МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ М.В. ЛОМОНОСОВА

На правах рукописи

Крохмаль Алиса Александровна

Позиционирование объектов с помощью акустической радиационной силы в задачах биофабрикации

Специальность:

1.3.7. Акустика

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание учёной степени

кандидата физико-математических наук

Москва – 2022

Работа выполнена на кафедре акустики физического факультета Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова.

Научный руководитель:

Сапожников Олег Анатольевич,
доктор физико-математических наук, доцент,
профессор кафедры акустики физического факультета
Московского государственного университета имени
М.В. Ломоносова

Официальные оппоненты:

Дамдинов Баир Батуевич,
доктор физико-математических наук, доцент,
профессор кафедры общей физики
Института инженерной физики и радиоэлектроники
Сибирского федерального университета (ИИФиРЭ СФУ)

Есипов Игорь Борисович,
доктор физико-математических наук, профессор,
профессор кафедры физики факультета разработки
нефтяных и газовых месторождений Российского
государственного университета нефти и газа
(национального исследовательского университета)
имени И.М. Губкина

Ряполов Пётр Алексеевич,
доктор физико-математических наук, доцент,
декан естественно-научного факультета
Юго-Западного государственного университета

Защита диссертации состоится «28» декабря 2022 года в 17:00 на заседании диссертационного совета МГУ.013.6 на физическом факультете Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова по адресу: 119991, г. Москва, ГСП-1, Ленинские горы, д. 1, стр. 2, физическая аудитория имени Р.В. Хохлова.

С диссертацией можно ознакомиться в отделе диссертаций Научной библиотеки Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова (119192, г. Москва, Ломоносовский пр-т, д. 27) и в сети Интернет: https://istina.msu.ru/dissertations/488184031/

Автореферат разослан «____» ноября 2022 года.

Учёный секретарь
диссертационного совета МГУ.013.6
доктор физико-математических наук, доцент О.Г. Косарева
kosareva@physics.msu.ru

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность работы

В настоящее время активно разрабатываются акустические методы манипулирования объектами, которые находят применение в различных областях науки и техники [1-3]. Суть методов связана, как правило, с эффектом существования акустической радиационной силы, действующей на облучаемые ультразвуком частицы. При соответствующим образом подобранных условиях таким способом удается перемещать и удерживать в жидкости или газе твердотельные объекты как малого, так и большого волнового размера. Перспективность методов акустического манипулирования частицами связана с разнообразием излучателей, которые способны формировать оптимальные конфигурации ультразвукового поля, соответствующие размеру перемещаемых объектов и пространственному масштабу задачи.

Одним из актуальных направлений по бесконтактному манипулированию частицами с помощью ультразвука являются области медицины и биологии. Акустическое поле является одним из немногих излучений, способных без вреда для организма проникать внутрь человеческого тела и взаимодействовать с биологическими объектами. Например, с помощью акустической радиационной силы можно бесконтактным образом сдвигать почечные камни размером до 10 мм внутри человеческой почки, в частности, перемещать осколки почечных камней, образующихся после литотрипсии, в сторону мочеточника – такая процедура способна существенно облегчить состояние пациента и предупредить повторное образование почечных камней [4].

Активно развиваются акустические технологии в клеточной биологии для перемещения клеток и конгломератов клеток. С помощью многоэлеменных ультразвуковых источников или путем использования фазовых пластин создаются волновые поля с различными пространственными распределениями акустического давления [5, 6]. Широкий диапазон используемых частот (от десятков килогерц до гигагерц) делает возможным манипулирование частицами размером от десятков нанометров до нескольких миллиметров. Ультразвуковое поле позволяет оказывать силовое воздействие на частицы бесконтактно, не препятствуя доступу питательных веществ из жидкой среды, а необходимый для перемещения частиц уровень интенсивности поля может быть выбран достаточно низким, чтобы избежать кавитации в среде и вызванного ею разрушения клеток. Поэтому акустическое манипулирование частицами оказывается в высокой степени биосовместимой технологией. Это является неоспоримым преимуществом использования ультразвуковых волн для перемещения и левитации клеток и их конгломератов.

Основная сложность в оценке акустической радиационной силы – это расчет рассеянного поля, особенно если объект, помещенный в акустическое поле, многократно превышает длину волны и имеет сложную форму. Поэтому на практике часто используют различные приближения и допущения. В биомедицинских приложениях размер частиц, как правило, гораздо меньше длины волны. В таком случае для оценки акустической радиационной силы удобно использовать приближение Горькова, когда рассеянное поле описывается только монопольной и дипольной составляющей, а также становится возможным записать потенциал, пространственный градиент которого равен вектору радиационной силы [7]. Приближение Горькова также можно использовать для определения удерживающей силы в случаях, когда размер частиц сравним с длиной волны, если физические свойства рассеивателя – плотность и скорость звука – не сильно отличаются от параметров иммерсионной среды, что зачастую выполняется для биологических клеток и тканей в питательных растворах [8].

Иногда упомянутыми приближениями обойтись нельзя – например, если рассеиватель имеет большой волновой размер и сложную форму, находится в закрытой полости или на частицы воздействует комбинация из разных полей. В таком случае эффективным способом расчета акустической радиационной силы является численное моделирование. В основном используются метод конечных разностей [9], метод граничных элементов [10] и метод конечных элементов, последний реализован в повсеместно используемом коммерческом пакете моделирования Comsol Multiphysics [11]. Несмотря на высокие требования к вычислительным мощностям и значительное время расчета, численные методы позволяют с хорошей точностью оценить поле акустической радиационной силы и даже отследить динамику частиц в акустическом поле.

