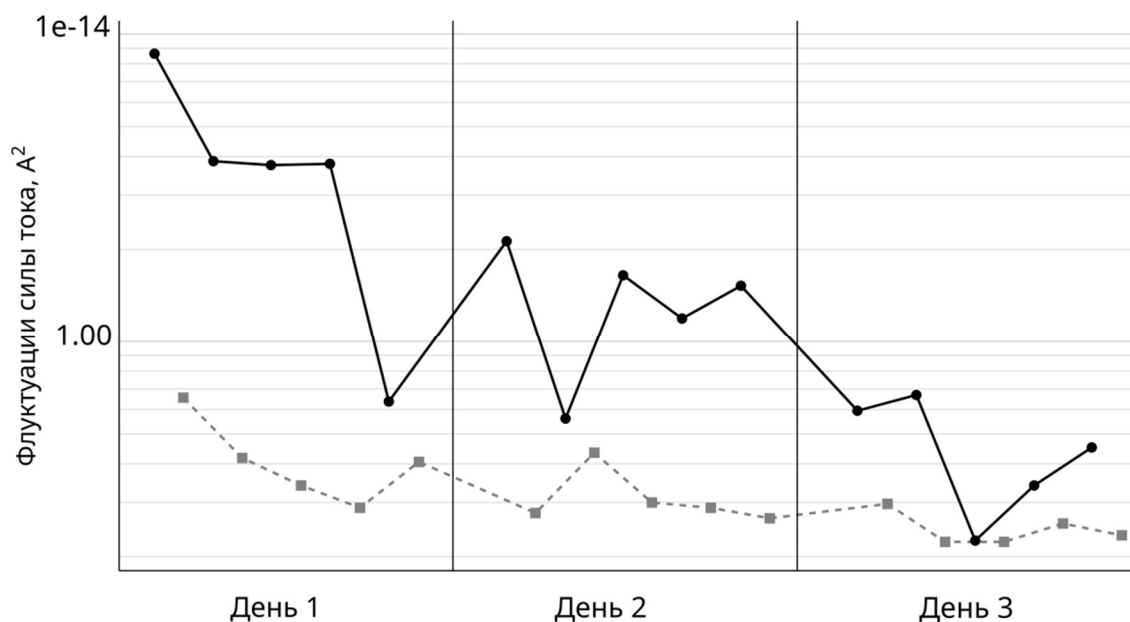


Рисунок 15. Динамика среднеквадратичных отклонений флуктуаций тока для непокрытых (сплошная линия) и покрытых Zn/Fe (пунктир) электродов из алюминиевого сплава в бактериальной среде.

Эксперименты проведены в соответствии с разработанным методом (патент RU 2858007). Два идентичных электрода из алюминиевого сплава, содержащего 6% Mg (после кручения под высоким давлением, предварительный отжиг при 300°C), выполненные в виде пластинок квадратной формы площадью 25 мм² и толщиной 2 мм, погружали в коррозионную среду — жидкую питательную среду (pH 7,3 ± 0,2) с бактериями *Escherichia coli* штамма ATCC 25922 при концентрации 1,5×10⁶ клеток/мл. Инкубацию проводили при 37°C в течение 3 суток с ежесуточным дополнением 30% объёма питательной среды. Силу тока между электродами регистрировали не менее 5 раз в сутки с помощью амперметра с последующей компьютерной обработкой.

Изучение динамики биокоррозии непокрытых образцов показало, что медиана среднеквадратичных отклонений (СКО) флуктуаций тока составила 1,8×10⁻⁷ А в первые сутки, 1,2×10⁻⁷ А во вторые и 7×10⁻⁸ А на третьи сутки. Наибольшая интенсивность биодеградации наблюдалась в течение первых суток, что соответствует активной коррозии свежей поверхности. Во второй день зафиксировано снижение интенсивности на 33,3% относительно первого

дня, на третий — на 61,1%. Наблюдаемое снижение СКО отражает формирование пассивирующего слоя продуктов коррозии на поверхности электродов, ингибирующего дальнейшее растворение.

Для демонстрации чувствительности метода к наличию защитного покрытия были испытаны электроды с цинковым покрытием, модифицированным железом (98 мас.% Zn, 2 мас.% Fe, толщина 15 мкм), в сравнении с контрольными образцами без покрытия. Для образцов с покрытием медианное СКО на первые сутки составило $6,0 \times 10^{-8}$ А, что на 66,7% ниже показателя контроля. На вторые сутки — $5,5 \times 10^{-8}$ А (на 54,2% ниже контроля), на третьи — $5,0 \times 10^{-8}$ А (на 28,6% ниже). Все значения представлены с точностью $\pm 0,05 \times 10^{-8}$ А. Zn-покрытие обеспечивает статистически значимое снижение интенсивности коррозионных флуктуаций во все дни наблюдения, при этом разница между покрытыми и непокрытыми образцами закономерно уменьшается с течением времени, что свидетельствует о постепенной деградации защитного покрытия.

Полученные результаты следует сопоставить с требованиями стандартных методов коррозионных испытаний. Согласно ГОСТ 9.905-82 «Методы коррозионных испытаний. Общие требования», площадь поверхности образцов должна быть не менее 50 см², а длительность испытаний может достигать 4 лет. Согласно ГОСТ 9-909-2023, основными типами образцов являются пластины площадью 150×100 мм², а испытания проводятся ежемесячно в течение года и более. Разработанный метод сокращает площадь образца до 25 мм² (в 200 раз по сравнению с ГОСТ 9.905-85) и длительность испытаний до 3 суток (в тысячи раз по сравнению с годовыми испытаниями), обеспечивая при этом не только интегральную оценку, но и динамику коррозионного процесса в реальном времени.

Результаты этапа 1 подтверждают три ключевых положения. Во-первых, ZRA-метод обнаруживает биокоррозию, вызванную микроорганизмами, по СКО флуктуаций тока. Во-вторых, метод способен различать покрытые и непокрытые образцы. В-третьих, динамика СКО отслеживает эволюцию

коррозионного процесса во времени. В данном этапе использована простейшая обработка сигнала (СКО) без частотного анализа, что допустимо в отсутствие биоэлектрических помех. Отработанная на Al/Zn системе ускоренная модель скрининга *in vitro* доказывает универсальность электрохимического подхода и его пригодность для первичной оценки барьерных свойств любых полимерных покрытий-носителей перед их имплантацией. Однако для перехода к измерениям *in vivo* необходимо оценить влияние кардиальных и миографических артефактов — эта задача решается на этапе 2 (раздел 4.2).

4.2. Предиктивное моделирование электрохимических измерений *in vivo* (BioElectroSynth)

Доказав работоспособность шумового мониторинга *in vitro* (раздел 4.1), необходимо ответить на критический вопрос: будет ли метод функционировать в организме, где коррозионный сигнал сосуществует с биоэлектрическими помехами от работы сердца и сокращения мышц? Для ответа на этот вопрос до проведения эксперимента на животных разработан цифровой симулятор BioElectroSynth — предиктивный инструмент, моделирующий имплантируемый ZRA-датчик на мышинной модели. На рисунке 16 продемонстрирован интерфейс разработанной программы.

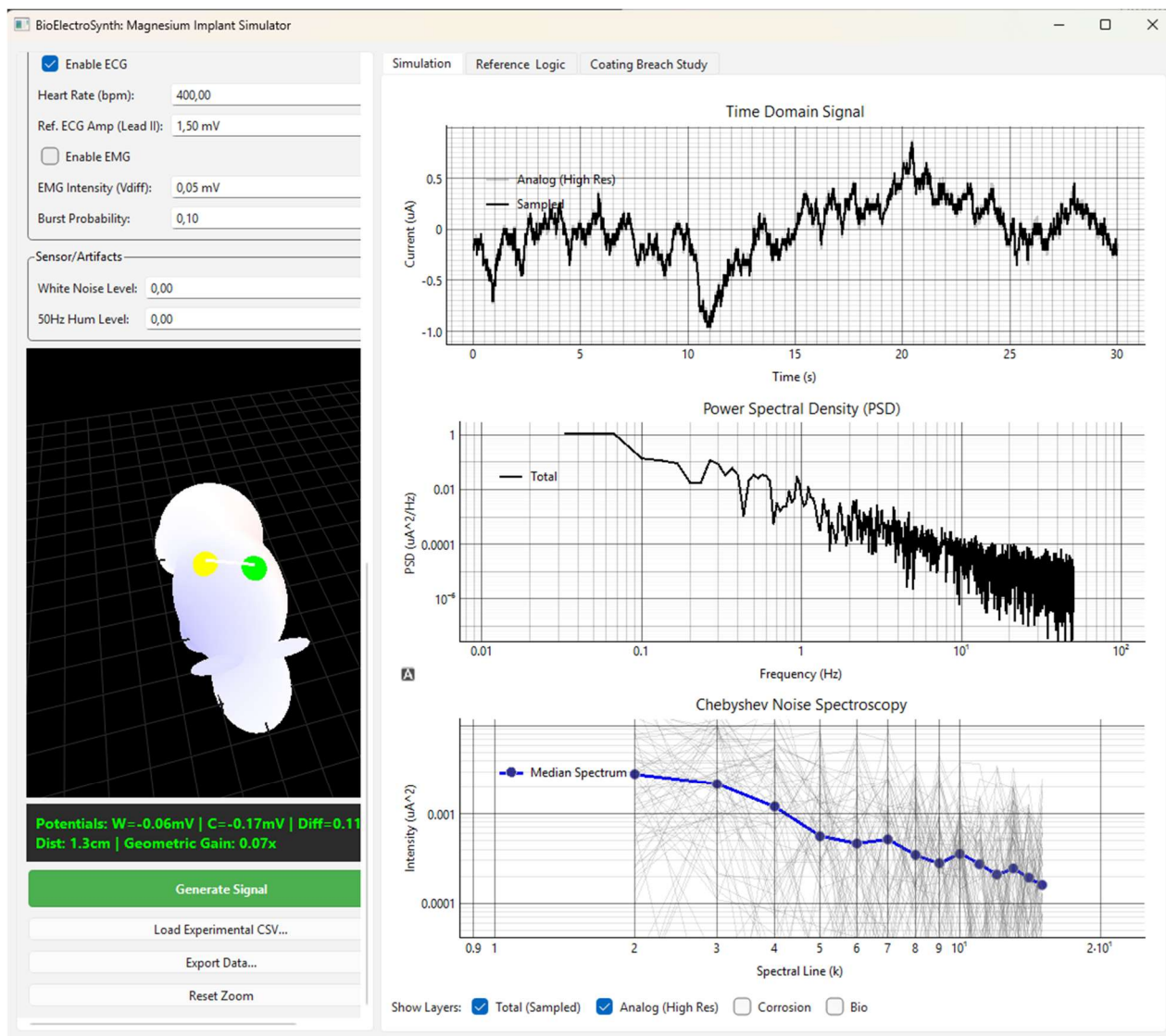


Рисунок 16. Интерфейс симулятора BioElectroSynth с 3D-анатомическим фантомом мыши для размещения электродов, генерацией сигнала в реальном времени и спектроскопией Чебышёва.

