

Федеральное государственное бюджетное учреждение  
«Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт»

*На правах рукописи*

**АНТИПОВА КРИСТИНА ГЕОРГИЕВНА**

**ПОЛИМЕРНЫЕ И КОМПОЗИЦИОННЫЕ ГИДРОГЕЛЕВЫЕ  
МАТЕРИАЛЫ ДЛЯ БИОМЕДИЦИНЫ С РЕГУЛИРУЕМЫМИ  
МЕХАНИЧЕСКИМИ ХАРАКТЕРИСТИКАМИ**

1.4.7. – Высокомолекулярные соединения

**ДИССЕРТАЦИЯ**

на соискание ученой степени

кандидата физико-математических наук

Научный руководитель: к. ф.-м.-н Григорьев Т.Е.

Москва – 2024

## ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
ГЛАВА 1 ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР.....	11
1.1 Полимерные материалы .....	12
1.1.1 Природные полимеры.....	12
1.1.2 Синтетические полимеры.....	18
1.2 Механические свойства биологических тканей организма .....	23
1.2.1 Основные механические характеристики.....	24
1.2.2 Особенности механических испытаний биологических тканей .....	29
1.2.3 Биомеханика тканей.....	32
1.2.4 Модели гиперупругого поведения .....	35
1.3 Биоматериалы .....	39
1.3.1 Гидрогели.....	39
1.3.2 Композитные материалы на основе гидрогелей .....	49
1.3.3 Криогели.....	53
1.3.4 Губки.....	56
1.3.5 Нетканые волокнистые материалы .....	58
1.3.6 Композиционные материалы на основе волокон.....	63
ГЛАВА 2 ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ .....	67
2.1 Материалы и реактивы .....	67
2.2 Методики синтеза гидрогелей и получения материалов .....	68
2.3 Методы исследования.....	73
2.3.1 Механические исследования гидрогелей и композитов на их основе ...	73
2.3.2 Механические испытания криогелей .....	78
2.3.3 Механические испытания губчато-волокнистых композитов .....	79
2.3.4 Сканирующая электронная микроскопия.....	79
2.3.5 Инфракрасная спектроскопия.....	80
2.3.6 Краевой угол смачивания.....	80
2.3.7 Акустическая микроскопия.....	81
ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЯ.....	82
3.1 Механическое поведение гидрогелей на основе полиакриламида .....	82

3.1.1 Растяжение гидрогелей.....	82
3.1.2 Сжатие гидрогелей.....	84
3.1.3 Кручение гидрогелей .....	85
3.1.4 Индентирование гидрогелей .....	86
3.1.5 Аппроксимация кривых растяжения моделями гиперупругости .....	87
3.1.6 Конечно-элементное моделирование .....	90
3.1.7 Определение молекулярной массы субцепей между сшивками .....	92
3.2 Композиционные гидрогели на основе полиакриламида, наполненные пористыми микрочастицами полилактида .....	95
3.2.1 Структура композиционных гидрогелей .....	95
3.2.2 Механическое поведение композиционных гидрогелей .....	97
3.3 Криогели на основе поливинилового спирта и каррагинана.....	101
3.4 Губчато-волокнистые композиты.....	106
3.4.1 Исследование механического поведения волокнистых нетканых материалов на основе полилактида .....	107
3.4.2 Губчато-волокнистые композиты на основе полилактида .....	110
3.4.3 Губчато-волокнистые композиты на основе перхлорвинила .....	118
ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....	124
ВЫВОДЫ.....	126
Список сокращений и обозначений .....	128
Список литературы .....	129
Список публикаций по теме диссертации .....	154
Благодарности.....	157

## **ВВЕДЕНИЕ**

### **Актуальность работы**

Тканевая инженерия является перспективным направлением исследований, занимающимся созданием имплантатов для регенерации поврежденных органов и тканей. Создание искусственного аналога внеклеточного матрикса (ВКМ) является актуальной задачей тканевой инженерии. Для ее решения используют различные природные и синтетические полимеры. Сложная многокомпонентная организация ВКМ обуславливает использование комбинации различных типов материалов. Помимо воспроизведения морфологии при разработке матрикса необходимо уделять особое внимание регулированию его механического поведения, поскольку оно оказывает существенное влияние на клеточные и регенеративные процессы. Несмотря на то, что природные и синтетические полимерные материалы, а также композиционные материалы на их основе широко используются в различных сферах человеческой деятельности, изучение и адекватное описание механического поведения таких материалов и систем является все еще не решенной научной проблемой.

ВКМ различных тканей существенно различается по своей структуре и составу, однако можно выделить сходные элементы, присущие нативному матриксу большинства тканей. Это гелеобразная среда, образованная гликозаминогликами, и армирующие волокна коллагена, эластина и фибронектина. В качестве модельной системы для разработки подходов к исследованию механического поведения гелевых материалов были выбраны гидрогели на основе полиакриламида, поскольку он является хорошо изученным и воспроизводимым полимером. Исследуемая система была усложнена добавлением пористых полилактидных частиц для оценки применимости разработанного подхода к изучению механического поведения композиционных материалов.

Волокнистые материалы на основе синтетических полимеров широко применяются в тканевой инженерии благодаря высокой пористости

образуемого ими клеточного каркаса, и их соответствию отдельным элементам ВКМ. Регулирование механического поведения, создание биоподобной структуры и функционализация таких волокнистых материалов является актуальной задачей. Для ее решения могут быть использованы природные полимеры. Выбор коллагена и хитозана в качестве модифицирующих материалов прежде всего обусловлен их высокой биосовместимостью. Кроме того, коллаген входит в состав биологических тканей, а хитозан обладает структурным сходством с гликозаминогликанами.

### **Степень разработанности темы исследований**

В литературе большое количество работ посвящено исследованию физико-химических и механических свойств полиакриламидных гидрогелей. Однако они по-прежнему представляют интерес для научного сообщества, что подтверждается большим числом публикаций за последние 5 лет. Кроме того, несмотря на разработанность методик определения и изучения механического поведения гидрогелей, практически отсутствуют работы, проводящие сравнительный анализ результатов, получаемых в механических испытаниях различного типа.

В единичных работах исследуют взаимосвязь механических характеристик, полученных в двух различных типах испытаний при изучении влияния скорости испытаний или для верификации альтернативных методов определения модуля упругости, таких как микропипеточная аспирация. Единственная работа, в которой было проведено непосредственное сравнение значений модуля упругости гидрогелей, получаемых при различных видах нагружения – это статья Richbourg N. R. 2022 года. Однако в этой работе не проводили расчетно-экспериментальной верификации полученных значений с применением модельных подходов.

Несмотря на большое число работ, посвященных исследованию волокнистых материалов на основе полилактида, модифицированных природными полимерами, лишь некоторые из них рассматривают губчато-

волокнистые композиты. Эти работы подтверждают эффективность такой биофункционализации синтетической волоконной матрицы для стимулирования клеточных процессов. В настоящее время нет опубликованных исследований, которые исследовали влияние природы и концентрации губчатого наполнителя из коллагена и хитозана на физико-химические и механические свойства композиционного волокнистого материала на основе полилактида.

### **Цель и основные задачи работы**

Целью данной работы является разработка подходов и методов направленного варьирования механических свойств полимерных композиционных систем для тканевой инженерии и биотехнологии.

Для достижения данной цели были поставлены следующие задачи:

1. Разработка методики определения механических свойств гидрогелевых материалов в условиях различных видов нагружения;
2. Оценка применимости модельных подходов для описания деформационного поведения гидрогелевых материалов;
3. Расчетно-экспериментальная верификация разработанной методики определения механических свойств с применением численных методов;
4. Разработка методики наполнения полиакриламидного гидрогеля пористыми частицами на основе полилактида;
5. Оценка применимости и модификация разработанной методики определения механических свойств для композиционных гидрогелевых материалов;
6. Отработка методов биофункционализации и регулирования морфологии волокнистых материалов.

## **Научная новизна**

1. Впервые экспериментально определены границы применимости различных методов механических испытаний гидрогелей (одноосное растяжение, сжатие, кручение и индентирование), в которых их измеряемые упругие характеристики хорошо согласованы. Установлены ограничения теоретических моделей гиперупругости Нео-Гука и Муни-Ривлина для описания механического поведения гидрогелей при индентировании.
2. Предложена методика получения новых композиционных материалов на основе полиакриламидных гидрогелей, наполненных пористыми частицами полилактида до 1 масс.%, что позволяет увеличить модуль упругости композитов в 2,5 раза.
3. Разработаны новые композиционные губчато-волокнистые материалы на основе полилактида с добавлением природных полимеров – хитозана и коллагена, перспективных для применения в биомедицине.

## **Теоретическая и практическая значимость**

Разработана методика достоверного определения механических свойств гидрогелей, включающая универсальную оснастку для проведения механических испытаний на одноосное растяжение. Данная методика может быть распространена на любые мягкие материалы, в том числе биологические ткани.

Предложенные в работе гидрогелевые материалы могут быть использованы в качестве фантомов мягких биологических тканей для разработки протоколов диагностики заболеваний, обучения медицинского персонала и калибровки медицинского оборудования. Композиционные гидрогели, полученные в рамках работы, найдут применение в тканевой инженерии и регенеративной медицине.

Губчато-волокнистые композиты на основе полилактида, модифицированные природными полимерами – коллагеном и хитозаном,

разработанные и исследованные в рамках работы, могут быть использованы в тканевой инженерии для регенерации тканей. Полученные по аналогичной технологии композиционные материалы на основе перхлорвинила и хитозана показали эффективность при сорбции водорослей.

### **Методология и методы диссертационного исследования**

Структурные исследования в работе проводили с применением методов: сканирующей электронной микроскопии, в том числе в режиме сканирования окружающей среды, и сканирующей акустической микроскопии. Физико-химические свойства материалов исследовали методом ИК-спектроскопии, определения краевого угла смачивания. Механическое поведение материалов исследовали при растяжении, сжатии, кручении, индентировании и в циклических испытаниях, а также в численном эксперименте с привлечением метода конечных элементов.

### **Степень достоверности результатов**

Достоверность полученных результатов определяется надежностью применявшихся методов исследования, повторяемостью измеряемых параметров в многочисленных экспериментах. Полученные в данной работе результаты подтверждают эффективность разрабатываемого подхода к исследованию механических свойств.

### **Личный вклад автора**

Автор принимала непосредственное участие в постановке, проведении и обработке результатов, полученных в экспериментах с использованием методов механических исследований, просвечивающей и электронной микроскопии, а также инфракрасной спектроскопии для описания физико-химических и механических свойств различных материалов на основе природных и синтетических полимеров. Автором получены и исследованы гидрогели на основе полиакриламида с наполнением из пористых полилактидных частиц, а также композиты на основе волокнистых нетканых



материалов из полилактида, наполненные природными полимерами – хитозаном и коллагеном; разработаны подходы к исследованию механического поведения гидрогелей в эксперименте и с использованием моделей высокоэластичности.

### **Основные положения, выносимые на защиту**

1. Разработанная комплексная методика определения параметров упругости гидрогелей включает в себя одноосное растяжение с применением дополнительной фиксирующей оснастки, сжатие, кручение, индентирование и бесконтактный метод определения коэффициента Пуассона.
2. Низкая доля вводимого пористого наполнителя на основе полилактида приводит к значительному росту модуля упругости композиционных полиакриламидных гидрогелей.
3. Предложенный подход получения композиционного губчато-волокнутого материала на основе нетканого материала и губчатого наполнителя обеспечивает формирование биомиметичной структуры. Использование природных полимеров в качестве губчатого наполнителя способствует биофункционализации композиционного материала и увеличивает его биосовместимость.
4. Механическое поведение губчато-волокнутого материала определяется увеличением количества узлов сетки зацеплений между волокнами при низкой доле наполнителя, что приводит к резкому росту модуля упругости. Дальнейшее наполнение приводит к образованию перколяционной сетки наполнителя в композите, что значительно увеличивает его прочность.

### **Апробация результатов**

Результаты исследования были представлены на 12 конференциях: IX Бакеевская Всероссийская с международным участием конференция

«Макромолекулярные нанообъекты и полимерные нанокомпозиты», Тула, 2023, «Новые полимерные композиционные материалы. Микитаевские чтения», п. Эльбрус, 2023, V Национальный Конгресс по Регенеративной Медицине, Москва, 2022, «Новые полимерные композиционные материалы. Микитаевские чтения», п. Эльбрус, 2022, POLCOM Conference 2021, Bucharest, 2021, XXI Зимняя молодежная школа по биофизике и молекулярной биологии, Санкт-Петербург, 2020, Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов-2020», Москва, 2020, Восьмая Всероссийская Каргинская Конференция «Полимеры — 2020», Москва, 2020, XXI Менделеевский съезд по общей и прикладной химии, Санкт-Петербург, 2019, 63-я Всероссийская научная конференция МФТИ, Москва, 2019, IV Национальный Конгресс по Регенеративной Медицине, Москва, 2019, Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов-2019», Москва, 2019

Содержание работы отражено в 6 публикациях, рецензируемых в научных журналах (Web of Science, Scopus и РИНЦ), а также в 15 материалах и тезисах конференций.

### **Объем и структура работы**

Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, экспериментальной части, обсуждения результатов, выводов, списка публикаций автора по теме диссертации и изложена на 158 страницах машинописного текста. Работа включает 31 рисунок, 16 таблиц. Список литературы имеет 234 наименования.

## ГЛАВА 1 ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

В регенеративной медицине для восстановления функций утраченных или поврежденных тканей и органов используют донорские материалы, называемыми аутографтами, если они взяты у самого пациента, аллографтами, если трансплантируются от другого человека, или ксенографтами, когда донор представляет другой биологический вид [1,2]. Из-за сложностей и рисков, возникающих для всех типов имплантатов, а также растущего количества проводимых операций по трансплантации, возникает потребность в разработке искусственных аналогов органов и тканей [3]. Этой задачей занимается тканевая инженерия, совмещающая в себе подходы различных областей научного знания: трансплантологии, клеточных технологий и науки о материалах [4].

Биологические ткани состоят из двух основных компонент: внеклеточного матрикса (ВКМ) и клеток. Основная функция внеклеточного матрикса – структурная. Он обеспечивает механическую поддержку для клеток, нервов, кровеносных и лимфатических сосудов и транспорт необходимых веществ к клеткам. ВКМ индивидуально формируется резидентными клетками каждой ткани и находится в состоянии динамического равновесия с окружающей средой. Структурные и функциональные молекулы внеклеточного матрикса обеспечивают взаимодействие соседних клеток друг с другом и с внешней средой [5]. Так, каждая ткань имеет уникальный состав и структуру внеклеточного матрикса [6]. Однако для большинства тканей ВКМ представляет собой композиционный материал, состоящий из мягкой сплошной гелеобразной среды с включениями армирующих волокон. Гидрогелевая составляющая ВКМ образована гликозаминогликанами, а сетку волокон составляют такие белки как коллаген, фибронектин и эластин [7].

Таким образом, искусственный матрикс должен быть биосовместимым, пористым или проницаемым, обеспечивать обмен жидкостями и газами с соседними тканями и способствовать прикреплению клеток, их пролиферации и дифференцировке. Также, важно, чтобы клеточный каркас не травмировал окружающие ткани и вызывал минимальное воспаление. Отдельно необходимо отметить, что биодegradация матрикса должна происходить со скоростью, соответствующей скорости регенерации поврежденного участка с нетоксичными продуктами разложения [8,9].

В материаловедческой части тканевой инженерии для формирования биосовместимых материалов и воссоздания структуры внеклеточного матрикса широко используют полимерные материалы [10-15]. Рассмотрим основные их виды, применяемые в данной области знаний.

## **1.1 Полимерные материалы**

### **1.1.1 Природные полимеры**

Полимерные материалы можно разделить на природные и синтетические. Материалы природного происхождения нередко проявляют биоактивные свойства и более активно взаимодействуют с клетками. Их также можно классифицировать на полисахариды, белки и полинуклеотиды [16].

Полисахариды – это высокомолекулярные соединения с моносахаридами в качестве мономера. К ним можно отнести такие вещества, как целлюлоза – наиболее распространенный органический полимер в мире, – крахмал, альгинат, каррагинан, хитин, хитозан и др. [17]. В этом ряду можно выделить хитозан благодаря его структурному сходству с гликозаминогликанами.

## Хитозан

Хитозан – это единственный природный положительно заряженный полисахарид, являющийся производным распространенного в природе полисахарида – хитина. Он представляет собой аморфно-кристаллический линейный сополимер N-ацетил-2-амино-2-дезоксид-β-D-глюкопиранозы и 2-амино-2-дезоксид-β-D-глюкопиранозы, соединенных между собой посредством β-(1,4)-гликозидной связи. Его структура приведена на Рисунке 1.

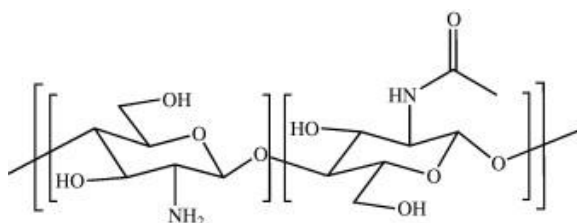


Рисунок 1 – Структурная формула хитозана

Предшественник хитозана – хитин – встречается в скелетах ракообразных, экзоскелетах морского зоопланктона и клеточных стенках некоторых грибов и дрожжей. В промышленном масштабе двумя основными источниками хитозана являются ракообразные и грибные мицелии.

Хитозан, получаемый из животного сырья, обладает менее воспроизводимыми физико-химическими характеристиками и может вызывать аллергические реакции [18]. Ключевым этапом процесса получения хитозана является деацетилирование раствором NaOH [19].

Наличие в структуре хитозана аминогрупп придает полимеру специфические свойства. Аминогруппы могут быть протонированы, что обеспечивает хитозану растворимость в слабокислых водных растворах (pH < 6). Хитозан с протонированными аминогруппами становится поликатионом, который может образовывать ионные комплексы с широким разнообразием природных или синтетических анионных веществ, таких как липиды, белки, ДНК и некоторые отрицательно заряженные синтетические полимеры, такие как полиакриловая кислота. Хитозан проявляет

антибактериальные, противогрибковые, мукоадгезивные, анальгетические и гемостатические свойства [18,20].

Показано, что хитозан разлагается *in vivo* преимущественно путем ферментативного гидролиза. Демполимеризация хитозана может происходить с помощью таких ферментов, как глюкозаминидазы, липазы и лизоцим. Это вызвано структурным сходством с гликозаминогликанами, одними из компонентов естественного ВКМ, которые взаимодействуют с волокнами коллагена, играющими важную роль в клеточной адгезии. Хитозан при демполимеризации дает биоактивные хитоолигосахариды с антимикробными свойствами, а его мономерные продукты (глюкозамины) метаболизируются или выводятся из организма.

Скорость деградации хитозана зависит от степени деацетилирования: высокодеацетилированные формы (степень деацетилирования > 85%) демонстрируют относительно низкую скорость деградации порядка нескольких месяцев *in vivo*, тогда как формы с более низкой степенью деацетилирования разлагаются быстрее.

Для придания изделиям большей механической прочности и снижения скорости их биоразложения хитозан подвергают химической сшивке. Одними из наиболее распространенных сшивателей являются диальдегиды, например, глутаровый альдегид, который взаимодействует с аминогруппами в цепи хитозана [21].

Благодаря рассмотренным свойствам хитозан широко применяется в биомедицине.

\*\*\*

Белками называют высокомолекулярные соединения, состоящие из аминокислот. Такие белки, как коллаген, фибрин и эластин, являются компонентами естественного ВКМ, поэтому широко используются для изготовления скаффолдов в тканевой инженерии [22,23]. Среди перечисленных полимеров наиболее распространенным является коллаген.

## Коллаген

Коллаген составляет около трети всех белков в человеческом организме. Понятие «коллаген» объединяет близкородственные фибриллярные белки, входящие в состав кожи, костей, сухожилий, кровеносных сосудов и др. В каждой биологической ткани присутствует свой набор типов коллагена, в зависимости от функциональной принадлежности органа. В настоящее время описано 28 типов коллагена, различающихся первичной структурой пептидных цепей, местом нахождения в организме и выполняемыми функциями [24,25]. Наиболее распространенными типами коллагена являются I, II и III.

Основная молекулярная конформация природного коллагена состоит из четырех иерархических структур:

### 1. Первичная структура

Первичная структура коллагена состоит из около 1014 аминокислотных остатков. Вся цепь можно представить повторяющимися последовательностями вида  $-Gly-X-Y-$ , где на месте Gly аминокислота глицин, на месте X часто встречается пролин, на месте Y – пролин или гидроксипролин.

### 2. Вторичная структура

Вторичная структура представляет собой две левозакрученные  $\alpha$ -спирали. Образование такой структуры обусловлено электростатическим отталкиванием между пролином и гидроксипролином. Стабильность  $\alpha$ -спирали поддерживается водородными связями между аминокислотными остатками.

### 3. Третичная структура (тропоколлаген)

Правозакрученная тройная спираль образуется переплетением друг вокруг друга 3 левых  $\alpha$ -спиралей. Средняя молекулярная масса тропоколлагена составляет 300 кДа, длина – 300 нм, толщина – 1,5 нм. Стабильность природной трехцепочечной конформации,

биомеханические и физиологические функции в основном зависят от вторичных связей между  $\alpha$ -полипептидными цепями.

#### 4. Четвертичная структура

Тропоколлагены ковалентно сшиваются «конец-в-конец» и выравняются параллельно, формируя стабильные микрофибриллы с периодом около 64 нм между стыками. На Рисунке 2 представлена структура коллагена. [27,28].

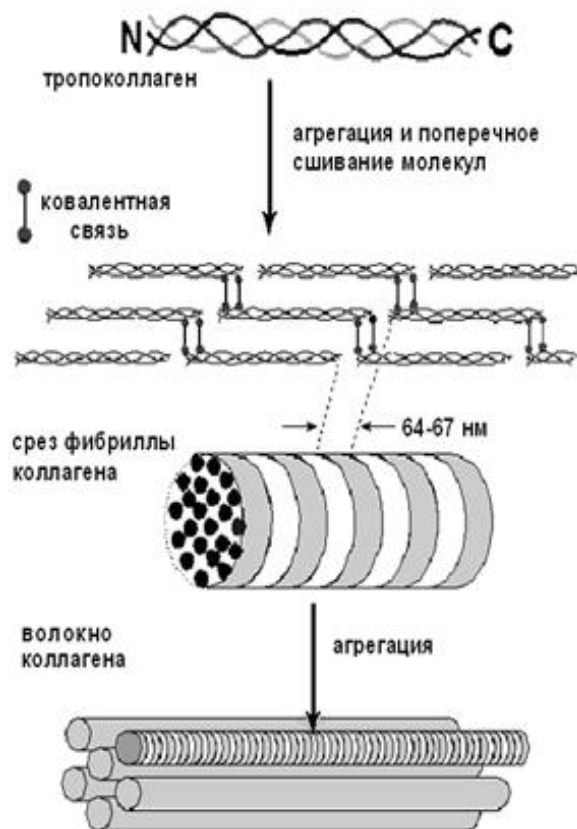


Рисунок 2 – Формирование фибриллы коллагена [28]

В биотехнологии коллаген выделяют из биологических тканей, например, сухожилий в кислой среде с помощью ферментативной экстракции. *Ex vivo* при воздействии повышенной температуры (выше 40 °С), рН и ферментов коллаген денатурирует, в результате чего разрушаются тройные спирали. Денатурированная форма коллагена называется желатином и широко используется в биотехнологии и биомедицине. Использование коллагена, полученного из животных источников, имеет ряд недостатков и ограничений, связанных с часто возникающей аллергической реакцией и



переносом заболеваний. Поэтому в настоящее время многими группами исследователей разрабатываются методы получения синтетического коллагена [24,25].

Тройная спираль коллагена взаимодействует с большим количеством молекул, которые запускают различные биохимические реакции. Коллагеновые взаимодействия с рецепторами на поверхности клеток регулируют многие клеточные процессы, включая адгезию, пролиферацию и миграцию, в то время как взаимодействия с другими компонентами ВКМ имеют решающее значение для структуры матрикса. Коллаген стимулирует клеточную активность и способствует развитию новых тканей.

Другим важным свойством материалов на основе коллагена является их естественная деградация в организме. В процессе ремоделирования ткани и ранозаживления необходимы регулируемые сроки разложения материала. Тройная спираль устойчива к обычным протеазам, но члены семейства матриксных металлопротеиназ могут расщеплять нативный и денатурированный коллаген в определенных условиях [24,29,30].

Уникальные свойства коллагена обуславливают его множественные биологические применения.

\*\*\*

Несмотря на то, что природные полимеры обладают хорошей биосовместимостью, имеют широкое распространение и биodeградируют с образованием нетоксичных продуктов, воспроизводимость свойств и некоторые другие характеристики у природных материалов существенно уступает синтетическим. Поэтому в биомедицинских применениях активно используют и синтетические полимерные материалы [31].

### 1.1.2 Синтетические полимеры

Синтетические полимерные материалы получают путем химического синтеза в реакциях полимеризации и поликонденсации соответствующих мономеров. При этом мономеры могут иметь также синтетическую природу, как в случае с полиарилэфиркетонами [32], полиакрилатами и полиметакрилатами [33], поликапролактоном [34], или быть природного происхождения – полилактид [35]. Преимуществами синтетических полимеров по сравнению с природными материалами являются регулирование механических характеристик в широком диапазоне значений, от мягких эластомеров до жестких термопластов, настраиваемые свойства в зависимости от химического состава, воспроизводимость свойств и простота изготовления конечных изделий, коммерческая доступность [36].

Синтетические полимеры можно разделить на неразлагаемые и разлагаемые. Неразлагаемые синтетические полимеры обычно характеризуются биологической инертностью. Они служат основой для множества медицинских устройств. Эти материалы также применяются в качестве имплантируемых носителей для длительной доставки лекарственных средств, например, противозачаточных препаратов [37].

#### **Полиакриламид**

Полиакриламид был впервые представлен в 1959 году в качестве матрицы для гель-электрофореза. Его получают путем полимеризации мономера – акриламида [38]. На Рисунке 3 представлена структурная формула акриламида. Акриламид – токсичное соединение, которое поражает нервную систему, печень и почки, раздражает слизистые оболочки. Однако получаемый полимеризацией полиакриламид – неопасен. Он широко применяется в биомедицине. Для безопасного использования полиакриламида проводят отмывку непрореагировавших компонентов реакционной смеси [39].

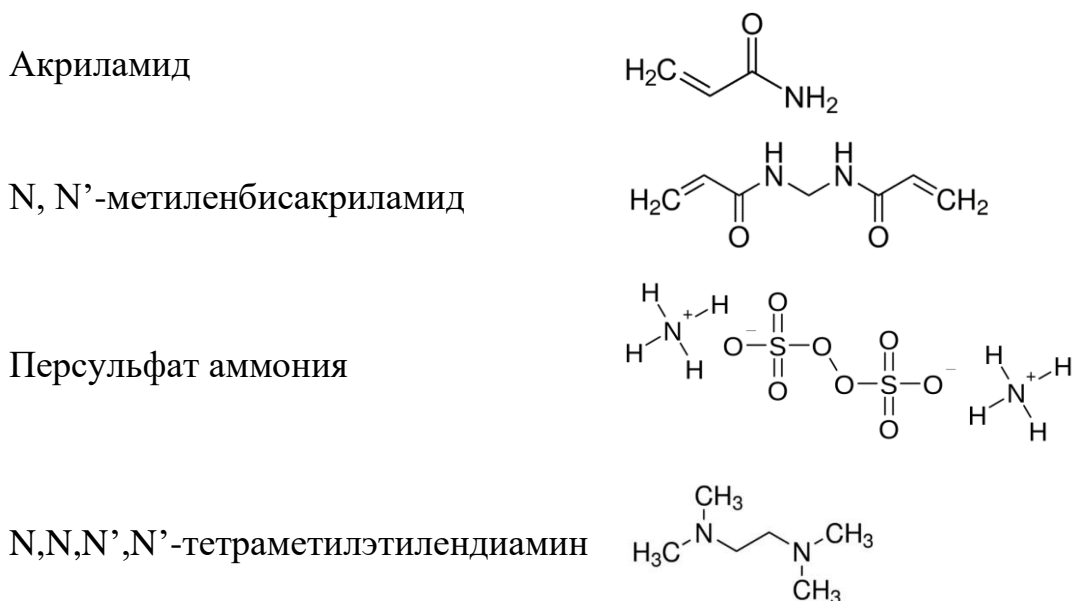


Рисунок 3 – Структурные формулы химических соединений, участвующих в реакции синтеза полиакриламидного гидрогеля методом свободной радикальной полимеризации

Гели полиакриламида чаще всего синтезируют методом свободной радикальной полимеризации в водной среде в присутствии сшивателя. Свободные радикалы инициатора атакуют двойные связи в акриламиде с образованием свободного радикала акриламида и иницированием радикальной полимеризации. Инициаторами в реакции полимеризации являются перекисные или гидроперекисные соединения, а также азосоединения. Наиболее распространенный инициатор – персульфат аммония [40]. Для иницирования радикальной полимеризации ультрафиолетом к раствору акриламида добавляют фотоинициаторы, такие как рибофлавин, оксид 2,4,6-триметилбензоилдифенилфосфина или фенол-2,4,6-триметилбензоилфосфинат лития [41,42]. N,N'-метиленбисакриламид (БИС) является самым распространенным сшивающим агентом для акриламида. В процессе радикальной полимеризации свободные радикалы атакуют его двойные связи. Получившиеся радикалы соединяются с радикалами акриламида ковалентными связями с образованием разветвленной полимерной сетки. Скорость образования свободных

радикалов можно варьировать количеством добавляемого катализатора – N,N,N',N'-тетраметилэтилендиамин [40]. В отсутствии сшивающего агента может быть получена линейная форма полиакриламида.

### **Поливиниловый спирт**

Поливиниловый спирт (ПВС) – это синтетический водорастворимый и биосовместимый материал. ПВС не синтезируют путем прямой полимеризации мономеров, потому что виниловый спирт склонен спонтанно превращаться в ацетальдегид из-за кето-енольной таутамерии. Вместо этого ПВС получают гидролизом (метанолизом) поливинилацетата (ПВА). Полимеризация ПВА осуществляется по радикальному механизму в спиртовых растворах. Промышленный способ гидролиза ПВА позволяет контролировать молекулярную массу получаемого поливинилового спирта варьированием параметров: времени реакции, скорости подачи винилацетата, количества растворителя, концентрации инициатора и температуры полимеризации.

Степень гидролиза ПВС, которая является показателем наличия ацетатных групп, зависит от времени реакции, концентрации катализатора и температуры [43]. ПВС с высокой степенью гидролиза (выше 95%) хуже растворим в воде. Из-за наличия гидрофобных ацетатных групп для растворения полимера в воде требуется нагрев до 70 °С. Также ПВС с высокой степенью гидролиза сложнее кристаллизуется. [36,44].

ПВС обладает рядом свойств, которые способствуют его широкому применению: химическая устойчивость, высокие механические и адгезионные свойства [45]. В биомедицине ПВС в комбинации с природными и синтетическими полимерами в форме гидрогелей используют для получения систем адресной доставки лекарств и раневых покрытий, а также замещения хрящевых тканей в суставах [46-48].

Биоразлагаемые синтетические полимеры обладают рядом преимуществ по сравнению с неразлагаемыми материалами. Как и все синтетические полимеры, их можно синтезировать с воспроизводимым качеством и чистотой, а также контролируемые механическими свойствами. Значительным преимуществом здесь является возможность управлять скоростью биорезорбции материала [37]. В медицине биоразлагаемые синтетические полимеры используют в качестве рассасывающихся шовных материалов, систем доставки лекарств и ортопедических фиксирующих медицинских изделий, таких как штифты, стержни, винты [36,49], а также для создания скаффолдов в тканевой инженерии [50,51].

### **Полилактид**

Полилактид (ПЛА) – биосовместимый алифатический полиэфир, который получают поликонденсацией молочной кислоты или полимеризацией лактида (циклического димера молочной кислоты) с раскрытием цикла. Молочная кислота существует в виде двух энантиомеров – L- и D-форм, соотношение которых в цепи ПЛА значительно влияет на такие характеристики полимера, как степень кристалличности, скорость биодegradации и упруго-прочностные свойства. В Таблице 1 приведены значения основных физико-химических и механических характеристик ПЛА, полученных из разных энантиомеров [35,52].

Таблица 1 – Физико-химические и механические свойства полилактида

	ПЛА	L-ПЛА	D, L-ПЛА
Температура стеклования, К	45-60	55-65	50-60
Температура плавления, К	150-162	170-200	аморфный
Разрушающее напряжение при растяжении, МПа	21,00-60,00	15,50-150,00	27,6-50,0
Относительное удлинение при разрыве, %	2,50-6,00	3,00-10,00	2,00-10,00
Модуль упругости, ГПа	0,35-3,50	2,70-4,14	1,00-3,45

В настоящее время эффективным способом получения молочной кислоты является бактериальная ферментация картофельного крахмала и кукурузной декстрозы с использованием оптимизированного штамма *Lactobacillus*. Таким способом, в основном получают L-молочную кислоту, характеризующуюся стереорегулярностью, обеспечивающей высокую кристалличность полимера [53].

Важнейшим свойством полилактида является его деградация в организме человека с образованием нетоксичных продуктов, а именно молочной кислоты. Основным механизмом биоразложения ПЛА – это гидролиз сложноэфирной связи в полимерной цепи с образованием мономеров и олигомеров. Гидролитическая деструкция дополнительно катализируется образованными концевыми карбоксильными группами расщепленных цепей. рН и температура оказывают существенное влияние на разложение ПЛА.

Существует также бактериальный фермент – ПЛА-деполимераза, способный к гидролизу ПЛА. Этот фермент возникает при воспалении участка имплантации и может катализировать деградацию ПЛА. Дополнительное ускорение деградации ПЛА может быть обеспечено нейтрофилами, макрофагами и фибробластами, выделяющими множество ферментов, таких как кислая фосфатаза и лактатдегидрогеназа. Продукты распада полилактида выделяются из организма в процессе фильтрации в почках или в виде углекислого газа [54,55].

В медицине ПЛА используют в качестве материала для крепежных изделий и хирургических нитей [49]. Этому способствует его биосовместимость, достаточные механические свойства, устойчивость к коррозии и ползучести. Благодаря антитромбогенным свойствам ПЛА может быть использован в производстве сосудистых трансплантатов [56].

Для улучшения функциональных и механических свойств материала к ПЛА добавляют природные и синтетические полимеры, например, полигликолевую кислоту, стекловолокно, коллаген, углеродное волокно или гидроксиапатит. При разложении ПЛА из-за накопления молочной кислоты снижается pH в области повреждения и возникает воспаление контактной ткани. Присутствие хитозана в композите позволяет нейтрализовать pH, и тем самым избежать воспаления [57].

Таким образом, можно сделать вывод о том, что природные и синтетические полимеры, по отдельности и в различных комбинациях, являются перспективными материалами для использования в регенеративной медицине и тканевой инженерии благодаря своим уникальным свойствам, таким как высокая биосовместимость, регулируемые механические свойства, контролируемая биodeградация и способность обеспечивать высокую клеточную активность.

## **1.2 Механические свойства биологических тканей организма**

Стоит отдельно отметить важность воссоздания механических свойств нативной ткани для разрабатываемого клеточного каркаса, поскольку эта характеристика оказывает существенное влияние, как на взаимодействие имплантата с окружающими тканями и его приживаемость, так и на функционирование заселяющих его клеток. Рассмотрим известные в

литературе данные по механическим характеристикам биологических тканей человеческого организма.

### **1.2.1 Основные механические характеристики**

#### **Упруго-прочностные параметры**

Упруго-прочностные характеристики описывают механическое поведение образца в условиях эксплуатации. Механические свойства как живых тканей, так и различных материалов принципиально можно исследовать в двух типах условий:

1. Большие напряжения и кратковременное воздействие
2. Малые напряжения и длительный период воздействия

В первом случае образцы испытывают на прочность, получая кривые зависимости напряжения от деформации при различных температурах и различных скоростях нагружения вплоть до точки разрушения. Во втором случае рассматривают, например, усталостное разрушение образца или разрушение при ползучести.

Чаще всего для характеристики механического поведения материала используют диаграмму напряжение – деформация. Она может описывать поведение образца с постоянным поперечным сечением при одноосном или двухосном растяжении, сжатии, изгибе и других видах нагружения.

На Рисунке 4 приведена типичная кривая одноосного растяжения материала. В области упругих деформаций материала (участок от точки О до Р) деформация  $\varepsilon$  пропорциональна напряжению  $\sigma$ . Такие деформации являются обратимыми. Если образец не разрушился в процессе упругой деформации, то дальше развивается постоянная – пластическая – деформация. Материалы, разрушившиеся в области упругой деформации,



называются хрупкими, а материалы, в которых развивается пластическая деформация – пластичными.