Измеряемый ток моделируется как суперпозиция шести независимо генерируемых составляющих, декомпозиция которых представлена на рисунке 17. Коррозионный шум рассчитывается из EIS-параметров сплава AZ91, полученных *in vitro*, через соотношение Штерна–Гири ($V \approx 30$ мВ), и включает три физически различных вклада: флуктуации тока метастабильного питтинга со спектральной плотностью мощности типа $1/f^2$, дробовой шум дискретных событий отрыва пузырьков водорода и медленный тренд деградации покрытия. Помеха ЭКГ генерируется на основе анатомического фантома мыши, составленного из девяти ориентированных эллипсоидов с однородной проводимостью ткани $\sigma = 1,0$ См/м; сердечный

ритм задаётся в диапазоне 300–600 уд/мин средствами библиотеки NeuroKit2. Помеха ЭМГ воспроизводится в виде случайных широкополосных импульсных событий с трапецеидальной временной огибающей. Дополнительно учитываются тепловой шум Джонсона–Найквиста ($\sim 0,1$ нА СКЗ), обусловленный активной частью импеданса измерительного контура, аддитивный шум усилителя (0,05 мкА СКЗ) и квантование АЦП с шагом 0,05 мкА. Все составляющие фильтруются через частотно-зависимый импеданс измерительного контура, реализующий двухзонную модель покрытия, описанную в разделе 2.5.2.

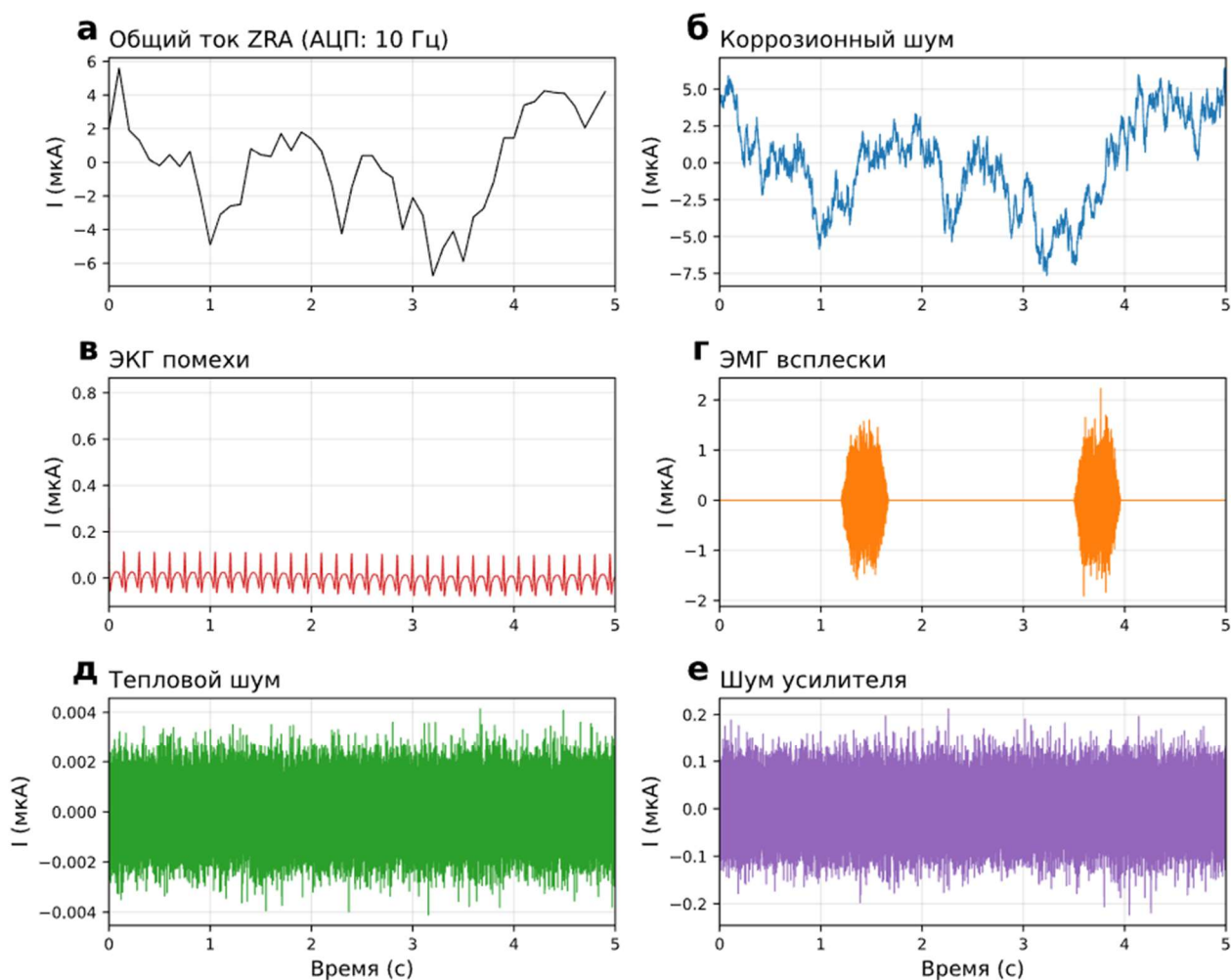


Рисунок 17. Декомпозиция синтетического ZRA-сигнала на шесть компонент: (а) суммарный ток после оцифровки; (б) коррозионный шум; (в) ЭКГ-помеха; (г) ЭМГ-помеха; (д) тепловой шум Джонсона–Найквиста; (е) шум усилителя.

Оптимизация площади электрода показывает двустороннее ограничение, не описанное ранее в литературе по Mg-имплантатам. Для непокрытого AZ91 коррозионный шум и ЭКГ-помеха масштабируются пропорционально площади, при этом коррозионный сигнал остаётся выше ЭКГ во всём моделируемом диапазоне. Однако на нижнем конце постоянный шум усилителя (0,05 мкА) ограничивает порог обнаружения ниже $\sim 0,01 \text{ см}^2$. Рабочее окно для непокрытого AZ91 охватывает примерно три декады площади электрода.

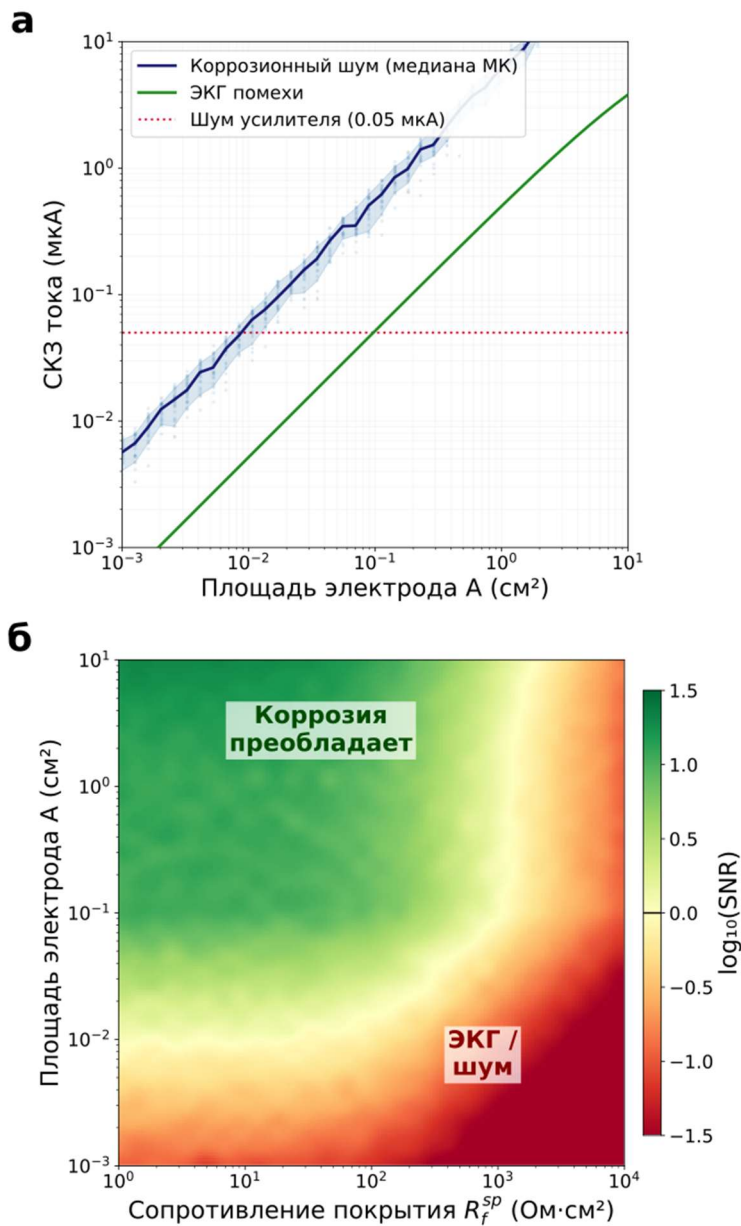


Рисунок 18. Оптимизация площади электрода методом Монте-Карло: (а) базовый металл — коррозионный шум, ЭКГ-помеха и порог усилителя; (б) SNR-фазовая диаграмма как функция R_f и A .