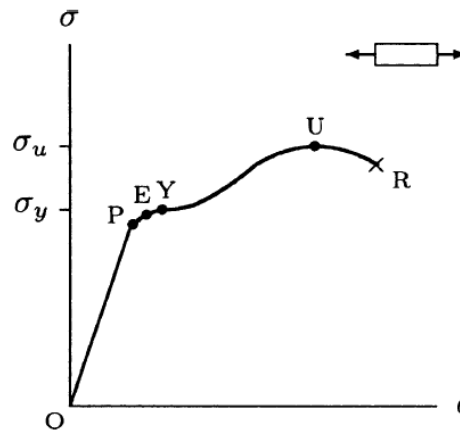


Рисунок 4 – Диаграмма напряжение – деформация при одноосном растяжении [58]

В процессе пластической деформации напряжение  $\sigma$  возрастает с увеличением деформации  $\epsilon$ , что носит название механического упрочнения. При снятии напряжения  $\sigma$  с пластичного материала, в образце наблюдается остаточное пластическое удлинение. Точка E, предел упругости, соответствует максимальному напряжению, которое можно приложить к образцу, не вызывая остаточных деформаций. Предел текучести  $\sigma_y$  (точка Y) – напряжение, при котором деформация продолжает расти без увеличения нагрузки. Предел прочности  $\sigma_b$  (точка U) – максимальное напряжение материала. Точка R соответствует напряжению, при котором происходит разрушение материала.

Если материал не подвергся заметному механическому упрочнению после развития деформации в условиях нагружения, то его предел текучести очень близок к пределу прочности при растяжении.

Для материалов с различными механическими свойствами кривые деформации существенно различаются. На Рисунке 5 приведены деформационные кривые растяжения различных полимерных материалов: от хрупкого пластика до мягкого эластомера.

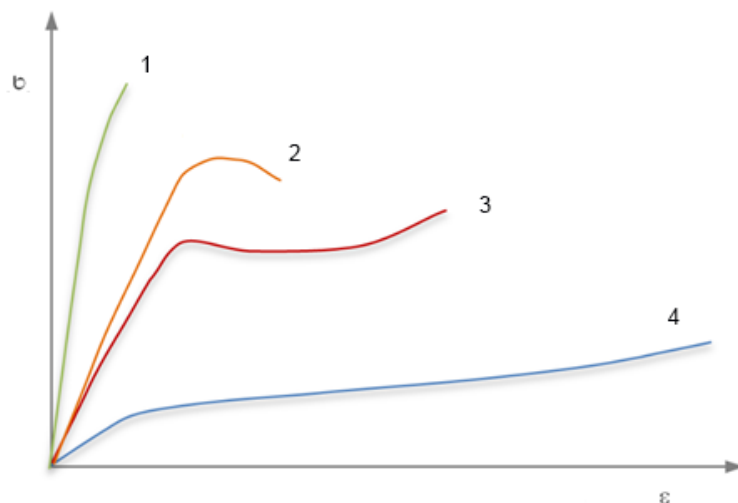


Рисунок 5 – Деформационные кривые различных полимерных материалов: 1 – хрупкий материал, 2 – жесткий и прочный материал, 3 – жесткий и прочный материал с деформационным упрочнением, 4 – эластомер

На основе диаграммы напряжение – деформация можно оценить некоторые упругие характеристики материала:

1. Модуль упругости при сдвиге (модуль сдвига) ( $G$ , Н/м<sup>2</sup>)

$$G = \frac{\text{Сдвиговое напряжение}}{\text{Деформация сдвига}} = \frac{\frac{F}{A}}{\frac{S}{D}}, \text{ где} \quad (1)$$

$F$  – сила сдвига,  $A$  – площадь,  $S$  – величина сдвига,

$D$  – единица расстояния между сдвигаемыми поверхностями

2. Модуль Юнга ( $E$ , Н/м<sup>2</sup>)

$$E = \frac{\text{Растягивающее напряжение}}{\text{Деформация растяжения}} = \frac{\frac{F}{A}}{\frac{\Delta L}{L_0}}, \text{ где} \quad (2)$$

$F$  – сила,  $A$  – площадь образца,  $L_0$  – начальная длина образца,  $\Delta L$  – удлинение

Модуль упругости  $E$  отражает жесткость материала. Чем выше модуль Юнга, тем жестче материал.

3. Коэффициент Пуассона ( $\nu$ )

$$\nu = \frac{\text{Поперечное сжатие}}{\text{Продольная деформация}} \quad (3)$$

#### 4. Объемный модуль (К, Н/м<sup>2</sup>)

$$K = \frac{\text{Гидростатическое давление}}{\text{Объемная деформация}} = \frac{pV_0}{\Delta V}, \text{ где} \quad (4)$$

$p$  – гидростатическое давление,  $V_0$  – начальный объем образца,

$\Delta V$  – изменение объема

Для несжимаемого материала, характеризующегося коэффициентом Пуассона, равным или близким к значению 0,5, перечисленные величины связаны друг с другом с помощью уравнения:

$$E = 2G(1 + \nu) = 3K(1 - 2\nu) \quad (5)$$

Среди перечисленных характеристик модуль Юнга является наиболее распространенной характеристикой механического поведения материалов [59].

#### **Вязкоупругость**

Большинство биологических тканей представляют собой вязкоупругие среды. Они сочетают в себе упругие свойства твердых тел и некоторые характеристики вязких жидкостей, такие как релаксация напряжения, ползучесть и гистерезис при механических нагрузках [60].

#### **Релаксация и ползучесть**

Явление релаксации заключается в уменьшении напряжения, возникающего в теле при приложении длительной постоянной внешней нагрузки. Если при приложении длительной постоянной нагрузке материал продолжает деформироваться, то такой эффект называется ползучестью [60].

#### **Циклическое нагружение**

Для исследования усталостного разрушения материалов при длительном воздействии проводят циклические испытания образцов. На Рисунке 6 изображена кривая циклического нагружения образца в испытаниях на растяжение.

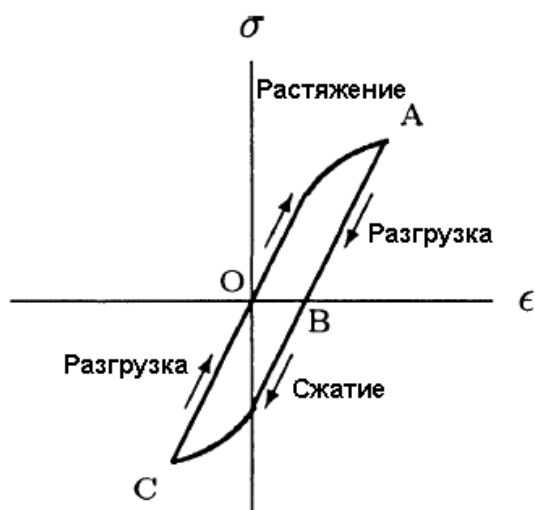


Рисунок 6 – График зависимости напряжения от деформации при циклических испытаниях

На первом этапе испытания к образцу прикладывается растягивающее усилие (участок кривой между точками O и A) до значений, превышающих предел упругости материала. В точке A, растягивающее усилие снимается, и линия AB представляет собой путь разгрузки. В точке B материал вновь нагружается, на этот раз под воздействием сжимающей силы. В точке C воздействие прекращается. Кривая между C и O представляет собой вторую разгрузку, и, наконец, материал возвращается в свое первоначальное состояние. Петля OABCO называется петлей гистерезиса, а площадь, окруженная этой петлей, равна полной энергии деформации, которая рассеивается в виде тепла, чтобы деформировать тело в процессе напряжения и сжатия [58].

Такой тип испытаний позволяет оценить механические характеристики материала при усталостном разрушении. Для оценки площади петли гистерезиса и количества рассеиваемой энергии можно получать аналогичные кривые в области первого квадранта, т.е. проводить испытания материала в условиях растяжения.

### 1.2.2 Особенности механических испытаний биологических тканей

В настоящей работе предметом интереса являются мягкие биологические ткани, например, соединительная, нервная, жировая, мышечная и др. При исследовании механических свойств мягких биологических тканей возникает ряд затруднений, связанных с техническими особенностями проведения испытаний. Эти же затруднения справедливы и для некоторых полимерных материалов с модулями упругости, не превышающими нескольких сотен килопаскалей (кПа), например, гидрогелей. Поэтому в данном разделе рассмотрим особенности механических испытаний, как биологических тканей, так и полимерных «мягких» материалов.

Оценку механических свойств таких материалов можно проводить различными методами, например, испытывая их в условиях сжатия, растяжения или индентирования. В процессе измерений и интерпретации получаемых результатов возникают следующие сложности: закрепление «мягких» образцов в зажимах испытательной машины для тестирования; несоответствие значений модуля упругости мягких материалов (единицы – сотни кПа) и оптимального рабочего диапазона оборудования для механических испытаний (МПа–ГПа). Кроме того, поскольку и мягкие биологические ткани и гидрогели представляют собой многофазные материалы, состоящие из пористого или волокнистого «твердого тела» с жидкой (водной) фазой, всестороннее понимание их механического отклика не является результатом стандартных тестов, разработанных для «твердых» материалов, и требует более сложного анализа [39]. Кратко рассмотрим наиболее популярные методики, используемые для механических испытаний «мягких» материалов.

Одноосное растяжение позволяет определить такие характеристики материала, как модуль Юнга, предел текучести и предел прочности на

разрыв. В случае испытаний при одноосном растяжении ключевой особенностью проведения эксперимента является методика фиксирования «мягких» материалов в зажимах испытательной машины [61]. Существует множество техник закрепления таких образцов, включая картонные вкладыши, двусторонние клейкие ленты и клей [39].

Испытания при сжатии также позволяют рассчитать механические параметры материала, однако требует более тщательной подготовки образцов [40]. Такие испытания можно проводить в условиях одноосного сжатия, когда образец сдавливают между двумя плоскими непористыми пластинами, или в условиях ограниченного объема – в этом случае образец помещают в контейнер и давят сверху пористым поршнем. При таком виде испытания предполагается наличие течения жидкости через пористый поршень в процессе испытаний [39].

По результатам испытаний на кручение можно определить модуль сдвига образца, опираясь на зависимость касательных напряжений от угловой деформации. Преимуществом этого метода является возможность его реализации *in vivo* [62].

Еще одним видом испытаний, набирающим популярность, является индентирование. Оно комбинирует различные типы деформирования образца: растяжение, сжатие и сдвиг, и позволяет проводить испытаний, не разрушая образец [40,63].

При испытании на индентирование зонд известной геометрии приводится в контакт с поверхностью материала, вдавливается в материал и снова вытягивается. В процессе испытания измеряют глубину вдавливания индентора, значения нагрузки и время, которые используют для анализа механического поведения материала. В этом случае индентирование представляет собой локальный вариант испытания на сжатие, когда образец деформируют не целиком, а в некоторой ограниченной области. Такой тест позволяет определить приведенный модуль  $E_R$ , который связан с модулем плоского деформированного состояния  $E$  соотношением:

$$E_R = \frac{E}{1-\nu^2}, \quad (6)$$

где  $\nu$  – коэффициент Пуассона.

Существует аналитическое решение для описания вдавливания жесткого тела в упругое полупространство, предложенное Г. Герцем в 1882 году. Для несжимаемого материала зависимость силы  $P$  от глубины вдавливания индентора  $\delta$  можно записать как [64]:

$$P = \frac{8G\sqrt{R}}{3(1-\nu)} \delta^{3/2}, \quad (7)$$

Где  $G$  – модуль сдвига,  $R$  – радиус индентора,  $\nu$  – коэффициент Пуассона.

Метод индентирования имеет множество преимуществ: он требует минимальной подготовки образца и позволяет избежать сложностей закрепления гидрогеля в зажимах разрывной машины; для проведения испытаний требуется относительно небольшой по размерам образец, что позволяет проводить тестирование ценных материалов; с помощью индентирования можно произвести картирование упругих параметров материала, измеряя его локальные характеристики.

Индентирование используют в различных масштабах от макроиндентирования до микро- и наноиндентирования. Макроиндентирование осуществляют с использованием традиционных испытательных машин. Микро- и наноиндентирование реализуют в специально разработанных установках или с применением атомной силовой микроскопии [39].

При изучении механического поведения нативных тканей индентирование имеет дополнительно преимущество, поскольку позволяет проводить испытания малоинвазивно [62,65]

### 1.2.3 Биомеханика тканей

Исследованием механического поведения биологических тканей занимается биомеханика. Биомеханику можно определить, как приложение классической механики к биологическим системам. Она объединяет в себе прикладную механику с биологией и физиологией. В биомеханике принципы механики применяются к разработке и анализу биомедицинских систем [60].

Живые ткани обладают высокими адаптивными свойствами. Они приспособляются к изменяющимся внешним механическим нагрузкам и способны к саморегенерации.

Большинство биологических тканей являются композиционными материалами с неоднородными и анизотропными свойствами. Коллагеновые и эластиновые волокна – наиболее распространенные компоненты разных биологических тканей, которые оказывают существенное влияние на их механическое поведение. Коллагеновые волокна преимущественно участвуют в сопротивлении растягивающему напряжению. Они окружены гелеобразным веществом с высоким содержанием воды. Геометрическая конфигурация коллагеновых волокон и их взаимодействие с остальными компонентами ткани составляют основу прочностных свойств биологических тканей. Большое влияние на механические свойства оказывает еще один белок – эластин. В отличие от коллагена волокна эластина могут претерпевать большие обратимые деформации [58,60]. Сочетание механических свойств этих двух белков отражает классическое механическое поведение многих биологических тканей при нагружении: низкие значения модуля упругости при малых деформациях и его резкое увеличение при высоких значениях деформаций.

Механические свойства значительно варьируются в разных тканях организма. В Таблице 2 собраны литературные данные о значениях модуля упругости, модуля сдвига, предела прочности и коэффициента Пуассона



различных биологических тканей, а также использованные методики испытаний [58, 60, 62, 63, 65-68].

Таблица 2 – Средние значения механических характеристик некоторых материалов

Ткань/орган	$\sigma_B$ , МПа	$E$ , кПа	$G$ , кПа	$\nu$	Метод испытаний
Кортикальная кость	130	$17 \times 10^6$	$3,3 \times 10^3$	0,40	Сжатие Растяжение
Губчатая кость	0,1–30	(10–3000) $\times 10^3$	–	–	Сжатие Растяжение
Сухожилие	70–140	(0,4–1,5) $\times 10^6$	–	0,30–0,40	–
Связки	–	(0,2–4,3) $\times 10^6$	–	0,30–0,40	–
Кожа	5–30	(15–210) $\times 10^3$	–	0,49	Инденитрование Кручение Растяжение
Мышцы	0,2	8–15	9,0–24,0	0,49	Растяжение Сжатии
Мозг	–	2–10	0,8–24,2	–	Инденитрование Сжатие Простой сдвиг
Язык	–	5–15	2,7	–	Инденитрование
Миндалины	–	–	4,6	–	Инденитрование
Пищевод	1,2	4–14	5,4–185,1	–	–
Легкие	–	1–6	–	–	Реология Инденитрование
Молочные железы	–	2–66	0,5–320,0	0,50	–
Желудок	0,5–0,7	6	–	–	Инденитрование

Ткань/орган	$\sigma_B$ , МПа	$E$ , кПа	$G$ , кПа	$\nu$	Метод испытаний
Селезенка	–	20-31	–	–	Сжатие
Печень	1,9– 203,0	10–386	–	–	Сжатие Растяжение
Желчный пузырь	0,3–1,3	200–640	–	–	Растяжение
Почка	0,02–9,0	42–180	–	–	–
Матка	4,0	20–1400	–	0,49	Растяжение
Полость носа	3,9	(1–4) $\times 10^3$	–	–	Сжатие Растяжение
Ротовая полость	1,0–4,7	1– $43 \times 10^3$	2,4	0,30– 0,45	Растяжение Индентирование
Сердце	1,4–3,8	1– $18 \times 10^3$	–	–	–
Поджелудочная железа	–	–	1,7	–	–
Тонкая кишка	0,9	(2–8) $\times 10^3$	–	–	Растяжение
Толстая кишка	0,9	(1–5) $\times 10^3$	–	–	Растяжение
Мочевой пузырь	–	250– $1,9 \times 10^3$	270–900	–	Растяжение

Диапазон физиологических нагрузок не превышает 20 % предела прочности, при этом физиологические деформации находятся в области 20–50 % [69].

Таким образом, можно говорить о том, что механические характеристики биологических тканей лежат в широком диапазоне значений,

что определяет необходимость тонкого регулирования механических свойств при разработке материалов для замещения поврежденных тканей.

### 1.2.4 Модели гиперупругого поведения

Механическое поведение мягких биологических тканей и их искусственных аналогов характеризуется относительно большими деформациями и нелинейными зависимостями напряжения от деформации. В литературе для описания этих особенностей используют теорию гиперупругости [66]. Было предложено множество различных эмпирических и полуэмпирических конститутивных моделей, конкретизирующих вид функции плотности энергии деформации [70]. В настоящее время наиболее распространены модели Нео-Гука, Муни-Ривлина, Огдена, Гента, Йо и др. Эти модели применяют для описания квазистатического деформационного поведения биологических тканей [71] и тканеимитирующих материалов, например, гидрогелей [61].

Наиболее простой и часто используемой моделью является модель Нео-Гука (НГ, Neo-Hookean). Для несжимаемого материала плотность энергии деформации выражается следующим уравнением:

$$W = C_1(I_1 - 3). \quad (8)$$

$C_1$  здесь является материальной константой, а  $I_1$  – первым инвариантом левого тензора деформации Коши-Грина, определяемый как  $I_1 = \lambda_1^2 + \lambda_2^2 + \lambda_3^2$ .

При одноосной деформации несжимаемого материала можно записать, что  $\lambda_1 = \lambda, \lambda_2 = \lambda_3 = \frac{1}{\sqrt{\lambda}}$ . В этом случае уравнение НГ принимает следующий вид:

$$\sigma = G(\lambda^2 - 1/\lambda) \quad (9)$$

Модуль сдвига входит в выражения для напряжения в явном виде.

Модель Нео-Гука адекватно описывает начальный линейный диапазон кривой напряжения – деформации для гиперупругих материалов, включая биологические ткани, сшитые полимеры и гидрогели. Тем не менее, это не позволяет предсказать их механическое поведение при больших (более 50%) деформациях [72].

Другая широко распространенная модель, применяемая для описания механического поведения гиперупругих материалов – модель Муни-Ривлина (MP, Mooney-Rivlin) [73]. Она является феноменологической и основывается на двух деформационных инвариантах. Плотность энергии деформации включает их линейную комбинацию и в случае несжимаемого материала имеет вид:

$$W = C_{10}(I_1 - 3) + C_{01}(I_2 - 3), \quad (10)$$

где  $C_{10}$  и  $C_{01}$  – материальные константы,  $I_1$  и  $I_2$  – первый и второй инварианты левого тензора деформаций Коши-Грина, соответственно. Второй инвариант определяется как  $I_2 = \lambda_1^2 \lambda_2^2 + \lambda_2^2 \lambda_3^2 + \lambda_3^2 \lambda_1^2$ . Эта модель позволяет оценить значение модуля упругости  $G$ , как  $G = 2(C_{10} + C_{01})$ .

Модель Муни-Ривлина может улучшить предсказание модели НГ при больших деформациях и широко используется для резиноподобных материалов [72].

Выражение (10) соответствует двухпараметрическому варианту модели Муни-Ривлина. Однако для описания более сложного вида деформационных кривых, имеющих одну и более точки перегиба, используют 3-, 5- и 9-параметрические варианты этой модели. В этом случае к (10) добавляются квадратичные и кубические по  $I_1$  и  $I_2$  слагаемые с соответствующими материальными константами [74]:

3-параметрическая модель MP

$$W_{(3)} = C_{10}(I_1 - 3) + C_{01}(I_2 - 3) + C_{11}(I_1 - 3)(I_2 - 3), \quad (11)$$

5-параметрическая модель MP

$$W_{(5)} = C_{10}(I_1 - 3) + C_{01}(I_2 - 3) + C_{20}(I_1 - 3)^2 + C_{02}(I_2 - 3)^2 + C_{11}(I_1 - 3)(I_2 - 3), \quad (12)$$

9-параметрическая модель МР

$$\begin{aligned}
 W_{(9)} = & C_{10}(I_1 - 3) + C_{01}(I_2 - 3) \\
 & + C_{20}(I_1 - 3)^2 + C_{02}(I_2 - 3)^2 + C_{30}(I_1 - 3)^3 \\
 & + C_{03}(I_2 - 3)^3 + C_{11}(I_1 - 3)(I_2 - 3) \\
 & + C_{21}(I_1 - 3)^2(I_2 - 3) + C_{12}(I_2 - 3)^2(I_1 - 3).
 \end{aligned} \tag{13}$$

Модель Гента основана на соотношении НГ для напряжения и деформации, но учитывает ограниченную растяжимость цепей. Такой подход позволяет описать поведение материала при больших деформациях. Модель первоначально была введена для ненаполненных вулканизатов каучука как эмпирическое соотношение для плотности упруго-запасенной энергии  $W$  [75]:

$$W = -\frac{E}{6} J_m \ln\left(1 - \frac{I_1}{I_m}\right) \tag{14}$$

где  $I_1$  — первый инвариант, определяемый как  $J_1 = \lambda_1^2 + \lambda_2^2 + \lambda_3^2$ , где  $\lambda_1, \lambda_2$  и  $\lambda_3$  удлинение,  $I_m$  — максимальное значение  $I_1$ , соответствующее полностью растянутому состоянию сетки.  $\frac{E}{3}$  равняется  $\mu$  — модулю сдвига.

Как и модель Гента, модель Огдена [76] представляет собой функцию энергии деформации для изотропных несжимаемых каучуков. Соотношение основано на линейной комбинации инвариантов деформации. Одночленная модель Огдена выглядит следующим образом:

$$W = \frac{2\mu}{\alpha^2} (\lambda_1^\alpha + \lambda_2^\alpha + \lambda_3^\alpha - 3) \tag{15}$$

Для одноосного растяжения зависимость напряжения от деформации принимает вид:

$$\sigma = \frac{2\mu}{\alpha} \left( \lambda^{\alpha-1} - \lambda^{-\frac{\alpha}{2}-1} \right), \tag{16}$$

где  $\mu$  — модуль сдвига,  $\alpha$  — показатель деформационного упрочнения.

Необходимо отметить, что разработано множество моделей гиперупругого поведения, предназначенных для разного рода материалов.

Однако модели высокого порядка требуют определения констант, не имеющих явного и ясного физического смысла. В рассмотренной модели Огдена такой константой является показатель деформационного упрочнения  $\alpha$ .

Обозначенные модели НГ, МР, Гента и Огдена успешно применяли как для синтетических материалов [77], так и для нативных тканей [66]. Шерголд и др. [78] показали, что модель Огдена хорошо описывает механический отклик свиной кожи и резино-подобных материалов на основе силикона при растяжении и сжатии. В работе [79] исследовали применимость моделей гиперупругого поведения для описания механических свойств мозга и жировой ткани при комбинированном растяжении со сдвигом. Было установлено, что лучшую корреляцию с экспериментальными данными демонстрирует модель Огдена, тогда как часто используемые модели НГ, МР и Гента не подходят для моделирования такого типа испытаний. Однако при индентировании мозга мыши МакМанус с коллегами [80] успешно использовали модели МР, НГ и Огдена для моделирования эксперимента с использованием метода конечных элементов. Коэффициент детерминации для всех моделей составил не менее 0,9. Кроме того, этой же научной группой выявлено, что уравнение НГ может быть использовано при моделировании результатов индентирования тканей печени [81]. Также, в работе [82] показано использование модели МР в численном эксперименте по исследованию механического поведения мозга свиней при чистом сдвиге до значений деформации 60%. Модель МР показывает хорошую корреляцию при аппроксимации экспериментальных данных сжатия коркового вещества почки и паренхимы печени (коэффициенты детерминации 0,92 и 0,94, соответственно) [83].

Таким образом, все рассмотренные модели могут быть использованы для описания механического поведения, как биологических тканей, так и полимерных систем. Но в то же время, подавляющее большинство исследований, как будет показано далее, проведены только для одной

методики измерений и не сравнивают результаты разных методов. Это показывает необходимость разработки комбинированных методик исследований и модельной параметризации данных.

## 1.3 Биоматериалы

Разнообразие биологических структур организма их механического поведения (Таблица 2) обуславливает разработку широкого спектра биоматериалов с различной архитектурой и свойствами для наиболее точного воспроизведения свойств нативных тканей, таких как гидрогели и криогели, высокопористые губчатые и нетканые волокнистые материалы, а также композиты на их основе. Далее рассмотрим наиболее распространенные виды биоматериалов.

### 1.3.1 Гидрогели

Одним из наиболее простых типов материалов, имитирующих естественный внеклеточный матрикс, являются гидрогели. Они представляют собой трехмерные гидрофильные полимерные сетки, способные удерживать большие объемы воды [84] за счет наличия в структуре полимерной цепи гидрофильных групп, таких как  $-\text{COOH}$ ,  $-\text{SO}_3\text{H}$ ,  $-\text{NH}_2$ , и  $-\text{OH}$ . Молекулы воды в гидрогеле могут быть как связаны с сеткой, так и свободно перемещаться внутри нее.

Гидрогели можно классифицировать по разным параметрам: процессу полимеризации, ионному заряду, физическим свойствам, сшивателям, полимерам и стимулам, к которым гидрогель восприимчив [40]. По способу

формирования сетки гидрогели можно разделить на физические и химические.

Химические гидрогели образуются при возникновении ковалентных связей между полимерными цепями. Такие сетки формируются при полимеризации мономера в присутствии сшивателя или сшивании водорастворимого полимера. В сшитом состоянии химически сшитые гидрогели достигают равновесной степени набухания в водных растворах. Ее величина определяется плотностью сшивки полимерных цепей в сетке [85].

В физических гидрогелях полимерные цепи удерживаются вместе за счет молекулярных зацеплений и/или сил межмолекулярного взаимодействия, таких как ионные, водородные или гидрофобные взаимодействия. Как правило, физические гидрогели характеризуются высокой гетерогенностью, поскольку различные межмолекулярные взаимодействия вызывают образование неоднородностей [86].

Способ формирования полимерной сетки, а именно тип и характеристика сшивки, влияют на ее физические свойства [87], такие как:

- Упругость

Упругость полимерной сетки основывается на ограниченной плотности сшивок. По мере увеличения количества связей между цепями сетка становится более жесткой и может охрупчиваться.

- Вязкость;

Сшивка цепей препятствует вязкому течению материала, что может вызывать снижение ползучести.

- Температура стеклования ( $T_c$ );

Сшивка изменяет локальную упаковку молекул, что приводит к уменьшению свободного объема и увеличению  $T_c$ .

- Температура плавления ( $T_{пл}$ )

Для кристаллических полимеров с низкой степенью сшивки наблюдается снижение степени кристалличности, поскольку сшивка



препятствует ориентации цепи, что приводит к получению более мягких и упругих полимеров со сниженной температурой плавления.

Прямое изучение структуры гидрогелей бывает затруднено, поскольку требует полной дегидратации образца, которая приводит её изменению [39].

Наличие воды в геле способствует его биосовместимости [88], благодаря чему гидрогели находят широкое применение в биомедицине. Динамика водопоглощения, поведение гидрогеля после достижения равновесного и распределение молекул воды в гидрогеле обуславливают проникновение питательных веществ внутрь и вывод клеточных продуктов из гидрогеля [88,89], а также определяют его механическое поведение [90].

В начале набухания сухого гидрогеля происходит «первичное связывание воды», в процессе которого гидратируются наиболее гидрофильные группы. По мере гидратации полярных групп начинается взаимодействие гидрофобных групп с молекулами воды с образованием гидрофобно-связанной или «вторично-связанной» воды. После завершения процессов связывания воды (первичного и вторичного) набухающая полимерная сетка продолжает поглощать воду из-за осмотических сил (в направлении бесконечного разбавления). Этому дополнительному набуханию противодействуют химические и физические сшивки, что приводит к возникновению в сетке восстанавливающих упругих сил. Таким образом, гидрогель достигает равновесной степени набухания. Дополнительный объем воды, поглощаемый после насыщения ионных, полярных и гидрофобных групп связанной водой, называется «свободной водой» или «объемной водой», и предполагается, что он заполняет пространство между полимерными цепочками, более крупные поры, макропоры или пустоты. По мере набухания сетки, если цепочки или сшивки способны разлагаться, гидрогель начнет распадаться и растворяться со скоростью, определяемой его составом [88].

Кинетика набухания гидрогеля зависит от многих факторов среды, в которой происходит этот процесс: природы, состава и ионной силы

растворителя, его рН и температуры, а также присутствия растворенных солей. Такие условия синтеза, как химическая природа компонентов (мономера, сшивателя, инициаторов и катализатора) и растворителя, их пропорция и концентрация, рН и температура могут влиять на равновесную степень набухания гидрогеля [90].

Одна из первых теорий, описывающих поведение полимерной сетки в среде растворителя, была предложена Флори и Ренером в 1943 году [91]. Она до сих пор широко используется для оценки молекулярной массы субцепей между сшивками в полимерных сетках:

$$\frac{1}{\overline{M}_c} = \frac{2}{\overline{M}_n} - \frac{\ln(1 - \varphi_s) + \varphi_s + \chi\varphi_s^2}{V_1\rho_d \left[ \varphi_s^{\frac{1}{3}} - \frac{\varphi_s}{2} \right]}, \quad (17)$$

где  $\overline{M}_c$  – средне-весовая молекулярная масса между сшивками,  $\overline{M}_n$  – среднечисловая молекулярная масса полимерных цепей до сшивки,  $\varphi_s$  – объемная доля полимера в равновесно набухом гидрогеле,  $\chi$  – параметр взаимодействия полимер-растворитель Флори-Хаггинса,  $V_1$  – молярный объем растворителя,  $\rho_d$  – плотность сухой полимерной сетки [92].

Другое соотношение позволяет оценить молекулярную массу субцепей, используя результаты механических испытаний гидрогелевых материалов [93]:

$$\frac{\sigma}{(\lambda - 1/\lambda^2)} = RT \frac{C_{2,r}}{M_c} \left( 1 - \frac{2M_c}{\overline{M}_n} \right) Q^{\frac{1}{3}}, \quad (18)$$

где  $\sigma$  – напряжение при растяжении,  $\lambda$  – удлинение,  $R$  – универсальная газовая постоянная,  $T$  – температура,  $C_{2,r}$  – массовая концентрация полимера, г/см<sup>3</sup>,  $M_c$  – средне-весовая молекулярная масса между сшивками,  $\overline{M}_n$  – среднечисловая молекулярная масса полимерных цепей до сшивки,  $Q$  – объемный коэффициент набухания.

Большое число литературных обзоров ежегодно посвящено рассмотрению различных аспектов использования гидрогелей в тканевой

инженерии [94-97]. Чаще всего гидрогели служат скаффолдами для создания искусственных тканей как *in vitro*, так и *in vivo*.

Гидрогели для тканевой инженерии получают из большого числа различных полимеров природного и синтетического происхождения, а также их комбинаций. Природные полимеры, такие как коллаген, хитозан, альгинат натрия, гиалуроновая кислота, имеют значительное преимущество, поскольку представляют собой соединения ВКМ или близкие по строению материалы.

Так, биodeградируемые гидрогели на основе хитозана, желатина и гиалуроновой кислоты показали хорошую биосовместимость при взаимодействии с множеством различных видов клеток: фибробластами, хондроцитами, остеобластами, кераноцитами, стволовыми, эндотелиальными и шванновскими клетками, стимулируя их адгезию и пролиферацию на материале, а также дифференцировку в случае стволовых клеток [94,96]. Морфология и механические свойства хитозановых гидрогелей могут быть адаптированы под требования к матриксу восстанавливаемой ткани, например, хряща или сосуда [98,99].

Исследования демонстрируют, что гидрогели на основе коллагена и гиалуроновой кислоты способствуют ускоренному заживлению дефектов костей носовой полости и черепа у крыс [100].

При регенерации кожи гидрогели могут иметь дополнительное преимущество за счет создания дополнительной влажной среды, способствующей заживлению ран, газообмену и менее травматичной аппликации. Например, гидрогели на основе альгината натрия и хитозана с добавлением наночастиц оксида цинка показали гемостатическую и антимикробную активность против различных бактериальных штаммов [95].

Однако использование гидрогелей на основе природных полимеров ограничивают низкая механическая прочность и химическая стабильность, а также их быстрая деградация [40]. В некоторых областях наблюдается тенденция к замещению природных гидрогелей синтетическими, поскольку

они обладают более долгим сроком службы, лучшей способностью к водопоглощению и большей прочностью [84]. Также, синтетические гидрогели снижают риск иммунного ответа. Примеры синтетических полимеров, используемых для получения гидрогелей – поливинилпирролидон, полиэтиленгликоль, поливиниловый спирт, полиакриламид, поливинилхлорид и другие [40,101].

Часто синтетические гидрогели по своей природе биоинертны, что делает их перспективными для создания долгосрочных имплантатов. В случаях, предусматривающих клеточные взаимодействия биоинертного синтетического гидрогеля, в его состав или на поверхность вводятся природные полимеры или другие модифицирующие биоактивные вещества, например, факторы роста [102]. Благодаря регулированию скорости биоразложения и механического поведения синтетических гидрогелей в широких пределах становится возможным тонко регулировать поведение скаффолда. Например, с помощью изучения влияния химической и физической модификации гидрогелей на основе полиэтиленгликоля можно подобрать материал с оптимальным временем биодegradации и степенью интеграции в окружающие имплантат ткани [100].

### **Гидрогели как модельные системы для исследования взаимодействия клеток и ВКМ**

Помимо тканевой инженерии гидрогели используют в качестве деформируемых субстратов в механических и механобиологических исследованиях клеток для оценки роли механических свойств внеклеточного матрикса в судьбе клеток. Также, гидрогели применяют в тракционной силовой микроскопии для количественной оценки значений клеточных сил путем измерения вызванных клетками деформаций гидрогелевых субстратов [103].

Известно, что механическое поведение матрикса играет важную роль в клеточной адгезии, пролиферации и дифференцировке [89]. В работе [104]

показано, что в зависимости от жесткости клеточного каркаса одинаковые мезенхимальные стволовые клетки могут дифференцироваться в ткани с совершенно различными механическими характеристиками: жировую, костную или мышечную.

Гидрогели проявляют вязкоупругие свойства. Их упругость определяется относительно жесткой химической полимерной сеткой, образованной ковалентными связями; вязкая составляющая возникает в результате слабых физических взаимодействий между молекулами воды и длинными полимерными цепями [105].

Поскольку значительную часть гидрогелевых материалов составляет вода, то гидрогели демонстрируют относительно низкую механическую прочность по сравнению с традиционными конструкционными материалами. Гидрогели имеют относительно небольшие значения модуля упругости и не проявляют поведения ни чисто твердого, ни чисто жидкого вещества [39,106,107]. Механические свойства гидрогелей демонстрируют зависимость от времени, что связано как с собственной вязкоупругостью полимеров, так и с происходящими процессами течения жидкости [108-110].

Подобная комбинация вязкоупругих свойств наблюдается и в биологических тканях: жесткая сетка выполняет каркасную функцию, в то время как жидкая составляющая обеспечивает транспорт питательных веществ и отвод продуктов жизнедеятельности клеток [105]. Недавние исследования [108] говорят о том, что на клеточные процессы, происходящие на матриксе, оказывают влияние не только упругие свойства скаффолда, но и его вязкоупругость.

Таким образом, гидрогели являются перспективным биоматериалом для использования в качестве модельной системы при изучении взаимодействия клеток и внеклеточного матрикса.

В этом случае требуются подробные знания о механическом поведении гидрогеля в различных условиях. Оценка механических параметров, в целом, является базовым элементом процесса характеристики любого материала, в

том числе гидрогеля. Чаще всего, для этого используют адекватные применению и наиболее доступные для конкретной научной группы, методы [111]. Как правило, это подразумевает определение одного или нескольких механических параметров [39]. Несмотря на то, что в литературе представлено большое количество работ, посвященных сравнению различных видов механических испытаний, большинство из них рассматривает различающиеся по составу материалы. Например, работа [112] представляет собой анализ литературы, посвященной методам определения трещиностойкости и жесткости для хрящевой ткани и ее гидрогелевых аналогов. При этом сравнительная таблица содержит результаты испытания биологических и гидрогелевых образцов разного состава.