Для покрытых электродов построена SNR-фазовая диаграмма, представляющая собой двумерную карту отношения сигнал/шум как функции сопротивления покрытия R_f и площади электрода A . Область $SNR > 1$ (коррозионный шум превышает все помехи) образует клин, сужающийся с ростом R_f : покрытие подавляет коррозионный ток, тогда как ЭКГ-фон остаётся неизменным. Это определяет ключевой компромисс проектирования: высокобарьерные покрытия требуют больших электродов для превышения шумового порога усилителя, но меньших — для нахождения ниже порога доминирования ЭКГ. При R_f выше определённого предела ограничения могут перекрываться, не оставляя рабочей области.

Двустороннее конструктивное ограничение, выявленное на фазовой диаграмме ОСШ (рисунок 18б), ранее не было количественно описано в литературе по магниевым имплантатам. Для реальных клинических устройств, например компрессионных винтов MAGNEZIX® (Syntellix AG) [84] с площадью поверхности 0,5–5 см², большинство конфигураций попадают в рабочую область для голого или умеренно покрытого сплава. Для хорошо защищённых покрытий с $R_f > 10^3$ Ом·см² покрытие само по себе подавляет коррозионный ток настолько, что чувствительность прибора становится узким местом: в этом режиме требуются малощумящие потенциостаты с разрешением менее 0,5 мкА. При этом следует учитывать, что R_f не является постоянной величиной: в условиях *in vivo* полимерные покрытия гидратируются, набухают и в конечном счёте расслаиваются, поэтому рабочая область смещается во времени по фазовой диаграмме.

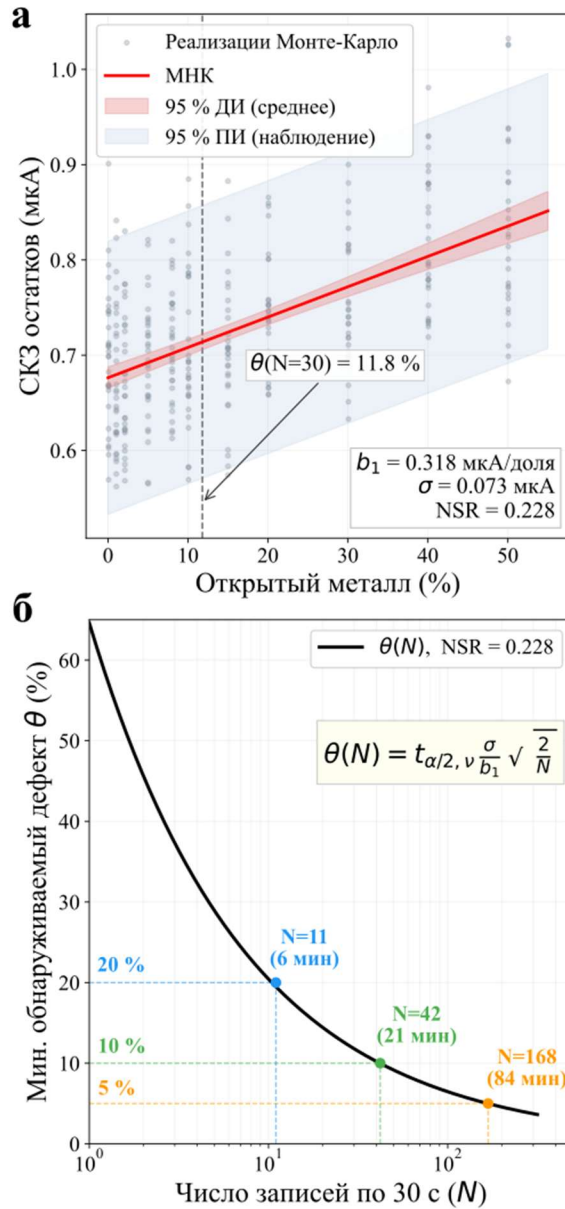


Рисунок 19. Обнаружение дефектов покрытия методом Монте-Карло (3300 реализаций, 30 с): (а) МНК-регрессия метрики против доли пробоя; (б) кривая порога обнаружения.

Количественные пороги обнаружения дефектов покрытия установлены методом Монте-Карло на выборке из 3300 реализаций (5 значений площади \times 11 значений доли дефекта \times 2 частоты дискретизации \times 30 независимых запусков по 30 с каждый). Для каждой конфигурации выполнена МНК-регрессия метрики обнаружения по доле дефекта θ , что позволило вычислить отношение шума к чувствительности $NSR = \sigma/b_1$ согласно уравнению (14). На рисунке 19 приведены результаты для выбранной конфигурации с $A = 0,5$ см², $f_s = 10$ Гц, $R_f = 100$ Ом·см²) получено $NSR = 0,228$, результаты МНК-

аппроксимации для которой представлены на рисунке 20а, а соответствующая кривая порога обнаружения — на рисунке 20б. При данном значении NSR дефект, охватывающий 20% поверхности электрода, статистически различим после 11 записей (6 мин суммарного времени регистрации), дефект 10% — после 42 записей (21 мин), дефект 5% — после 168 записей (84 мин).

Сравнение всех десяти конфигураций электродов по четырём метрикам обнаружения показывает, что метрика остаточного СКЗ, вычисляемая после вычитания скользящего среднего за 1 с, обеспечивает наименьший порог при $A \geq 0,1 \text{ см}^2$ и составляет от 7 до 23% в зависимости от площади и частоты дискретизации. При наименьшей площади ($A = 0,05 \text{ см}^2$) остаточный и полный СКЗ дают сопоставимые результаты, поскольку вычитание скользящего среднего в этом случае не даёт выигрыша в отношении сигнал/шум. Значение NSR по всем конфигурациям варьируется от 0,14 ($A = 1,0 \text{ см}^2$, 100 Гц) до 0,55 ($A = 0,05 \text{ см}^2$, 10 Гц), что подтверждает необходимость индивидуальной оценки порога обнаружения для каждой конфигурации датчика.

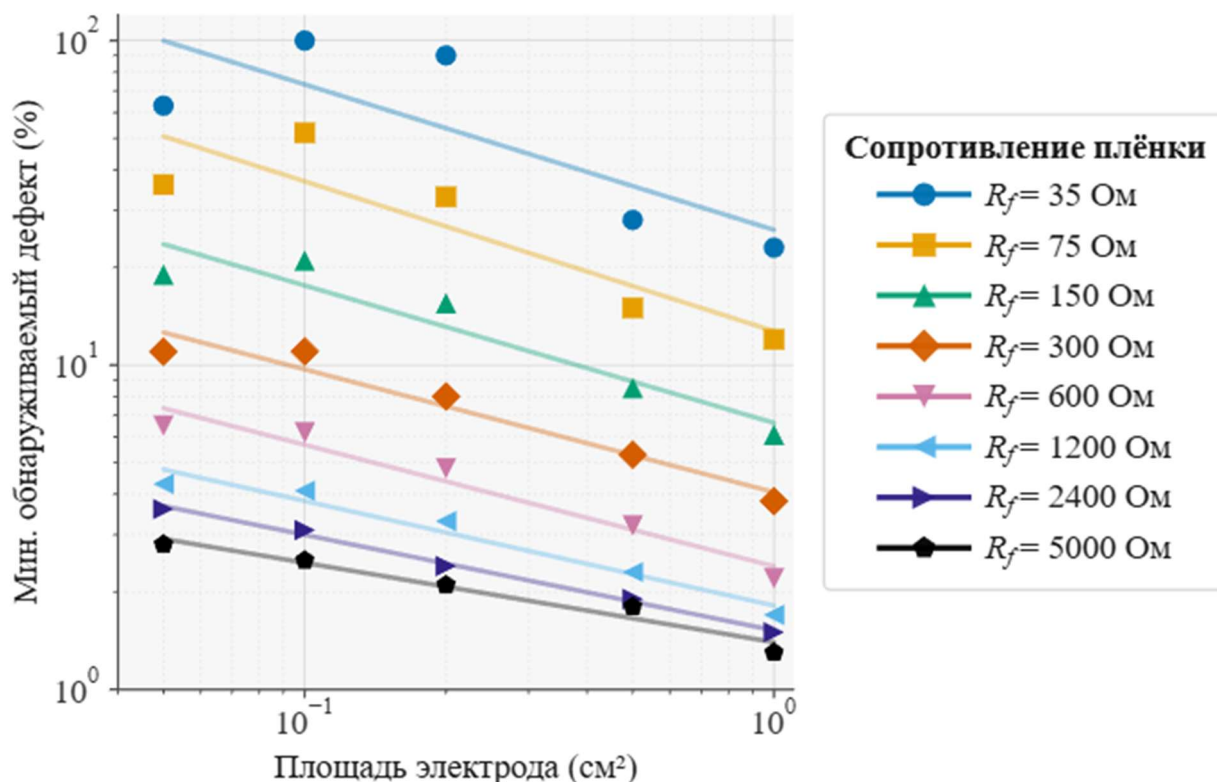


Рисунок 20. Минимальная обнаружимая доля дефекта покрытия (%) как функция площади электрода для различных сопротивлений покрытия.

Наиболее практически значимый результат касается высококачественных покрытий. При $R_f > 1000 \text{ Ом}\cdot\text{см}^2$ импедансный контраст между покрытой и обнажённой зонами настолько велик, что дефект размером 2–4% от изначальной площади обнаружим даже при площади электрода $0,05 \text{ см}^2$. При площади электрода $A = 1,0 \text{ см}^2$ и сопротивлении покрытия $R_f = 1200 \text{ Ом}\cdot\text{см}^2$ для обнаружения дефекта площадью менее 2% потребуется порядка 10 минут записи. Эта чувствительность соответствует масштабу, на котором локальный питтинг начинает определять остаточную механическую прочность имплантата [85]. Напротив, при базовом $R_f = 35 \text{ Ом}\cdot\text{см}^2$ (например, гидрогелевая пленка) при площади электрода менее $0,05 \text{ см}^2$ в принципе невозможно определить наличие дефекта.

Модель BioElectroSynth обосновывает переход к *in vivo* эксперименту (раздел 4.3), благодаря количественным предсказаниям. В частности, для использованных в эксперименте электродов коррозионный сигнал Mg-сплава AZ91 при выбранной площади находится в рабочем окне, и деградация покрытия статистически обнаружима. Это позволяет отбраковывать статистически необеспеченные конфигурации до начала эксперимента на животных. Вычислительная модель выступает связующим звеном, позволяющим экстраполировать *in vitro* параметры на *in vivo* условия и обоснованно проектировать дизайн мониторинга для целевого лекарственного покрытия.

4.3. Валидация *in vivo*: мониторинг биокоррозии Mg-сплава AZ91 с хитозановым покрытием методом СЭШ Чебышёва

Третий, завершающий этап валидации выполнен в реальных условиях *in vivo* на мышинной модели. Площадь электродов (рабочая поверхность $\approx 2,5 \text{ мм}^2$) и протокол измерений определены по результатам моделирования BioElectroSynth (раздел 4.2). Подкожная имплантация пар идентичных электродов из сплава AZ91 проведена двум белым беспородным мышам-

самцам (22-25 г): в каждом подкожном кармане размещали один контрольный (непокрытый) и/или покрытый хитозаном (2 мас.%, рН 5) электрод. Регистрация токовых шумов: АЦП AD7176-2, шунт 10 Ом, 10 Гц, 4096 точек (409,6 с), 3-5 записей/день в течение 4 суток. Обработка данных выполнена методом СЭШ Чебышёва: разбиение записи на 256 сегментов по $N = 16$ отсчётов, дискретное преобразование Чебышёва, усреднение спектров, расчёт парциальной дисперсии σ^2 по спектральным линиям $k = 2-15$.

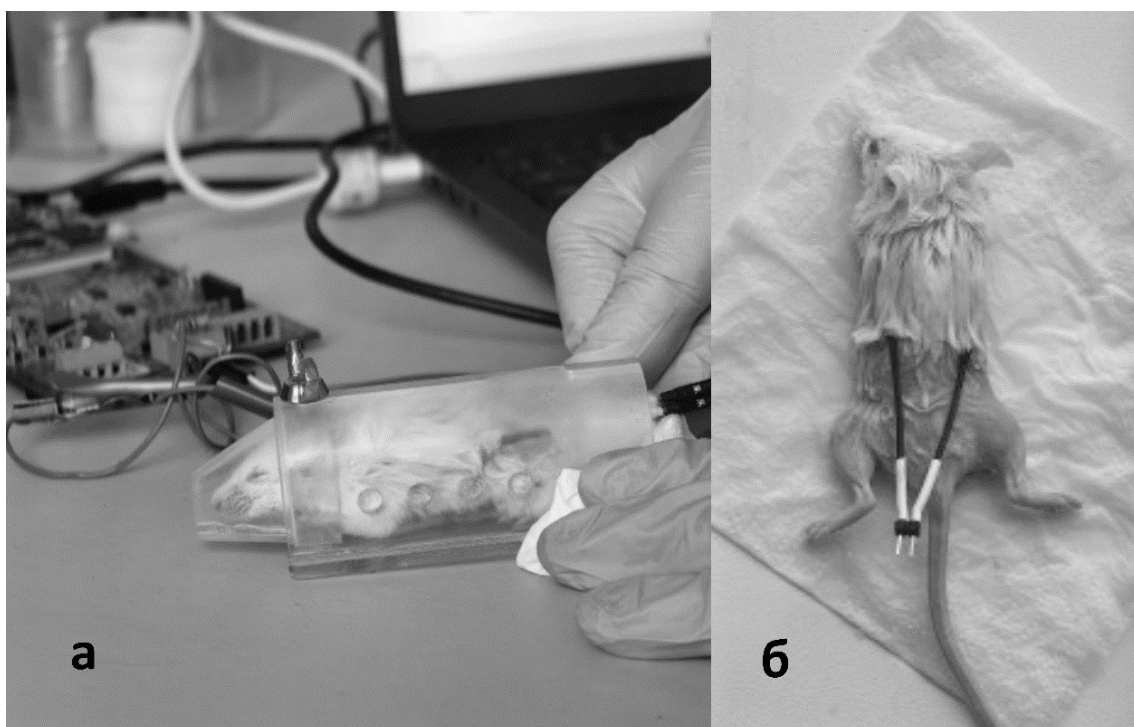


Рисунок 21. Фотография мыши, помещённой в рестрейнер (а) в процессе измерения, и (б) общий вид с имплантированными электродами.

Контрольные измерения фонового шума на прецизионном резисторе 10 Ом без подключённых электродов показали, что среднеквадратичное значение фонового шума измерительного тракта на порядок ниже сигналов, регистрируемых от имплантированных электродов, что исключает вклад инструментальных шумов в наблюдаемые эффекты.

На начальном этапе эксперимента интенсивность токового шума для непокрытых электродов практически на порядок превышала интенсивность шума для электродов с хитозановым покрытием. Это объясняется разницей в площадях контакта с коррозионной средой: непокрытый электрод

контактирует с тканевой жидкостью всей поверхностью, тогда как покрытие значительно снижает площадь контакта и устанавливает диффузионные ограничения на транспорт ионов [86]. Наблюдаемое снижение шума качественно подтверждается визуально: у непокрытых электродов под кожей мышцы образуются газовые мешки вследствие интенсивного выделения водорода, тогда как у покрытых электродов этот эффект минимален.

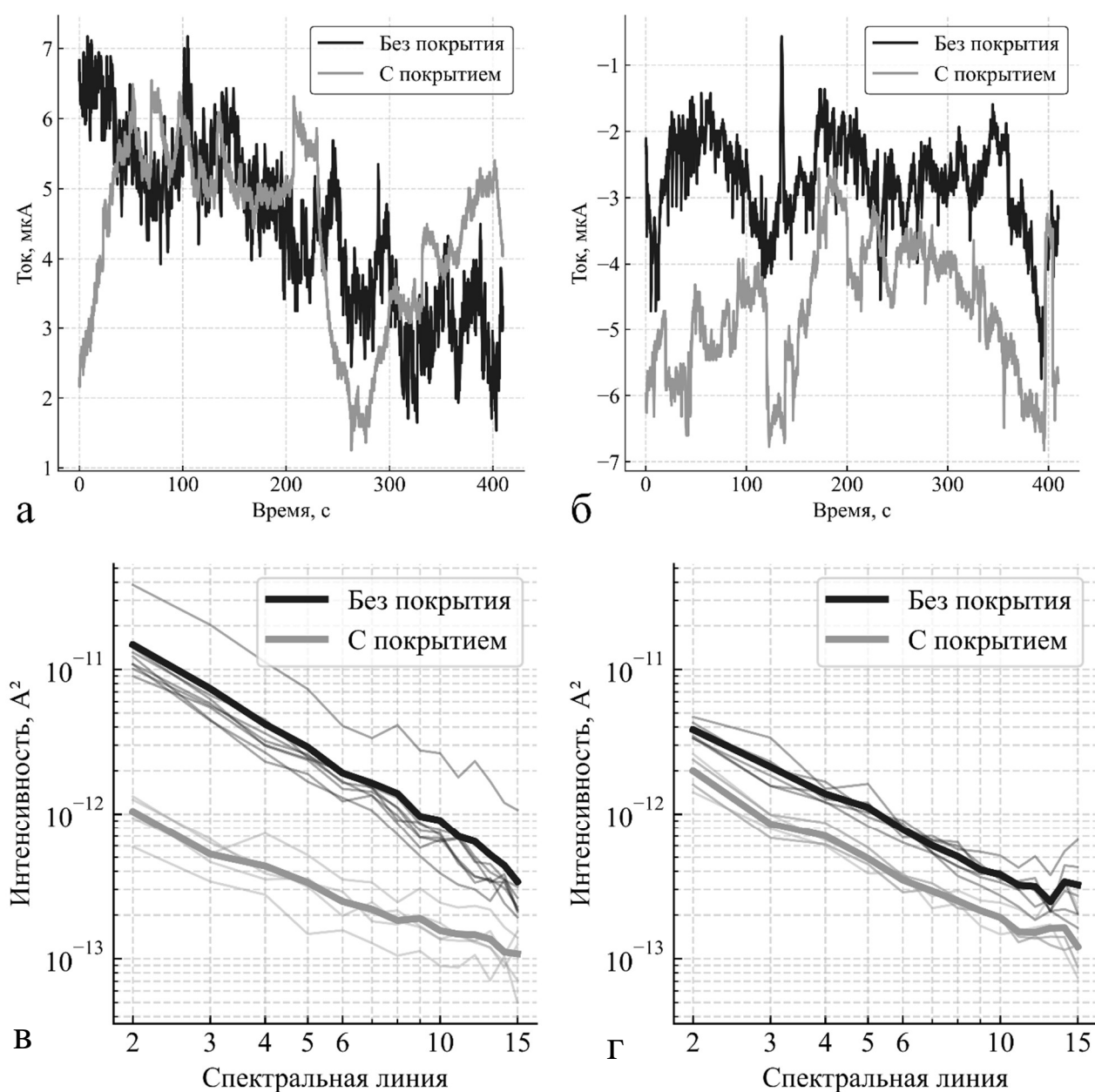


Рисунок 22. Примеры зарегистрированных токовых транзиевтов в (а) первый и (б) последний дни мониторинга (вверху) и спектры Чебышёва для первого (в) и последнего (г) дней (внизу).