Лишь в небольшой части работ механическое поведение материала описывается с применением нескольких независимых методов испытаний. В работе [113] криогели на основе поливинилового спирта характеризовали значениями модуля упругости при сжатии, прочностных характеристик при сжатии, а также значением модуля сдвига. Однако взаимосвязь характеристик, полученных в различных типах испытаний обсуждали только для двух методов определения прочности при сжатии.

Авторы работы [114] подробно обсуждают механическое поведение гидрогелей на основе желатина при различных типах нагружения: растяжении, сжатии и сдвиге, и проводят сравнение упругих параметров гидрогелей, полученных в этих испытаниях. Акцент в исследовании сделан на изучении влияния скорости испытаний на механические характеристики желатиновых гидрогелей.

Анализ литературы показал, что лишь три работы смещают фокус исследования на прямое сравнение различных методов испытаний. Две из них [115,116] посвящены верификации альтернативного метода определения модуля упругости – микропипеточной аспирации. Целью третьей работы [117] является непосредственное сравнение значений модуля упругости гидрогелей на основе поливинилового спирта, получаемых при растяжении,

сжатию, нано- и макроиндентированию, а также в ходе реологических исследований.

Таким образом, наблюдается недостаток работ, посвященных сравнению результатов и верификации различных методов испытаний гидрогелей.

Обычно в качестве модельного объекта при изучении каких-либо свойств и закономерностей исследователи выбирают наиболее простые, охарактеризованные и воспроизводимые системы. В области изучения полимерных гидрогелей таким материалом нередко выступают полиакриламидные гидрогели [118,119].

### **Гидрогели на основе полиакриламида**

Необходимо отметить, что именно гидрогели на основе полиакриламида использовали при изучении механического отклика во взаимодействии между культурами клеток и субстратом. Такой выбор субстрата определяется механическими, химическими и оптическими свойствами полиакриламидных гидрогелей. Они оптически прозрачны при невысоких степенях сшивки, что позволяет проводить микроскопическую визуализацию клеточных процессов. Существует возможность химически модифицировать поверхность субстрата, ковалентно пришивая к ней белки, и таким образом варьировать адгезионные свойства поверхности. Полиакриламидные гидрогели имеют большую область линейной деформации при значительных диапазонах напряжений. Наконец, механические свойства гидрогелей можно легко варьировать, изменяя количество сшивающего агента в прекурсорной смеси [120-123]. Далее рассмотрим известные физико-химические и механические свойства полиакриламидных гидрогелей.

Методики синтеза описаны в разделе 1.1.2. Свойства получаемого полиакриламидного гидрогеля сильно зависят как от общей концентрации полимера в геле (%T), так и от концентрации сшивающего агента (%C). Так,

оба параметра влияют на размер пор получаемого гидрогеля. Если %Т фиксирована, то длина эластически активной субцепи уменьшается при увеличении %С. При превышении критического значения %С в гидрогеле начинают возникать макропористые структуры из-за агломерации полимерных цепей. При фиксированной концентрации сшивателя, %С, размер ячейки уменьшается при росте значения %Т [39].

На Рисунке 7 представлены литературные данные о модуле упругости гидрогелей различного состава, широко покрывающие диапазон значений общей концентрации полимера в геле (%Т, Рисунок 7а) и концентрации сшивателя (%С, Рисунок 7б). Наблюдается типичный характер зависимости модуля упругости от концентрации полимера и сшивателя в геле: с ростом %Т и %С значения упругих параметров гидрогеля увеличиваются.

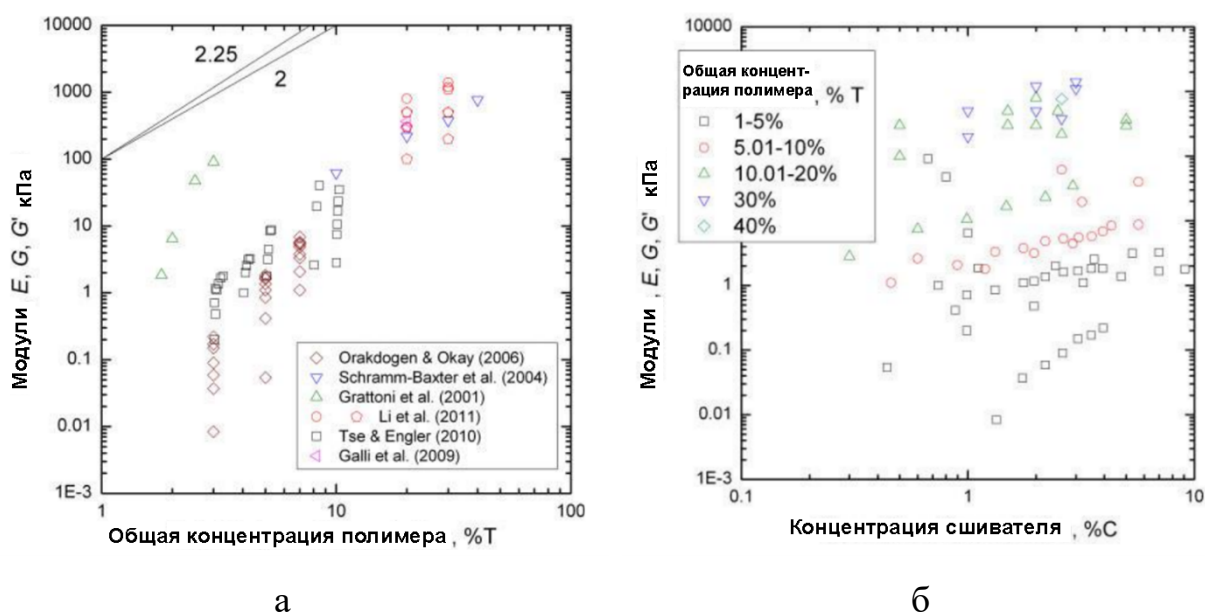


Рисунок 7 – Механические характеристики гидрогелей на основе полиакриламида в зависимости от общей концентрации полимера (а) и от концентрации сшивателя (б) на основе литературных данных [40]

Инициатор и катализатор также влияют на свойства получаемого гидрогеля. Если концентрации инициатора и катализатора высокие, то полимерные цепи будут короткими, эластичность гидрогеля снизится, как и его оптическая прозрачность. При слишком высокой концентрации



инициатора, прекурсор останется в форме раствора. Низкая концентрация инициатора в прекурсоре, наоборот, способствует увеличению длины полимерных цепочек в гидрогеле и его эластичности, что приводит к высокой пористости и низкой механической прочности. Согласно литературным данным оптимальная концентрация инициатора лежит в диапазоне 1-10 мМ [40].

Набухание гидрогеля на основе полиакриламида обусловлено расталкиванием зарядов функциональных групп полимера. Количество добавляемого сшивателя влияет на коэффициент равновесного набухания гидрогеля: чем ниже степень сшивки материала, тем меньше он набухает [124].

Помимо применения в качестве субстрата для изучения клеточных процессов, полиакриламидные гидрогели используют для создания тканеимитирующих фантов мягких биологических тканей. Тканеимитирующие фантомы – это медицинские изделия, воспроизводящие заданные свойства ткани. Их используют для калибровки медицинской техники, обучения медицинского персонала и при планировании операций. В работах [125,126] исследовали применимость полиакриламидных гидрогелей в качестве фантомов молочных желез и простаты.

### **1.3.2 Композитные материалы на основе гидрогелей**

Из-за присутствия большого количества молекул растворителя в структуре даже синтетические гидрогели обладают относительно низкой механической прочностью. Хотя механические свойства гидрогелей можно контролировать с помощью плотности и химического состава полимера и/или сшивки, сильно сшитые гидрогели могут ограничивать пролиферацию, миграцию и морфогенез клеток [127]. Альтернативным способом улучшения

механических характеристик является внедрение упрочняющих компонентов и формирование композитных материалов [128]. Помимо изменения механического поведения гидрогелей наполнители оказывают существенное влияние на взаимодействие материала с клетками: улучшают пролиферацию и дифференцировку клеток, стимулируют их миграцию и выживаемость [127].

Наиболее популярными наполнителями являются неорганические [129] и органические нано- и микрогазмерные волокна и частицы различной природы [130,131]: нанолипосомы, дендримеры, полимерные мицеллы, наногели, нанокристаллы целлюлозы, углеродные нанотрубки, микроносители [131-133]. Уточним, что под микроносителями понимается класс сферических частиц с размерами от единиц до сотен микрометров с биофункциональной активностью для культивации, размножения и доставки клеточных культур [134]. Однако не все используемые наполнители обладают достаточной биосовместимостью и контролируемым биоразложением [135]. Рассмотрим подробнее органические типы наполнителей.

Широкое применение в области биомедицины находят композиционные материалы на основе гидрогелей, наполненных нанокристаллами целлюлозы. Ее добавление приводит к упрочнению материала и увеличению его диэлектрических и электромеханических свойств, что позволяет использовать их в качестве электроактивных материалов [133].

Различные виды углеродных нанотрубок используют для наполнения гидрогелей, чтобы увеличить механические характеристики композиционного материала и обеспечить его проводящие свойства [127].

Другим популярным наполнителем является графен или оксид графена. В работе [136] исследовали изменение физико-химических и механических свойств гидрогелей на основе полиакриламида при добавлении различного количества оксида графена. Так, композит с содержанием наполнителя 1%

обладает прочностью, превышающей 1 МПа, и разрушается при деформации 96%, тогда как аналогичные характеристики ненаполненного полиакриламидного гидрогеля составляют 0,17 МПа и 10%.

В статье [135] авторы проводили сравнение механического поведения гидрогелей и композитов на основе полиакриламида при сжатии. Добавление 1,5 масс.% хитозановых нановолокон в композит приводит к 7-кратному увеличению модуля упругости по сравнению с ненаполненным гелем. В работе [137] показано, что хитиновые вискеры оказывают влияние на механический отклик композита на основе полиакриламида, увеличивая его модули упругости при растяжении и сжатии. Наблюдался значительный рост модуля при добавлении до 5 масс.% наполнителя, который затем переходит в плато при увеличении концентрации вплоть до 15 масс.%. Тенденция воспроизводится для испытаний на растяжение и сжатие.

Благодаря простоте синтеза и многофункциональности нано- и микрочастицы, они являются перспективным выбором для тканеинженерных применений. Дополнительными преимуществами использования наночастиц является их высокая удельная площадь поверхности при небольшом объеме, простота доставки, а также возможность воздействовать на отдельные клеточные компоненты, а не на целую клетку или ткань [132].

Наночастицы позволяют контролируемо варьировать свойства гидрогелевого материала, обеспечивая его широкое использование. Усиление механических свойств гидрогеля может происходить за счет наполнителей, формирующих перколяционную сетку и обеспечивающих надежное сцепление между частицами и матрицей [128,138]. Внедрение в структуру гидрогеля полимерных гелевых наночастиц дает возможность получения материалов с увеличенными значениями модуля упругости при сохранении высокой степени набухания [139].

## **Пористые микроносители**

Аналогичный эффект может вызывать добавление микроносителей в гидрогель. Рассмотрим подробнее этот класс частиц [140].

Микроносители – это класс сферических частиц с размерами от единиц до сотен микрометров с биофункциональной активностью для культивации, размножения и доставки клеточных культур [141]. В литературе широко описано применение микроносителей для культивации клеток [134,142], поскольку их использование обладает такими преимуществами, как обеспечение высокой площади поверхности для роста клеток, возможность загрузки большого числа клеток, поддержание фенотипа дифференцировки клеток, а также облегчение регуляции и мониторинга среды культивирования клеток. Кроме того, микроносители можно использовать в инъекционной форме и имплантировать непосредственно в дефектный участок для восстановления тканей. На сегодняшний день разработано множество биоматериалов, включая биоактивные неорганические материалы, природные и синтетические полимеры, а также их композиты, для изготовления микроносителей с использованием различных технологий и методов [143,144].

По типу поверхности микроносители можно разделить на твердые и пористые. При использовании твердых носителей клетки прикрепляются к поверхности частицы и формируют монослой. Это приводит к ограниченному росту клеток. Пористые носители обладают большой площадью поверхности и способны обеспечить адгезию и пролиферацию существенно большего числа клеток за счет большего объема [141,145].

Микроносители могут быть включены в состав гидрогелей, в том числе инъекционных, для формирования композитного материала [146,147]. Добавление микроносителей способствует росту числа выживших клеток после имплантации композита за счет увеличения их адгезии к материалу по сравнению с исходным гидрогелем [148]. В работах [146,147] при культивации эмбриональных остеобластов и мезенхимальных стволовых

клеток человека на желатиновых микроносителях в агарозном гидрогеле показано, что микроносители в композите играют роль «сайтов связывания» клеток и обеспечивают сферическую поверхность контакта между клетками и трехмерной водной структурой гидрогеля. При этом сам гидрогель обеспечивает адекватность макроструктуры и механических свойств композита и формирует подходящую среду в области трансплантации. Введенные в состав гидрогеля и/или микроносителей факторы роста, питательные вещества и лекарства могут выделяться в течение длительного времени с заданной кинетикой [149,140].

Таким образом, композитные гидрогели находят широкое применение в биомедицине за счет улучшенных физико-химических и механических показателей. А системы гидрогель-микроносители являются перспективными для более эффективной и направленной доставки клеточных культур, лекарственных и сопутствующих веществ к месту регенерации.

### **1.3.3 Криогели**

Криогели представляют собой подкласс гидрогелей, получаемых из водных полимерных растворов в процессе последовательных циклов замораживания/оттаивания [150]. Криогели характеризуются большим числом взаимосвязанных пор, эластичной структурой и высокой механической стабильностью [151].

При замораживании полимерного раствора происходит физическое или химическое сшивание полимерных цепей с образованием кристаллов льда, которые выступают в качестве естественных порообразователей. Полимеризация или сшивка происходят в жидкой незамерзшей фазе вокруг кристаллов льда, где сосредоточены мономеры, полимерные цепочки и сшивающие агенты [152]. После завершения криоструктурирования,

оттаивание материала при комнатной температуре вызывает таяние кристаллов льда с сохранением макропористой сетчатой структуры.

Криогели, полученные таким способом эластичные и мягкие, способны выдерживать напряжения, возникающие в процессе инъектирования материала шприцем. Кроме того, криогели способны к быстрому набуханию со значительным увеличением в объеме, что способствует инфильтрации и пролиферации клеток, а также стимулирует ангиогенез [153,154].

Изменяя параметры криоструктурирования можно варьировать физико-химические и механические свойства получаемых материалов. Например, в работе [155] показано, что снижение температуры полимеризации или увеличение скорости охлаждения часто стимулирует зарождение и рост кристаллов. В результате криогели имеют меньший размер пор.

Методика сшивки также является важным параметром, который следует учитывать при изготовлении криогелей. Аналогично поведению традиционных гидрогелей химически сшитые криогели оказываются более прочными и механически стабильными, чем физические. Было показано, что увеличение молекулярной массы и/или концентрации полимера приводит к уменьшению размеров пор и некоторому увеличению механической стабильности криогеля [156].

Таким образом, криогели представляют собой универсальные биоматериалы, которые могут быть адаптированы под предполагаемое применение. Криогели изготавливают из синтетических и/или природных полимеров, а в их полимерные стенки могут быть интегрированы другие материалы (нано- и макрочастицы) для формирования композитных или гибридных криогелей. Криогели могут быть ионными, неионными, амфотерными или цвиттер-ионными. Они могут быть стимул-чувствительными и реагировать на такие внешние стимулы, такие как электрические, магнитные или термические, а также колебания pH [150].

Одним из наиболее популярных полимеров, используемых для изготовления криогелей, является поливиниловый спирт благодаря

химической устойчивости, хорошим механических и адгезионным свойствам, а также способности образовывать физическую сшивку за счет молекулярных запутываний [45,157,158].

Для оптимизации физико-химических и механических свойств криогелей на основе поливинилового спирта в соответствии с требованиями конкретного применения в их состав могут вводиться различные добавки. Так, добавление полисахаридов, таких как хитозан, крахмал, декстран, каррагинаны и др., приводит к росту степени набухания и увеличению гибкости материалов [159].

Среди полисахаридов каррагинаны выделяются своей высокой химической стабильностью и гелеобразующими свойствами [160]. Каррагинаны представляют собой семейство высокомолекулярных сульфатированных полисахаридов, экстрагированных из красных водорослей. Этот линейный полимер состоит из чередующихся звеньев D-галактозы и 3,6-ангидрогалактозы, которые являются как сульфатированными, так и несulfатированными. Субъединицы соединены  $\alpha$ -1-3- и  $\beta$ -1-4-гликозидными связями [161]. Благодаря хорошей биосовместимости и биоадекватным механическим свойствам каррагинаны используются в биотехнологических целях, например, при изготовлении биосенсоров и электродов для имплантируемых биотопливных элементов [162,163].

Известно, что постоянные электрические токи низкой мощности способствуют ускорению клеточных процессов и образованию тканей, особенно для клеток нервной ткани, сердца и скелетных мышц. Таким образом, добавление проводящих наполнителей позволяет создавать материалы с биологическими, электрическими и механическими свойствами, близкими к свойствам нативных тканей [164]. Помимо прочего, включение в состав криогеля проводящих добавок позволяют получать материалы с электропроводящими свойствами и таким образом расширять область применения криоструктурированных гелей [165,166]. Наиболее

популярными являются различные органические и неорганические частицы, в том числе углеродные нанотрубки [167] и графен [168]. Альтернативным широко распространенным способом придания криогелям проводящих свойств является добавление в их состав проводящих полимеров [169]. Популярные сопряженные полимеры, такие как полианилин, полипиррол и политиофен, широко используются в биомедицине, поскольку они демонстрируют высокую электропроводность [170,171]. Среди прочих выделяется производное политиофена, поли(3,4-этилендиокситиофен) (ПЭДОТ), который в комплексе с поли(стиролсульфонатом) (ПСС) обладает множеством полезных свойств, в частности, водорастворимостью, электрохимической и термической стабильностью, а также относительно большой проводимостью до  $900 \text{ См} \cdot \text{см}^{-1}$  [172,173]. Кроме того, ПЭДОТ:ПСС обладает адекватной биосовместимостью, что в сочетании с другими характеристиками определяет его использование в биомедицинских устройствах [174].

### 1.3.4 Губки

Губки представляют собой материалы с высокоразвитой поверхностью, большую часть объема которых занимают воздушные поры. Многие исследователи считают губчатые материалы, получаемые чаще всего методом лиофилизации, подклассом гелей – аэрогелями [175]. Характер распределения пор, их форма, размер и проницаемость оказывают существенное влияние на свойства губчатого материала. Механические свойства губки зависят, как от ее структуры, так и от материала, образующего губку. Наиболее распространенными полимерами являются хитозан, коллаген, полилактид [176].



В литературе представлено большое число обзорных статей, обобщающих работы по применению губчатых материалов на основе полимеров, а также пористых композиционных материалов, в тканевой инженерии [176,177].

Губки способны сорбировать большое количество воды. Например, хитозановая губка может сорбировать воды в 20 раз больше своего веса в сухом состоянии, оставаясь при этом гибкой и целой. Это может осуществляться по двум механизмам: заполнение пор жидкостью или набухание полимерных цепей [178].

В случае трансплантации *in vitro* пористая морфология скаффолда позволяет плотно заселять каркас перед трансплантацией, не препятствует диффузии веществ между трансплантируемыми клетками и окружающими каркас тканями и способствует васкуляризации вновь образующейся ткани [179].

Губки находят широкое применение в разных областях медицины: как гемостатические материалы [180], при лечении ожоговых ран [181,182], хронических язв, пролежней, в стоматологии в качестве зубных наполнителей, барьеров, предотвращающих чрезмерное расширение эндодонтических герметиков [183]. В тканевой инженерии губки используют при восстановлении хрящевых [184] и костных тканей [185], межпозвоночных дисков, кровеносных сосудов, роговицы и кожи [176].

Помимо широкого использования в биомедицине высокопористые материалы могут найти свое применение в качестве сорбентов для иммобилизации микроводорослей [186]. По сравнению с полимерными пленками и гидрогелями, широко представленными в литературе для сорбции водорослей [187,188], губки обладают большей пористостью, что обеспечивает диффузию питательных веществ и повышает эффективность иммобилизации клеток [189,190]. Природным аналогом пористых сорбентов для иммобилизации являются губки из люффы. Однако эксперименты с ними затруднены из-за низкой воспроизводимости результатов, поскольку

структура плодов различается. Также размеры и форма сорбентов ограничены [189].

Использование синтетических полимеров для изготовления сорбентов затрудняет их последующую утилизацию, тогда как отработанные материалы на основе природных полимеров могут быть в дальнейшем использованы в качестве удобрений в сельском хозяйстве [191]. Среди природных полимеров перспективным является хитозан благодаря биосовместимости. Также, хитозан не загрязняет собранную биомассу водорослей, тем самым обуславливая возможность ее дальнейшего использования. Флокуляцию, вызванную хитозаном, до сих пор успешно использовали для сбора как пресноводных, так и морских видов микроводорослей [192]. Сшитые материалы на основе хитозана сохраняют свою целостность в течение длительного времени, что обеспечивает удобство их использования после извлечения из водоема.

Таким образом, возникает биотехнологическое применение высокопористых сшитых материалов на основе хитозана, сорбция микроводорослей, которое является перспективной областью исследований.

### **1.3.5 Нетканые волокнистые материалы**

Нетканые материалы – это материалы, состоящие из волокон или нитей, сформированных в полотно и скрепленных в единое целое без применения методов ткачества [193]. Существует множество различных методов получения нановолокнистых материалов, среди которых одним из наиболее распространенных является метод электроформования (электроспиннинг) [194]. Впервые электроспиннинг был описан в начале прошлого столетия. В 1902 году в США Мортону был выдан патент на получение волокон из раствора в сильном электрическом поле. А в 1938 году

советские ученые И.В. Петрянов-Соколов и Н.Д. Розенблюм в лаборатории аэрозолей Московского Научно-исследовательского физико-химического института им. Л.Я. Карпова под руководством Н.А. Фукса открыли метод электроформования [195].

Схема установки для электроспиннинга приведена на Рисунке 8. В стеклянный дозатор с поршнем помещается раствор полимера (прядельный раствор). К раствору прикладывается напряжение (обычно 10-60 кВ). Таким образом, капилляр выступает одним из электродов. Вторым электродом является заземленный осадительный электрод (коллектор). Коллектор может представлять собой плоскость, вращающийся барабан и т.п. При этом полярность при электроформовании может быть любой. Между электродами создается разность потенциалов, достаточная для преодоления сил поверхностного натяжения в конусе из раствора полимера, образующимся на конце капилляра дозатора (известном как конус Тейлора). Конус Тейлора вытягивается и превращается в цилиндрическую струю под действием электрического поля. Благодаря достаточной проводимости прядельного раствора (0,1-100 мкС/м) на поверхности полимерной струи возникает индуцированный заряд, хотя поток внутри поверхности демонстрирует диэлектрические свойства. Двигаясь от одного электрода ко второму, струя истончается под действием электростатических сил отталкивания зарядов на ее поверхности. Растворитель испаряется из формирующего волокна до его попадания на подложку за счет значительного увеличения поверхности. В конечном волокне сохраняются остатки растворителя (обычно 5-10%). Количество остаточного растворителя зависит от расстояния между электродами, температуры кипения растворителя и давления паров раствора под тягой в межэлектродном пространстве. Готовое волокно послойно покрывает подложку, образуя полотно нетканого материала [196].

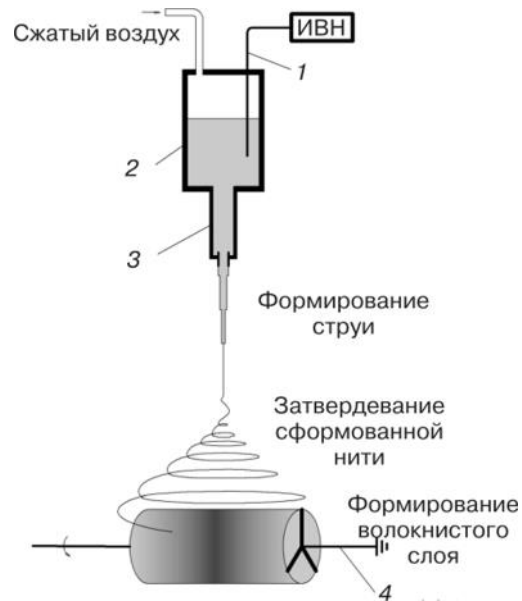


Рисунок 8 – Схема установки для электроформования [197]

На процесс электроформования влияет множество факторов, относящихся как к условиям формования – межэлектродное расстояние, прикладываемое напряжение, так и к свойствам прядильного раствора – вязкость, проводимость. Не любой полимер подходит для формирования волокон. Волокнообразующие полимеры обычно имеют линейное или слаборазветвленное строение [198]. Наиболее распространенными синтетическими волокнообразующими полимерами являются полиэтиленгликоль, поливиниловый спирт, поликапролактон, полигликолид, полилактид и их сополимеры. Среди полимеров природного происхождения можно выделить коллаген, хитозан, альгинат, фиброин. Однако нередко для улучшения волокнообразующих свойств, а также качества получаемого нетканого материала, к прядильным растворам природных полимеров добавляют синтетические [199].

Биомиметичность волокнистых матриц, получаемых методом электроспиннинга, которая выражается в воспроизведении ими механических свойств волокнистых компонентов ВКМ, пористой структуре материала и настройке его биосовместимости и биоразлагаемости посредством подбора полимера, способствует широкому использованию

электроформованных материалов в тканевой инженерии и регенеративной медицине для получения скаффолдов [200,201].

Одним из популярных материалов для изготовления волокнистых скаффолдов является полилактид. Его основным преимуществом по сравнению с другими биосовместимыми синтетическими полимерами является контролируемая биodeградация с образованием нетоксичного вещества – молочной кислоты [55]. Пористость материала может замедлять биодеструкцию полилактида. В работе [202] показано, что непористый образец полилактида с начальной ММ около 425 кДа характеризуется падением ММ в 2 раза на сроке деградации 1 неделя, тогда как пористые образцы, изготовленные из того же полимера, претерпевают снижение ММ на 10%. Далее во всех случаях скорость биodeградации замедляется, и на сроке 8 недель ММ монолитных и пористых образцов составляет около 150 кДа и 250 кДа, соответственно.

Волокнистые матрицы на основе полилактида могут быть использованы в качестве клеточных каркасов при восстановлении различных тканей. Обзор [203] освещает применение таких материалов в регенерации нервных тканей, тканей опорно-двигательного аппарата (костные и мышечные ткани, сухожилия), сердечно-сосудистой системы и кожи. В работе [204] показали, что эмбриональные фибробласты (линия NIH/3T3) успешно прикрепляются и пролиферируют на волокнистых матрицах из полилактида. Аналогичное поведение было продемонстрировано и для амниотических эпителиальных стволовых клеток [205]. В работе [206] исследовали адгезию, пролиферацию и дифференцировку мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани на нетканых матрицах из полилактида с волокнами диаметром 0,8 мкм и 1,8 мкм. Было установлено, больший диаметр волокон способствует как адгезии, так и дифференцировке стволовых клеток в хондроциты. Толщина волокнистого клеточного каркаса также оказывает влияние на его поведение *in vitro* и *in vivo*. Так, матрицы на основе поли-L-лактида толщиной 600 мкм демонстрировали лучшую

пролиферацию мезенхимальных стволовых клеток костного мозга по сравнению с каркасами толщиной 100 мкм. В *in vivo* исследованиях скаффолды 600 мкм характеризовались более выраженной васкуляризацией, а также большими количествами образованных волосяных фолликулов и инфильтрованных в объем образца клеток, по сравнению с 100 мкм материалами [207].

Несмотря на то, что нетканые волокнистые материалы на основе синтетических полимеров, в т.ч. полилактида, широко применяются в тканевой инженерии, демонстрируемых ими свойств бывает недостаточно для адекватного замещения поврежденных тканей. Это связано с высокой гидрофобностью полилактида, его низкой скоростью биodeградации [208, 209].

За десятилетия активного изучения и применения метода электроспиннинга появилось множество модификаций классического метода электроспиннинга (Рисунок 9), позволяющих получать волокнистые материалы с заданными свойствами. Например, с помощью коаксиального или мульти-капиллярного электроспиннинга можно получить многокомпонентные по составу волокна. Существует множество подходов к формированию материалов с ориентированной укладкой волокон вдоль одного или нескольких выделенных направлений. Самыми популярными из них являются установки с вращающимся коллектором и многоколлекторные системы для электроформования "на щель". Сложные иерархические структуры с одним и более компонентом могут быть получены с использованием метода послойного электроспиннинга. Для получения скрученных волокон, имитирующих структуру коллагена или двойной спирали ДНК, используют электроспиннинг с вспомогательными коллекторами и электроформование на жидкость, которое, помимо прочего, позволяет получить материалы с низкой плотностью упаковки [210].



Рисунок 9 – Различные модификации метода электроспиннинга [210]

Такие методы позволяют получать многокомпонентные материалы со сложной архитектурой для более точного воспроизведения структуры и свойств нативного матрикса.

Альтернативным подходом к получению многокомпонентных систем является изготовление композиционных материалов путем модификации исходной волокнистой матрицы.

### 1.3.6 Композиционные материалы на основе волокон

Для функционализации полимерных волокон в структуру волокнистого полотна вводят различные добавки, получая материалы с индивидуальными или новыми свойствами, которыми не обладал исходный материал [211].

В некоторых областях биомедицины и биотехнологии широко используются композиционные волокнистые материалы на основе

природных и синтетических полимеров. Такие композиты сохраняют прочность и гибкость нетканого материала и могут быть использованы для изготовления перевязочных средств и скаффолдов для тканевой инженерии [212,213].

Одним из перспективных подходов к созданию композиционных материалов является создание дополнительной трехмерной структуры на волокнистом каркасе за счет формирования гидрогелевой или губчатой компоненты. Такая структура оказывается приближена к архитектуре естественного внеклеточного матрикса [7].

В обзоре литературы [214] проведена систематизация работ, посвященных исследованию свойств композиционных материалов на основе волокон, модифицированных гидрогелем. Например, в работе [215] нановолокнистый материал на основе полилактида наполняли гиалуроновой или аскорбиновой кислотой с добавлением лекарственного средства – валсартан. В экспериментах по заживлению ран крыс-диабетиков было показано, что композиты с гиалуроновой кислотой приводят к более высокой реэпитализации повреждения, до 87%.

Для регенерации сухожилий был предложен композит на основе скрученных волокон полилактида, модифицированный лиофилизированным хитозановым гидрогелем. Сундарам и др. [216] показали, что разработанная конструкция обеспечивает прикрепление клеток и пролиферацию теноцитов, а также предположили, что использование волокнистой матрицы, как внешнего слоя имплантата, будет способствовать замедлению перисухожильной адгезии, поскольку волокна ПЛА характеризуются сниженной адсорбцией белка. Аналогичный эффект был достигнут при покрытии композита на основе полилактидных волокон, модифицированных лиофилизированной смесью коллагена и хитозана, гидрогелем на основе альгината натрия [217].

В работе [218] исследовали влияние хитозанового покрытия на минерализацию полилактидных волокон гидроксиапатитом для регенерации



костной ткани. Установлено, что добавление хитозана приводит к усилению нуклеации и образованию большего количества фосфата кальция.

Можно сделать вывод, что модификация полилактидных волокон гидрогелями на основе природных полимеров, таких как коллаген, хитозан, гиалуроновая кислота и др. приводит к гидрофилизации поверхности и приближает морфологию скаффолда к архитектуре природного ВКМ, что обеспечивает улучшенную пролиферацию клеток и их повышенную адгезию [219-221]. Сочетания компонентов с различными структурами позволяет получать прототипы сложных биологических тканей и их комбинаций.

Таким образом, разработка губчато-волоконистых композитов является перспективной областью исследований для получения скаффолдов в области регенеративной медицины.

\*\*\*

В настоящем обзоре литературы подробно рассмотрены биоматериалы на основе природных и синтетических полимеров, используемые в тканевой инженерии для изготовления искусственных внеклеточных матриц. Основным требованием, предъявляемым к таким материалам, является биосовместимость. Но, как видно из литературных источников, большую роль в процессах регенерации играет морфология и механическое поведение искусственного клеточного каркаса.

Нативный ВКМ обладает пористой структурой, сформированной волокнами фибронектина, коллагена и эластина и заполненной гидрогелем на основе глюкозаминогликанов. Наиболее точно такую структуру воспроизводят композиционные материалы, сочетающие в себе волокнистые и гидрогелевые/губчатые составляющие. Помимо воспроизведения морфологии нативного матрикса, модификация волокнистых материалов природными полимерами может влиять на физико-химические свойства композита, такие как смачиваемость и биосовместимость.

Механическое поведение клеточного каркаса значительно влияет на процессы регенерации: адгезию, пролиферацию и дифференцировку клеток, а также на поведение восстанавливаемой ткани при физиологических нагрузках. При исследовании механических свойств как биологических тканей, так и их искусственных аналогов возникают осложнения, связанные с методиками проведения механических испытаний с использованием стандартных испытательных машин. Также, в литературе практически отсутствуют данные о сравнительном анализе результатов механических испытаний в условиях различных видов нагружения.

В связи с этим возникают следующие исследовательские задачи:

1. Разработка методик определения механических свойств гидрогелевых материалов в условиях различных видов нагружения и расчетно-экспериментальная верификация разработанной методики определения механических свойств с применением численных методов;
2. Оценка применимости модельных подходов для описания деформационного поведения гидрогелевых и композиционных материалов;
3. Отработка методов биофункционализации и регулирования морфологии волокнистых материалов.

## ГЛАВА 2 ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

### 2.1 Материалы и реактивы

Для синтеза гидрогелей на основе полиакриламида использовали следующие реактивы: мономер – акриламид (Acros Organics, Бельгия), сшиватель – N,N'-метилден-бисакриламид (Sigma-Aldrich, США), инициатор – персульфат аммония (Acros Organics, Бельгия), катализатор – N,N,N',N'-тетраметилэтилендиамин (Sigma Aldrich, США).

Криогели получали из поливинилового спирта (Авилон-Компани Хим, Россия,  $M_w = 122000$  г/моль) и йота-каррагинана (Special Ingredients, Великобритания) с добавлением проводящего полимера ПЭДОТ:ПСС (1,3 масс.%, дисперсия в H<sub>2</sub>O, Sigma-Aldrich, США).

Для изготовления нетканых волокнистых материалов готовили полимерные растворы на основе хлорированного поливинилхлорида (перхлорвинила, ПХВ) и поли-L-лактида (ПЛЛА, 4032D, Corbion, Lenexa, KS, США).

В работе использовали природные полимеры: хитозан (Primex ChitoClear HGQ 1600 ( $M_w = 600$  кДа, DD ~ 60%) и ChitoClear HQG 80 ( $M_w = 80$  кДа, DD ~ 70%), Исландия) и коллаген (Белкозин, Россия). Растворители: дихлорэтан (ООО «Компонент-реактив», Россия), хлороформ (ООО «Компонент-реактив», Россия), этиловый спирт (ООО «Компонент-реактив», Россия), уксусная кислота (ООО «Компонент-реактив», Россия), 1,4-диоксан (ООО «Компонент-реактив», Россия), би-дистиллированную воду получали на установке Millipore Milli-Q (Merck, Германия).

Технологическая добавка – йодид тетрабутиламмония (Sigma Aldrich, США).

## 2.2 Методики синтеза гидрогелей и получения материалов

### Гидрогели на основе полиакриламида

Гидрогели на основе полиакриламида получали методом свободнорадикальной полимеризации. Для получения реакционной смеси в водный раствор акриламида с концентрацией 20 % добавляли сшивающий агент – N,N'-метилден-бисакриламид. Количество БИС варьировали в широком диапазоне значений из расчета 1 молекула сшивателя на 200, 150, 100, 50 или 20 мономеров, что соответствует концентрации сшивателя 1,0, 1,5, 2,0, 4,0 или 9,0 масс.%, соответственно. Для инициирования радикальной полимеризации добавляли персульфат аммония. Реакцию катализировали добавлением N,N,N',N'-тетраметилэтилендиамин.

Для разных типов механических испытаний получали образцы с разной геометрией. В Таблице 3 приведены характерные размеры всех образцов.

Таблица 3 – Размеры образцов для разных типов испытаний

Тип испытания	Форма образца	Размеры рабочей части, мм
Растяжение	Лопатка	10 × 20 × 3
Сжатие	Цилиндр	d = 16; h = 24
Кручение	Цилиндр	d = 30; h = 50
Индентирование	Цилиндр	d = 50; h = 30

Для получения образцов на растяжение использовали форму с отверстиями в виде лопаток, изготовленную с применением 3D-печати на принтере Zortrax M200 (Zortrax, Польша) из ABS-пластика. Реакцию полимеризации осуществляли в отверстиях формы между стеклянными пластинами. Полимеризацию смеси с целью получения цилиндрических образцов проводили в трубках различного диаметра d и высоты h из органического стекла со съёмными крышками (Рисунок 10). Образцы для испытаний на индентирование готовили в цилиндрических плоскодонных

формах, изготовленных на 3D-принтере Zortrax M200 (Zortrax, Польша) из ABS-пластика.

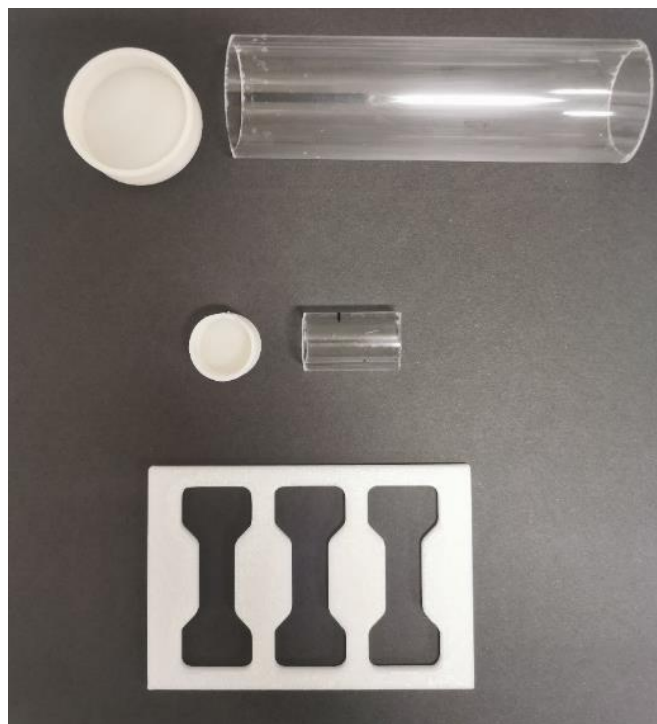


Рисунок 10 – Формы для синтеза образцов

Вне зависимости от геометрии образцы помещали в дистиллированную воду на 7 суток для удаления непрореагировавших компонентов и достижения ими равновесной степени набухания.

Необходимо отметить, что гидрогели со сшивкой от 1 % до 4 % оптически прозрачны. Однако повышение концентрации сшивающего агента до 9 % приводит к потере прозрачности, что может быть вызвано формированием макроструктур из-за агломерации полимерных цепей [39].

#### **Гидрогели на основе полиакриламида, наполненные полилактидными микрочастицами**

Пористые частицы получены по методике, разработанной в лаборатории полимерных материалов НИЦ «Курчатовский институт». Для изготовления пористых частиц 2 масс.% раствор полилактида в 1,4-диоксане распыляли в жидкий азот, а затем образцы лиофилизировали с

использованием сублимационной сушилки Martin Christ ALPHA 2-4LSC (Martin Christ, Германия) [140].

Композиционные гидрогели на основе полиакриламида получали методом свободнорадикальной полимеризации по описанной выше методике. К реакционной смеси добавляли 0,5 или 1,0 масс.% полилактидных пористых микрочастиц. Поскольку полилактид проявляет гидрофобные свойства, то для равномерного распределения наполнителя создавали пониженное давление в сосуде с реакционной смесью. Количество сшивателя варьировали в диапазоне от 1 до 2 масс.%.

### **Проводящие криогели**

Криогели получали по методике, описанной ранее [222]. На первом этапе готовили два отдельных водных раствора йота-каррагинана и ПВС с концентрацией 1,3 масс.% при температуре 70 °С. Затем равные количества полученных растворов смешивали с удвоенным количеством водной суспензии ПЭДОТ:ПСС. На следующем этапе полученную смесь перемешивали на магнитной мешалке при скорости 500–550 об/мин и температуре 70 °С в течение 3 часов. После охлаждения реакционной колбы до комнатной температуры смесь подвергали четырем последовательным циклам замораживания/оттаивания. При замораживании образец выдерживали при температуре -12 °С, а при оттаивании – при комнатной температуре. Один цикл замораживания/оттаивания длился 24 часа. На последнем этапе полученные образцы сушили при 40 °С до постоянной массы.

### **Электроформование полимерных растворов**

Для получения нетканых волокнистых материалов использовали стационарную капиллярную лабораторную установку с геометрией капилляр–барабан. Управление подачей высокого напряжения осуществляли, используя установку Spellman SL130-PN30 (Spellman, США). Компрессор (Remeza GMS 150, Беларусь) регулировал расход раствора полимера на

капилляр. Технические характеристики процесса электроформования для нетканых волокнистых материалов на основе ПХВ и ПЛЛА приведены в Таблице 4.

Концентрация прядильного раствора на основе ПХВ составляла 14 масс.%. В качестве растворителя использовали дихлорэтан с технологической добавкой – йодидом тетрабутиламмония.

Для получения нетканых волокнистых материалов на основе ПЛЛА готовили 9 масс.% раствор поли-L-лактида в хлороформе с добавлением 10 % этилового спирта.

Таблица 4 – Технические параметры электроформования нетканых волокнистых материалов

Параметр/полимер	ПЛЛА	ПХВ
Напряжение между электродами, кВ	14,0–15,9	79–80
Производительность, см <sup>3</sup> /ч	5	90
Расстояние между электродами, см	25	15, 20 или 25*
Осадительный электрод	барабан диаметром 12,5 см, скорость вращения – 40 об/мин	барабан

\*Межэлектродное расстояние варьировали для получения материалов с разной плотностью упаковки  $\beta$ : 4, 7 и 11 %, соответственно.

Готовые материалы помещали в вакуумный шкаф на 24 часа при комнатной температуре для удаления остатков растворителя. Полученные нетканые волокнистые материалы характеризовали толщиной слоя; распределением волокон по размерам и плотностью упаковки.

Толщину материала  $t$  измеряли микрометром. Распределение волокон по размерам было получено с помощью оптического микроскопа Axio и программы Imager.M2m (Carl Zeiss, Германия). В Таблице 5 приведены характеристики нетканых волокнистых материалов на основе ПХВ и ПЛЛА.

Таблица 5 – Характеристики нетканых волокнистых материалов на основе ПХВ и ПЛЛА

Образец	$d_{\text{ср}}$ , мкм	$d_{\text{мин}}$ , мкм	$d_{\text{макс}}$ , мкм	$\beta$ , %	$t$ , мм
ПХВ 4	4,8	2,5	9,1	4	0,62
ПХВ 7	5,5	2,7	10,4	7	0,45
ПХВ 11	5,9	2,3	9,5	11	0,45
ПЛЛА	6,7	2,0	12,0	9	0,41

$d_{\text{ср}}$  – средний,  $d_{\text{мин}}$  – минимальный,  $d_{\text{макс}}$  – максимальный диаметры волокон

### **Модификация нетканых волокнистых материалов природными полимерами**

Полученные нетканые волокнистые материалы биофункционализировали с использованием природных полимеров – коллагена и хитозана для улучшения биосовместимости, а также гидрофилизации поверхности.

Для этого готовили растворы коллагена и хитозана с концентрациями 0,1, 0,5 и 1,0 масс.% в 2 масс.% водном растворе УК. Нетканые волокнистые материалы на основе ПХВ модифицировали только хитозаном, тогда как для функционализации ПЛЛА использовали оба полимера. Образцы материалов помещали в растворы природных полимеров на 24 часа. После удаления избытка раствора с использованием фильтровальной бумаги образцы замораживали в морозильной камере. Затем образцы лиофилизировали в течение 48 часов на установке Martin Christ Alpha 2-4LSC (Martin Christ, Германия) с уровнем вакуума до 0,250 мбар. Перед извлечением образцы выдерживали в режиме финальной сушки с глубиной вакуума до 0,010 мбар в течение 2 часов.



## 2.3 Методы исследования

### 2.3.1 Механические исследования гидрогелей и композитов на их основе

#### Одноосное растяжение гидрогелей и композитов на основе полиакриламида

Испытания образцов в форме лопаток на одноосное растяжение проводили на универсальной испытательной машине Instron 5965 (Illinois Tool Works Inc, США) с постоянной скоростью 1 мм/мин при комнатной температуре. Для исключения избыточного давления и проскальзывания для каждой серии образцов использовали специально разработанную и изготовленную на 3D-принтере Zortrax M200 (Zortrax, Польша) из ABS-пластика оснастку (Рисунок 11а). Число испытанных образцов для каждой серии составило от 5 до 10 для обеспечения максимальной воспроизводимости результатов.

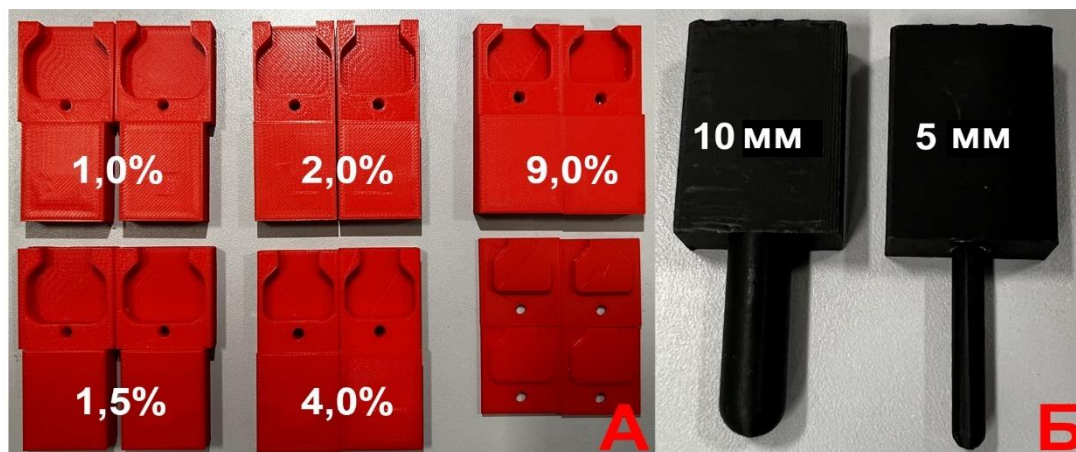


Рисунок 11 – Оснастка для испытания гидрогелей на одноосное растяжение (а); инденторы для испытаний на индентирование (б)

## **Одноосное сжатие гидрогелей и композитов на основе полиакриламида**

Испытания образцов в виде цилиндров на одноосное сжатие проводили на универсальной испытательной машине Instron (Illinois Tool Works Inc, США) с постоянной скоростью 1 мм/мин при комнатной температуре. Для уменьшения трения между контактными поверхностями образцов и плит испытательной машины использовали силиконовую смазку. Число испытанных образцов для каждой серии составило от 5 до 10 для обеспечения максимальной воспроизводимости результатов.

## **Индентирование гидрогелей на основе полиакриламида**

Индентирование цилиндрических образцов с номинальными (до набухания) диаметром 50 мм и высотой 30 мм проводили двумя сферическими инденторами диаметрами 5 и 10 мм, изготовленными на 3D-принтере Zortrax M200 (Zortrax, Польша) из ABS-пластика (Рисунок 11б). Испытания проводили на универсальной испытательной машине Instron (Illinois Tool Works Inc, США) с постоянной скоростью 1 мм/мин при комнатной температуре. Глубину вдавливания выбирали равной радиусу используемого в эксперименте индентора. Габаритные размеры образцов выбраны так, чтобы исключить влияние толщины и краевых эффектов на результаты при теоретической оценке параметров упругости, полученных в экспериментах на одноосное растяжение и кручение.

## **Определение коэффициента Пуассона гидрогелей на основе полиакриламида**

Для определения коэффициента Пуассона  $\nu$  использовали метод цифровой корреляции изображений (Digital Image Correlation). На поверхность рабочей части лопаток наносили растр (черная матовая эмалевая краска) и получали набор изображений с разрешением (4032×3024) в области линейной зависимости напряжений и деформаций с постоянным шагом по времени, равным 0,5 с, в испытаниях на одноосное растяжение. Для

построения полей поперечных ( $\varepsilon_x$ ) и продольных ( $\varepsilon_y$ ) деформаций использовали программное обеспечение GOM Correlate (Zeiss Group, Germany). Оси координат при обработке изображений ориентировали таким образом, чтобы избежать искажения результатов от неперпендикулярной установки камеры по отношению к рабочей поверхности образца. Коэффициент Пуассона определяли, как абсолютное значение отношения поперечной деформации  $\varepsilon_x$  к продольной деформации  $\varepsilon_y$ :

$$\nu = \left| \frac{\varepsilon_x}{\varepsilon_y} \right|. \quad (19)$$

### **Испытания на кручение гидрогелей на основе полиакриламида**

Испытания образцов в виде цилиндров на кручение проводили на ротационном реометре Anton Paar Physica MCR 501 (Anton Paar GmbH, Австрия) с постоянной угловой скоростью 1 рад/с при комнатной температуре. Для исключения проскальзывания образцов использовали наждачную бумагу, которую наклеивали на плиты реометра. Дополнительно проводили оценку влияния нормальной силы на результаты измерений и варьировали ее значение в диапазоне от 1 до 4 Н. Число испытанных образцов для каждой серии составило от 5 до 10 для обеспечения максимальной воспроизводимости результатов. По результатам испытаний определяли модуль сдвига  $G$  следующим образом:

$$G = \frac{M_K}{W_p}, \quad (20)$$

$M_K$  – величина крутящего момента на линейном участки диаграммы кручения,  $W_p = \frac{\pi D^3}{16}$  – момент сопротивления кручению для образца диаметром  $D$ .

После этого определяли модуль Юнга по известному соотношению для изотропного материала (5).

## Численный эксперимент по индентированию гидрогелей на основе полиакриламида с применением конечно-элементного моделирования

Для верификации определенных по результатам испытаний на растяжение и кручение параметров упругости гидрогелей проводили численное моделирование индентирования с применением метода конечных элементов (МКЭ) в программном комплексе «ANSYS Workbench» (Ansys Inc, США). При решении осесимметричной задачи индентирования полагали материал изотропным. В качестве нелинейных моделей использовали Neo-Гука и Муни-Ривлина, хорошо описывающие гиперупругое поведение при умеренных деформациях. Материал инденторов полагали абсолютно жестким и недеформируемым. Были использованы следующие граничные условия: нижняя грань образца закреплена по всем степеням свободы, к верхней грани индентора приложено вертикальное перемещение, равное радиусу используемого индентора (Рисунок 12а). После проведения теста на сходимость (mesh convergence test) количество 8-узловых элементов PLANE183 и узлов сетки в зависимости от геометрических размеров образцов и индентора изменялось в диапазоне от 7487 до 8305 и от 23030 до 25510, соответственно (Рисунок 12б), размер элемента в области сгущения сетки составил 0,2 мм (Рисунок 12в). При моделировании контакта без трения использован расширенный метод Лагранжа. Построенные зависимости силы от перемещения были сопоставлены с экспериментальными.

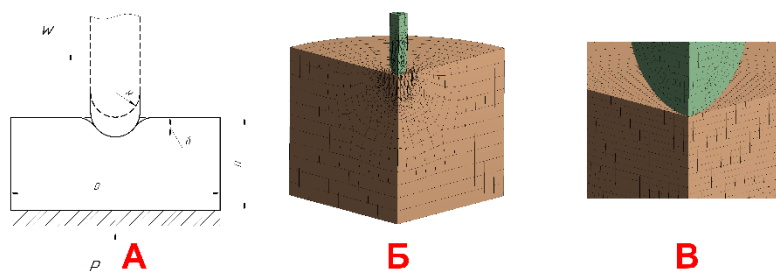


Рисунок 12 – Схема численного эксперимента на индентирование: исходная модель с основными геометрическими параметрами (а), конечно-элементная сетка для сектора 90 градусов (б), область сгущения сетки в зоне контакта(в)

### **Аппроксимация кривых растяжения моделями гиперупругого поведения**

Полученные по результатам испытаний на растяжение кривые аппроксимировали моделями гиперупругого поведения Нео-Гука и Муни-Ривлина в программном комплексе «ANSYS Workbench» (Ansys Inc, США). Для обеих моделей в процессе аппроксимации отслеживали модуль сдвига, сравнивая результаты, полученные с применением разных моделей, а также по результатам испытаний на кручение.

### **Оценка равновесной степени набухания гидрогелей и молекулярной массы субцепей между сшивками**

Для определения равновесной степени набухания и молекулярной массы субцепей между сшивками производили взвешивание образцов сразу после синтеза  $m_i$ , после достижения равновесной степени набухания при нахождении в дистиллированной воде в течение 7 суток  $m_s$ , а также высушенных в сушильном шкафу образцов до постоянной массы  $m_d$ . Равновесную степень набухания гидрогелей оценивали по формуле:

$$\alpha = \frac{m_s - m_d}{m_d} \quad (21)$$

Молекулярную массу субцепей между сшивками  $\overline{M}_c$  определяли тремя методами:

1. по теоретической оценке, опирающейся на массы добавленных веществ:

$$\overline{M}_c = x \times 71 \text{ г/моль}, \quad (22)$$

где  $x$  – количество мономерных звеньев, приходящихся на одну молекулу сшивателя, 71 г/моль – молекулярная масса сшивающего агента (БИС);

2. на основе результатов равновесного набухания по формуле (17);
3. на основе результатов одноосного растяжения по формуле (18).

### **2.3.2 Механические испытания криогелей**

#### **Одноосное растяжение криогелей**

Механические свойства в режиме одноосного растяжения с постоянной скоростью 1 мм/мин изучали на универсальной испытательной машине Instron 5965 (Illinois Tool Works Inc, США), оснащенной датчиком нагрузки 50 Н. Рабочая часть образца составляла 10,00×3,25 мм. Перед испытанием образцы выдерживали в течение двух часов в физиологическом растворе при температуре 25 °С до равновесного набухания. Статистическая выборка состояла из 5 образцов.

#### **Испытания криогелей на прокол и циклические испытания**

В циклических механических испытаниях использовали оборудование, аналогичное тому, которое применяют для испытаний пленочных материалов в ASTM D5748. Как описано в [223], «испытательный метод, выполняемый в стандартных условиях, создает биаксиальное напряжение, которое характерно для типа напряжения, встречающегося во многих приложениях конечного использования продукта». ASTM D5748 предполагает только однократную нагрузку испытываемого материала до разрушения. Для исследования стабильности материала методика была дополнена многократным нагружением в диапазоне характерных физиологических нагрузок. В испытаниях использовали уменьшенную версию оборудования, описанного в ASTM D5748. Образец закрепляли в рамке с отверстием диаметром 8 мм. Диаметр индентора составлял 3,5 мм. Преднагрузка – 0,02 Н. Испытания проводили в следующих режимах: однократное

нагружение до разрушения образца и циклическое нагружение (1000 циклов) в физиологическом диапазоне деформаций.

### **Аппроксимация кривых растяжения криогелей**

Полученные по результатам испытаний на растяжение кривые аппроксимировали моделями гиперупругого поведения Гента и Огдена с использованием разработанной компьютерной программы, написанной на языке программирования Python.

## **2.3.3 Механические испытания губчато-волоконистых композитов**

### **Одноосное растяжение губчато-волоконистых композитов**

Механические испытания губчато-волоконистых материалов проводили на универсальной разрывной системе Instron 5965 (Illinois Tool Works Inc, США). Испытания образцов с размером рабочей части 10×5 мм проводили с постоянной скоростью 25 мм/мин при комнатной температуре. Механический отклик композитов на основе ПХВ исследовали для образцов в двух состояниях: сухом и после достижения равновесной степени набухания. Во втором случае образцы помещали на 24 ч в бидистиллированную воду, после извлечения излишки жидкости удаляли фильтровальной бумагой.

## **2.3.4 Сканирующая электронная микроскопия**

Морфологию разработанных материалов изучали методом сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) с помощью систем Versa 3D DualBeam (FEI, США) и Phenom XL (ThermoFisher Scientific, США) в режиме

высокого вакуума. Изображения получали во вторичном электронном режиме с ультранизким ускоряющим напряжением 1 кВ.

Для изучения влагосодержащих материалов использовали систему Versa 3D DualBeam (FEI, США) в режиме сканирования окружающей среды. Детектор газовых вторичных электронов СЭМ настраивался на ускоряющее напряжение 10 кВ и ток 60 пА. Перед экспериментом образцы предварительно охлаждали до 3 °С на столике Пельтье. Для микроструктурного исследования влажность в вакуумной камере последовательно снижалась с 100 до 60 % в течение всего эксперимента.

### **2.3.5 Инфракрасная спектроскопия**

Инфракрасную спектроскопию (ИК-спектроскопию) выполняли с использованием ИК-Фурье спектрометра Thermo Scientific Nicolet iS5 (Thermo Scientific, США) с использованием НПВО-приставки iD5 ATR (кристалл – алмаз) в диапазоне 550–4000 см<sup>-1</sup>. Число сканов – 32, спектральное разрешение – 4 см<sup>-1</sup>.

### **2.3.6 Краевой угол смачивания**

Определение краевых углов смачивания образцов проводили при помощи системы анализа формы капли KRUSS DSA30E (KRUSS, Германия). Жидкая фаза – деминерализованная вода, объем капли 5 мкл. Использовали среднее значение по результатам 5 измерений.



### 2.3.7 Акустическая микроскопия

Исследования структуры образцов методом сканирующей акустической микроскопии проводили в лаборатории акустической микроскопии Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН на разработанном в этой лаборатории оборудовании:

- 1) SIAM-2010, сканирующий импульсный акустический микроскоп с моторизированной системой перемещения акустического объектива с шагом 15 мкм, использовали для установления скорости звука, общей геометрии, затухания в формате А и В-сканов.
- 2) SIAM-2016, сканирующий импульсный акустический микроскоп с моторизированной системой перемещения акустического объектива с шагом 5 мкм, использовали для получения детальных изображений в формате С и В/D-сканов.

Оба микроскопа оснащены акустическими линзами в диапазоне от 25 до 200 МГц. Для проведения экспериментов использовали линзы 200 МГц  $10^\circ$  и 50 МГц  $30^\circ$ .

## ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЯ

### 3.1 Механическое поведение гидрогелей на основе полиакриламида

Механическое поведение гидрогелей исследовали в испытаниях на кручение, одноосное растяжение и сжатие. Коэффициент Пуассона гидрогелей оценивали бесконтактным методом с использованием программной обработки серии фотографий, фиксирующих процесс растяжения материала. Полученные результаты механических исследований верифицировали в испытаниях на индентирование, поскольку в процессе индентирования в материале возникает сложное напряженное состояние.

#### 3.1.1 Растяжение гидрогелей

Испытания на одноосное растяжение проводили с использованием дополнительно разработанных зажимов, изготовленных с применением 3D-печати, позволяющих зафиксировать образец в зажимах испытательной машины без деформирования и получить достоверные результаты.

Экспериментальные кривые растяжения полученных материалов показаны на Рисунке 13а.

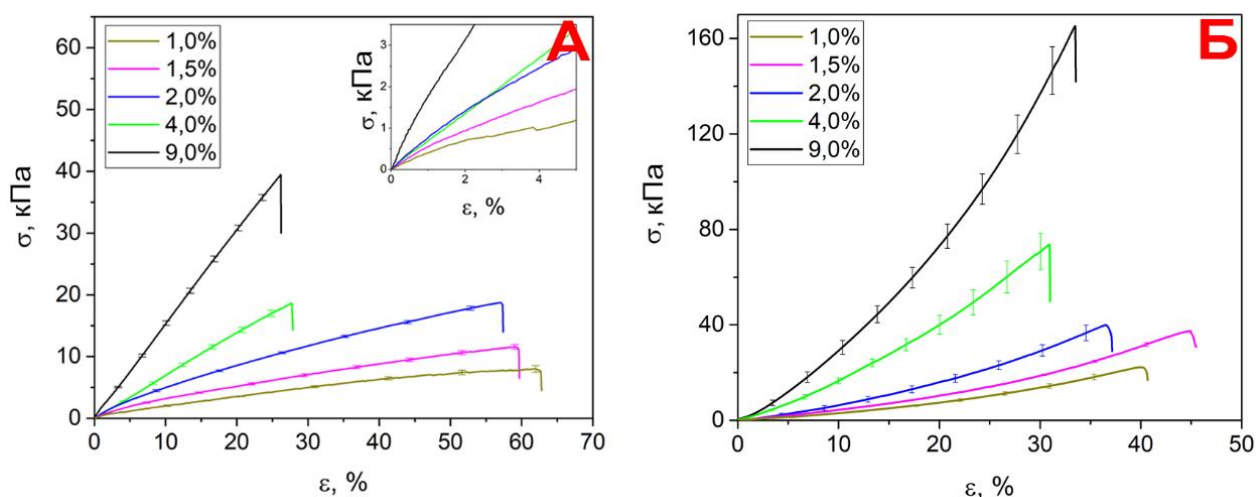


Рисунок 13 – Деформационные кривые гидрогелей на основе полиакриламида при растяжении (а) и сжатии (б)

По результатам эксперимента проведена оценка модуля Юнга гидрогелей как значения тангенса угла наклона на линейном участке деформационной кривой. Полученные значения (Таблица 6) показывают рост модуля Юнга с увеличением концентрации сшивающего агента. При изменении сшивки гидрогеля от 1 до 9 % модуль Юнга растет в 8 раз и соответствует диапазону значений для мягких тканей [66].

Таблица 6 – Параметры упругости гидрогелей, определенные по результатам механических испытаний

%С, %	Растяжение		Сжатие	Кручение	
	$\nu$	Е, кПа	Е, кПа	Г, кПа	Е, кПа
1,0	0,485	19±2	30±1	8±1	24±3
1,5	0,496	31±3	42±2	10±1	30±3
2,0	0,477	56±7	69±4	15±1	44±3
4,0	0,483	75±5	86±18	27±1	80±3
9,0	0,482	157±5	163±2	54±3	162±9

Была проведена оценка предела прочности и разрывной деформации полиакриламидных гидрогелей. Для материалов со сшивкой от 1 до 2 % предел прочности изменяется от 8 до 25 кПа, а разрывная деформация

составляет  $60 \pm 5$  %. При повышении концентрации сшивателя наблюдается снижение разрывной деформации до  $25 \pm 3$  % с повышением предела прочности геля до 40 кПа при максимальной исследуемой степени сшивки.

### **Определение коэффициента Пуассона**

В испытаниях на одноосное растяжение оценивали коэффициент Пуассона  $\nu$  гидрогелей по изменению положения точек, нанесенных на рабочую поверхность образца в процессе испытания. В Таблице 6 приведены полученные значения. Все они лежат в диапазоне от 0,477 до 0,496, что указывает на несжимаемость полученных образцов.

### **3.1.2 Сжатие гидрогелей**

Проведено исследование механического поведения гелей при одноосном сжатии. Деформационные кривые сжатия характеризуются начальным линейный участком, тангенс угла наклона которого использовали для определения модуля Юнга (Рисунок 13б).

Сравнение модулей Юнга, полученных по испытаниям на растяжение и сжатие, указывает на симметрию механических свойств при различных концентрациях сшивающего агента (Таблица 6). Для часто сшитых гидрогелей (4 и 9 %) наблюдается хорошее соответствие между модулями упругости, что говорит об изотропии механических свойств. При более низких концентрациях сшивающего агента (1–2 %) возникает асимметрия механических свойств при растяжении и сжатии. Это можно объяснить ростом числа молекул воды между цепями сетки в набухшем состоянии у слабо сшитых гидрогелей. Молекулы воды вызывают вязкопластическое течение сшивок между цепями, что приводит к проявлению эффекта асимметрии [224]. Подобно результатам одноосного растяжения, предел прочности гидрогелей при сжатии снижается с увеличением %С.

### 3.1.3 Кручение гидрогелей

По результатам предварительных исследований влияния нормальной силы  $N$  на результаты испытаний выявлено, что увеличение значения нормальной силы, прикладываемой к образцу в начале испытания, от 1 до 4 Н не приводит к изменению получаемой в эксперименте деформационной кривой для всех %С в диапазоне малых угловых деформаций (Рисунок 14).

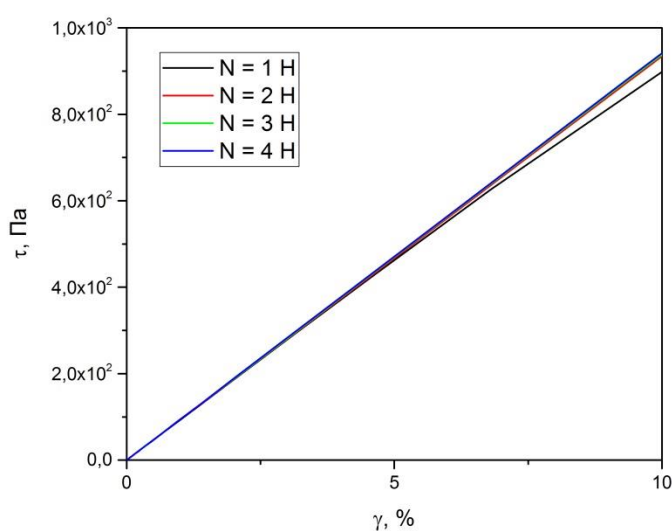


Рисунок 14 – Деформационные кривые кручения гидрогеля с концентрацией сшивателя 9 % при разных значениях нормальной силы

По результатам обработки кривых кручения рассчитывали модуль сдвига  $G$  для образцов гидрогелей с различной степенью сшивки. Модуль сдвига связан с модулем Юнга материала соотношением (5).

В Таблице 6 приведены значения модуля сдвига и модуля Юнга, рассчитанного с учетом полученных в экспериментах значений  $G$  и  $\nu$ .

Для всех концентраций сшивающего агента в гидрогеле значения модуля Юнга, полученного в экспериментах на одноосное растяжение, хорошо коррелируют со значениями, определенными по результатам испытаний на кручение.

### 3.1.4 Индентирование гидрогелей

Эксперименты по индентированию проводили для верификации параметров упругости, полученных по результатам испытаний на одноосное растяжение и кручение. Нелинейные зависимости силы от глубины вдавливания индентора показаны на Рисунке 15. Видно, что концентрация сшивателя значительно влияет на механический отклик системы, что подтверждается результатами испытаний на одноосное растяжение, сжатие и кручение. Результаты натурального эксперимента дополнены результатами аналитического расчета по теории Герца (7) и численного эксперимента с применением конечно-элементного моделирования.

Можно сказать, что применение соотношений теории упругости позволяет хорошо предсказывать механический отклик системы для разных значений диаметров индентора и относительной глубины вдавливания до 7,5 % для диаметра 5 мм и до 10 % для диаметра 10 мм. Расхождение между аналитической оценкой и экспериментальными результатами при увеличении указанных выше диапазонов относительной глубины вдавливания обусловлены следующими факторами: превалированием сжимающих напряжений над растягивающими, что требует подстановки в аналитическое соотношение модуля упругости, определенного по результатам испытаний на сжатие, а также влиянием конечной толщины образцы при больших деформациях для индентора диаметром 10 мм. Для образцов с концентрацией БИС 1 % наблюдается значительное расхождение между результатами аналитического расчета и эксперимента независимо от диаметра индентора. Помимо указанных выше причин, по-видимому, значительный вклад дает релаксация напряжений, проявляющаяся при квазистатическом нагружении. Несмотря на это, можно сделать вывод о применимости теоретических соотношений при индентировании, а определенный по результатам испытаний на одноосное растяжение и

кручение модуль упругости корректным. Максимальное отклонение между расчетом и экспериментом составило 16 % для концентрации сшивателя 9 % и индентора 10 мм.

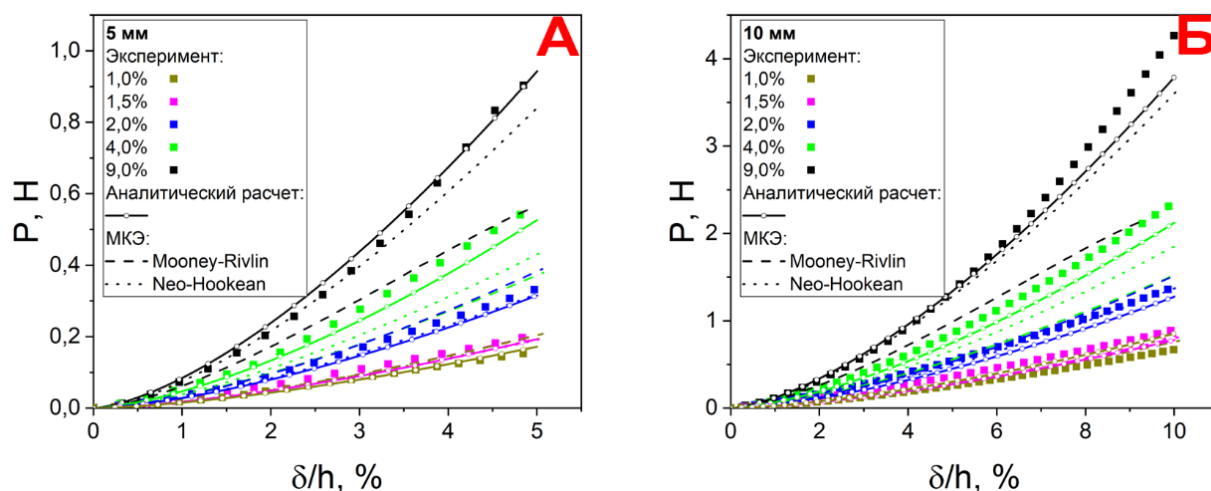


Рисунок 15 – Деформационные кривые, полученные в испытаниях на индентирование с инденторами диаметром 5 мм (а) и 10 мм (б)

### 3.1.5 Аппроксимация кривых растяжения моделями гиперупругости

Экспериментальные данные, полученные по результатам одноосного растяжения, аппроксимировали моделями гиперупругости Нео-Гука и Муни-Ривлина, используя уравнения, описывающие зависимость напряжения от деформации материала. Определяемым параметром в модели Нео-Гука выступал модуль сдвига  $G$ , а в двухпараметрической модели Муни-Ривлина – коэффициенты  $C_{10}$  и  $C_{01}$ , удвоенная сумма которых так же соответствует величине модуля сдвига  $G$ . Значения параметров, полученных при аппроксимации, приведены в Таблице 7. Они хорошо соотносятся с результатами экспериментов на одноосное растяжение и кручение. Однако можно заметить, что для концентраций сшивателя 4 и 9 % значения констант  $C_{10} > 0$ , а  $C_{01} < 0$ , в то время как для концентраций 1–2 % обе константы строго больше нуля. Это обусловлено тем, что для аппроксимации кривых

использованы результаты только одного натурального эксперимента при двух неизвестных константах. Несмотря на это, полученные модели хорошо описывают экспериментальные кривые при одноосном растяжении, но проблемы в численных расчетах могут возникнуть при использовании данных моделей в случаях, когда реализуется, например, двухосное напряженное состояние, что подробно исследовано далее. На Рисунке 16 показаны исходные усредненные кривые одноосного растяжения и результаты аппроксимации моделями Нео-Гука и Муни-Ривлина. Видно, что определенные константы модели Муни-Ривлина хорошо описывают гиперупругое поведение материала в условиях одноосного растяжения независимо от знака константы  $C_{01}$ .