Динамика парциальной дисперсии σ^2 за 4 суток наблюдения обнаруживает два конкурирующих процесса. Для непокрытых электродов σ^2 монотонно снижается, что отражает формирование пассивирующего слоя из продуктов коррозии на поверхности сплава — эффект, хорошо известный для магниевых сплавов [87]. Для покрытых электродов, напротив, наблюдается монотонный рост σ^2 , представляющий собой прямое измерение кинетики деградации хитозановой плёнки *in vivo*: постепенное растворение или нарушение целостности покрытия приводит к увеличению эффективной площади контакта металла с биологической средой.

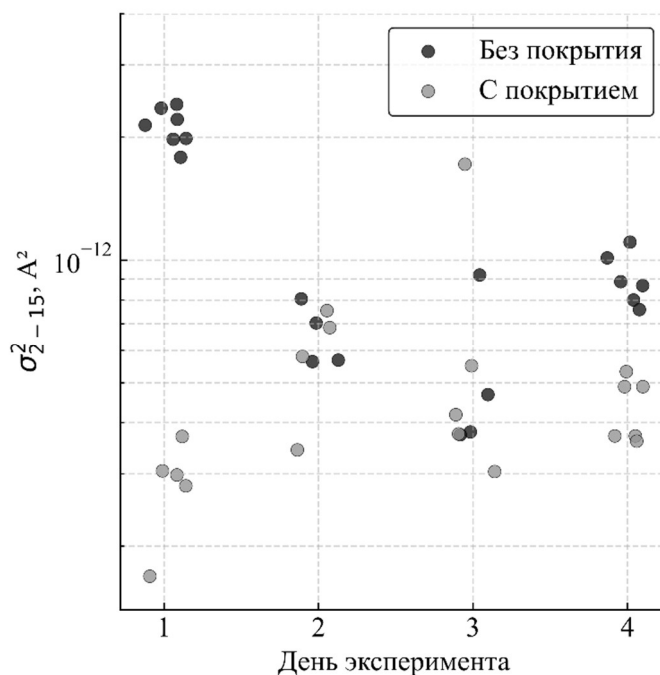


Рисунок 23. Изменения парциальной дисперсии шума σ^2 в течение периода имплантации для непокрытых и покрытых хитозаном электродов.

К завершению эксперимента (4-е сутки) наблюдается совпадение спектров: покрытие практически перестаёт выполнять барьерную функцию, и покрытый электрод ведёт себя аналогично непокрытому. У непокрытых образцов интенсивность снижается за счёт пассивации продуктами коррозии; у образцов с покрытием происходит одновременная биодеградация хитозана и пассивация в порах покрытия. Сохранение наклона спектра в двойных

логарифмических координатах на протяжении всего периода наблюдения указывает на то, что природа электрохимических реакций, характерная для сплава AZ91 в условиях *in vivo*, не изменяется под действием хитозанового покрытия или в результате эволюции свойств поверхности. Коррозия двухфазного сплава AZ91 протекает по механизму микрогальванического взаимодействия, где интерметаллидная фаза β -Mg₁₇Al₁₂ выступает в роли катода, а α -твердый раствор магния — в роли анода, что приводит к селективному растворению магниевой матрицы вокруг частиц β -фазы, сопровождающемуся выделением водорода. Хитозановое покрытие модифицирует кинетику этого процесса, но не его фундаментальный механизм.

Полученные результаты подтверждают предсказания модели BioElectroSynth (раздел 4.2) по трём ключевым позициям. Первая позиция заключается в том, что коррозионный сигнал действительно доминирует над биоэлектрическими помехами при использованной площади электрода, что согласуется с рабочим окном модели. Вторая позиция свидетельствует о том, что хитозановое покрытие обнаружимо по снижению интенсивности шумового сигнала на порядок, что существенно превышает минимальный порог, предсказанный моделью. Третья позиция состоит в том, что динамика деградации покрытия наблюдаема в реальном времени через постепенный рост σ^2 , открывая возможность хронологической фиксации момента нарушения целостности покрытия, недоступную существующим методам терминальной оценки (микро-КТ, потеря массы). Пассивная природа метода, исключая внешние возмущения и лучевую нагрузку, определяет его неоспоримые преимущества перед существующими аналогами для фундаментальных исследований биodeградации. Успешная валидация *in vivo* на магниевой модели с быстрой кинетикой доказывает, что предложенный инструментарий напрямую применим для контроля деградации хитозановых матриц-носителей целевых лекарственных покрытий.

4.4. Сопоставление трёх этапов валидации и общие закономерности метода СЭШ для биокоррозионного мониторинга

Три этапа валидации, представленные в разделах 4.1–4.3, составляют единую линию доказательства с нарастающей сложностью среды (табл. 4.1). Каждый последующий этап строится на результатах предыдущего и подтверждает его выводы в более сложных условиях.

Первый этап (*in vitro*, Al, *E. coli*) проводится в контролируемой бактериальной среде без биоэлектрических помех; обработка сигнала ограничена СКО флуктуаций тока. Второй этап (вычислительная модель, AZ91, мышь) вводит полный набор помех (ЭКГ ~0,1 мкА при 300–600 уд/мин, ЭМГ импульсные сигналы, шум усилителя 0,05 мкА СКЗ) и определяет количественные пороги обнаружения дефектов покрытия. Третий этап (*in vivo*, AZ91, мышь) подтверждает предсказания модели в реальном организме при тех же типах помех.

Во всех трёх средах интегральная метрика интенсивности шума (СКО на первом этапе, парциальная дисперсия σ^2 на третьем этапе) робастно обнаруживает наличие покрытия: защитное покрытие снижает интенсивность флуктуаций тока по сравнению с непокрытым образцом. В *in vitro* эксперименте это снижение составляет 66,7% в первые сутки (Zn-покрытие на Al), в *in vivo* эксперименте — на порядок (хитозан на AZ91). Динамика шума во времени отражает конкурирующие процессы: пассивацию продуктами коррозии (снижение шума) и деградацию покрытия (рост шума). Эта закономерность воспроизводится как в простейшей бактериальной среде, так и в живом организме.

Метод адаптируется к различным комбинациям сплав/покрытие/среда без изменения принципиальной схемы. Примером служат Al/Zn в бактериях, AZ91/хитозан в организме. Вычислительная модель BioElectroSynth обобщает эту масштабируемость, позволяя подставлять любые EIS-параметры сплава и покрытия в двухзонную импедансную модель и получать пороги

обнаружимости для конкретной системы. Клинические Mg-имплантаты (например, компрессионные винты MAGNEZIX®) имеют площадь открытой поверхности 0,5-5 см², что попадает в рабочее окно модели для непокрытого или покрытого сплава.

Второй этап занимает центральное положение в валидационной цепочке. Количественные предсказания модели — рабочее окно ~3 декады по площади для непокрытого AZ91, NSR от 0,14 до 0,55, минимальный обнаружимый дефект в 2% от изначальной площади при $R_f > 1000 \text{ Ом}\cdot\text{см}^2$, порог 7–23% при $A > 0,1 \text{ см}^2$ — определили параметры эксперимента *in vivo* (площадь электрода $\approx 2,5 \text{ мм}^2$, 3–5 записей/день, 4 суток). Подтверждение этих предсказаний на этапе 3 замыкает логическую цепь: *in vitro* → модель → *in vivo*. Важно, что выявленные на этапе 2 закономерности носят универсальный характер: клинические Mg-сплавы, отличные от AZ91 (WE43, LAE442, MgYREZr), имеют сопоставимые или более низкие скорости коррозии, поэтому фазовая диаграмма сохраняет свою форму при изменении абсолютных значений. Важнейшим следствием этой цепочки является то, что отработанный метод мониторинга непосредственно применим к деградации хитозановых матриц-носителей, что замыкает методологическую цепь: от скрининга *in vitro* до контроля целевого лекарственного покрытия *in vivo*.

Пошаговая валидация демонстрирует, что электрохимический шумовой мониторинг в ZRA-конфигурации является универсальным пассивным методом контроля состояния полимерных покрытий-носителей, масштабируемым от лунок культурального планшета до подкожной имплантации. Его пассивная природа, исключая внешнее возмущение и лучевую нагрузку, обеспечивает преимущества перед существующими методами и делает возможным клинический мониторинг биорезорбируемых имплантатов и целенаправленную разработку лекарственных покрытий с программируемой кинетикой высвобождения терапевтических агентов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Данная диссертационная работа посвящена созданию сквозной электрохимической методологии, охватывающей полный жизненный цикл полимерных покрытий-носителей биоактивных и лекарственных соединений — от предиктивного выбора параметров их нанесения до пассивного мониторинга их биодegradации *in vivo*. В главе 1 был проведен литературный обзор, продемонстрировавший фундаментальные ограничения классических методов электрохимического контроля *in vivo* для биорезорбируемых магниевых сплавов (в частности, эффект отрицательной разности) и обосновавший необходимость применения пассивных методов, таких как спектроскопия электрохимических шумов Чебышёва.