Таблица 7 – Значения модуля сдвига, рассчитанные при аппроксимации кривых растяжения и в испытаниях на кручение

%C, %	Кручение	Модель Нео-Гука	Модель Муни-Ривлина		
	G, кПа	G, кПа	$C_{10}$ , кПа	$C_{01}$ , кПа	G, кПа
1,0	8±1	7,3±0,6	1,3	3,0	7,5±0,3
1,5	10±1	10,9±0,5	2,9	3,0	11,2±0,5
2,0	15±1	17,2±0,5	3,7	6,4	20,2±1,3
4,0	27±1	25,4±1,3	14,7	-2,4	24,0±1,0
9,0	54±3	57,5±0,9	56,7	-31,0	51,3±0,3



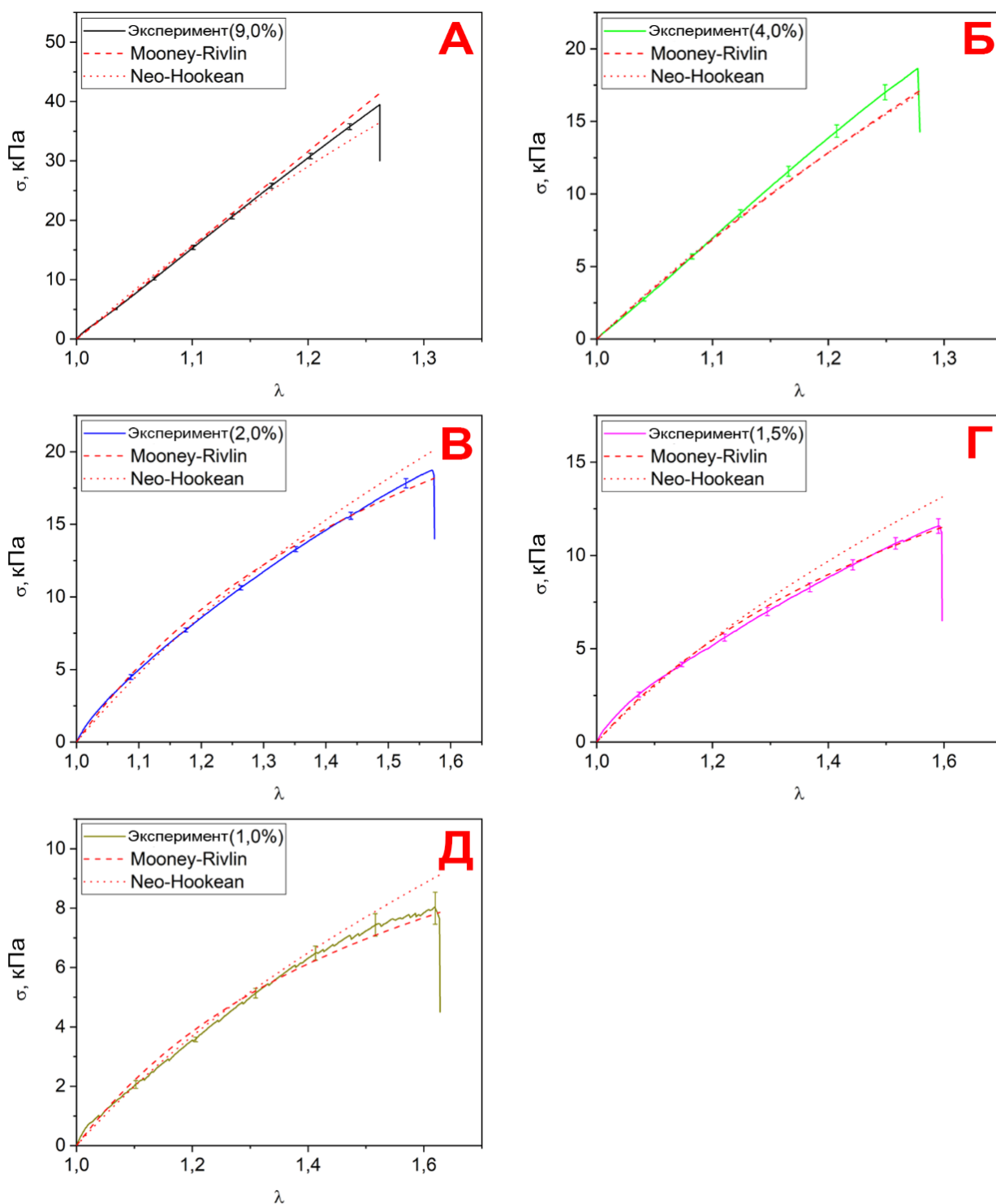


Рисунок 16 – Деформационные кривые растяжения и результаты их аппроксимации моделями гиперупругости для образцов с концентрациями 9,0 % (а), 4,0 % (б), 2,0 % (в), 1,5 % (г), 1,0 % (д)

В этом случае также наблюдается хорошая корреляция между значениями модулей сдвига, полученных в разных экспериментах.

### 3.1.6 Конечно-элементное моделирование

По результатам численного эксперимента на индентирование построены кривые зависимости силы от глубины индентирования  $P=P(\delta)$  для моделей Нео-Гука и Муни-Ривлина (Рисунок 15) для инденторов обоих диаметров. Можно видеть, что модель Нео-Гука в целом хорошо описывает механический отклик системы при малых деформациях (до 10 %). Как и в случае с аналитическим соотношением, расхождение для образцов с концентрацией 1 %, вероятно, вызвано релаксацией напряжений в материале при квазистатическом нагружении. В случае применения двухпараметрической модели Муни-Ривлина наблюдается значительное расхождение с результатами натурального и численного экспериментов для концентраций 2 % и 1 % в интервале деформаций до 2,5 % для индентора 5 мм и 5 % для индентора 10 мм. Для значения концентрации 1,5 % наблюдается хорошее соотношение между экспериментом и результатами МКЭ-расчета на всем диапазоне деформаций. Это обусловлено более высоким значением расчетного модуля сдвига  $G$  по отношению к значениям, определенным по результатам испытаний на одноосное растяжение и кручение, поэтому расчетная кривая пересекает экспериментальную, сохраняя, таким образом, низкое значение ошибки. Данная тенденция сохраняется и при взгляде на кривые, полученные для 2%-концентрации сшивателя. В случае гидрогеля с концентрацией БИС 1 % модель Муни-Ривлина дает завышенное значение, что может быть также обосновано вкладом релаксации напряжений в натурном эксперименте. Противоположная картина наблюдается для материалов с концентрацией сшивателя 4 и 9 %. На всем диапазоне деформаций расчетные кривые значительно ниже экспериментальных независимо от диаметра индентора. Это обусловлено неустойчивостью двухпараметрической модели Муни-Ривлина в случае определения констант по результатам одного натурального

эксперимента, когда  $C_{01} < 0$ . Это противоречит постулату Друкера об устойчивости деформирования неупругих тел, что приводит к проблемам сходимости решения в случае сложного напряженного состояния. Иллюстрация постулата Друкера в формульном виде сводится к соотношениям [74]:

$$\frac{\partial \sigma_{ij}}{\partial \varepsilon_{ij}} \geq 0 \text{ и } \partial \sigma_{ij} \partial \varepsilon_{ij} \geq 0 \quad (19)$$

В частности, для двухпараметрической модели Муни-Ривлина эти условия принимают следующий вид [74]:

$$(C_{10} + C_{01}) \geq 0 \text{ и } C_{01} \geq 0. \quad (20)$$

Таким образом, если  $C_{01} < 0$ , то модель является неустойчивой при ее использовании в задачах, где материал находится в условиях сложного напряженного состояния, что реализуется при индентировании. Для концентраций 1,0, 1,5 и 2,0 %  $C_{01} > 0$ , поэтому модель устойчива. Модель Нео-Гука устойчива всегда. Для дополнительной иллюстрации приведены кривые одноосного и двухосного растяжения для модели Муни-Ривлина с константами, определенными для концентраций 2 и 9 % (Рисунок 17).

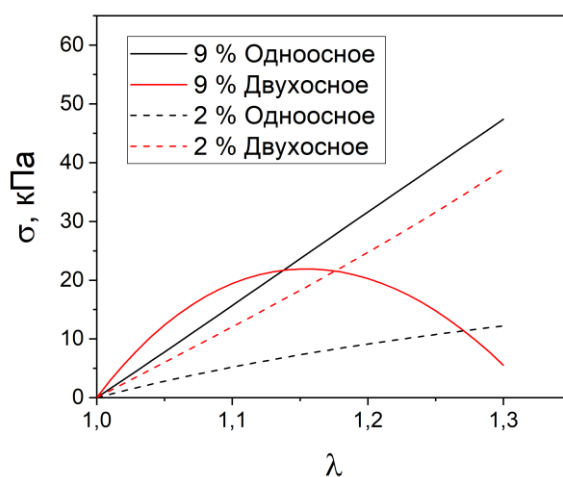


Рисунок 17 – Кривые одноосного и двухосного растяжения для модели Муни-Ривлина с константами, определенными для концентраций 9 % и 2 %

Видно, что для 9 %, начиная с определенного значения деформации, первая производная функции напряжений по деформации меньше нуля,

приращение внутренней работы меньше нуля, следовательно, модель неустойчива. Для концентрации 2 % неравенства, вытекающие из постулата Друкера, выполняются на всем диапазоне деформирования, следовательно, модель устойчива.

### 3.1.7 Определение молекулярной массы субцепей между сшивками

Для исследуемых гидрогелей оценивали молекулярную массу субцепей между сшивками тремя различными методами по результатам: равновесного набухания, одноосного растяжения и теоретической оценки. Результаты измерений приведены в Таблице 8.

Таблица 8 – Молекулярная масса субцепей между сшивками

Метод		Набухание	Одноосное растяжение	Теоретическая оценка
%С, %	Сшивка, зв. на 1 БИС	$\overline{M}_c$ , г/моль	$\overline{M}_c$ , г/моль	$\overline{M}_c$ , г/моль
1,0	200	20788±1448	16157±1679	14200
1,5	150	16592±433	10368±998	10650
2,0	100	9934±98	6215±782	7100
4,0	50	5035±770	5108±340	3550
9,0	20	1822±150	2815±89	1420

Наблюдается хорошая корреляция между значениями средней молекулярной массы субцепей между сшивками, оцененной разными методами. Экспериментальные значения превосходят теоретические, что можно объяснить несовершенствами синтезируемых сеток, такими как неравномерность распределения узлов сшивок, наличие субцепей со свободным концом.

\*\*\*

Таким образом, гидрогели на основе полиакриламида являются перспективными материалами для замещения и воспроизведения свойств мягких биологических тканей. В Таблице 9 показаны определенные по результатам механических испытаний модули упругости гидрогелей при одноосном растяжении и соответствующие этим значениям мягкие биологические ткани человека. Регулируя концентрацию сшивателя, возможно получать материалы, воспроизводящие механические свойства мягких биологических тканей в широком диапазоне.

Таблица 9 – Модули упругости полиакриламидных гидрогелей и соответствующие им мягкие биологические ткани человека

%С, %	Е, кПа	Мягкие ткани [66]
9,0	157±5	Почки, матка
4,0	75±5	Печень
2,0	56±7	Мышцы
1,5	31±3	Сердце, селезенка
1,0	19±2	Язык, молочная железа

Важным этапом при создании скаффолда является определение его механических свойств. Систематический подход, позволяющий не только отработать методику воспроизводимого получения материалов с заданными механическими свойствами, но и включающий верифицированную экспериментальную методику определения свойств, открывает возможность изготовления и исследования не только материалов на основе полиакриламида и других полимеров, но и различных мягких тканей. Широко используемое для определения локальных механических свойств индентирование обладает рядом преимуществ и недостатков относительно традиционных экспериментальных методик. В частности, индентирование не требует изготовления стандартизованных образцов для испытаний или специализированной оснастки. Современные технологии позволяют изучать

механические свойства с применением инденторов с диаметрами вплоть до единиц нанометров. В то же время, при проведении индентирования необходимо учитывать размеры образцов и влияние краевых эффектов. В рамках данной работы образцы для индентирования были изготовлены таким образом, чтобы минимизировать влияние толщины и краевых эффектов на результаты испытаний и верификации параметров упругости, так как аналитическое соотношение получено для случая индентирования упругого полупространства. При необходимости возможно введение поправочных функций, учитывающих конечную толщину образца и его диаметр, что делает возможным дальнейшее использование аналитического соотношения. Применение моделей гиперупругого поведения вкупе с численными методами решения нелинейных (как геометрически, так и физически) задач позволяет расширить спектр решаемых задач и обойти ограничения, накладываемые на аналитические соотношения. Однако следует помнить о нюансах численного решения. Как было показано выше, более сложная двухпараметрическая модель Муни-Ривлина может давать нефизичные результаты при определении констант по результатам одного натурального эксперимента. Неустойчивость модели может проявляться в зависимости от знака константы  $C_{01}$ , что накладывает ограничения на данную модель. Это ограничение естественным образом вытекает и для моделей более высокого порядка (Огден, Йо), для которых физический смысл констант не очевиден. Кроме того, проведение дополнительных испытаний зачастую ограничено структурой мягких тканей, толщиной, анизотропией механических свойств, сложностью постановки и реализации эксперимента, необходимостью использовать дополнительное оборудование. В таком случае, как показано в работе, однопараметрическая модель Нео-Гука дает хорошую оценку механического отклика.

## **3.2 Композиционные гидрогели на основе полиакриламида, наполненные пористыми микрочастицами полилактида**

Введение наполнителя в гидрогель может приводить к росту его прочностных характеристик, а также увеличению биосовместимости и возможности дополнительной регуляции высвобождения лекарства при использовании композита в качестве носителя для доставки лекарств. В некоторых работах было показано, что сферические частицы в объеме гидрогеля создают локальные области, способствующие прикреплению клеток [148]. При этом сохраняется необходимость детального знания о механическом поведении композиционного материала. В данной работе получены новые композиционные материалы на основе полиакриламидных гидрогелей с добавлением пористых частиц полилактида.

### **3.2.1 Структура композиционных гидрогелей**

Из-за высокой гидрофобности полилактида композиционные гидрогели получали в условиях пониженного давления. Равномерность распределения и качество интеграции пористых частиц в гидрогелевую матрицу исследовали двумя независимыми методами: сканирующей акустической микроскопией (САМ) и СЭМ.

По изображениям С-сканов САМ композита установлено соответствие между количеством добавляемых частиц (г/г, масс.%) и их объемной долей в композите. Так, максимальная исследуемая степень наполнения 1 масс.% соответствует приблизительно 33 об.%, из которых менее 1 об.% частиц оказываются заполнены воздухом, что может быть определено по яркости отображения частицы на скане (Рисунок 186).

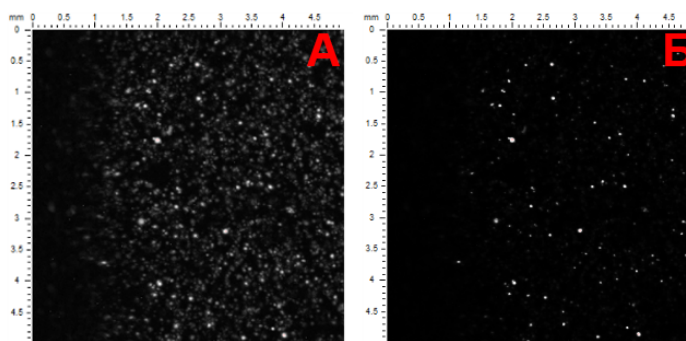


Рисунок 18 – С-сканы гидрогелевого композита с частицами, наполненными (а) гидрогелем и воздухом, (б) только воздухом

СЭМ показала, что распределение полилактидных частиц по размерам лежит в диапазоне от 15 до 275 мкм с пиком в области 50–70 мкм. На Рисунке 19 представлено СЭМ-изображение полилактидной частицы в разрезе и лиофилизированного композита, на котором можно видеть, что полилактидные частицы интегрированы в гидрогелевую матрицу. Полости на срезе вызваны преимущественным формированием кристаллов льда вокруг частицы, выступающей в данном случае в качестве центра кристаллизации.

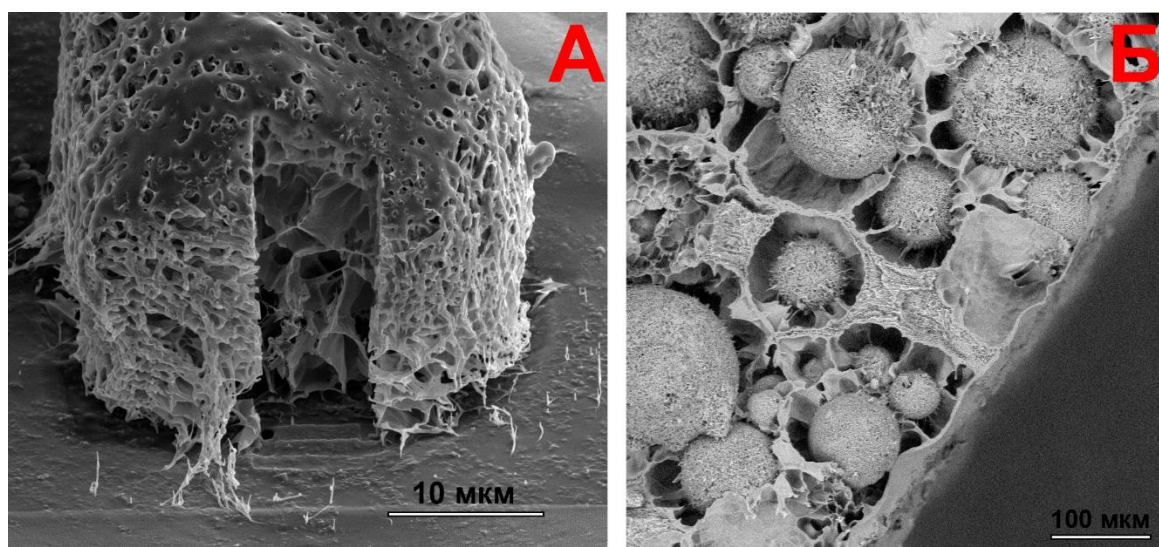


Рисунок 19 – Микрофотография полилактидной частицы (а) и лиофилизированного композита на основе полиакриламида с полилактидными частицами



### 3.2.2 Механическое поведение композиционных гидрогелей

Поскольку благодаря разветвленной пористой структуре, как было показано выше, микрочастицы полилактида образуют перколяционную сетку в гидрогеле уже при наполнении порядка 1 масс %, они значительно влияют на модуль упругости получаемых композиционных гидрогелей. Показана возможность направленного регулирования механических свойств композитов путем варьирования степени сшивки гидрогелевой матрицы и количества наполнителя (Таблица 10).

Для композитов наблюдается аналогичная гидрогелям без наполнения асимметрия механических свойств при растяжении и сжатии. В отношении модуля Юнга при добавлении пористых частиц асимметрия нивелируется, но усиливается для значений предела прочности.

Таблица 10 – Уруго-прочностные характеристики гидрогелевых композитов

Сшивка, % (ед. мономеров)	1,0 %		1,5 %		2,0 %	
	Е, кПа	$\sigma_B$ , кПа	Е, кПа	$\sigma_B$ , кПа	Е, кПа	$\sigma_B$ , кПа
<b>Растяжение</b>						
0,0 %	19±2	9±1	31±3	13±1	56±7	22±3
0,5 %	41±5	9±1	61±10	18±2	79±4	23±6
1,0 %	52±9	9±1	79±5	24±2	114±21	22±3
<b>Сжатие</b>						
0,0 %	30±1	22±6	42±2	37±8	69±4	37±13
0,5 %	37±2	88±21	47±10	91±27	96±1	141±3
1,0 %	55±4	106±22	72±11	127±25	124±1	135±39

На Рисунке 20 приведены кривые растяжения для исследуемых композитов. Можно отметить, что добавление микрочастиц полилактида меняет вид деформационных кривых: на начальном участке наблюдается

характерный перегиб в области 1,5–5,0 % деформации, который, по-видимому, соответствует нарушению адгезии матрицы и наполнителя.

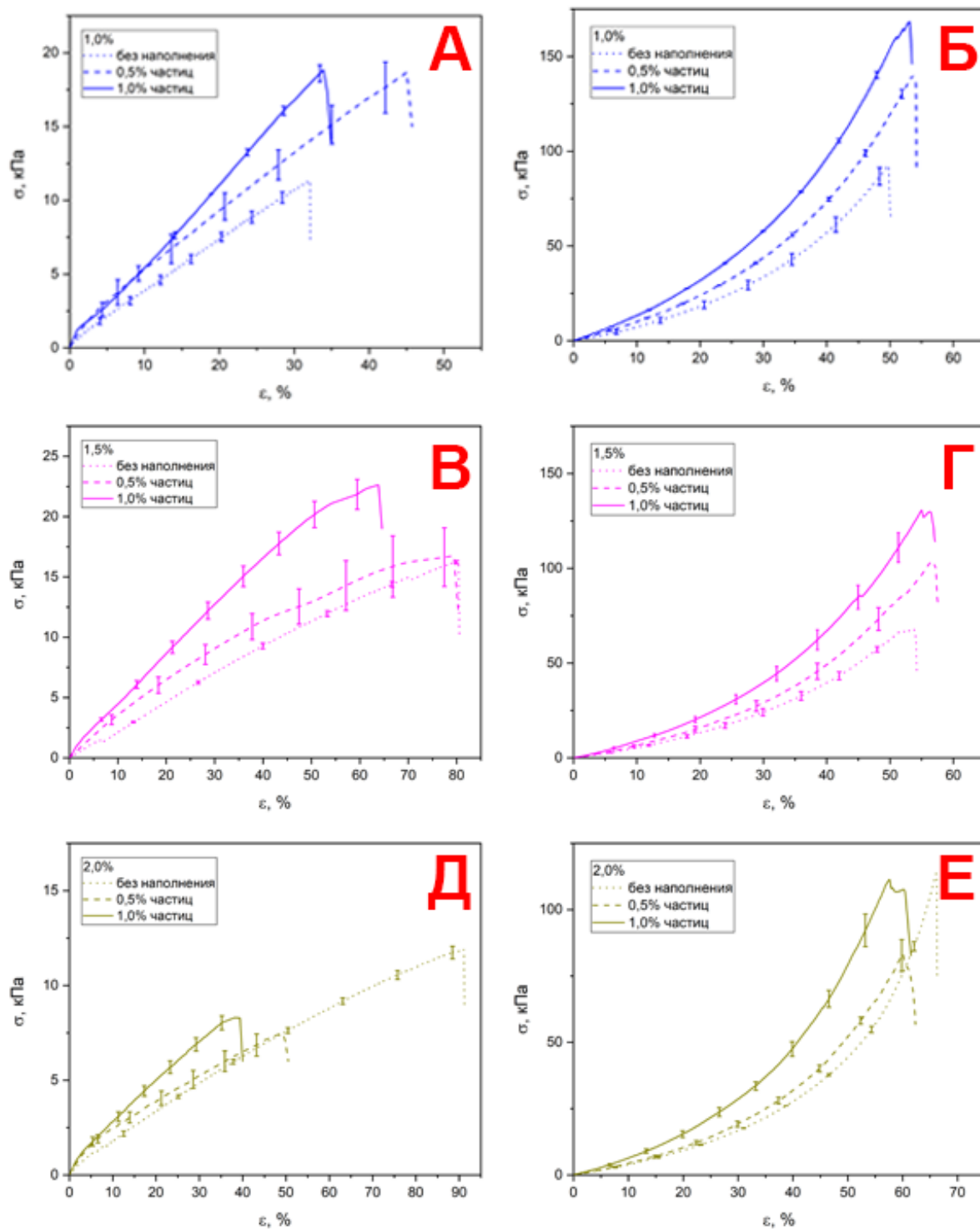


Рисунок 20 – Деформационные кривые композитов с концентрациями сшивателя 1, 1,5 и 2 % при одноосном растяжении (а), (в), (д) и сжатии (б), (г), (е)

При аппроксимации кривых растяжения моделями гиперупругости Нео-Гука и Муни-Ривлина начальный участок деформационной кривой оказывается выше модельной, что говорит о неприменимости указанных моделей для описания механического поведения исследуемых композиционных гидрогелевых систем. Это можно объяснить более сложным ходом кривых и наличием на них нескольких точек перегиба. В этом случае увеличение параметров в модели позволяет описать экспериментальные кривые растяжения композитов. Для всех исследуемых материалов за исключением состава с концентрацией сшивателя 2 % и наполнением 1 % было показана применимость 5-параметрической модели Муни-Ривлина. Для оставшегося композита использовали 9-параметрический вариант МР (Рисунок 21). При использовании многопараметрических моделей выражение  $G = 2(C_{10} + C_{01})$  остается справедливым, что позволяет достоверно и однозначно определить значение модуля упругости, опираясь на экспериментальные деформационные кривые.

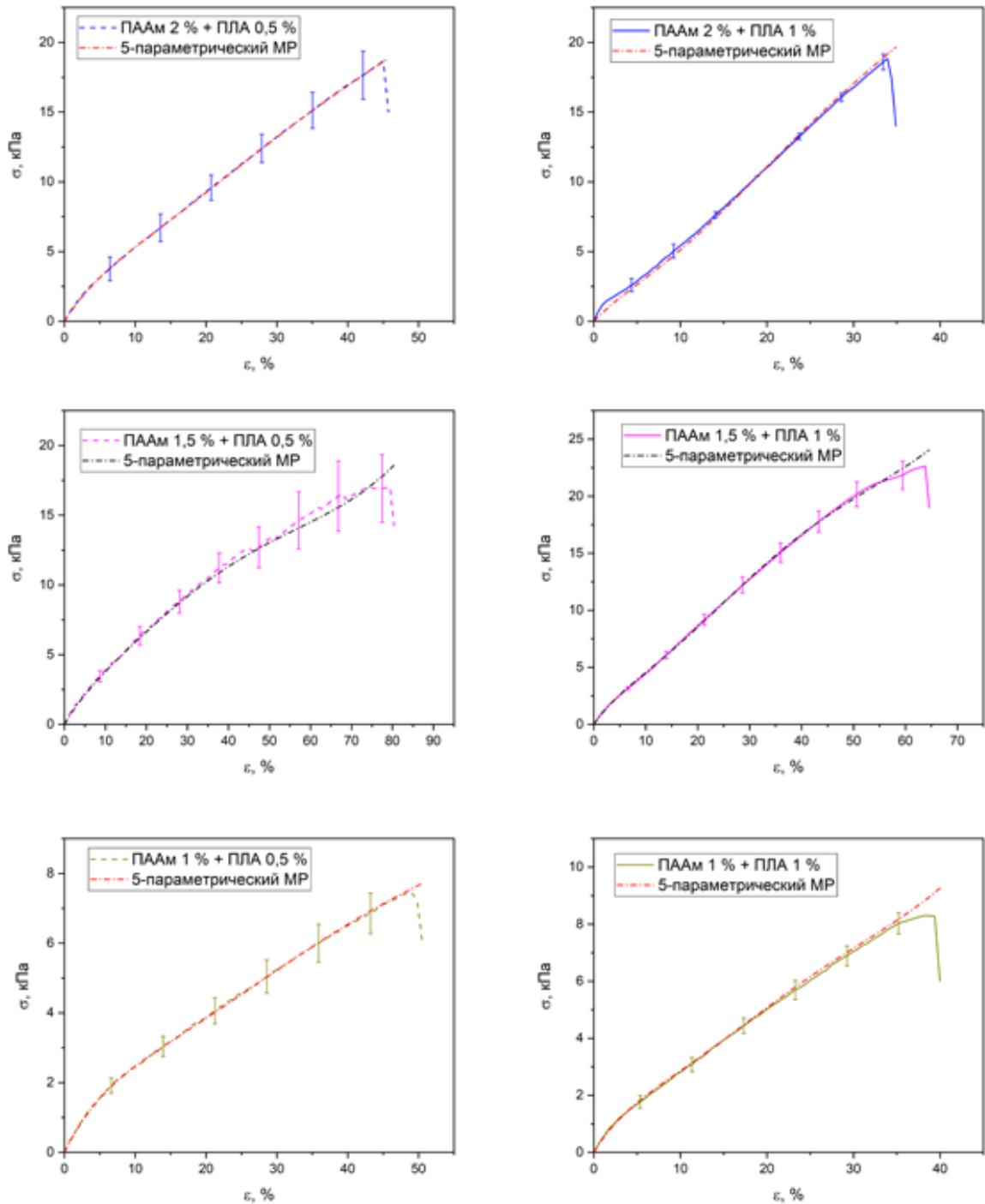


Рисунок 21 – Аппроксимация деформационных кривых растяжения композиционных материалов

\*\*\*

Таким образом, предложенная методика позволяет получать композиционные гидрогели на основе полиакриламида с равномерным распределением пористых полилактидных частиц в объеме. Показано, что,

варьируя количество наполнителя и степень сшивки гидрогелевой матрицы, можно изменять механическое поведение композита в широком диапазоне значений. Используемые при аппроксимации кривых растяжения полиакриламидных гидрогелей, малопараметрические модели НГ и МР не подходят для адекватного описания механического поведения композитов. Однако применимыми оказываются модели МР с увеличенным числом параметров.

Такое направленное регулирование механических свойств позволит использовать композиты для контролируемой пролиферации и дифференцировки различных типов клеток.

### **3.3 Криогели на основе поливинилового спирта и каррагинана**

В биомедицине нередко используют структурно более сложные системы, такие как гидрогели с взаимопроникающими сетками и многокомпонентные криогели. Это позволяет более точно регулировать весь комплекс физико-химических и механических характеристик материала, например, придавая ему проводящие свойства за счет добавления сопряженных полимеров.

В данной работе были получены композиционные криогели на основе поливинилового спирта и каррагинана с добавлением комплекса поли(3,4-этилендиокситиофена) и полистирол сульфоната (ПЭДОТ:ПСС).

#### **Морфология криогелей**

Методом циклического замораживания/оттаивания были получены образцы криогелей на основе смеси природного и синтетического полимеров – поливинилового спирта и каррагинана с проводящей добавкой стабилизированного комплекса ПЭДОТ:ПСС. Такие криогели

предполагается использовать в качестве электродов для биотопливных элементов, устанавливаемых в венозные стенты.

Морфологию криогелевого композита исследовали методом сканирующей электронной микроскопии в режиме окружающей среды. На Рисунке 22 видна классическая поверхность криогеля. Она имеет равномерный рельеф с включениями агрегатов, образованных в ходе криогелирования. Наблюдаемые складчатые структуры предположительно представляют собой двойные спирали йота-каррагинана, стабилизированные ионами  $K^+$ .

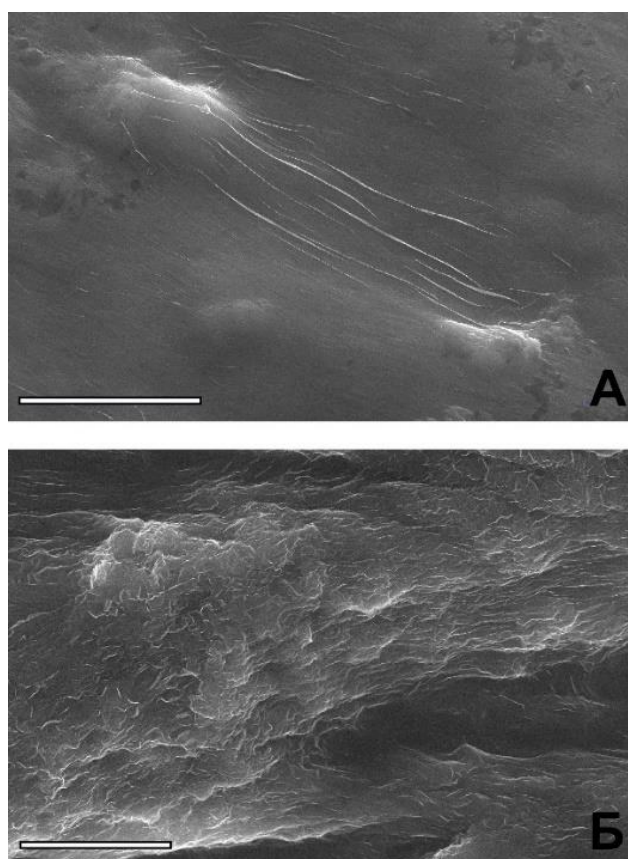


Рисунок 22 – Микрофотографии поверхности криогеля, полученные с использованием сканирующей электронной микроскопии в режиме окружающей среды; масштаб – 10 мкм

## Механическое поведение криогелей при различных видах нагружения

Полученные образцы исследовали в испытаниях на одноосное растяжение и в циклических испытания для оценки механических свойств материала.

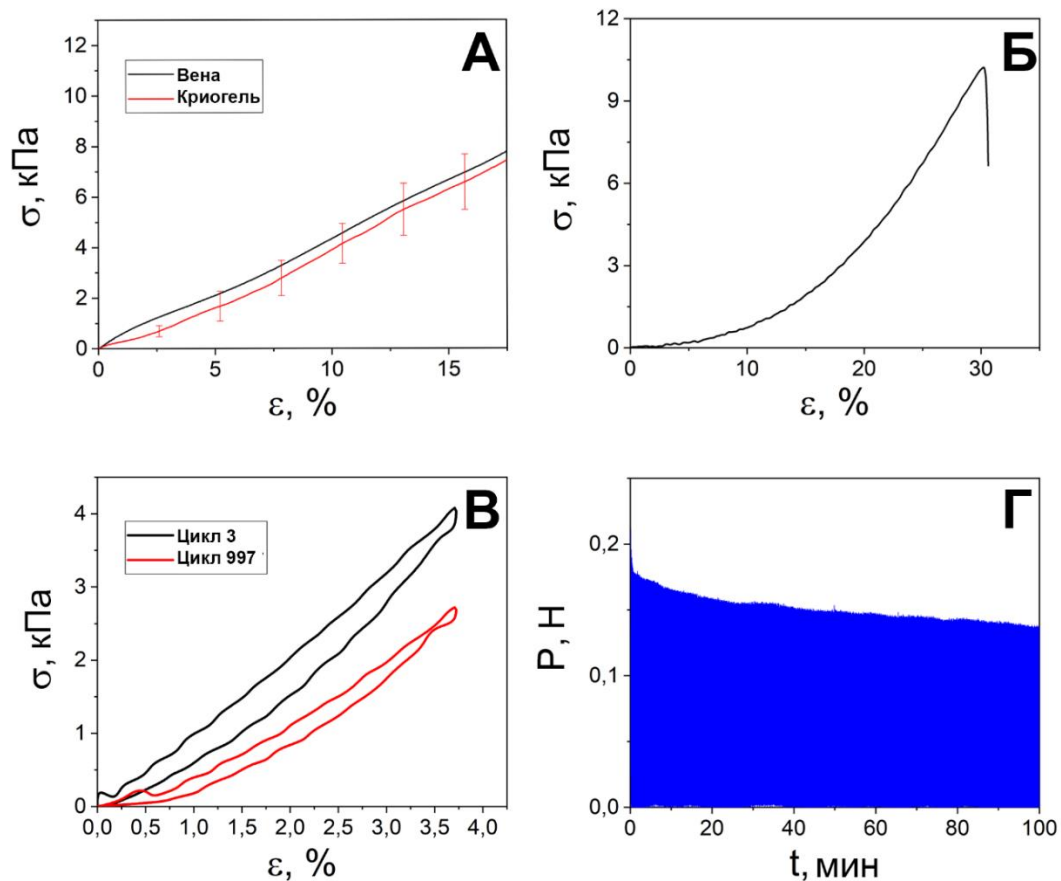


Рисунок 23 – Механическое поведение криогеля в различных типах испытаний: одноосном растяжении (а); при проколе (б); в циклических испытаниях (в), (г)

На Рисунке 23а показаны кривые растяжения криогеля (красная) и бычьей яремной вены (черная). Испытания на одноосное растяжение вены проводили по протоколу для растяжения криогеля. Кривые деформации криогеля имеют характерный вид кривой растяжения набухшего полимера. По результатам испытаний были рассчитаны механические характеристики

исследуемого материала: модуль упругости –  $42,2 \pm 3,0$  кПа, предел прочности –  $8,9 \pm 0,9$  кПа, деформация разрушения –  $20,8 \pm 2,5$  %.

Результаты испытаний гидрогеля на одноосное растяжение хорошо согласуются с аналогичными результатами для бычьей вены. Начальные участки кривых деформации вены и криогеля при одноосном растяжении хорошо коррелируют до 20% деформации (особенно с учетом того факта, что результаты испытаний биологических образцов часто варьируются в широком диапазоне значений).

Для оценки прочностных характеристик разработанных материалов были проведены механические испытания на прокол. Модуль Юнга образца составил  $63,3$  кПа, предел прочности –  $10,2$  кПа. Типичный вид кривой деформации показан на Рисунке 23б.

Таким образом, упруго-прочностные характеристики криогеля ПЭДОТ:ПСС/ПВС/каррагинан 2:1:1 позволяют выдерживать избыточное давление в сосуде. Однако, учитывая колебания давления в крови, материалы были испытаны при циклических нагрузках. Результаты систематизированы в Таблице 11. На Рисунке 23в. приведены типичные кривые для 3-го и 997-го циклов нагружения.

Таблица 11 – Результаты циклических испытаний

Площадь петли гистерезиса $\times 10^{-3}$ (3 цикл)	$8,87 \pm 0,04$
Площадь петли гистерезиса $\times 10^{-3}$ (997 цикл)	$4,54 \pm 0,10$
Соотношение площади гистерезиса (3 и 997 циклы)	$51,60 \pm 1,70$
Наклон упругой области кривой, Н/мм	$0,46 \pm 0,07$
Наклон упругой области кривой, МПа	$0,21 \pm 0,01$
Предел прочности, кПа	$8,80 \pm 0,70$

Анализ амплитуды нагрузки при циклических исследованиях показывает, что предел прочности образцов незначительно снижается в первые 50 циклов, после чего выходит на плато, как это показано на Рисунке 23г. По-видимому, это связано с устранением исходных неоднородностей в образце. Гистерезис на начальном этапе эксперимента также заметно



изменяется (уменьшается более чем вдвое), что косвенно подтверждает высказанное выше предположение. Кроме того, анализ энергетических потерь показывает, что после 100-го цикла это отношение практически постоянно (доля гистерезиса составляет 15–16 %). Этот результат свидетельствует о механической стабильности исследуемого образца.

### **Аппроксимация кривых растяжения криогелей моделями гиперупругого поведения**

Численная оценка параметров кривых была проведена с использованием моделей гиперупругости Гента и Огдена. В криогеле с предложенным составом в процессе получения формируются физические сшивки, образованные кристаллическими областями ПВС, а также двойными спиралями каррагинана, которые оказывают влияние на механическое поведение материала. Результаты аппроксимации сведены в Таблице 12.

Таблица 12 – Результаты аппроксимации кривых растяжения моделями гиперупругости

Образец	Модель			
	Гент		Огден	
	G, кПа	$J_m$	G, кПа	$\alpha$
Криогель	14,5±2,1	0,23±0,09	13,3±2,2	9,2±1,9
Вена	16,2±2,9	0,37±0,07	14,6±2,0	8,4±1,6

Используя полученные значения  $J_m$ , мы можем оценить деформацию, при которой сетка находится в полностью растянутом состоянии. Для криогеля значение составляет около 30%, а для вены – 40%.

\*\*\*

Изучение механического поведения криогеля при растяжении показало, что упруго-прочностные характеристики материала соответствуют упруго-прочностным характеристикам вены. Циклические испытания показали высокую биомеханическую стабильность композиционного материала ПЭДОТ:ПСС/ПВС/каррагинан в условиях, приближенных к реальному организму. Это определяется тем, что каждый из компонентов материала

повышает механические свойства всего криогеля. Предлагаемый композит представляет собой классический гель с двойной сеткой [225,226], где каждый компонент вносит свой вклад в механическое поведение криогеля в целом. Основным гелеобразующим полимером является поливиниловый спирт, который образует физические сшивки в процессе замораживания/оттаивания за счет образования водородных связей [227]. Эта сетка отвечает за увеличение упруго-прочностных характеристик. Каррагинан образует физические поперечные связи за счет зацеплений и агрегации спиральных участков [159,228]. Важно, что, в отличие от сшивок поливинилового спирта, переплетения макромолекул каррагинана динамичны и лабильны. Такие сшивки, поскольку они могут быть восстановлены, повышают биомеханическую стабильность при циклических нагрузках. ПЭДОТ представляет собой сопряженный полимер с жесткой цепью, который также увеличивает модуль упругости гидрогеля за счет большей жесткости эластично активных цепей.

### **3.4 Губчато-волоконистые композиты**

В регенеративной медицине наряду с гидрогелями используют волокнистые и губчатые матриксы. Их преимуществом является, прежде всего, высокая пористость. Комбинация таких материалов, формирующая губчато-волоконистый композит, наиболее близко воспроизводит структуру нативного матрикса и позволяет увеличивать биосовместимость скаффолдов.

В рамках данной части работы были получены волокнистые материалы на основе поли-L-лактида и перхлорвинила и исследовано их механическое поведение. Предложена методика получения двухкомпонентных губчато-волоконистых композиционных материалов на основе природных и синтетических полимеров.

### 3.4.1 Исследование механического поведения волокнистых нетканых материалов на основе полилактида

Нетканые волокнистые материалы на основе полилактида получали методом электроформования из раствора полимера. Их характеризовали следующими параметрами: толщина слоя, распределение диаметра волокон и плотность упаковки волокон. Толщина материалов составила  $0,4 \pm 0,2$  мкм. Распределение волокон по диаметру изучали с использованием оптического микроскопа. На Рисунке 24а приведена диаграмма распределения. Среднее значение диаметра волокон – 6,7 мкм. Плотность упаковки характеризует массовую долю волокон в объеме материала, и для данного образца составила  $9 \pm 2$  %.

На Рисунке 24б приведено изображение структуры волокнистого материала, полученное с использованием сканирующей электронной микроскопии. Исследование смачиваемости полученного волокнистого материала показало, что он обладает гидрофобными свойствами. Краевой угол смачивания составляет  $136^\circ$ .

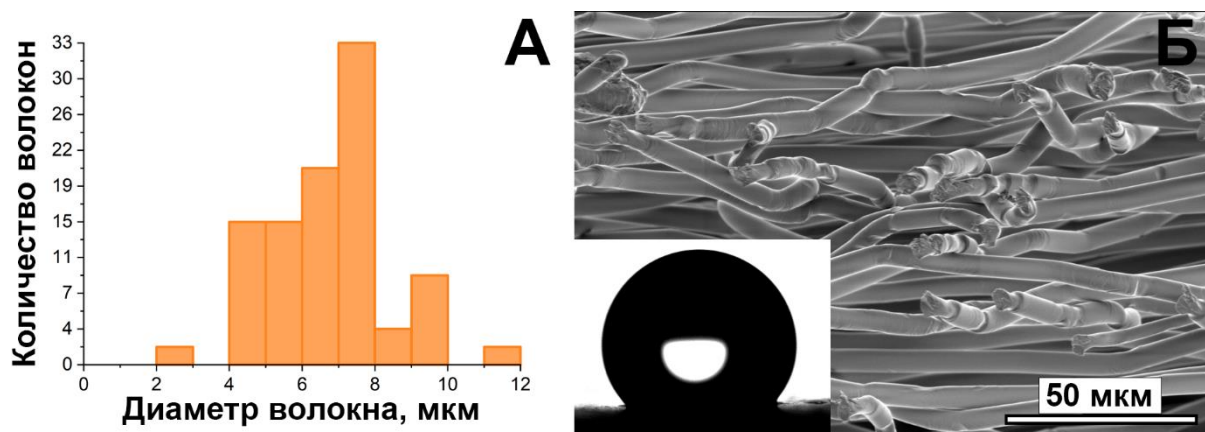


Рисунок 24 – Распределение диаметра волокон в материале из поли-L-лактида (а), СЭМ- изображение структуры полилактидного материала; на врезке – капля тестовой жидкости на поверхности материала

Механические свойства материалов изучали при одноосном растяжении. На Рисунке 25 приведена усредненная деформационная кривая в осях «напряжение–деформация». Она демонстрирует классическое поведение нетканого материала при растяжении с характерными участками: (1) область упругой деформации, (2) область пластической деформации, (3) пик, аналогичный пределу текучести сплошного образца полилактида, (4) плато, соответствующее постепенному разрыву единичных волокон, (5) предел прочности нетканого материала, (6) область разрушения.

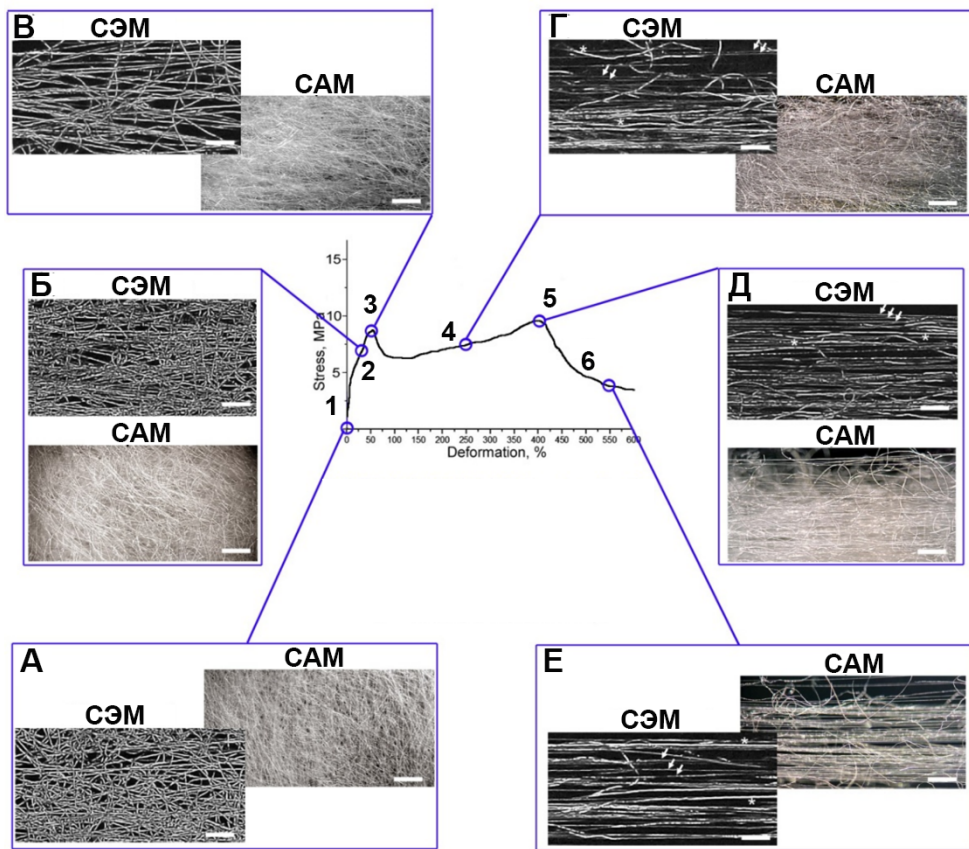


Рисунок 25 – Акустическая визуализация процесса одноосного растяжения волокистого материала

Предел упругой деформации составляет 5 %. Значение модуля Юнга составляет  $121 \pm 10$  МПа. Пластические деформации накапливаются в материале вплоть до 400 %. Значение максимального напряжения, соответствующее пределу прочности материала, достигается в области 400 %

и варьируется от 6,4 до 15,5 МПа. Такой разброс значений можно объяснить колебаниями среднего диаметра волокон в испытываемом образце.

Изменение распределения и ориентации волокон в нетканом материале при растяжении изучали с использованием сканирующей акустической микроскопии. Основываясь на результатах одноосного растяжения образцов, были выбраны следующие точки сканирования: 0, 30, 50, 250, 400, и 550 %.

На участках 1–2 и 2–3 происходит переориентация части исходной разупорядоченной структуры (Рисунок 25а) по направлению приложенной нагрузки (Рисунок 25б). В области первого экстремума (Рисунок 25в) большая часть волокон параллельна оси растяжения и находится в напряженном состоянии, при этом плотность упаковки волокон снижена. На участке 3–4 падение напряжения (разупрочнение) сопряжено с образованием в волокнах шейки (Рисунок 25г). На С-скане видны волокна разной яркости, что свидетельствует об уменьшении диаметра волокон в области деформаций 250 %. По мере дальнейшего увеличения деформации с помощью ультразвука наблюдали последовательное уменьшение диаметра волокон (Рисунок 25г). Точка (5) соответствует пределу прочности и значению максимального напряжения при деформации 400 % (Рисунок 25д). В этой области происходит разрыв большей части волокон. На участке 5-6 происходит последовательное разрушение образца с разрывом наиболее прочных волокон. На микрофотографиях и ультразвуковых изображениях (Рисунок 25е) материала при деформации 550 % видна разреженная микроструктура.

Полученная с использованием акустической микроскопии визуализация процесса деформирования нетканого материала позволяет не только выделить отдельные стадии многостадийного процесса разрушения, но и детально исследовать изменение микроструктуры материала.

### 3.4.2 Губчато-волокнистые композиты на основе полилактида

#### Морфология губчато-волокнистых композитов

Структуру двухкомпонентных губчато-волокнистых композитов исследовали методом сканирующей электронной микроскопии. На Рисунке 26 представлена морфология таких материалов в зависимости от степени наполнения и типа наполнителя. В левом столбце приведены снимки композитов с хитозановым наполнителем. При низкой концентрации пропитывающего раствора, 0,1 масс.%, между волокнами полилактида формируются отдельные нитеобразные связки из хитозана (Рисунок 26а). По мере увеличения концентрации пропитывающего раствора растет число образованных перемычек. Вместе с тем изменяется их форма: при концентрации 1,0 масс.% хитозан формирует пленкообразные связи между волокнами.

При использовании коллагена в качестве наполнителя наблюдается схожее увеличение числа связывающих волокна перемычек, однако даже при высоких концентрациях пропитывающего раствора (до 1,0 масс.%) коллаген в композите остается в виде нитеобразных связок.

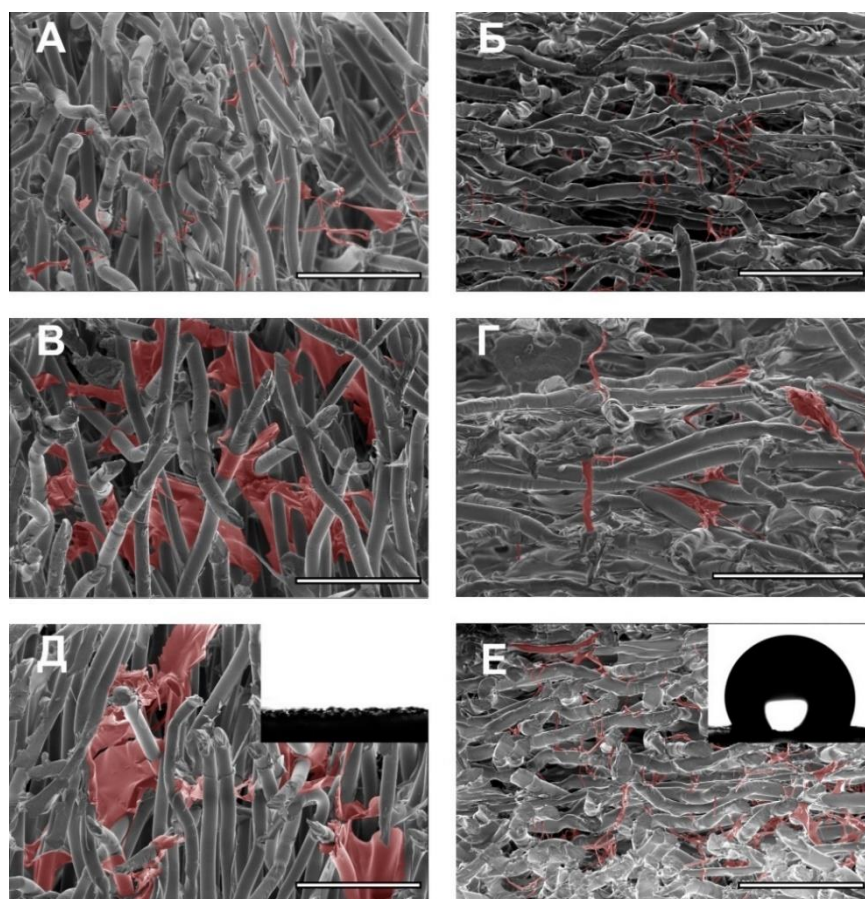


Рисунок 26 – СЭМ-изображения, иллюстрирующие морфологию композитов с хитозаном (а) 0,1 масс.%, (в) 0,5 масс.%, (д) 1,0 масс.% и коллагеном (б) 0,1 масс.%, (г) 0,5 масс.%, (е) 1,0 масс.%; масштаб – 50 мкм; на вставках приведены фотографии капель тестовой жидкости на поверхности композита

Гидрофобная природа волокон влияет на морфологию композита. В предыдущей работе группы [13] были получены подобные композиты на основе гидрофильного волокна из диацетата целлюлозы. При этом волокна были хорошо совместимы с наполнителями, что приводило к более выраженному формированию слоистой структуры при тех же концентрациях раствора наполнителя. Кроме того, такие слоистые структуры оказали влияние на механические свойства. В случае композитов на основе диацетата целлюлозы эффекты роста механических характеристик с увеличением концентрации наполнителя были более выраженными.

### Физико-химические свойства композитов

На Рисунке 27 представлены ИК-спектры полученных образцов. В ИК-спектре ненаполненных нетканых материалов (кривая 1) на основе полилактида наблюдаются полосы, соответствующие валентным колебаниям связи С–Н в метильных группах ( $2995$  и  $2945$   $\text{см}^{-1}$ ), валентным колебаниям карбонильной группы ( $1753$   $\text{см}^{-1}$ ), деформационным колебаниям связей С–Н в метильных группах ( $1382$  и  $1361$   $\text{см}^{-1}$ ), валентные колебания связей С–О в группах –СН–О- и –О–С=О ( $1183$  и  $1129$ ,  $1088$ ,  $1045$   $\text{см}^{-1}$ ) и С–С ( $868$   $\text{см}^{-1}$ ), деформационные колебания метильной группы ( $1453$  и  $755$   $\text{см}^{-1}$ ) [229-231]. Кроме того, исходя из соотношения полос при  $921$   $\text{см}^{-1}$  (соответствующей кристаллической фазе полилактида в виде  $\alpha$ -формы) и  $956$   $\text{см}^{-1}$  (аморфная фаза), можно сделать вывод о том, что полилактид в нетканых материалах находится в аморфном состоянии, что хорошо согласуется с литературными данными [232,233].

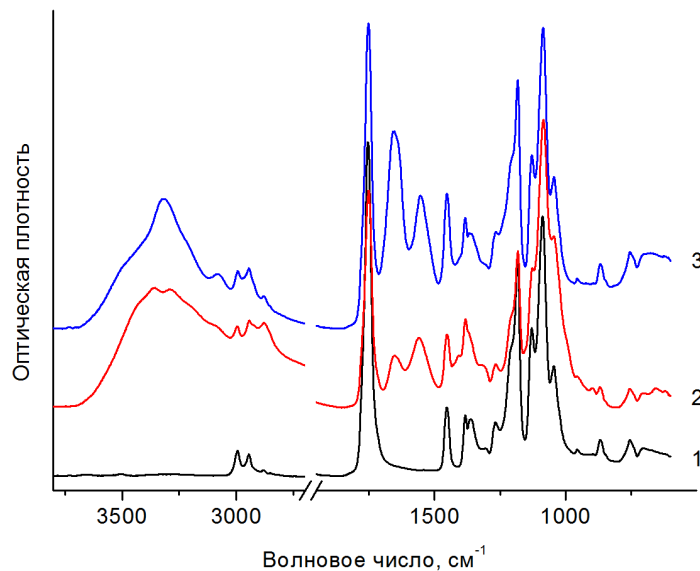


Рисунок 27 – ИК-спектры нетканого материала из полилактида (1), а также композиционных материалов с добавлением хитозана (2) и коллагена (3)

В ИК-спектрах композиционных материалов (кривые 2, 3) появляются новые полосы поглощения, соответствующие колебаниям функциональных



групп хитозана и коллагена [231,234]. Так, в области 3600–3200  $\text{см}^{-1}$  наблюдается широкая полоса поглощения с максимумами при 3356  $\text{см}^{-1}$  и 3290  $\text{см}^{-1}$  для хитозана и 3318  $\text{см}^{-1}$  – для коллагена, соответствующая валентным колебаниям связей N–H. Характеристические полосы Амид I (валентное колебание C=O) и Амид II (деформационные колебания N–H и валентные C–N) наблюдаются в обоих образцах при 1652 и 1553–1558  $\text{см}^{-1}$  соответственно, при этом в коллагене более интенсивной является полоса Амид I, в хитозане – Амид II.

### Смачиваемость

Исходный нетканый материал из полилактида является весьма гидрофобным: значение краевого угла смачивания превышает 130 °; схожий результат наблюдается и при формовании волокон полилактида из расплава [13]. При наполнении данного базового материала хитозаном поверхность становится более гидрофильной, что выражается в снижении значений краевого угла смачивания (Таблица 13). При концентрации хитозана 1 % композиционный материал начинает впитывать наносимые капли тестовой жидкости. Несколько иная картина наблюдается при наполнении базового материала коллагеном: впитывание наблюдается при концентрации коллагена 0,5 %.

Таблица 13 – Значения краевых углов смачивания композитов

Концентрация, %	0,0	0,1	0,5	1,0
Хитозан	136°	124,5°	82,3°	0,0°
Коллаген		114,2°	0,0°	126,6°

Коллагеновый наполнитель обеспечивает водопоглощение при меньшей концентрации наполнителя за счет лучшей способности к набуханию. Однако значительная вязкость 1,0 масс.% раствора коллагена влияет на проникновение наполнителя в структуру волоконной матрицы. Несмотря на относительно высокую степень наполнения, внутрь матрицы вводилось лишь небольшое количество коллагена, и наполнитель в основном скапливался на его поверхности.

Таким образом, увеличение краевого угла смачивания при концентрации коллагена 1,0 масс.% обусловлено образованием коллагеновой пленки на поверхности композита.

### Механические свойства губчато-волокнистых композитов

На Рисунке 28 показаны кривые деформации материала волокнистой полилактидной матрицы, а также кривые напряжение–деформация для хитозановых и коллагеновых губок при растяжении. Модуль Юнга и предел прочности пористых образцов хитозана составили  $65 \pm 8$  МПа и  $3,9 \pm 0,8$  МПа, соответственно, а коллагеновых –  $123 \pm 22$  МПа и  $6,1 \pm 1,3$  МПа. Различия в форме кривых деформирования хитозановых и коллагеновых материалов можно объяснить различием в структуре полимеров. При одноосном растяжении губки происходит постепенная деформация пор в образце в направлении растяжения. Коллагеновая губка имеет более высокие прочностные характеристики по сравнению с хитозановой за счет фибриллярной структуры полимера.

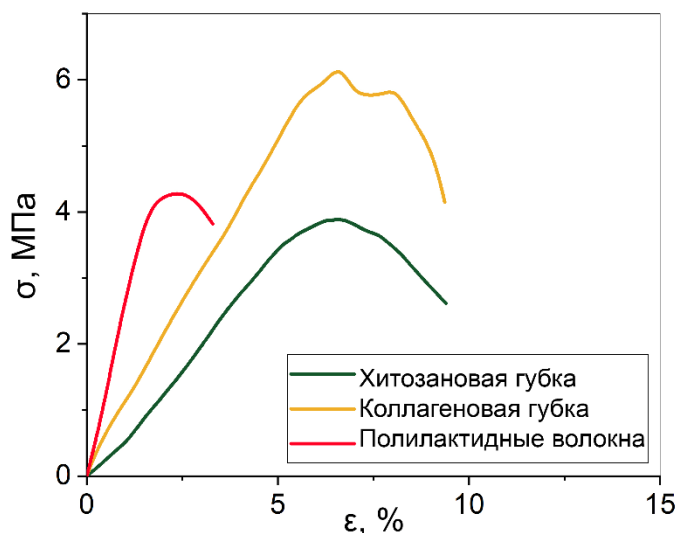


Рисунок 28 – Деформационные кривые мономатериалов при растяжении

Форма кривой деформации ненаполненного материала из полилактида определяется ориентацией и эластичностью волокон. Модуль Юнга и

прочность волокнистого материала составили  $217 \pm 11$  МПа и  $4,5 \pm 0,3$  МПа, соответственно. Это показывает, что прочность волокнистой полилактидной матрицы аналогична прочности хитозановой губки.

Кривые деформации композитов представлены на Рисунке 29. Содержание наполнителя, модуль Юнга и прочность образцов коллагена и хитозана приведены в Таблице 14. Механические свойства композитов значительно превышают соответствующие характеристики хитозановых и коллагеновых губчатых материалов, что связано с армирующим эффектом волокон полилактида. Форма кривой деформации композита незначительно отличается от аналогичной кривой деформации для ненаполненного волокнистого материала. Губчатые соединения в композите ограничивают перестройку относительного расположения волокон, что приводит к увеличению модуля Юнга и прочности.

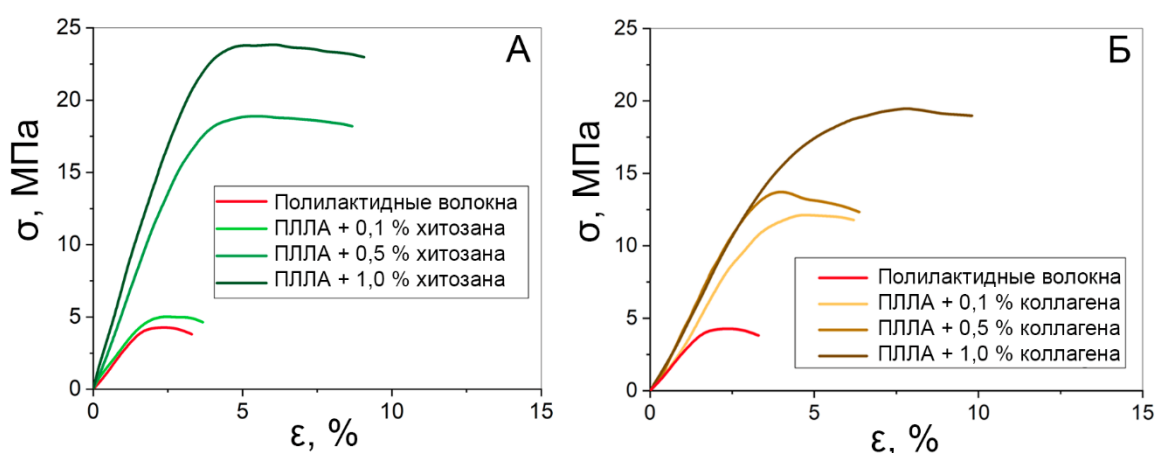


Рисунок 29 – Деформационные кривые композиционных материалов при одноосном растяжении с хитозаном (а), с коллагеном (б)

Как и ожидалось, механические свойства композитов оказались значительно выше, чем у мономатериалов. Однако изменение прочности и модуля Юнга с увеличением степени наполнения было различным для разных полимеров. Для хитозан-содержащих материалов наблюдалось более чем двукратное увеличение модуля и почти четырехкратное увеличение прочности даже при 5%-ной степени наполнения. Тем не менее, дальнейшее

наполнение (до 23 %) не привело к более существенному росту, что указывает на предел механических характеристик для данной комбинации полимеров в такой структуре. Для композитов, содержащих коллаген, прочность и модуль Юнга неуклонно возрастают с увеличением содержания наполнителя. Разница в механических характеристиках композитов с содержанием наполнителя 9 % и 16 % незначительна из-за упомянутого выше барьера пропитки. Коллагеновая пленка на поверхности композита оказывает небольшое влияние на механические свойства материала, тогда как основной вклад вносит коллаген в объеме. Количество коллагеновых соединений внутри композита было одинаковым для обоих образцов, что можно оценить по изображениям СЭМ. Количественно механические свойства этих образцов уступали хитозановым. Это можно объяснить морфологией формируемой связки между полилактидными волокнами. Как уже было показано, хитозан формировал пленкообразные соединения между волокнами, а коллаген – волокнообразные. Пленки представляют собой более жесткие структуры, чем волокна, что обуславливает больший суммарный модуль Юнга хитозан-содержащих композитов. Кроме того, площадь контакта пленки с волокном больше по сравнению с площадью контакта волокна, что способствовало улучшению механических характеристик.

Таблица 14 – Механические характеристики композиционных материалов

Наполнитель	[C], %	Степень наполнения, %	E, МПа	$\sigma_b$ , МПа
Хитозан (губка)	1,0		65±8	3,9±0,8
Коллаген (губка)	1,0		123±22	6,1±1,3
нет	0,0		217±11	4,5±0,3
Хитозан	0,1	0	279±37	5,4±1,0

Наполнитель	[C], %	Степень наполнения, %	E, МПа	$\sigma_B$ , МПа
Хитозан	0,5	2	513±57	19,1±0,7
Хитозан	1,0	5	613±11	23,9±0,8
Коллаген	0,1	3	348±22	12,3±2,4
Коллаген	0,5	9	386±14	14,6±0,8
Коллаген	1,0	16	393±28	19,7±1,5

В данной части работы были разработаны губчато-волокнистые материалы на основе полилактидных волокон с наполнителями из коллагена и хитозана. Изучение морфологии показало образование полимерных связей между волокнами в композитах. Выявлено, что хитозан формирует пленкообразные соединительные прослойки, которые значительно влияют на механические свойства материала. Коллагеновая фибриллярная структура способствовала формированию волокнообразных «мостиков» и влияла на степень наполнения композитов при концентрации пропитывающего раствора 1,0 масс.%. Изучена смачиваемость разработанных биоматериалов с водой и показана возможность регулирования смачиваемости композита.

Механические исследования показали, что в отличие от хитозана коллагеновый наполнитель упрочняет материал при низких степенях наполнения, что связано с фибриллярной структурой коллагена и образованием соединений между волокнами при меньшей концентрации наполнителя. Однако дальнейшее улучшение свойств с увеличением концентрации пропитывающего раствора было незначительным. Это можно объяснить достижением предела пропитки из-за высокой вязкости и неоднородности раствора коллагена. Напротив, модуль Юнга и прочность увеличиваются пропорционально увеличению концентрации хитозана. Прочность и модуль Юнга хитозан-содержащих композитов выше за счет частичной кристалличности хитозана, что определяет большую жесткость образующихся связей.

Предложенный подход позволил воспроизвести морфологию нативного клеточного каркаса на основе прочного синтетического волокнистого материала и натуральных биоадекватных наполнителей. Разработанные материалы также показали соответствующие механические характеристики. Таким образом, предложенный подход позволяет гибко регулировать механические свойства, смачиваемость и биологическую активность высокопористых матриксов.

### **3.4.3 Губчато-волокнистые композиты на основе перхлорвинила**

В ряде биотехнологических применений необходимость в биоразлагаемом нетканом материале отсутствует, поэтому для более полного исследования возможностей подхода модификации нетканых электроформованных материалов была исследована структура, физико-химические и функциональные свойства губчато-волокнистых композитов на основе перхлорвинила.

Методом электроформования получены волокнистые материалы на основе хлорированного поливинилхлорида, с плотностью упаковки от 4 до 11% и средним диаметром волокна 5,5 мкм. Распределение волокон по размерам представлено на Рисунке 30 (а,б,в) для каждого материала. В отличие от остальных ПХВ 11 имеет бимодальное распределение волокон по размерам с пиками 2,5 и 8,0 мкм.

После пропитки раствором хитозана с низкой молекулярной массой (80 кДа) волокнистой структуры образцы замораживали и подвергали сублимационной сушке. В результате лиофилизации был сформирован композиционный материал с регулируемой волокнисто-губчатой морфологией. Для изготовления каркасов из губчатой ткани различной архитектуры регулировались следующие параметры: концентрация раствора

полимера от 0,1 до 1,0 масс.%. Максимальная концентрация раствора наполнителя определялась его способностью диффундировать в волокнистую основу высокомолекулярного соединения и равномерностью его объемного распределения. Гравиметрические измерения показали, что массовая доля хитозана в композите пропорциональна концентрации раствора полимера для пропитки волокнистой подложки и колеблется от 0 до 45 %.

На Рисунке 30 представлены фотографии композиционных материалов: в столбце 1 (а-в) показана ненаполненная волокнистая основа для каждой плотности упаковки; столбцы 2, 3 и 4 соответствуют волокнистым наполнителям из 0,1, 0,5 и 1,0 масс.% раствора хитозана.

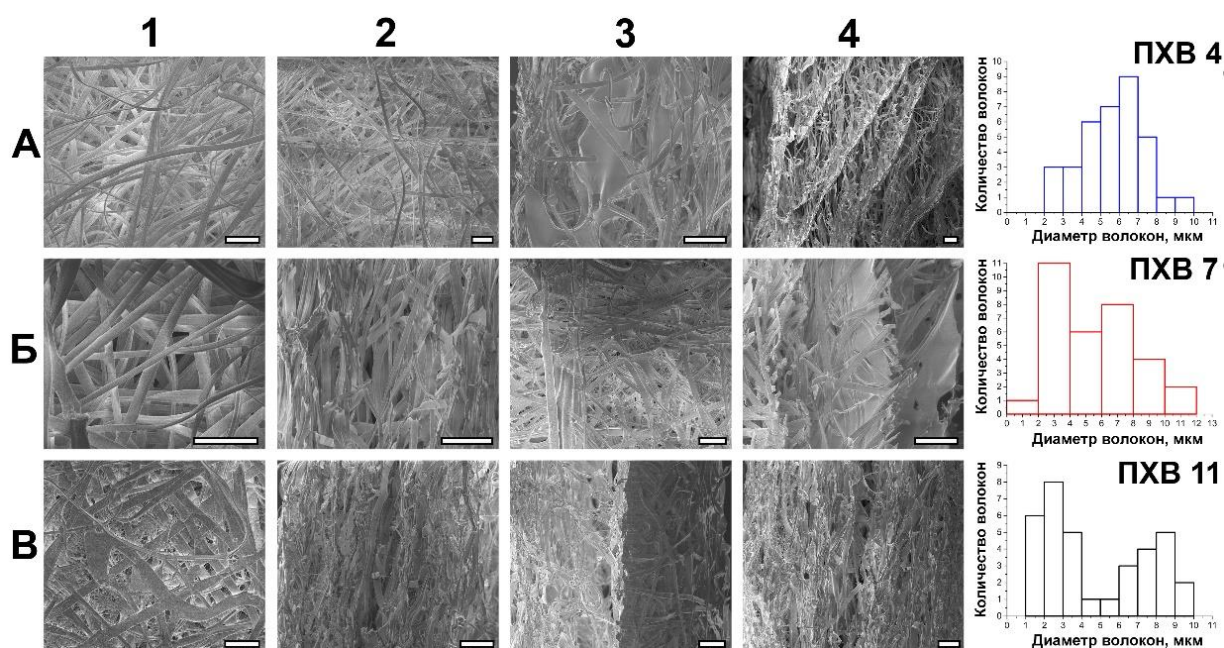


Рисунок 30 – Микрофотографии композитных материалов с различной концентрацией пропитывающего раствора: 0,1%: 1-4 а – ПХВ 4; 0,5%: 1-4 б – ПХВ 7; 1,0%: 1-4 в – ПХВ 11; масштабная линейка – 50 мкм, на вставках приведено распределение волокон по размерам

Как видно из Рисунка 30 (2а-2в), при использовании 0,1% раствора хитозана образуются соединения между волокнами ПХВ, фиксирующие систему. Более существенное заполнение композита 0,5% раствором (Рисунок 30 (3а-3в)) приводит к образованию пленки хитозана,

фиксирующей волокна. При значительном наполнении свыше 1,0 % хитозановый наполнитель образует сплошные слои. В зависимости от исходной ориентации волокон сплошные пленки наполнителя либо пронизывают массив волокон, Рисунок 30 (4а), либо ориентируются вдоль слоя волокон, частично покрывая его (Рисунок 30 (4б)). Увеличение плотности упаковки нивелирует эффект, приводя к образованию плотной слоисто-пленочно-волокнутой структуры (Рисунок 30 (4в)).

Хитозановый наполнитель внедряется в волокнистую сетку без изменения морфологии основного нетканого материала. При достаточной степени наполнения хитозан образует оболочку вокруг перхлорвиниловых волокон. Как видно из Таблицы 15, введение добавки хитозана значительно уменьшает диаметр пор для материала с меньшей плотностью упаковки.

Таблица 15 – Диаметр пор композиционных материалов

[C], %	ПХВ 4, d, мкм	ПХВ 7 d, мкм	ПХВ 11 d, мкм
0,0	20,8±4,8	15,8±3,1	7,0±0,8
0,1	20,8±3,9	9,2±1,7	7,0±0,9
0,5	12,6±2,1	9,0±1,2	6,4±0,5
1,0	9,4±1,6	8,2±0,9	5,0±0,3

Исследование ИК-спектров показало двухкомпонентную структуру композита. Композит имеет спектр, характерный для материала на основе хлорированного поливинилхлорида, за исключением наличия области плато 3330 см<sup>-1</sup>, соответствующей пикам хитозана, связанным с валентными колебаниями ОН и NH (3346 см<sup>-1</sup>); и два пика 1649 и 1558 см<sup>-1</sup>, соответствующие колебаниям Амида I и Амида II. Это предполагает возможность хитозана выступать в качестве флокулянта без изменения его свойств.



Проведены механические испытания подготовленных губчато-волоконистых образцов. На Рисунке 31 показаны типичные зависимости напряжения от деформации для хитозановой губки (фиолетовый цвет) и перхлорвиниловых материалов с хитозановым наполнителем. Результаты указывают на синергетический эффект, когда прочность двухкомпонентного материала выше прочности каждого из компонентов при сохранении плотности упаковки материала.