Значимо, что результаты мониторинга *in vivo* предназначены для итеративного улучшения покрытий в последующих разработках, что придаёт разработанной методологии циклический характер на уровне научно-исследовательских разработок. В частности, результаты мониторинга *in vivo*, полученные на Mg-модели, непосредственно применимы к контролю деградации целевых лекарственных покрытий на основе хитозана.

В главе 2 были описаны разработанные и адаптированные методы исследования, включая алгоритмы БЯМ для извлечения данных, протоколы электроосаждения хитозан-гидроксиапатитовых покрытий, а также алгоритмы обработки электрохимических шумов и вычислительную модель BioElectroSynth.

В главе 3 представлены результаты вычислительного анализа более 500 научных публикаций, позволившие систематизировать параметрическое пространство и обосновать выбор параметров электроосаждения. На основе этих данных было успешно синтезировано композитное покрытие Chit/HAp/VEGF на лазерно-текстурированном титановом сплаве, продемонстрировавшее высокую биоактивность *in vitro*.

В главе 4 проведена последовательная валидация метода электрохимического мониторинга покрытий. Работоспособность подхода

доказана *in vitro* на алюминиевых сплавах в бактериальной среде. Затем с помощью предиктивного моделирования *in silico* (BioElectroSynth) были определены пороги обнаружения дефектов на фоне сильных биоэлектрических помех организма. Наконец, эксперимент *in vivo* на мышинной модели с имплантированными магниевыми электродами подтвердил, что спектроскопия электрохимических шумов Чебышёва позволяет в реальном времени отслеживать деградацию хитозанового покрытия.

В результате выполненной работы решена крупная научная задача по интеграции методов вычислительного анализа литературы, электрохимического материаловедения и цифрового моделирования биоэлектрических сигналов в единую сквозную методологию проектирования и контроля медицинских покрытий.

ВЫВОДЫ

1. Разработан и валидирован алгоритм на базе БЯМ для систематизации параметров электроосаждения хитозана по базе научных публикаций. Аналитический алгоритм реализует цепочку переходов между форматами файлов PDF → Markdown → JSON. Количественная валидация определения в тексте параметров электроосаждения показала для всех протестированных моделей среднюю F1-меру близкую к 1. Однако качественная валидация методом «БЯМ-судьи» выявила критическое несоответствие между метриками на уровне отдельных сущностей и фактологической точностью у компактных моделей. На основе проанализированной базы научных публикаций установлен оптимальный диапазон плотностей тока 0,5-2 мА/см² для титановых подложек при рН в диапазоне от 4 до 5.

2. На основе данных БЯМ-анализа разработано композитное покрытие Chit/HAp/VEGF на лазерно-обработанном Ti₆Al₄V. Установлено, что оптимальная плотность тока -1 мА/см² обеспечивает формирование однородного покрытия. Лазерный микрорельеф увеличивает эффективную площадь в 2 раза и механически защищает покрытие. Биологические испытания *in vitro* подтвердили выраженную биологическую активность: адгезия hMSC увеличена более чем в 10 раз по сравнению с гладким титаном, активность щелочной фосфатазы — в 3-5 раз, доля VEGFR(+)-клеток — в 8,7-17,6 раза.

3. Разработан ускоренный метод биокоррозионных испытаний *in vitro* алюминиевых сплавов в бактериальной среде. Метод основан на регистрации флуктуаций тока и позволяет сократить площадь образца в 200 раз (до 25 мм²) и длительность испытаний до 3 суток, обеспечивая мониторинг динамики коррозионного процесса в реальном времени. дад[в

4. Создана вычислительная модель электрохимических измерений *in vivo* (BioElectroSynth), включающая анатомический фантом мышцы, двухзонную импедансную модель покрытия и факториальный дизайн Монте-Карло. Модель позволяет предиктивно определять пороги обнаружения

дефектов на фоне помех от работы сердца и сокращения мышц: дефекты площадью от 2% площади покрытия могут быть статистически достоверно обнаружены при достаточном сопротивлении исходного покрытия ($R_f > 1000 \text{ Ом}\cdot\text{см}^2$).

5. Впервые метод спектроскопии электрохимических шумов Чебышёва применён для мониторинга *in vivo* биodeградации покрытий на магниевых имплантатах (AZ91). Эксперимент на мышинной модели доказал, что парциальная дисперсия спектра Чебышёва позволяет в реальном времени отслеживать и различать процессы пассивации обнажённого металла и постепенной деградации хитозанового покрытия.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Anderson, J. M. Foreign body reaction to biomaterials / J. M. Anderson, A. Rodriguez, D. T. Chang // *Seminars in Immunology*. – 2008. – Vol. 20. – № 2. – P. 86-100.
2. Engineering biocompatible implant surfaces / S. Bauer, P. Schmuki, K. Von Der Mark, J. Park // *Progress in Materials Science*. – 2013. – Vol. 58. – № 3. – P. 261-326.
3. Shah, F. A. Osseointegration and current interpretations of the bone-implant interface / F. A. Shah, P. Thomsen, A. Palmquist // *Acta Biomaterialia*. – 2019. – Vol. 84. – P. 1-15.
4. Bioactive surface modifications on dental implants: a systematic review and meta-analysis of osseointegration and longevity / M. A. Shayeb, S. Elfadil, H. Abutayyem [et al.] // *Clinical Oral Investigations*. – 2024. – Vol. 28. – № 11. – P. 592.
5. Growth and osteogenic differentiation of alveolar human bone marrow-derived mesenchymal stem cells on chitosan/hydroxyapatite composite fabric / B. Kim, J. S. Kim, Y. S. Chung [et al.] // *Journal of Biomedical Materials Research Part A*. – 2013. – Vol. 101A. – № 6. – P. 1550-1558.
6. Development of Hydroxyapatite as a Bone Implant Biomaterial for Triggering Osteogenesis / Y. A. Pratama, H. D. Marhaeny, F. Deapsari [et al.] // *European Journal of Dentistry*. – 2026. – Vol. 20. – № 01. – P. 049-055.
7. Chitosan supports the initial attachment and spreading of osteoblasts preferentially over fibroblasts / A. Fakhry, G. B. Schneider, R. Zaharias, S. Şenel // *Biomaterials*. – 2004. – Vol. 25. – № 11. – P. 2075-2079.

8. Interactions between chitosan and cells measured by AFM / S.-W. Hsiao, D. V. H. Thien, M.-H. Ho [и др.] // *Biomedical Materials*. – 2010. – Т. 5. – № 5. – С. 054117.
9. Chitosan/hydroxyapatite composite coatings on porous Ti6Al4V titanium implants: *in vitro* and *in vivo* studies / T. Zhang, X. Zhang, M. Mao [et al.] // *Journal of Periodontal & Implant Science*. – 2020. – Vol. 50. – № 6. – P. 392.
10. In vivo corrosion of four magnesium alloys and the associated bone response / F. Witte, V. Kaese, H. Haferkamp [et al.] // *Biomaterials*. – 2005. – Vol. 26. – № 17. – P. 3557-3563.
11. Zheng, Y. F. Biodegradable metals / Y. F. Zheng, X. N. Gu, F. Witte // *Materials Science and Engineering: R: Reports*. – 2014. – Vol. 77. – P. 1-34.
12. Initial organ distribution and biological safety of Mg²⁺ released from a Mg alloy implant / A. Sato, Y. Shimizu, Y. Imai [и др.] // *Biomedical Materials*. – 2018. – Т. 13. – № 3. – С. 035006.
13. High Magnesium Corrosion Rate has an Effect on Osteoclast and Mesenchymal Stem Cell Role During Bone Remodelling / D. Maradze, D. Musson, Y. Zheng [et al.] // *Scientific Reports*. – 2018. – Vol. 8. – № 1. – P. 10003.
14. Microbiologically influenced corrosion in aluminium alloys and premier techniques for comprehensive identification and characterization across diverse metal types / Brinda, M. S. Divyashree, S. A. Rao [et al.] // *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*. – 2025. – Vol. 100. – № 6. – P. 1143-1158.
15. Electrochemically Induced Deposition of a Polysaccharide Hydrogel onto a Patterned Surface / R. Fernandes, L.-Q. Wu, T. Chen [et al.] // *Langmuir*. – 2003. – Vol. 19. – № 10. – P. 4058-4062.

16. Electro-Biofabrication. Coupling Electrochemical and Biomolecular Methods to Create Functional Bio-Based Hydrogels / Y. Liu, E. Kim, M. Lei [et al.] // *Biomacromolecules*. – 2023. – Vol. 24. – № 6. – P. 2409-2432.
17. Nawrotek, K. Understanding Electrodeposition of Chitosan–Hydroxyapatite Structures for Regeneration of Tubular-Shaped Tissues and Organs / K. Nawrotek, J. Grams // *Materials*. – 2021. – Vol. 14. – № 5. – P. 1288.
18. Relation between the Degree of Acetylation and the Electrostatic Properties of Chitin and Chitosan / P. Sorlier, A. Denuzière, C. Viton, A. Domard // *Biomacromolecules*. – 2001. – Vol. 2. – № 3. – P. 765-772.
19. Montembault, A. Physico-chemical studies of the gelation of chitosan in a hydroalcoholic medium / A. Montembault, C. Viton, A. Domard // *Biomaterials*. – 2005. – Vol. 26. – № 8. – P. 933-943.
20. Effect of molecular weight on the properties of chitosan films prepared using electrostatic spraying technique / Y. Zhong, C. Zhuang, W. Gu, Y. Zhao // *Carbohydrate Polymers*. – 2019. – Vol. 212. – P. 197-205.
21. Moore, D. Electrochemical Deposition of Polyelectrolytes Is Maximum at the Potential of Zero Charge / D. Moore, J. A. Arcila, R. F. Saraf // *Langmuir*. – 2020. – Vol. 36. – № 8. – P. 1864-1870.
22. Roles of Polymer Concentration and Ionic Strength in the Deposition of Chitosan of Fungal Origin onto Negatively Charged Surfaces / M. Ormeño-Martínez, E. Guzmán, L. Fernández-Peña [et al.] // *Biomimetics*. – 2024. – Vol. 9. – № 9. – P. 534.
23. In situ quantitative visualization and characterization of chitosan electrodeposition with paired sidewall electrodes / Y. Cheng, X. Luo, J. Betz [et al.] // *Soft Matter*. – 2010. – Vol. 6. – № 14. – P. 3177.