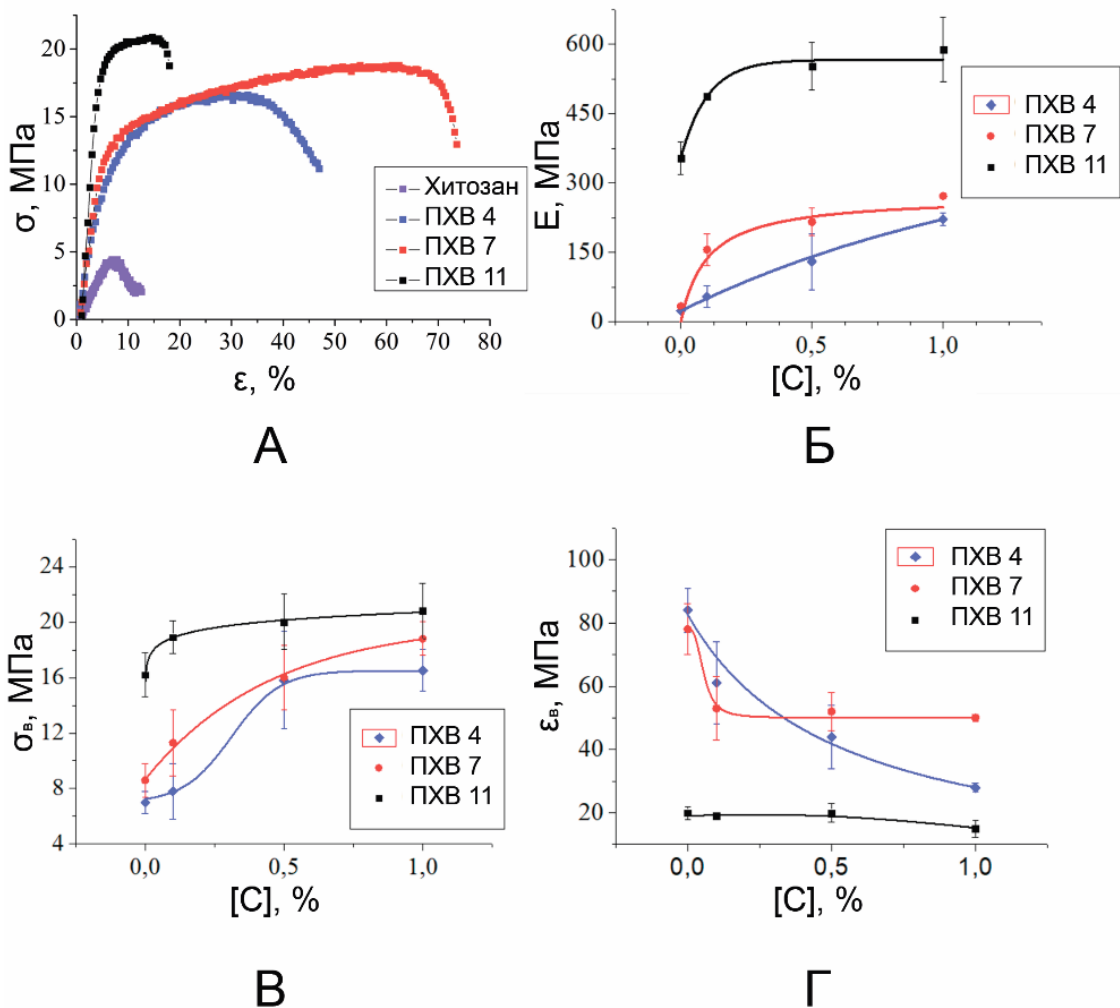


Рисунок 31 – Результаты механических испытаний композитов: деформационные кривые растяжения исходных волоконистых материалов (а), зависимость модуля Юнга (б), прочности (в) и удлинения при разрыве (г) композитов от концентрации пропитывающего раствора

Следует отметить, что механическое поведение исходных нетканых материалов различается. ПХВ 11 имеет большую прочность до 16 МПа, за счет большей плотности упаковки. Как видно из Рисунка 31, введение губчатого компонента значительно повышает модуль Юнга и прочность композиционных материалов.

В Таблице 16 приведены механические характеристики материалов на воздухе и в тестовой жидкости.

Таблица 16 – Механические характеристики композиционных материалов

Образец	[C], %	Е, МПа	
		сухой / набухший	$\sigma_b$ , МПа
ПХВ 4 4 %	0	24/17	8,6/5,9
	0,1	100/34	9,6/7,1
	0,5	117/65	10,8/8,9
	1,0	236/82	15,0/9,7
ПХВ 7 7 %	0	30/20	8,8/5,8
	0,1	149/37	9,6/6,0
	0,5	235/200	22,9/17,5
	1,0	305/200	25,1/17,7
ПХВ11 11 %	0	390/310	16,2/16,5
	0,1	450/278	18,0/13,8
	0,5	568/345	19,9/16,5
	1,0	590/341	19,6/17,0

Повышение механических характеристик при низком наполнении связано с возникновением хитозановых соединений между волокнами ПХВ,

которые фиксируют все единичные волокна системы. Дальнейшее наполнение хитозаном приводит к образованию сплошной сетки, что увеличивает жесткость композиционного материала. Одновременно снижается деформация при разрыве и изменяется вид кривой напряжение-деформация. Губчатый компонент упруго сопротивляется приложенной нагрузке при начальной деформации. Волокнисто-губчатые комплексы начинают перемещаться относительно друг друга в области смешанной деформации. Уплотнение материала происходит в области пластической деформации, и волокна ориентируются вдоль приложенной нагрузки. Далее начинается лавинообразное разрушение перенапряженного материала.

Набухшие образцы демонстрируют сниженные механические свойства. Механические испытания в набухом состоянии показали, что введение губчатого компонента улучшает механические характеристики в случае большей пористости нетканой основы. Наполнение хитозаном более плотного материала ПХВ11 незначительно влияет на механические характеристики композиционного материала. Однако при добавлении небольшого количества наполнителя (0,1% раствор хитозана) модуль Юнга и прочность снижаются. В этом случае хитозановые мостики не образуют перколяционной сетки (из-за высокой плотности слоев волокон) и действуют как концентраторы напряжений. В результате обрыв перенапряженных волокон происходит гораздо раньше.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Данная работа посвящена разработке подходов и методов направленного варьирования механических свойств полимерных композиционных систем для тканевой инженерии. Она включает в себя исследования материалов с различной морфологией и механическими характеристиками.

В части работ с гидрогелевыми материалами была предложена методика систематического исследования механического поведения гидрогелевых материалов, включающая в себя механические испытания различных видов: одноосное растяжение, сжатие, кручение и индентирование. Верификацию полученных результатов проводили с привлечением численного эксперимента на индентирование с использованием метода конечных элементов и аналитической оценки. Дополнительно была проведена аппроксимация деформационных кривых, полученных в натурном эксперименте на растяжение, моделями гиперупругого поведения. В качестве модельного материала использовали гидрогели на основе полиакриламида. Проведенный анализ результатов механических испытаний различного типа, а также численного эксперимента подтвердил достоверность результатов предложенной методики. В ходе анализа был выявлен эффект асимметрии механических свойств растяжения и сжатия для гидрогелей с высокой степенью сшивки. Значения модуля упругости использованных в работе полиакриламидных гидрогелей соответствуют значениям для некоторых мягких биологических тканей, что позволяет использовать такие гидрогели в качестве тканеимитирующих фантомов.

Была проведена оценка применимости разработанного подхода к исследованию механического поведения систем на основе гидрогеля с полимерными наполнителями в виде пористых частиц. Сравнительный

анализ результатов механических испытаний при одноосном растяжении и сжатии подтверждает достоверность использованного подхода для определения упругих свойств композиционных гидрогелевых материалов.

Были синтезированы криогели на основе поливинилового спирта и йота-каррагинана с добавкой сопряженного полимера ПЭДОТ:ПСС для получения материалов с проводящими свойствами. Поскольку потенциальным применением такого композита является его использования в качестве электрода в имплантируемом биотопливном элементе, устанавливаемом в венозные стенты, механические свойства материала сравнивали с механическими свойствами бычьей вены, а также изучали их в условиях циклических нагрузок. Согласно результатам механических испытаний разработанный криогель обладает достаточными для эксплуатации механическими характеристиками, в том числе циклической стабильностью.

В части работы, посвященной исследованию механических свойств губчато-волоконистых материалов, была предложена методика получения таких композитов, изучена их морфология и физико-химические свойства. Добавление губчатой компоненты на основе природных полимеров в состав волокнистой матрицы приводит к гидрофилизации поверхности и формированию в композите архитектуры, подобной архитектуре нативного внеклеточного матрикса. Результаты исследования механических свойств губчато-волоконистых материалов на основе полилактида и перхлорвинила демонстрируют увеличение упруго-прочностных характеристик и возможность направленного регулирования механических свойств композита путем варьирования количества наполнителя. Предложенные губчато-волоконистые композиты на основе полилактида могут быть использованы в тканевой инженерии в качестве искусственных клеточных каркасов.

## ВЫВОДЫ

1. Предложена методика определения параметров упругости гидрогелей на основе полиакриламида с привлечением испытаний на одноосное растяжение, сжатие, кручение и бесконтактного метода определения коэффициента Пуассона. Полученные значения параметров упругости верифицированы в экспериментах на индентирование. Значения модуля сдвига, полученные в ходе аппроксимации деформационных кривых растяжения моделями гиперупругого поведения, совпадают с экспериментальными значениями. Для полиакриламидных гидрогелей с концентрацией сшивок в диапазоне от 1,0% до 9,0% показано хорошее соответствие результатов разных методов механических испытаний.
2. Показано, что механическое поведение полиакриламидных гидрогелей и криогелей на основе поливинилового спирта с каррагинаном сопоставимо с поведением нативных мягких тканей: модули сдвига, определенные по результатам аппроксимации моделями гиперупругости, лежат в диапазоне от 7 до 55 кПа, что соответствует значениям модуля сдвига для миокарда, кожи, почки, печени, мышечных тканей и языка
3. Разработана методика наполнение пористыми частицами на основе полилактида полиакриламидных гидрогелей. Предложенный подход позволил получить трехкратный рост модуля упругости гидрогелей при введение не более 1 масс.% наполнителя за счет его пористой структуры.
4. Разработана методика модификации нетканого волокнистого материала природными полимерами для получения биоподобной структуры внеклеточного матрикса с сохранением высокой пористости.
5. Подтверждено, что внедрение в волокнистую матрицу коллагена и хитозана приводит к гидрофилизации поверхности и формированию среды, пригодной для заселения водорослевыми клеточными культурами. Снижение пористости композиционного материала на 1% за счет

добавления природного губчатого наполнителя приводит к 5-кратному росту упруго-прочностных свойств материала.

**Перспективы** дальнейшей работы по теме диссертационного исследования заключаются в практическом применении разработанных гидрогелей и композитов на их основе в качестве тканеимитирующих фантомов мягких биологических тканей; в применении разработанной методики определения механических свойств к другим гелевым структурам и мягким материалам, включая биологические ткани; в исследовании биологической совместимости разработанных композиционных губчато-волоконистых материалов с клеточными культурами различного типа.

### Список сокращений и обозначений

- БИС – N,N'-метиленбисакриламид
- ВКМ – внеклеточный матрикс
- МКЭ – метод конечных элементов
- МР – Муни-Ривлин
- НГ – Нео-Гук
- ПВА – поливинилацетат
- ПВС – поливиниловый спирт
- ПЛА – полилактид
- ПЛЛА – поли-L-лактид
- ПХВ – перхлорвинил
- ПЭДОТ:ПСС – поли(3,4-этилендиокситиофен):поли(стиролсульфонат)
- САМ – сканирующая акустическая микроскопия
- СЭМ – сканирующая электронная микроскопия
- E – модуль Юнга
- G – модуль сдвига
- $\varepsilon_B$  – деформация разрушения
- $\sigma_B$  – предел прочности
- $\nu$  – коэффициент Пуассона
- %C – концентрация сшивателя в геле
- %T – общая концентрация полимера в геле



## Список литературы

1. Mooradian, D. L. Allografts and xenografts in soft tissue repair: Current use and future trends / D. L. Mooradian // *Extracellular Matrix-derived Implants in Clinical Medicine*. – Woodhead Publishing, 2016. – P. 41-62.
2. Shibuya, N. Bone graft substitute: allograft and xenograft / N. Shibuya, D. C. Jupiter // *Clinics in podiatric medicine and surgery*. – 2015. – Vol. 32. – №. 1. – P. 21-34.
3. Готье, С. В. Донорство и трансплантация органов в Российской Федерации в 2021 году. XIV сообщение регистра Российского трансплантологического общества / С. В. Готье, С. М. Хомяков // *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. – 2022. – Т. 24. – №. 3. – С. 8-31.
4. Furth, M. E. Tissue engineering: future perspectives / M. E. Furth, A. Atala // *Principles of tissue engineering*. – Academic Press, 2014. – С. 83-123.
5. Badylak, S. F. The extracellular matrix as a biologic scaffold material / S. F. Badylak // *Biomaterials*. – 2007. – №. 25. – P.3587-3593.
6. Agmon, G. Controlling stem cell behavior with decellularized extracellular matrix scaffolds / G. Agmon, K. L. Christman // *Current Opinion in Solid State and Materials Science*. – 2016. – Vol. 20. – №. 4. – P. 193-201.
7. Extracellular matrix structure / A. D. Theocharis, S. S. Skandalis, C. Gialeli, N. K. Karamanos // *Advanced drug delivery reviews*. – 2016. – Vol. 97. – P. 4-27.
8. Nikolova, M. P. Recent advances in biomaterials for 3D scaffolds: A review / M. P. Nikolova, M. S. Chavali // *Bioactive materials*. – 2019. – Vol. 4. – P. 271-292.
9. Defining a scaffold for ligament tissue engineering: What has been done, and what still needs to be done / C. Laurent, X. Liu, N. De Isla [et al.] // *Journal of Cellular Immunotherapy*. – 2018. – Vol. 4. – №. 1. – P. 4-9.

10. Spicer, C. D. Hydrogel scaffolds for tissue engineering: The importance of polymer choice / C. D. Spicer // *Polymer Chemistry*. – 2020. – Vol. 11. – №. 2. – P. 184-219.
11. Fabrication and characterization of conductive polypyrrole/chitosan/collagen electrospun nanofiber scaffold for tissue engineering application / M. Zarei, A. Samimi, M. Khorram [et al.] // *International Journal of Biological Macromolecules*. – 2021. – Vol. 168. – P. 175-186.
12. Porous nanocellulose gels and foams: Breakthrough status in the development of scaffolds for tissue engineering / F. V. Ferreira, C. G. Otoni, K. J. De France [et al.] // *Materials Today*. – 2020. – Vol. 37. – P. 126-141.
13. Multi-hierarchical tissue-engineering ECM-like scaffolds based on cellulose acetate with collagen and chitosan fillers / K. I Lukanina, T. E Grigoriev, S. V Krasheninnikov [et al.] // *Carbohydrate polymers*. – 2018. – Vol. 191. – P. 119-126.
14. Wasupalli, G. K. Injectable and thermosensitive nanofibrous hydrogel for bone tissue engineering / G. K. Wasupalli, D. Verma // *Materials Science and Engineering: C*. – . 2020. – Vol. 107. – P. 110343.
15. Chandra, P. K. Tissue engineering: Current status and future perspectives / P. K. Chandra, S. Soker, A. Atala // *Principles of tissue engineering*. – 2020. – P. 1-35.
16. *Biomaterials Science-An Introduction to Materials in Medicine* / B. D. Ratner, A. S. Hoffman, F. J. Schoen, J. E. Lemons. – Academic Press, 2004. – 864 p.
17. Tudu, M. Natural polysaccharides: Chemical properties and application in pharmaceutical formulations / M. Tudu, A. Samanta // *European Polymer Journal*. – 2023. – Vol. 184. – P. 111801.
18. Croisier, F. Chitosan-based biomaterials for tissue engineering / F. Croisier, Ch. Jerome // *European Polymer Journal*. – 2013. – № 49. – P.780-792.
19. Chitosan functionalized poly(vinyl alcohol) for prospects biomedical and industrial applications: A review / A. Rafique, K. M. Zia, M. Zuber [et al.] // *International Journal of Biological Macromolecules*. – 2016. – № 87. – P.141-154.

20. New, N. The mechanical and biological properties of chitosan scaffolds for tissue regeneration templates as significantly enhanced by chitosan from *Gongronella butleri* / N. New, T. Furuike, H. Tamura // *Materials*. – 2009. – № 2. – P.374-398.
21. Recent advancements in applications of chitosan-based biomaterials for skin tissue engineering / A. Madni, R. Kousar, N. Naeem, F. Wahid // *Journal of Bioresources and Bioproducts*. – 2021. – Vol. 6. – №. 1. – P. 11-25.
22. Deng, Y. *Functional 3D Tissue Engineering Scaffolds* / Y. Deng, J. Kuiper. – Woodhead Publishing, 2018. – 464 p.
23. Applications and degradation of proteins used as tissue engineering materials / H.-J. Wang, L. Di, Q.-S. Ren, J.-Y Wang // *Materials*. – 2009. – Vol. 2. – №. 2. – P. 613-635.
24. Tronci, G. The application of collagen in advanced wound dressings / G. Tronci // *Advanced Textiles for Wound Care*. – 2018. – P.363-389.
25. Matthew, D. Shoulders and Ronald T. Raines. Collagen structure and stability / D. Matthew // *Annual Review of Biochemistry*. – 2010. – Vol 78. – P.929-958.
26. Development of industrial ultrasound system for mass production of collagen and biochemical characteristics of extracted collagen / K.-M. Song, S. K. Jung, Y. H. Kim [et al.] // *Food and Bioproducts Processing*. – 2018. – Vol. 110. – P. 96-103.
27. Recent advances of collagen-based biomaterials: Multi-hierarchical structure, modification and biomedical applications / X. Liu, C. Zheng, X. Luo [et al.] // *Materials Science and Engineering: C*. – 2019. – Vol. 99. – P. 1509-1522.
28. Основы биохимии Ленинджера: в 3 т. Т. 1: Основы биохимии, строение и катализ / Д. Нельсон, М. Кохс ; пер. с англ. – 5-е изд., перераб. и доп. – М. : Лаборатория знаний, 2022. – 703 с.
29. Novel biomedical applications of crosslinked collagen / L. Gu, T. Shan, Y.-X. Ma [et al.] // *Trends in biotechnology*. – 2019. – Vol. 37. – №. 5. – P. 464-491.
30. An, B. Collagen interactions: Drug design and delivery / B. An, Y. S. Lin, B. Brodsky // *Advanced drug delivery reviews*. – 2016. – Vol. 97. – P. 69-84.

31. A comparative review of natural and synthetic biopolymer composite scaffolds / M. S. B. Reddy, D. Ponnamma, R. Choudhary, K. K. Sadasivuni // *Polymers*. – 2021. – Vol. 13. – №. 7. – P. 1105.
32. Jin, W. Orthopedic implants / W. Jin, P. K. Chu // *Encyclopedia of biomedical engineering*. – 2019. – Vol. 1. – №. 3. – P. 425-439.
33. Acrylate and methacrylate polymers' applications: second life with inexpensive and sustainable recycling approaches / C. Corsaro, G. Neri, A. Santoro, E. Fazio // *Materials*. – 2021. – Vol. 15. – №. 1. – P. 282.
34. Gao, F. *Advances in polymer nanocomposites: Types and applications* / F. Gao. – Woodhead Publishing, 2012. – 651 p.
35. A review on poly lactic acid (PLA) as a biodegradable polymer / N.-A. A. B. Taib, M. R. Rahman, D. Huda [et al.] // *Polymer Bulletin*. – 2023. – Vol. 80. – №. 2. – P. 1179-1213.
36. Biocompatible synthetic polymers for tissue engineering purposes / Z. Terzopoulou, A. Zamboulis, I. Koumentakou [et al.] // *Biomacromolecules*. – 2022. – Vol. 23. – №. 5. – P. 1841-1863.
37. *Principles of regenerative medicine* / A. Atala, R. Lanza, A. G. Mikos, R. Nerem. – Academic press, 2019. – 1428 p.
38. Yang, T. H. Recent applications of polyacrylamide as biomaterials / T. H. Yang // *Recent Patents on Materials Science*. – 2008. – Vol. 1. – №. 1. – P. 29-40.
39. Oyen, M. L. Mechanical characterization of hydrogel materials / M. L. Oyen // *International Materials Reviews*. – 2014. – Vol. 59. – №. 1. – P. 44-59.
40. Acrylic acid/acrylamide based hydrogels and its properties-A review / G. Sennakesavan, M. Mostakhdemin, L. K. Dkhar [et al.] // *Polymer Degradation and Stability*. – 2020. – Vol. 180. – P. 109308.
41. Zaborniak, I. Riboflavin-mediated radical polymerization–Outlook for eco-friendly synthesis of functional materials / I. Zaborniak, P. Chmielarz // *European Polymer Journal*. – 2021. – Vol. 142. – P. 110152.

42. Wang, Y. Creating complex polyacrylamide hydrogel structures using 3D printing with applications to mechanobiology / Y. Wang, D. Li // *Macromolecular bioscience*. – 2020. – Vol. 20. – №. 7. – P. 2000082.
43. Biodegradation of poly (vinyl alcohol) based materials / E. Chiellini, A. Corti, S. D'Antone, R. Solaro // *Progress in Polymer science*. – 2003. – Vol. 28. – №. 6. – P. 963-1014.
44. Biopolymers PVA Hydrogels, Anionic Polymerisation Nanocomposites / S. Monnerie, W. Suter, E.L. Thomas, W.R.J. Young. – Berlin Heidelberg, Germany: Springer, 2000. – 221 p.
45. Teodorescu, M. Biomaterials of PVA and PVP in medical and pharmaceutical applications: Perspectives and challenges / M. Teodorescu, M. Bercea, S. Morariu // *Biotechnology Advances*. – 2018. – №. 1. – P.109-131.
46. Peppas, N. A. Development of Semicrystalline Poly (vinyl Alcohol) Hydrogels for Biomedical Applications / N. A. Peppas, E. W. Merrill // *Journal of biomedical materials reference*. – 1997. – №. 11. – P.423-434.
47. Crosslinked poly(vinyl alcohol) hydrogels for wound dressing applications: A review of remarkably blended polymers / E. A. Kamoun, X. Chen, M. S. M. Eldin, E.-R. S. Kenawy // *Arabian Journal of Chemistry*. – 2015. – №. 1. – P.1-14.
48. Nathan, K. G. Polyvinyl Alcohol-Chitosan Scaffold for Tissue Engineering and Regenerative Medicine Application: A Review / K. G. Nathan, K. Genasan, T. Kamarul // *Marine Drugs*. – 2023. – Vol. 21. – №. 5. – P. 304.
49. Nedaipour F. Polylactic acid-polyethylene glycol-hydroxyapatite composite an efficient composition for interference screws / F. Nedaipour, H. Bagheri, S. Mohammadi // *Nanocomposites*. – 2020. – Vol. 6. – №. 3. – P. 99-110.
50. Maitz M. F. Applications of synthetic polymers in clinical medicine / M. F. Maitz // *Biosurface and Biotribology*. – 2015. – Vol. 1. – №. 3. – P. 161-176.
51. Synthetic biopolymers and their composites: Advantages and limitations—An overview / A. Mtibe, M. P. Motloug, J. Bandyopadhyay, S. S. Ray // *Macromolecular Rapid Communications*. – 2021. – Vol. 42. – №. 15. – P. 2100130.

52. Farah, S. Physical and mechanical properties of PLA, and their functions in widespread applications—A comprehensive review / S. Farah, D. G. Anderson, R. Langer // *Advanced drug delivery reviews*. – 2016. – Vol. 107. – P. 367-392.
53. Pretula J. Polylactides—Methods of synthesis and characterization / J. Pretula, S. Slomkowski, S. Penczek // *Advanced drug delivery reviews*. – 2016. – Vol. 107. – P. 3-16.
54. Biocompatibility, biodegradation and excretion of polylactic acid (PLA) in medical implants and theranostic systems / D. da Silva, M. Kaduri, M. Poley [et al.] // *Chemical Engineering Journal*. – 2018. – Vol. 340. – P. 9-14.
55. Biodegradable poly (l-lactide)/calcium phosphate composites with improved properties for orthopedics: Effect of filler and polymer crystallinity / V. A Demina, S. V Krashennnikov, A. I Buzin [et al.] // *Materials Science and Engineering: C*. – 2020. – Vol. 112. – P. 110813.
56. Saini, P. Poly (lactic acid) blends in biomedical applications / P. Saini, M. Arora, M. N. V. R. Kumar // *Advanced drug delivery reviews*. – 2016. – Vol. 107. – P. 47-59.
57. Poly (lactic acid)—Mass production, processing, industrial applications, and end of life / E. Castro-Aguirre, F. Iñiguez-Franco, H. Samsudin [et al.] // *Advanced drug delivery reviews*. – 2016. – Vol. 107. – P. 333-366.
58. Fundamentals of biomechanics: equilibrium, motion, and deformation / N. Özkaya, D. Leger, D. Goldsheyder, M. Nordin. – Charm: Springer, 2016. – 454 p.
59. Ван-Кревелен, Д. В. Свойства и химическое строение полимеров / Д. В. Ван-Кревелен. – М: «Химия», 1976. – 416 с.
60. Fung, Y. C. Biomechanics: mechanical properties of living tissues / Y. C. Fung. – NY: Springer Science & Business Media, 2013. – 433 p.
61. Upadhyay, K. Hyperelastic constitutive modeling of hydrogels based on primary deformation modes and validation under 3D stress states / K. Upadhyay, G. Subhash, D. Spearot // *International Journal of Engineering Science*. – 2020. – Vol. 154. – P. 103314.

62. Kalra A. Mechanical behavior of skin: a review / A. Kalra, A. Lowe, A. M. Al-Jumaily // *Journal of Material Sciences and Engineering*. – 2016. – Vol. 5. – №. 4. – P. 1000254.
63. Fifty shades of brain: a review on the mechanical testing and modeling of brain tissue / S. Budday, T. C. Ovaert, G. A. Holzapfel [et al.] // *Archives of Computational Methods in Engineering*. – 2020. – Vol. 27. – P. 1187-1230.
64. Indentation analysis of biphasic viscoelastic hydrogels / K.S. Toohy, S. Kalyanam, J. Palaniappan, M.F. Insana // *Mechanics of Materials*. – 2016. – Vol. 92. – P. 175-184.
65. Tumor localization using automated palpation with gaussian process adaptive sampling / A. Garg, S. Sen, R. Kapadia [et al.] // *2016 IEEE International Conference on Automation Science and Engineering (CASE)*. – IEEE, 2016. – P. 194-200.
66. Singh G. Mechanical properties of whole-body soft human tissues: A review / G. Singh, A. Chanda // *Biomedical Materials*. – 2021. – Vol. 16. – №. 6. – P. 062004.
67. Chanda, A. Mechanical Properties of Human Tissues // A. Chanda, G. Singh. – Singapore: Springer, 2023. – 92 p.
68. Passive myocardial mechanical properties: meaning, measurement, models / R. Emig, C. M Zgierski-Johnston, V. Timmermann [et al.] // *Biophysical Reviews*. – 2021. – P. 1-24.
69. Softening effects in biological tissues and NiTi knitwear during cyclic loading / Y. F. Yasenckuk, E. S. Marchenko, S. V. Gunter [et al.] // *Materials*. – 2021. – Vol. 14. – №. 21. – P. 6256.
70. Upadhyay, K. Visco-hyperelastic constitutive modeling of strain rate sensitive soft materials / K. Upadhyay, G. Subhash, D. Spearot // *Journal of the Mechanics and Physics of Solids*. – 2020. – Vol. 135. – P. 103777.
71. Avril, S. Material parameter identification and inverse problems in soft tissue biomechanics / S. Avril, S. Evans. – Cham, Switzerland: Springer International Publishing, 2017. – 144 p.

72. A comparison among Neo-Hookean model, Mooney-Rivlin model, and Ogden model for chloroprene rubber / B. Kim, S. B. Lee, J. Lee [et al.] // *International Journal of Precision Engineering and Manufacturing*. – 2012. – Vol. 13. – P. 759-764.
73. Structure–property relationships of photopolymerizable poly (ethylene glycol) dimethacrylate hydrogels / S. Lin-Gibson, R. L. Jones, N. R. Washburn, F. Horkay // *Macromolecules*. – 2005. – Vol. 38. – №. 7. – P. 2897-2902.
74. Kumar, N. Hyperelastic Mooney-Rivlin model: determination and physical interpretation of material constants / N. Kumar, V. V. Rao // *Parameters*. – 2016. – Vol. 2. – №. 10. – P. 01.
75. Gent, A. N. A new constitutive relation for rubber / A. N. Gent // *Rubber chemistry and technology*. – 1996. – Vol. 69. – №. 1. – P. 59-61.
76. Ogden, R. W. Large deformation isotropic elasticity—on the correlation of theory and experiment for incompressible rubberlike solids / R. W. Ogden // *Proceedings of the Royal Society of London. A. Mathematical and Physical Sciences*. – 1972. – Vol. 326. – №. 1567. – P. 565-584.
77. Development of novel synthetic muscle tissues for sports impact surrogates / T. Payne, S. Mitchell, R. Bibb, M. Waters // *Journal of the mechanical behavior of biomedical materials*. – 2015. – Vol. 41. – P. 357-374.
78. Shergold O. A. The uniaxial stress versus strain response of pig skin and silicone rubber at low and high strain rates / O. A. Shergold, N. A. Fleck, D. Radford // *International journal of impact engineering*. – 2006. – Vol. 32. – №. 9. – P. 1384-1402.
79. A comparison of hyperelastic constitutive models applicable to brain and fat tissues / L. A. Mihai, L. Chin, P. A. Janmey, A. Goriely // *Journal of The Royal Society Interface*. – 2015. – Vol. 12. – №. 110. – P. 20150486.
80. Mechanical characterization of the P56 mouse brain under large-deformation dynamic indentation / D. B. MacManus, B. Pierrat, J. G. Murphy, M. D. Gilchrist // *Scientific reports*. – 2016. – Vol. 6. – №. 1. – P. 21569.



81. Sex-and age-specific mechanical properties of liver tissue under dynamic loading conditions / D. B MacManus, M. Maillet, S. O'Gorman [et al.] //Journal of the mechanical behavior of biomedical materials. – 2019. – Vol. 99. – P. 240-246.
82. Extreme softness of brain matter in simple shear / M. Destrade, M.D. Gilchrist, J.G. Murphy [et al.] // International Journal of Non-Linear Mechanics. – 2015. – Vol. 75. – P. 54-58.
83. Experimental mechanical characterization of abdominal organs: liver, kidney & spleen / S. Umale, C. Deck, N. Bourdet [et al.] // Journal of the mechanical behavior of biomedical materials. – 2013. – Vol. 17. – P. 22-33.
84. Chai, Q. Hydrogels for biomedical applications: their characteristics and the mechanisms behind them / Q. Chai, Y. Jiao, X. Yu //Gels. – 2017. – Vol. 3. – №. 1. – P. 6.
85. Hydrogels classification according to the physical or chemical interactions and as stimuli-sensitive materials / M. Bustamante-Torres, D. Romero-Fierro, B. Arcentales-Vera [et al.] // Gels. – 2021. – Vol. 7. – №. 4. – P. 182.
86. Fabrication of physical and chemical crosslinked hydrogels for bone tissue engineering / X. Xue, Y. Hu, S. Wang [et al.] // Bioactive materials. – 2022. – Vol. 12. – P. 327-339.
87. Maitra, J. Cross-linking in hydrogels-a review / J. Maitra, V. K. Shukla // American Journal of Polymer Science and Technology. – 2014. – Vol. 4. – №. 2. – P. 25-31.
88. Hoffman, A. S. Hydrogels for biomedical applications / A. S. Hoffman // Advanced drug delivery reviews. – 2012. – Vol. 64. – P. 18-23.
89. Richbourg, N. R. Tuning the biomimetic behavior of scaffolds for regenerative medicine through surface modifications / N. R. Richbourg, N. A. Peppas, V. I. Sikavitsas //Journal of tissue engineering and regenerative medicine. – 2019. – Vol. 13. – №. 8. – P. 1275-1293.
90. Effect of the synthesis solvent in swelling ability of polyacrylamide hydrogels / A. El-Halah, N. González, J. Contreras, F. López-Carrasquero // Journal of Polymer Research. – 2020. – Vol. 27. – P. 1-10.

91. Flory P. J. Statistical mechanics of cross-linked polymer networks II. Swelling / P. J. Flory, J. Rehner Jr // *The journal of chemical physics*. – 1943. – Vol. 11. – №. 11. – P. 521-526.
92. Richbourg N. R. The swollen polymer network hypothesis: Quantitative models of hydrogel swelling, stiffness, and solute transport / N. R. Richbourg, N. A. Peppas // *Progress in Polymer Science*. – 2020. – Vol. 105. – P. 101243.
93. Peppas N. A. Crosslinked poly (vinyl alcohol) hydrogels as swollen elastic networks / N. A. Peppas, E. W. Merrill // *Journal of Applied Polymer Science*. – 1977. – Vol. 21. – №. 7. – P. 1763-1770.
94. Physically cross-linked chitosan-based hydrogels for tissue engineering applications: A state-of-the-art review / M. L. Pita-López, G. Fletes-Vargas, H. Espinosa-Andrews, R. Rodríguez-Rodríguez // *European Polymer Journal*. – 2021. – Vol. 145. – P. 110176.
95. New insights of scaffolds based on hydrogels in tissue engineering / D.-M. Radulescu, I. A. Neacsu, A.-M. Grumezescu, E. Andronescu // *Polymers*. – 2022. – Vol. 14. – №. 4. – P. 799.
96. Hydrogels for Tissue Engineering: Addressing Key Design Needs Toward Clinical Translation / F. Xu, C. Dawson, M. Lamb [et al.] // *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. – 2022. – Vol. 10, – P. 849831.
97. Nanocomposite hydrogels for tissue engineering applications / H. Zhao, M. Liu, Y. Zhang [et al.] // *Nanoscale*. – 2020. – Vol. 12. – №. 28. – P. 14976-14995.
98. Wang Q. Chitosan Hydrogel as Tissue Engineering Scaffolds for Vascular Regeneration Applications / Q. Wang, X. Wang, Y. Feng // *Gels*. – 2023. – Vol. 9. – №. 5. – P. 373.
99. Ghorbani M. Development of reinforced chitosan/pectin scaffold by using the cellulose nanocrystals as nanofillers: An injectable hydrogel for tissue engineering / M. Ghorbani, L. Roshangar, J. S. Rad // *European Polymer Journal*. – 2020. – Vol. 130. – P. 109697.
100. Bioactive hydrogels for bone regeneration / X. Bai, M. Gao, S. Syed [et al.] // *Bioactive materials*. – 2018. – Vol. 3. – №. 4. – P. 401-417.

101. Ratner, B. D. Hydrogels for Medical and Related Applications / B. D. Ratner, A. S. Hoffman. – Washington, DC: American Chemical Society, 1976. – 359 p.
102. Unal, A. Z. Synthetic ECM: bioactive synthetic hydrogels for 3D tissue engineering / A. Z. Unal, J. L. West // *Bioconjugate Chemistry*. – 2020. – Vol. 31. – №. 10. – P. 2253-2271.
103. The influence of swelling on elastic properties of polyacrylamide hydrogels / R. Subramani, A. Izquierdo-Alvarez, P. Bhattacharya [et al.] // *Frontiers in Materials*. – 2020. – Vol. 7. – P. 212.
104. Mechanical properties of materials for stem cell differentiation / S.-B. Han, J.-K. Kim, G. Lee, D.-H. Kim // *Advanced Biosystems*. – 2020. – Vol. 4. – №. 11. – P. 2000247.
105. Atomic understanding of the swelling and phase transition of polyacrylamide hydrogel / S. Xu, Y. Wang, J. Hu, Z. Liu // *International Journal of Applied Mechanics*. – 2016. – Vol. 8. – №. 07. – P. 1640002.
106. Hemicellulose-bacterial cellulose ribbon interactions affect the anisotropic mechanical behaviour of bacterial cellulose hydrogels / S.-Q. Chen, P. Lopez-Sanchez, D. Mikkelsen [et al.] // *Food Hydrocolloids*. – 2023. – Vol. 136. – P. 108283.
107. Tough hydrogels for soft artificial muscles / F. Oveissi, D. F. Fletcher, F. Dehghani, S. Naficy // *Materials & Design*. – 2021. – Vol. 203. – P. 109609.
108. Effects of extracellular matrix viscoelasticity on cellular behaviour / O. Chaudhuri, J. Cooper-White, P. A. Janmey [et al.] // *Nature*. – 2020. – Vol. 584. – №. 7822. – P. 535-546.
109. Yang C. Polyacrylamide hydrogels. I. Network imperfection / C. Yang, T. Yin, Z. Suo // *Journal of the Mechanics and Physics of Solids*. – 2019. – Vol. 131. – P. 43-55.
110. Hu Y. Viscoelasticity and poroelasticity in elastomeric gels / Y. Hu, Z. Suo // *Acta Mechanica Solida Sinica*. – 2012. – Vol. 25. – №. 5. – P. 441-458.