24. Electrodeposition of a weak polyelectrolyte hydrogel: remarkable effects of salt on kinetics, structure and properties / Y. Liu, B. Zhang, K. M. Gray [et al.] // *Soft Matter*. – 2013. – Vol. 9. – № 9. – P. 2703.
25. Chitosan characteristics in electrolyte solutions: Combined molecular dynamics modeling and slender body hydrodynamics / D. Lupa, W. Płaziński, A. Michna [et al.] // *Carbohydrate Polymers*. – 2022. – Vol. 292. – P. 119676.
26. Electrodeposition of Chitosan on Ti-6Al-4V Surfaces: A Study of Process Parameters / M. León, D. Alvarez, A. Valarezo [и др.] // *Materials Research*. – 2022. – T. 25. – C. e20210552.
27. In Situ Studies of Hydrogen Evolution Kinetics on Pure Titanium Surface: The Effects of Pre-Reduction and Dissolved Oxygen / X.-R. Li, X.-Z. Meng, Q.-H. Zhang [et al.] // *The Journal of Physical Chemistry C*. – 2022. – Vol. 126. – № 4. – P. 1828-1844.
28. Saji, V. S. Electrophoretic (EPD) coatings for magnesium alloys / V. S. Saji // *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*. – 2021. – Vol. 103. – P. 358-372.
29. Pang, X. Electrodeposition of composite hydroxyapatite–chitosan films / X. Pang, I. Zhitomirsky // *Materials Chemistry and Physics*. – 2005. – Vol. 94. – № 2-3. – P. 245-251.
30. Impact of Porosity and Electrolyte Composition on the Surface Charge of Hydroxyapatite Biomaterials / M. Espanol, G. Mestres, T. Luxbacher [et al.] // *ACS Applied Materials & Interfaces*. – 2016. – Vol. 8. – № 1. – P. 908-917.
31. Electrophoretic deposition of hydroxyapatite/chitosan nanocomposites: the effect of dispersing agents on the coating properties / M. S. Gaafar, S. M. Yakout, Y. F. Barakat, W. Sharmoukh // *RSC Advances*. – 2022. – Vol. 12. – № 42. – P. 27564-27581.

32. Highly Efficient Electrophoretic Deposition of Durable, Corrosion-Resistant Chitosan-PEG Composites on Metallic Implants / K. S. Stamer, P. S. Kazaryan, E. P. Kharitonova [et al.] // *ACS Applied Materials & Interfaces*. – 2025. – Vol. 17. – № 9. – P. 14460-14476.
33. Electrophoretic deposition of chitosan-based composite coatings for biomedical applications: A review / E. Avcu, F. E. Baştan, H. Z. Abdullah [et al.] // *Progress in Materials Science*. – 2019. – Vol. 103. – P. 69-108.
34. Gopi, D. A comparative study on the direct and pulsed current electrodeposition of hydroxyapatite coatings on surgical grade stainless steel / D. Gopi, J. Indira, L. Kavitha // *Surface and Coatings Technology*. – 2012. – Vol. 206. – № 11-12. – P. 2859-2869.
35. Lončarević, A. Lysozyme-Induced Degradation of Chitosan: The Characterisation of Degraded Chitosan Scaffolds / A. Lončarević, M. Ivanković, A. Rogina // *Journal of Tissue Repair and Regeneration*. – 2017. – Vol. 1. – № 1. – P. 12-22.
36. *In vitro* corrosion of pure magnesium and AZ91 alloy—the influence of thin electrolyte layer thickness / R.-C. Zeng, W.-C. Qi, F. Zhang, S.-Q. Li // *Regenerative Biomaterials*. – 2016. – Vol. 3. – № 1. – P. 49-56.
37. Corrosion in Mg-alloy biomedical implants- the strategies to reduce the impact of the corrosion inflammatory reaction and microbial activity / S. Saha, W. Lestari, C. Dini [et al.] // *Journal of Magnesium and Alloys*. – 2022. – Vol. 10. – № 12. – P. 3306-3326.
38. Flow-induced corrosion of absorbable magnesium alloy: In-situ and real-time electrochemical study / J. Wang, Y. Jang, G. Wan [et al.] // *Corrosion Science*. – 2016. – Vol. 104. – P. 277-289.

39. Magnesium degradation under physiological conditions – Best practice / J. Gonzalez, R. Q. Hou, E. P. S. Nidadavolu [et al.] // *Bioactive Materials*. – 2018. – Vol. 3. – № 2. – P. 174-185.
40. Mg and Mg alloys: How comparable are in vitro and in vivo corrosion rates? A review / A. H. M. Sanchez, B. J. C. Luthringer, F. Feyerabend, R. Willumeit // *Acta Biomaterialia*. – 2015. – Vol. 13. – P. 16-31.
41. Song, G. Control of biodegradation of biocompatible magnesium alloys / G. Song // *Corrosion Science*. – 2007. – Vol. 49. – № 4. – P. 1696-1701.
42. The effect of hydrogen gas evolution of magnesium implant on the postimplantation mortality of rats / D. Noviana, D. Paramitha, M. F. Ulum, H. Hermawan // *Journal of Orthopaedic Translation*. – 2016. – Vol. 5. – P. 9-15.
43. Fekry, A. M. Electrochemical impedance spectroscopy of chitosan coated magnesium alloys in a synthetic sweat medium / A. M. Fekry, A. A. Ghoneim, M. A. Ameer // *Surface and Coatings Technology*. – 2014. – Vol. 238. – P. 126-132.
44. New relations between modification degree, swelling and impedance in anticorrosion chitosan-derivative coatings on magnesium alloy AZ31 / C. H. M. Beraldo, A. Spinelli, N. Scharnagl, T. F. Da Conceição // *Carbohydrate Polymers*. – 2022. – Vol. 292. – P. 119617.
45. Electrochemical techniques for monitoring the biodegradability of nanocomposite Mg-alloy/HA for repairing bone fracture / H. Hu, X. Wang, Y. Huang [et al.] // *Journal of Materials Research and Technology*. – 2022. – Vol. 18. – P. 1669-1681.
46. Corrosion rate measurements *in vivo* / V. J. Colangelo, N. D. Greene, D. B. Kettelkamp [et al.] // *Journal of Biomedical Materials Research*. – 1967. – Vol. 1. – № 4. – P. 405-414.

47. In vivo measurement of anodic polarization of orthopaedic implant alloys: comparative study of in vivo and in vitro experiments / Y. Nakayama, T. Yamamuro, Y. Kotoura, M. Oka // *Biomaterials*. – 1989. – Vol. 10. – № 6. – P. 420-424.
48. A new theory for the negative difference effect in magnesium corrosion / S. Bender, J. Goellner, A. Heyn, S. Schmigalla // *Materials and Corrosion*. – 2012. – Vol. 63. – № 8. – P. 707-712.
49. King, A. D. Accurate Electrochemical Measurement of Magnesium Corrosion Rates; a Combined Impedance, Mass-Loss and Hydrogen Collection Study / A. D. King, N. Birbilis, J. R. Scully // *Electrochimica Acta*. – 2014. – Vol. 121. – P. 394-406.
50. Microbiologically Influenced Corrosion in Aluminium Alloys 7075 and 2024 / V. V. Nelson, O. T. Maria, S. V. Mamiè, P. C. Maritza. – Text: electronic // *Aluminium Alloys - Recent Trends in Processing, Characterization, Mechanical Behavior and Applications* / ed. S. Sivasankaran. – InTech, 2017. – URL: <http://www.intechopen.com/books/aluminium-alloys-recent-trends-in-processing-characterization-mechanical-behavior-and-applications/microbiologically-influenced-corrosion-in-aluminium-alloys-7075-and-2024> (date accessed: 23.05.2026).
51. Hladky, K. The measurement of localized corrosion using electrochemical noise / K. Hladky, J. L. Dawson // *Corrosion Science*. – 1981. – Vol. 21. – № 4. – P. 317-322.
52. Jamali, S. S. A critical review of electrochemical noise measurement as a tool for evaluation of organic coatings / S. S. Jamali, D. J. Mills // *Progress in Organic Coatings*. – 2016. – Vol. 95. – P. 26-37.
53. Cottis, R. A. Interpretation of Electrochemical Noise Data / R. A. Cottis // *Corrosion*. – 2001. – Vol. 57. – № 3. – P. 265-285.

54. Electrochemical Noise Analysis: An Approach to the Effectivity of Each Method in Different Materials / J. M. Jáquez-Muñoz, C. Gaona-Tiburcio, C. T. Méndez-Ramírez [et al.] // *Materials*. – 2024. – Vol. 17. – № 16. – P. 4013.
55. Electrochemical noise (EN) technique: review of recent practical applications to corrosion electrochemistry research / I. B. Obot, I. B. Onyeachu, A. Zeino, S. A. Umoren // *Journal of Adhesion Science and Technology*. – 2019. – Vol. 33y. – № 13. – P. 1453-1496.
56. Corrosion Process Monitoring Using Wavelet Analysis / X. D. Dai, R. L. Motard, B. Joseph, D. C. Silverman // *Industrial & Engineering Chemistry Research*. – 2000. – Vol. 39. – № 5. – P. 1256-1263.
57. Электрохимическая шумовая диагностика: анализ алгоритма ортогональных разложений / Б. М. Графов, Ю. А. Добровольский, А. Д. Давыдов [и др.] // *Электрохимия*. – 2015. – Т. 51. – № 6. – С. 579-583.
58. Исследование влияния ингибитора на коррозионное поведение стали методом шумовой спектроскопии Чебышёва и методом спектроскопии электрохимического импеданса / А. Л. Ключев, В. Н. Андреев, А. Д. Давыдов, Б. М. Графов // *Электрохимия*. – 2020. – Т. 56. – № 12. – С. 1131-1137.
59. Klyuev, A. L. Measurement and Chebyshev spectral analysis of Brownian coordinate of electrochemical noise / A. L. Klyuev, A. D. Davydov, B. M. Grafov // *Measurement*. – 2020. – Vol. 165. – P. 108130.
60. Electrochemical noise analysis of the corrosion of AZ91D magnesium alloy in alkaline chloride solution / T. Zhang, Y. Shao, G. Meng, F. Wang // *Electrochimica Acta*. – 2007. – Vol. 53. – № 2. – P. 561-568.
61. Electrochemical noise analysis on the pit corrosion susceptibility of Mg–10Gd–2Y–0.5Zr, AZ91D alloy and pure magnesium using stochastic model / T. Zhang, X. Liu, Y. Shao [et al.] // *Corrosion Science*. – 2008. – Vol. 50. – № 12. – P. 3500-3507.

62. Исследование влияния ингибитора на коррозионное поведение стали методом шумовой спектроскопии Чебышёва и методом спектроскопии электрохимического импеданса / А. Л. Ключев, В. Н. Андреев, А. Д. Давыдов, Б. М. Графов // *Электрохимия*. – 2020. – Т. 56. – № 12. – С. 1131-1137.
63. Remediating toxic elements with sunflower, hemp, castor bean, & bamboo: an open dataset of harmonized variables / H. Ha, K. G. Sweat, K. D. Conrow [et al.] // *Scientific Data*. – 2025. – Vol. 12. – № 1. – P. 905.
64. Automated electrosynthesis reaction mining with multimodal large language models (MLLMs) / S. X. Leong, S. Pablo-García, Z. Zhang, A. Aspuru-Guzik // *Chemical Science*. – 2024. – Vol. 15. – № 43. – P. 17881-17891.
65. Advanced scientific information mining using LLM-driven approaches in layered cathode materials for sodium-ion batteries / Y. Na, J. J. Kim, C. Park [et al.] // *Materials Advances*. – 2025. – Vol. 6. – № 8. – P. 2543-2548.
66. Large language model enhanced corpus of CO₂ reduction electrocatalysts and synthesis procedures / X. Chen, Y. Gao, L. Wang [et al.] // *Scientific Data*. – 2024. – Vol. 11. – № 1. – P. 347.
67. Bongiorno, V. Exploring the use of large language models for EIS: A feasibility study on organic coatings for corrosion protection / V. Bongiorno, N. Hijnen, X. Zhou // *Corrosion Science*. – 2026. – Vol. 261. – Exploring the use of large language models for EIS. – P. 113629.
68. Large Language Model-Driven Knowledge Discovery for Designing Advanced Micro/Nano Electrocatalyst Materials / Y. Shen, S. Zhao, Y. Lv [et al.] // *Computers, Materials & Continua*. – 2025. – Vol. 84. – № 2. – P. 1921-1950.
69. A survey on LLM-as-a-judge / J. Gu, X. Jiang, Z. Shi [et al.] // *The Innovation*. – 2026. – P. 101253.

70. Design and mechanical performance of additively manufactured porous structures to develop bioactive titanium scaffolds / N. A. Enikeev, M. M. Abramova, A. V. Kapustin [и др.]. – Текст: электронный. – URL: <https://lettersonmaterials.com/en/Readers/Article.aspx?aid=42584> (дата обращения: 24.05.2026).
71. Электрохимическая шумовая диагностика: анализ алгоритма ортогональных разложений / Б. М. Графов, Ю. А. Добровольский, А. Д. Давыдов [и др.] // Электрохимия. – 2015. – Т. 51. – № 6. – С. 579-583.
72. Understanding the Corrosion Behavior of the AZ91D Alloy in Simulated Body Fluid through the Use of Dynamic EIS / H. Gerengi, M. Cabrini, M. M. Solomon, E. Kaya // ACS Omega. – 2022. – Vol. 7. – № 14. – P. 11929-11938.
73. Calvet, C. What to consider for ECG in mice—with special emphasis on telemetry / C. Calvet, P. Seebeck // Mammalian Genome. – 2023. – Vol. 34. – № 2. – P. 166-179.
74. NeuroKit2: A Python toolbox for neurophysiological signal processing / D. Makowski, T. Pham, Z. J. Lau [et al.] // Behavior Research Methods. – 2021. – Vol. 53. – NeuroKit2. – № 4. – P. 1689-1696.
75. De Luca, C. J. Physiology and Mathematics of Myoelectric Signals / C. J. De Luca // IEEE Transactions on Biomedical Engineering. – 1979. – Т. BME-26. – № 6. – С. 313-325.
76. Stern, M. Electrochemical Polarization / M. Stern, A. L. Geaby // Journal of The Electrochemical Society. – 1957. – Vol. 104. – № 1. – P. 56.
77. Hu, K. The roles of vascular endothelial growth factor in bone repair and regeneration / K. Hu, B. R. Olsen // Bone. – 2016. – Vol. 91. – P. 30-38.

78. Influence of the Phase Composition of Titanium Alloys on Cell Adhesion and Surface Colonization / B. B. Straumal, N. Yu. Anisimova, M. V. Kiselevskiy [et al.] // *Materials*. – 2023. – Vol. 16. – № 22. – P. 7130.
79. Chitosan enhances mineralization during osteoblast differentiation of human bone marrow-derived mesenchymal stem cells, by upregulating the associated genes: Chitosan enhances mineralization / S. Mathews, P. K. Gupta, R. Bhonde, S. Totey // *Cell Proliferation*. – 2011. – Vol. 44. – № 6. – P. 537-549.
80. Cellular responses to chitosan in vitro: The importance of deacetylation / M. Prasitsilp, R. Jenwithisuk, K. Kongsuwan [et al.] // *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. – 2000. – Vol. 11. – Cellular responses to chitosan in vitro. – № 12. – P. 773-778.
81. Investigation of cell adhesion in chitosan membranes for peripheral nerve regeneration / C. R. Carvalho, R. López-Cebral, J. Silva-Correia [et al.] // *Materials Science and Engineering: C*. – 2017. – Vol. 71. – P. 1122-1134.
82. Osteodifferentiation of mesenchymal stem cells on chitosan/hydroxyapatite composite films / J. Yang, A. Liu, Y. Han [et al.] // *Journal of Biomedical Materials Research Part A*. – 2014. – Vol. 102. – № 4. – P. 1202-1209.
83. Fabrication and Characterization of Ag–Sr-Substituted Hydroxyapatite/Chitosan Coatings Deposited via Electrophoretic Deposition: A Design of Experiment Study / O. Saleem, M. Wahaj, M. A. Akhtar, M. A. Ur Rehman // *ACS Omega*. – 2020. – Vol. 5. – № 36. – P. 22984-22992.
84. Bioabsorbable metal screws in traumatology: A promising innovation / R. Biber, J. Pauser, M. Brem, H. J. Bail // *Trauma Case Reports*. – 2017. – Vol. 8. – P. 11-15.
85. Linking the effect of localised pitting corrosion with mechanical integrity of a rare earth magnesium alloy for implant use / K. Van Gaalen, C. Quinn, F. Benn [et al.] // *Bioactive Materials*. – 2023. – Vol. 21. – P. 32-43.

86. Corrosion Resistance of MgZn Alloy Covered by Chitosan-Based Coatings / I. Kozina, H. Krawiec, M. Starowicz, M. Kawalec // International Journal of Molecular Sciences. – 2021. – Vol. 22. – № 15. – P. 8301.
87. Effect of corrosion product films on the in vitro degradation behavior of Mg-3%Al-1%Zn (in wt%) alloy in Hank's solution / B. J. Wang, D. K. Xu, J. H. Dong, W. Ke // Journal of Materials Science & Technology. – 2018. – Vol. 34. – № 10. – P. 1756-1764.

БЛАГОДАРНОСТИ

Автор выражает благодарность своему научному руководителю Батищеву Олегу Вячеславовичу за предоставленную свободу научного поиска и поддержку исследовательских идей.

Автор выражает благодарность Ключеву Алексею Леонидовичу за помощь в проведении электрохимических измерений и обработке полученных результатов.

Автор благодарит коллектив лаборатории клеточного иммунитета НМИЦ онкологии им. Блохина, а в частности Анисимову Наталью Юрьевну, за помощь в проведении испытаний на клеточных и мышечных моделях.

Автор благодарит коллег из лаборатории биоэлектрохимии института физической химии и электрохимии им А. Н. Фрумкина за помощь в экспериментах, а также за личную поддержку.

Автор благодарит свою жену и членов семьи, близких друзей за моральную поддержку на всем пути работы над диссертационным исследованием.