111. Mechanical testing of a novel hydrogel nucleus replacement implant / R. Bertagnoli, C. T. Sabatino, J. T. Edwards [ et al.] // *The Spine Journal*. – 2005. – Vol. 5. – №. 6. – P.672-681.
112. Mechanical testing of hydrogels in cartilage tissue engineering: beyond the compressive modulus / Y. Xiao, E. A. Friis, S. H. Gehrke, M. S. Detamore // *Tissue Engineering Part B: Reviews*. – 2013. – Vol. 19. – №. 5. – P. 403-412.
113. Mechanical properties of a novel PVA hydrogel in shear and unconfined compression / J. A. Stammen, S. Williams, D. N. Ku, R. E. Gulberg // *Biomaterials*. – 2001. – Vol. 22. – №. 8. – P. 799-806
114. Mechanics of gelatin-based hydrogels during finite strain tension, compression and shear / H. Yousefi-Mashouf, L. Bailly, L. Orgéas, N. H. Bernardoni // *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. – 2023. – Vol. 10. – P. 1094197.
115. Comparison of mechanical testing methods for biomaterials: Pipette aspiration, nanoindentation, and macroscale testing / C. M. Buffinton, K. J. Tong, R. A. Blaho [et al.] // *Journal of the mechanical behavior of biomedical materials*. – 2015. – Vol. 51. – P. 367-379.
116. Simple yet effective methods to probe hydrogel stiffness for mechanobiology / A. Gandin, Y. Murugesan, V. Torresan [et al.] // *Scientific reports*. – 2021. – Vol. 11. – №. 1. – P. 22668.
117. Richbourg N. R. Cross-evaluation of stiffness measurement methods for hydrogels / N. R. Richbourg, M. K. Rausch, N. A. Peppas // *Polymer*. – 2022. – Vol. 258. – P. 125316.
118. Polyacrylamide hydrogels. VI. Synthesis-property relation / Y. Wang, G. Nian, J. Kim, Z. Suo // *Journal of the Mechanics and Physics of Solids*. – 2023. – Vol. 170. – P. 105099.
119. Zhou Z. Effect of water content on physical adhesion of polyacrylamide hydrogels / Z. Zhou, J. Lei, Z. Liu // *Polymer*. – 2022. – Vol. 246. – P. 124730.

120. Polyacrylamide hydrogels for cell mechanics: steps toward optimization and alternative uses / C. E Kadow, P. C Georges, P. A Janmey, K. A Beningo // *Methods in cell biology*. – 2007. – Vol. 83. – P. 29-46.
121. Tuson H. H. Polyacrylamide hydrogels as substrates for studying bacteria / H. H. Tuson, L. D. Renner, D. B. Weibel // *Chemical Communications*. – 2012. – Vol. 48. – №. 10. – P. 1595-1597.
122. Micropatterning cell adhesion on polyacrylamide hydrogels / J. Zhang, W.-H. Guo, A. Rape, Y.-L. Wang // *Cell-Cell Interactions: Methods and Protocols*. – 2013. – P. 147-156.
123. Tse J. R. Preparation of hydrogel substrates with tunable mechanical properties / J. R. Tse, A. J. Engler // *Current protocols in cell biology*. – 2010. – Vol. 47. – №. 1. – P. 10.16. 1-10.16. 16.
124. Polyacrylamide hydrogels for stone restoration: Effect of salt solutions on swelling/deswelling degree and dynamic correlation length / S. Vicini, M. Castellano, M. C. F. S. Lima [et al.] // *Journal of Applied Polymer Science*. – 2017. – Vol. 134. – №. 16.
125. Mechanical response of polyacrylamide breast tissue phantoms: Formulation, characterization and modeling / S. N. Rao, P. Mythravaruni, K. Arunachalam, P. Ravindran // *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*. – 2022. – Vol. 129. – P. 105125.
126. Polyacrylamide phantom for self-actuating needle–tissue interaction studies / N. V. Datla, B. Konh, J. J.Y. Koo [et al.] // *Medical Engineering & Physics*. – 2014. – Vol. 36. – №. 1. –P.140.
127. Hybrid hydrogels for biomedical applications / L. L Palmese, R. K. Thapa, M. O Sullivan, K. L Kiick // *Current opinion in chemical engineering*. – 2019. – Vol. 24. – P. 143-157.
128. Nanoparticle-reinforced polyacrylamide hydrogel composites for clinical applications: a review / S. Awasthi, J. K. Gaur, M. S. Bobji, C. Srivastava // *Journal of Materials Science*. – 2022. – Vol. 57. – №. 17. – P. 8041-8063.

129. Composite hydrogels for bone regeneration / G. Tozzi, A. De Mori, A. Oliveira, M. Roldo // *Materials*. – 2016. – Vol. 9. – №. 4. – P. 267.
130. Buwalda, S. J. Bio-based composite hydrogels for biomedical applications / S. J. Buwalda // *Multifunctional Materials*. – 2020. – Vol. 3. – №. 2. – P. 022001.
131. Composite hydrogels reinforced by cellulose-based supramolecular filler / A. Sugawara, T.-A. Asoh, Y. Takashima [et al.] // *Polymer Degradation and Stability*. – 2020. – Vol. 177. – P. 109157.
132. Soft-nanoparticle functionalization of natural hydrogels for tissue engineering applications / K. Elkhoury, C. S. Russell, L. Sanchez-Gonzalez [et al.] // *Advanced healthcare materials*. – 2019. – Vol. 8. – №. 18. – P. 1900506.
133. Composite hydrogels in three-dimensional in vitro models / Z. Zhao, C. Vizetto-Duarte, Z. K. Moay [et al.] // *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. – 2020. – Vol. 8. – P. 611.
134. Recent advances in the use of microcarriers for cell cultures and their ex vivo and in vivo applications / X.-Y. Chen, J.-Y. Chen, X.-M. Tong [et al.] // *Biotechnology letters*. – 2020. – Vol. 42. – P. 1-10.
135. Zhou C. A novel polyacrylamide nanocomposite hydrogel reinforced with natural chitosan nanofibers / C. Zhou, Q. Wu // *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. – 2011. – Vol. 84. – №. 1. – P. 155-162.
136. Actuator materials based on graphene oxide/polyacrylamide composite hydrogels prepared by in situ polymerization / N. Zhang, R. Li, L. Zhang [et al.] // *Soft Matter*. – 2011. – Vol. 7. – №. 16. – P. 7231-7239.
137. Poly (acrylamide) hydrogel composites with micro-sized  $\beta$ -chitin fiber and the properties of mechanical and drug release / J. Lv, Y. Fang, M. Wu [et al.] // *Materials Today Communications*. – 2023. – Vol. 34. – P. 105163.
138. Influence of the Degree of Swelling on the Stiffness and Toughness of Microgel-Reinforced Hydrogels / M. Kessler, T. Yuan, J. M. Kolinski, E. Amstad // *Macromolecular Rapid Communications*. – 2023. – P. 2200864
139. Effect of particle size on the swelling and compression modulus of nanostructured polyacrylamide hydrogels / A. G. Alvarado, M. Arellano, M.

Rabelero [et al.] // *Journal of Macromolecular Science, Part A*. – 2015. – Vol. 52. – №. 5. – P. 381-386.

140. Porous Polylactide Microparticles as Effective Fillers for Hydrogels / Y.D. Zagoskin, Y. E. Sergeeva, Y. S. Fomina [et al.] // *Biomimetics*. – 2023. – Vol. 8. – №. 8. – P. 565.

141. Polymer-based porous microcarriers as cell delivery systems for applications in bone and cartilage tissue engineering / Z. Zhou, W. Wua, J. Fang, J. Yin // *International Materials Reviews*. – 2021. – Vol. 66. – №. 2. – P. 77-113.

142. Attachment and detachment strategies in microcarrier-based cell culture technology: A comprehensive review / S. Derakhti, S. H. Safiabadi-Tali, G. Amoabediny, M. Sheikhpour // *Materials Science and Engineering: C*. – 2019. – Vol. 103. – P. 109782.

143. Biopolymer-based microcarriers for three-dimensional cell culture and engineered tissue formation / L. Huang, A.M.E. Abdalla, L. Xiao, G. Yang // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2020. – Vol. 21. – №. 5. – P. 1895.

144. Nanocomposite porous microcarriers based on strontium-substituted HA-g-poly ( $\gamma$ -benzyl-L-glutamate) for bone tissue engineering / S. Yan, P. Xia, S. Xu [et al.] // *ACS applied materials & interfaces*. – 2018. – Vol. 10. – №. 19. – P. 16270-16281.

145. Solvent-free preparation of porous poly (L-lactide) microcarriers for cell culture / M. Kuterbekov, P. Machillot, P. Lhuissier // *Acta Biomaterialia*. – 2018. – Vol. 75. – P. 300-311.

146. The control of anchorage-dependent cell behavior within a hydrogel/microcarrier system in an osteogenic model / C. Wang, Y. Gong, Y. Zhong // *Biomaterials*. – 2009. – Vol. 30. – №. 12. – P. 2259-2269.

147. Lau, T. T. Cell delivery with genipin crosslinked gelatin microspheres in hydrogel/microcarrier composite / T. T. Lau, C. Wang, D. A. Wang // *Composites Science and Technology*. – 2010. – Vol. 70. – №. 13. – P. 1909-1914.

148. Establishing a cell-affinitive interface and spreading space in a 3D hydrogel by introduction of microcarriers and an enzyme / M. Zhong, J. Sun, D. Wei [et al.] // *Journal of Materials Chemistry B*. – 2014. – Vol. 2. – №. 38. – P. 6601-6610.
149. Xie X. Antibacterial hydrogel with pH-responsive microcarriers of slow-release VEGF for bacterial infected wounds repair / X. Xie, H. Lei, D. Fan // *Journal of Materials Science & Technology*. – 2023. – Vol. 144. – P. 198-212.
150. Poly (vinyl alcohol) cryogels for biomedical applications / W. Wan, A. D. Bannerman, L. Yang, H. Mak // *Polymeric cryogels: macroporous gels with remarkable properties*. – 2014. – P. 283-321.
151. Saylan Y. Supermacroporous composite cryogels in biomedical applications / Y. Saylan, A. Denizli // *Gels*. – 2019. – Vol. 5. – №. 2. – P. 20.
152. Injectable cryogels for biomedical applications / L. J Eggermont, Z. J Rogers, T. Colombani [et al.] // *Trends in biotechnology*. – 2020. – Vol. 38. – №. 4. – P. 418-431.
153. Cryogels for biomedical applications / T. M. A. Henderson, K. Ladewig, D. N. Haylock [et al.] // *Journal of Materials Chemistry B*. – 2013. – Vol. 1. – №. 21. – P. 2682-2695.
154. Pazos, V. Polyvinyl alcohol cryogel: optimizing the parameters of cryogenic treatment using hyperelastic models / V. Pazos, R. Mongrain, J. C. Tardif // *Journal of the mechanical behavior of biomedical materials*. – 2009. – Vol. 2. – №. 5. – P. 542-549.
155. The importance of understanding the freezing step and its impact on freeze-drying process performance / G. Assegehegn, E. Brito-de la Fuente, J. M Franco, C. Gallegos // *Journal of pharmaceutical sciences*. – 2019. – Vol. 108. – №. 4. – P. 1378-1395.
156. Lozinsky, V. I. *Polymeric cryogels: macroporous gels with remarkable properties* / V. I. Lozinsky. – Springer Cham, 2014. – 330 p.
157. Lozinsky, V. I. *Cryogels on the basis of natural and synthetic polymers: preparation, properties and application* / V. I. Lozinsky // *Russian Chemical Reviews*. – 2002. – Vol. 71. – №. 6. – P. 489-511.



158. Cryostructuring of Polymeric Systems: 64. Preparation and Properties of Poly (vinyl alcohol)-Based Cryogels Loaded with Antimicrobial Drugs and Assessment of the Potential of Such Gel Materials to Perform as Gel Implants for the Treatment of Infected Wounds / O. Yu. Kolosova, V. G. Vasil'ev, I. A. Novikov [et al.] // *Gels*. – 2023. – Vol. 9. – №. 2. – P. 113.
159. Physically crosslinked poly (vinyl alcohol)/kappa-carrageenan hydrogels: Structure and applications / C. Croitoru, M. A. Pop, T. Bedo [et al.] // *Polymers*. – 2020. – Vol. 12. – №. 3. – P. 560.
160. Carrageenan oligosaccharides: A comprehensive review of preparation, isolation, purification, structure, biological activities and applications / Z. Guo, Y. Wei, Y. Zhang [et al.] // *Algal Research*. – 2022. – Vol. 61. – P. 102593.
161. A review on synthesis, properties and applications of natural polymer based carrageenan blends and composites / K. M. Zia, S. Tabasum, M. Nasif [et al.] // *International journal of biological macromolecules*. – 2017. – Vol. 96. – P. 282-301.
162. Guan, J. *Seaweed Polysaccharides: Isolation, Biological and Biomedical Applications* / J. Guan, L. Li, S. Mao. – Elsevier, 2017. – 408 p.
163. Synthesis and application of polypyrrole/carrageenan nano-bio composite as a cathode catalyst in microbial fuel cells / C. Esmaili, M. Ghasemi, L. Y. Heng [et al.] // *Carbohydrate polymers*. – 2014. – Vol. 114. – P. 253-259.
164. Nanocomposite hydrogels for tissue engineering applications / H. Zhao, M. Liu, Y. Zhang [et al.] // *Nanoscale*. – 2020. – Vol. 12. – №. 28. – P. 14976-14995.
165. Latest advances in cryogel technology for biomedical applications / A. Memic, T. Colombani, L. J. Eggermont [et al.] // *Advanced Therapeutics*. – 2019. – Vol. 2. – №. 4. – P. 1800114.
166. Vishnoi, T. Conducting cryogel scaffold as a potential biomaterial for cell stimulation and proliferation / T. Vishnoi, A. Kumar // *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. – 2013. – Vol. 24. – P. 447-459.
167. Smart aligned multi-layered conductive cryogels with hemostasis and breathability for coagulopathy epistaxis, nasal mucosal repair and bleeding

monitoring / M. Li, G. Pan, Y. Yang, B. Guo // *Nano Today*. – 2023. – Vol. 48. – P. 101720.

168. Agarwal, G. Highly elastic, electroconductive, immunomodulatory graphene crosslinked collagen cryogel for spinal cord regeneration / G. Agarwal, N. Kumar, A. Srivastava // *Materials Science and Engineering: C*. – 2021. – Vol. 118. – P. 111518.

169. Rational design of microfabricated electroconductive hydrogels for biomedical applications / B. W Walker, R. P. Lara, E. Mogadam [et al.] // *Progress in polymer science*. – 2019. – Vol. 92. – P. 135-157.

170. Qiu, Z. Conjugated polymers—Problems and promises / Z. Qiu, B. A. G. Hammer, K. Müllen // *Progress in Polymer Science*. – 2020. – Vol. 100. – P. 101179.

171. Polyaniline cryogels supported with poly (vinyl alcohol): soft and conducting /

J. Stejskal, P. Bober, M. Trchová [et al.] // *Macromolecules*. – 2017. – Vol. 50. – №. 3. – P. 972-978.

172. Saadeh, M. Revealing the flexoelectric-like response of poly (3, 4-ethylenedioxythiophene): poly (styrenesulfonate) thin films / M. Saadeh, P. Frère, B. Guiffard // *Polymers for Advanced Technologies*. – 2020. – Vol. 31. – №. 11. – P. 2632-2639.

173. Synthesis and characterization of PEDOT aqueous dispersions with sulfonated polyfluorene as a template and doping agent / J. Gu, S. Gao, Y. Xue [et al.] // *Reactive and Functional Polymers*. – 2016. – Vol. 100. – P. 83-88.

174. Panigrahy, S. Polymeric thermoelectric PEDOT: PSS & composites: Synthesis, progress, and applications / S. Panigrahy, B. Kandasubramanian // *European Polymer Journal*. – 2020. – Vol. 132. – P. 109726.

175. Smart hydrogels in tissue engineering and regenerative medicine / X. Wang, Y. Yang, Y. Shi, F. Jia // *Frontiers in Chemistry*. – 2020. – Vol. 8. – P. 245.

176. Chitosan based bioactive materials in tissue engineering applications-A review / Md. M. Islam, Md. Shahruzzaman, S. Biswas [et al.] // *Bioactive materials*. – 2020. – Vol. 5. – №. 1. – P. 164-183.
177. Ambekar, R. S. Progress in the advancement of porous biopolymer scaffold: tissue engineering application / R. S. Ambekar, B. Kandasubramanian // *Industrial & Engineering Chemistry Research*. – 2019. – Vol. 58. – №. 16. – P. 6163-6194.
178. Oryan, A. Effectiveness of chitosan scaffold in skin, bone and cartilage healing / A. Oryan, S. Sahvieh // *International Journal of Biological Macromolecules*. – 2017. – Vol. 104. – P. 1003-1011.
179. Novel approach to fabricate porous sponges of poly (D, L-lactic-co-glycolic acid) without the use of organic solvents / D. J. Mooney, D. F. Baldwin, N. P. Suh [et al.] // *Biomaterials*. – 1996. – Vol. 17. – №. 14. – P. 1417-1422.
180. Research status and development potential of composite hemostatic materials / C. Zheng, Q. Zeng, S. Pimpi [et al.] // *Journal of Materials Chemistry B*. – 2020. – Vol. 8. – №. 25. – P. 5395-5410.
181. Bahadoran, M. Development of a polyvinyl alcohol/sodium alginate hydrogel-based scaffold incorporating bFGF-encapsulated microspheres for accelerated wound healing / M. Bahadoran, A. Shamloo, Y. D. Nokoorian // *Scientific reports*. – 2020. – Vol. 10. – №. 1. – P. 1-18.
182. Sankar, P. C. K. Physico-chemical characterisation and biological evaluation of freeze dried chitosan sponge for wound care / P. C. K. Sankar, G. Rajmohan, M. J. Rosemary // *Materials Letters*. – 2017. – Vol. 208. – P. 130-132.
183. Chitosan/gelatin as a new nano-carrier system for calcium hydroxide delivery in endodontic applications: Development, characterization and process optimization / N. Farhadian, M. Godiny, S. Moradi [et al.] // *Materials Science and Engineering: C*. – 2018. – Vol. 92. – P. 540-546.
184. Evaluation of poly (L-lactide) and chitosan composite scaffolds for cartilage tissue regeneration / S. P. Mallick, K. Pal, A. Rastogi, P. Srivastava // *Designed Monomers and Polymers*. – 2016. – Vol. 19. – №. 3. – P. 271-282.

185. Kozłowska, J. Preparation and characterization of collagen/chitosan poly (ethylene glycol)/nanohydroxyapatite composite scaffolds / J. Kozłowska, N. Stachowiak, A. Sionkowska // *Polymers for Advanced Technologies*. – 2019. – Vol. 30. – №. 3. – P. 799-803.
186. Tong, C. Y. Bio-coatings as immobilized microalgae cultivation enhancement: A review / C. Y. Tong, C. J. C. Derek // *Science of The Total Environment*. – 2023. – P. 163857.
187. Kaparapu, J. Micro algal immobilization techniques / J. Kaparapu // *Journal of Algal Biomass Utilization*. – 2017. – Vol. 8. – №. 1. – P. 64-70.
188. De-Bashan, L. E. Immobilized microalgae for removing pollutants: review of practical aspects / L. E. De-Bashan, Y. Bashan // *Bioresource technology*. – 2010. – Vol. 101. – №. 6. – P. 1611-1627.
189. Moreno-Garrido, I. Microalgae immobilization: current techniques and uses / I. Moreno-Garrido // *Bioresource technology*. – 2008. – Vol. 99. – №. 10. – P. 3949-3964.
190. Mallick, N. Biotechnological potential of immobilized algae for wastewater N, P and metal removal: a review / N. Mallick // *Biometals*. – 2002. – Vol. 15. – P. 377-390.
191. Recycling of manure nutrients: use of algal biomass from dairy manure treatment as a slow release fertilizer / W. Mulbry, E. K. Westhead, C. Pizarro, L. Sikora // *Bioresource technology*. – 2005. – Vol. 96. – №. 4. – P. 451-458.
192. Nanoscale evidence unravels microalgae flocculation mechanism induced by chitosan / I. Demir, J. Blockx, E. Dague [et al.] // *ACS Applied Bio Materials*. – 2020. – Vol. 3. – №. 12. – P. 8446-8459.
193. Russell, S. J. *Handbook of nonwovens* / S.J. Russell. – Woodhead Publishing, 2022. – 650 p.
194. Anusiya, G. A review on fabrication methods of nanofibers and a special focus on application of cellulose nanofibers / G. Anusiya, R. Jaiganesh // *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications*. – 2022. – Vol. 4. – P. 100262.

195. Кирш, А. А. Фильтрация аэрозолей волокнистыми материалами ФП / А. А. Кирш, А. К. Будыка, В. А. Кирш // Российский химический журнал. – 2008. – Т. LII. – № 5. – С.97-102.
196. Haider A. A comprehensive review summarizing the effect of electrospinning parameters and potential applications of nanofibers in biomedical and biotechnology / A. Haider, S. Haider, I. K. Kang // Arabian Journal of Chemistry. – 2018. – Vol. 11. – №. 8. – P. 1165-1188.
197. Коротеева, Л.И. Технология и оборудование для получения волокон и нитей специального назначения / Л.И. Коротеева, Е.Ю. Коротеева. – М.: Инфра-М, 2015. – 288 с.
198. Перепелкин, К. Е. Физико-химические основы процессов формования химических волокон / К. Е.Перепелкин. – М.: Химия, 1978. – 320 с.
199. Gunn, J. Polyblend nanofibers for biomedical applications: perspectives and challenges / J. Gunn, M. Zhang // Trends in biotechnology. – 2010. – Vol. 28. – №. 4. – P. 189-197.
200. Electrospinning for tissue engineering applications / M. Rahmati, D. K. Mills, A. M. Urbanska [et al.] // Progress in Materials Science. – 2021. – Vol. 117. – P. 100721.
201. Overview of Electrospinning for Tissue Engineering Applications / M. Z. A. Zulkifli, D. Nordin, N. Shaari, S. K. Kamarudin // Polymers. – 2023. – Vol. 15. – №. 11. – P. 2418.
202. Tissue engineered microsphere-based matrices for bone repair: design and evaluation / M. Borden, M. Attawia, Y. Khan, C. T Laurencin // Biomaterials. – 2002. – Vol. 23. – №. 2. – P. 551-559.
203. Poly (lactic acid) nanofibrous scaffolds for tissue engineering / M. Santoro, S. R. Shah, J. L. Walker, A. G. Mikos // Advanced drug delivery reviews. – 2016. – Vol. 107. – P. 206-212.
204. Electrospun polylactide/poly (ethylene glycol) hybrid fibrous scaffolds for tissue engineering / B.-Y. Wang, S.-Z. Fu, P.-Y. Ni [et al.] // Journal of Biomedical Materials Research Part A. – 2012. – Vol. 100. – №. 2. – P. 441-449.

205. Amniotic epithelial stem cell biocompatibility for electrospun poly (lactide-co-glycolide), poly ( $\epsilon$ -caprolactone), poly (lactic acid) scaffolds / V. Russo, L. Tammaro, L. Di Marcantonio [et al.] // *Materials Science and Engineering: C*. – 2016. – Vol. 69. – P. 321-329.
206. Influence of chemistry and fiber diameter of electrospun PLA, PCL and their blend membranes, intended as cell supports, on their biological behavior / M. Herrero-Herrero, S. Alberdi-Torres, M. L. González-Fernández [et al.] // *Polymer Testing*. – 2021. – Vol. 103. – P. 107364.
207. The Performance of Nonwoven PLLA Scaffolds of Different Thickness for Stem Cells Seeding and Implantation / T. Kh. Tenchurin, A. V. Rodina, V. P. Saprykin [et al.] // *Polymers*. – 2022. – Vol. 14. – №. 20. – P. 4352.
208. Recent advances in modified poly (lactic acid) as tissue engineering materials / S. Castañeda-Rodríguez, M. González-Torres, R. María Ribas-Aparicio [et al.] // *Journal of Biological Engineering*. – 2023. – Vol. 17. – №. 1. – P. 21.
209. Singhvi, M. S. Polylactic acid: Synthesis and biomedical applications / M. S. Singhvi, S. S. Zinjarde, D. V. Gokhale // *Journal of applied microbiology*. – 2019. – Vol. 127. – №. 6. – P. 1612-1626.
210. Fabrication of electrospun polymer nanofibers with diverse morphologies / C. Wang, J. Wang, L. Zeng [et al.] // *Molecules*. – 2019. – Vol. 24. – №. 5. – P. 834.
211. Hybrid Natural Fiber Composites: Material Formulations, Processing, Characterization, Properties, and Engineering Applications / A. Khan, S. M. Rangappa, S. Siengchin. – Woodhead Publishing, 2021. – 352 p.
212. Recent advances in biopolymeric composite materials for tissue engineering and regenerative medicines: a review / M. U. A. Khan, S. I. A. Razak, W. S. Al Arjan [et al.] // *Molecules*. – 2021. – Vol. 26. – №. 3. – P. 619.
213. Three-dimensional electrospun nanofibrous scaffolds for bone tissue engineering / W. Lin, M. Chen, T. Qu [et al.] // *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*. – 2020. – Vol. 108. – №. 4. – P. 1311-1321.

214. Electrospun nanofiber/hydrogel composite materials and their tissue engineering applications / M. Zhang, S. Xu, R. Wang [et al.] // *Journal of Materials Science & Technology*. – 2023. – Vol. 162. – P.157-178.
215. Polylactic acid-based electrospun fiber and hyaluronic acid-valsartan hydrogel scaffold for chronic wound healing / M. O. Ilomuanya, P. S. Okafor, J. N. Amajuoyi [et al.] // *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*. – 2020. – Vol. 9. – №. 1. – P. 1-13.
216. Chitosan hydrogel scaffold reinforced with twisted poly (l lactic acid) aligned microfibrinous bundle to mimic tendon extracellular matrix / M. N. Sundaram, S. Deepthi, U. Mony [et al.] // *International journal of biological macromolecules*. – 2019. – Vol. 122. – P. 37-44.
217. Layered chitosan-collagen hydrogel/aligned PLLA nanofiber construct for flexor tendon regeneration / S. Deepthi, M. N. Sundaram, J. D. Kadavan, R. Jayakumar // *Carbohydrate polymers*. – 2016. – Vol. 153. – P. 492-500.
218. Chitosan-coated electrospun PLA fibers for rapid mineralization of calcium phosphate / C.-C. Lin, S.-J. Fu, Y.-C. Lin [et al.] // *International journal of biological macromolecules*. – 2014. – Vol. 68. – P. 39-47.
219. Poly (L-lactide) melt spun fiber-aligned scaffolds coated with collagen or chitosan for guiding the directional migration of osteoblasts in vitro / J. Feng, D. Zhang, M. Zhu, C. Gao // *Journal of Materials Chemistry B*. – 2017. – Vol. 5. – №. 26. – P. 5176-5188.
220. Multilevel structural stereocomplex polylactic acid/collagen membranes by pattern electrospinning for tissue engineering / Y. Kang, P. Chen, X. Shi [et al.] // *Polymer*. – 2018. – Vol. 156. – P. 250-260.
221. Migration and proliferative activity of mesenchymal stem cells in 3D polylactide scaffolds depends on cell seeding technique and collagen modification / A. V. Rodina, T. Kh. Tenchurin, V. P. Saprykin [et al.] // *Bulletin of experimental biology and medicine*. – 2016. – Vol. 162. – P. 120-126.
222. Biopolymer-based hydrogels for encapsulation of photocatalytic TiO<sub>2</sub> nanoparticles prepared by the freezing/thawing method / G. U. Badranova, P. M.

- Gotovtsev, Y. V. Zubavichus [et al.] // *Journal of Molecular Liquids*. – 2016. – Vol. 223. – P. 16-20.
223. ASTM D5748. Standard Test Method for Protrusion Puncture Resistance of Stretch Wrap Film. Introduction. 14.11.2019.
224. Drozdov, A. D. Tension–compression asymmetry in the mechanical response of hydrogels / A. D. Drozdov, J. C. Christiansen // *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*. – 2020. – Vol. 110. – P. 103851.
225. Research progress on double-network hydrogels / X. Huang, J. Li, J. Luo [et al.] // *Materials Today Communications*. – 2021. – Vol. 29. – P. 102757.
226. Fundamentals of double network hydrogels / Q. Chen, H. Chen, L. Zhua, J. Zheng // *Journal of Materials Chemistry B*. – 2015. – Vol. 3. – №. 18. – P. 3654-3676.
227. Freeze/thawed polyvinyl alcohol hydrogels: Present, past and future / H. Adelnia, R. Ensandoost, S. S. Moonshi [et al.] // *European Polymer Journal*. – 2022. – Vol. 164. – P. 110974.
228. Perez, S. J. L. P. Molecular dynamics simulations of two double-helical hexamer fragments of iota-carrageenan in aqueous solution / S. J. L. P. Perez, G. C. Claudio // *Journal of Molecular Graphics and Modelling*. – 2020. – Vol. 98. – P. 107588.
229. Fabrication and characterization of aligned nanofibrous PLGA/Collagen blends as bone tissue scaffolds / M. V. Jose, V. Thomas, D. R. Dean, E. Nyairo // *Polymer*. – 2009. – Vol. 50. – №. 15. – P. 3778-3785.
230. Tensile and thermal properties of poly (lactic acid)/eggshell powder composite films / B. Ashok, S. Naresh, K. Obi Reddy [et al.] // *International journal of polymer analysis and characterization*. – 2014. – Vol. 19. – №. 3. – P. 245-255.
231. Biodegradable blends obtained via reactive blending of polylactide and polyamide-6 / M. Yu. Meshchankina, Ya. A. Kuznetsova, M. A. Shcherbina, S. N. Chvalun // *Polymer Science Series B*. – 2016. – Vol. 58. – P. 214-225.



232. Polymorphic transition in disordered poly (L-lactide) crystals induced by annealing at elevated temperatures / P. Pan, B. Zhu, W. Kai [et al.] // *Macromolecules*. – 2008. – Vol. 41. – №. 12. – P. 4296-4304.
233. Malakhov, S. N. Preparation of nonwoven materials for removal of oil spills from water by electrospinning of polylactide melt / S. N. Malakhov, S. N. Chvalun // *Russian Journal of Applied Chemistry*. – 2019. – Vol. 92. – P. 1487-1491.
234. Nano-and Microfibrous Materials Based on Collagen for Tissue Engineering: Synthesis, Structure, and Properties / T. Kh. Tenchurin, L. P. Istranov, E. V. Istranova [et al.] // *Nanotechnologies in Russia*. – 2018. – Vol. 13. – P. 476-486.

**Список публикаций по теме диссертации**

- [A1] Антипова К.Г. In-situ механические испытания полимерных материалов с помощью растрового микроскопа / Ястремский Е. В., Пацаев Т. Д., Крашенинников С. В., Крупнин А. Е., Антипова К. Г., Луканина К. И., Григорьев Т. Е., Шариков Р. В., Шарикова Н. А., Волков Д. А., Камышинский Р. А., Васильев А. Л. // Российские нанотехнологии. – 2023. – Т. 18, № 2. – С. 268-275. IF= 0,74 (РИНЦ), вклад автора – 0,2.
- [A2] Антипова К.Г. Установка для механических испытаний in-situ в растровом электронном микроскопе / Пацаев Т. Д., Ястремский Е. В., Крашенинников С. В., Крупнин А. Е., Антипова К. Г., Луканина К. Е., Григорьев Т. Е., Камышинский Р. А., Васильев А. Л. // Приборы и техника эксперимента. – 2023. – № 3. – С. 157-159. IF= 0,556 (РИНЦ), вклад автора – 0,1.
- [A3] Antipova C.G. Biomechanical behaviour of PEDOT: PSS-based hydrogels as an electrode for stent integrated enzyme biofuel cells / Antipova C. G., Parunova Yu.M., Vishnevskaya M., Krasheninnikov S.V., Lukanina K.I., Grigoriev T.E., Chvalun S.N., Gotovtsev P.M. // Heliyon. – 2022. – Vol. 8, № 3. – P. e09218(1-7). JIF= 4 (WoS), вклад автора – 0,5.
- [A4] Antipova C.G. How the Nonwoven Polymer Volume Microstructure Is Transformed under Tension in an Aqueous Environment / Khramtsova E., Morokov E., Antipova C., Krasheninnikov S., Lukanina K., Grigoriev T. // Polymers. – 2022. – Vol. 14, № 17. – P. 3526(1-13). JIF= 5 (WoS), вклад автора – 0,2.
- [A5] Antipova C.G. Study of highly porous poly-l-lactide-based composites with chitosan and collagen / Antipova C. G., Lukanina K. I., Krasheninnikov S.V., Malakhov S.N., Kamyshinsky R.A., Grigoriev T.E., Chvalun S.N. // Polymers for Advanced Technologies. – 2021. – Vol. 32, №. 2. – P. 853-860. JIF= 3.4 (WoS), вклад автора – 0,7.

[A6] Antipova C.G. Chitosan-based fiber-sponge materials as a promising tool for microalgae harvesting from Lake Baikal / Grigoriev T. E., Lukanina K.I., Gotovtsev P.M., Gorin K.V., Melnikova A., Antipova C.G., Kamyshinsky R.A., Chvalun S.N. // Journal of Applied Polymer Science. – 2020. – Vol. 137, № 40. – P. 49209(1-9). JIF= 3 (WoS), вклад автора – 0,2.

*Публикации в сборниках тезисов и докладов:*

7. Antipova C. et al. Flexible electroconductive hydrogel for biosensors and biofuel cells application //2019 12th International Conference on Developments in eSystems Engineering (DeSE). – IEEE, 2019. – С. 513-517.

8. Антипова К.Г. и др. Исследование физико-механического поведения композиционных гидрогелей на основе поливинилового спирта //Сборник тезисов XXI Менделеевского съезда по общей и прикладной химии. Санкт-Петербург, 2019. – Т. 6., – С. 420.

9. Григорьев Т. Е., Антипова К.Г. и др. Пористые полимерные материалы для тканевой инженерии //Гены и Клетки. 2019. – Т. 14. – №. S. – С. 71-72.

10. Антипова К.Г., Базылева К.Ю. Анализ физико-механического поведения гидрогелей на основе полиакриламида //Материалы XXVII Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов-2020», Москва, 2020.

11. Антипова К.Г. и др. Прочностные свойства электропроводящих гидрогелей на основе ПЭДОТ:ПСС // Сборник материалов Восьмой Всероссийской Каргинской конференции «Полимеры в стратегии научно-технического развития РФ «Полимеры-2020». Москва, 2020. – С. 266.

12. Григорьев Т.Е., Антипова К.Г. и др. Биомеханическое поведение полимерных матриц //Сборник материалов Восьмой Всероссийской Каргинской конференции «Полимеры в стратегии научно-технического развития РФ «Полимеры-2020». Москва, 2020. – С. 254.

13. Антипова К. Г. и др. Биомеханическое поведение гидрогелей на основе полиакриламида //Сборник материалов XVIII международной научно-

практической конференции «Новые полимерные композиционные материалы. Микитаевские чтения». Эльбрус, 2022. – С. 29.

14. Антипова К. Г. и др. Фантомы мягких биологических тканей на основе полиакриламида: получение и свойства //Гены и клетки. Учредители: Институт стволовых клеток человека. – 2022. – Т. 17. – №. 3. – С. 13.

15. Антипова К. Г. и др. Биосовместимые материалы на основе природных и синтетических полимеров с регулируемыми механическими свойствами//Сборник материалов XIX международной научно-практической конференции «Новые полимерные композиционные материалы. Микитаевские чтения». Эльбрус, 2023. – С. 29.

16. Антипова К.Г. и др. Механическое поведение гидрогелей на основе полиакриламида при различных видах нагружения //Сборник материалов IX Бакеевской Всероссийской с международным участием конференции «Макромолекулярные нанобъекты и полимерные нанокомпозиты», Тула, 2023. – С. 46.

## Благодарности

Автор выражает глубокую признательность Т.Е. Григорьеву, своему научному руководителю на всех этапах научного пути, за постановку задач, плодотворное обсуждение результатов, поддержку и помощь в написании данной диссертационной работы. Отдельно автор благодарит С.Н. Чвалуна за ценные советы и внимание к работе.

Особую признательность автор выражает А.Е. Крупнину за неоценимую помощь и поддержку на каждом этапе выполнения диссертационной работы, интересные и плодотворные дискуссии, полезные рекомендации. Автор благодарит С.В. Крашенинникова, К.И. Луканину и И.Е. Реброва за наставничество, ценные советы и полезные дискуссии.

Автор признателен всем сотрудникам Лаборатории полимерных материалов и коллегам из других отделов, в особенности А.А. Шаовой, А.П. Истоминой и П.М. Готовцеву за поддержку и создание теплой и дружеской атмосферы.