Перспективным направлением исследований является область тканевой инженерии, в которой акустические технологии также находят применение. Часто оказывается, что единичные клетки и клетки, сращенные в единую объемную ткань, по-разному реагируют на воздействие медицинских препаратов, поэтому для апробации новых лекарств было бы удобно иметь унифицированные трехмерные клеточные структуры [12, 13]. Еще одним направлением тканевой инженерии является создание трехмерных функциональных органоидов, которые выращиваются из клеток пациента и могут быть трансплантированы вместо больного органа. Такой подход решил бы сразу две проблемы: недостатка донорских органов и отторжения чужеродных тканей. Недавние успешные эксперименты по выращиванию искусственной щитовидной железы мыши и ее трансплантации после разрушения собственной щитовидной железы показали, что такой подход работоспособен – органоид успешно функционировал после пересадки и вырабатывал гормоны [14].

С помощью акустических полей удается структурировать клетки и собирать из них органоиды для дальнейших биологических исследований. В частности, с использованием акустических резонаторов оказывается возможным формирование тканевых сфероидов – конгломератов клеток сферической формы. Они образуются в результате того, что взвешенные в питательном растворе исходно одиночные клетки под действием радиационной силы устремляются к узлу акустического давления и после длительного нахождения в контакте друг с другом срастаются в единую ткань [15]. Так созданные тканевые сфероиды раковых клеток можно использовать для тестирования новых химиотерапевтических препаратов, а клетки здоровой ткани использовать как строительные блоки для более крупных органоидов в задачах биофабрикации. С помощью акустических резонаторов возможно также формирование одномерных тканевых волокон или двумерных структур, содержащих разные типы клеток. Так, например, было показано в экспериментах, что такие структуры оказывались жизнеспособными при пересадке в организм мыши и даже обрастали кровеносной системой [16, 17]. Для создания акустических полей, позволяющих добиться формирования двумерной плоской клеточной структуры, перспективным является использование акустических фазовых пластинок (голограмм) [18].

Основные успехи касались плоских структур, например, с помощью тканевой инженерии удается формировать участки искусственной кожи, которые используются, например, для лечения ожогов [19]. Однако создание многослойной тубулярной структуры для имитации сосудов и каналов до сих пор оставалось сложной задачей. Множество систем органов человека содержат тубулярные структуры, особенно, кардиоваскулярная, респираторная, мочеполовая и пищеварительная системы. Первые подходы биофабрикации цилиндрических конгломератов были предприняты методом заполнения коллагеновой формы гладкомышечными клетками и фибробластами. Другие методы использовали наложение плоских листов из клеток на сердечник, для формирования объемной цилиндрической структуры. Эксперименты по формированию тубулярных клеточных структур таким методом были проведены с различными типами клеток, а также разными поддерживающими форму материалами (синтетическими и натуральными полимерами, бесклеточными матриксами, человеческими органами). Была показана эффективность такого метода, а полученные тубулярные конгломераты даже были использованы для уретральной реконструкции в нескольких преклинических и клинических испытаниях [20].

Для создания более сложных и протяженных форм были предложены методы послойной 3D-печати, когда с помощью 3D-принтера послойно выдавливался полимерный биоразлагаемый гель, содержащий в себе живые клетки. Преимуществом такого метода является контроль над архитектурой конструкции. В качестве наполнителя можно использовать не только клетки, но и тканевые сфероиды, которые послойно печатаются совместно со стержнями из агарозы, используемыми в качестве формовочного шаблона [21, 22].

Новым шагом в тканевой инженерии стала сборка тканевых сфероидов посредством физических полей, без использования каркасов, подложек и гелей для удержания клеток или сфероидов. В данной диссертационной работе проведены пионерские исследования в этом направлении, а именно разработаны методы трехмерной биофабрикации с помощью акустической радиационной силы. Предложены новые методы по удержанию и сборке тканевых сфероидов и керамических гранул в акустическом поле.

Создание трехмерных тканевых конгломератов позволит, с одной стороны, более эффективно тестировать новые лекарства, так как плоские и объемные конгломераты клеток реагируют на лекарственное воздействие по-разному. С другой стороны, акустическая биофабрикация откроет новые горизонты в создании органоидов, способных выполнять функции реальных органов человека. Нехватка донорских органов является важной проблемой в современной медицине, а трехмерная сборка органоидов в акустическом поле может стать перспективным решением.

В большинстве существующих методов биофабрикации используются каркасы, изготовленные из биоматериалов или наноматериалов. Использование каркасов имеет ряд существенных недостатков, в том числе отрицательную реакцию со стороны клеток на указанные материалы, что не позволяет создавать требуемые пространственные структуры. Поэтому актуальными являются разработанные в настоящей диссертации принципиально новые методы биофабрикации, в которых трехмерные тканевые конгломераты бесконтактно собираются из множества тканевых сфероидов в объемном поле сил различной природы. Собранные вместе в силовой ловушке, тканевые сфероиды контактируют друг с другом и, таким образом, сливаются, образуя трехмерный тканевый конгломерат, по физическим характеристикам близкий к реальным человеческим тканям.

Одна из самых простых и часто встречающихся форм в тканях и органах – это кольцо или трубка, так как именно трубчатую форму имеют кровеносные сосуды и капилляры. Проблема васкуляризации остро стоит перед биоинженерией, так как для поддержания жизнеспособности ткани необходимо не только собрать структуру из клеток, но и питать ее. Множество существующих методов биофабрикации позволяют изготавливать структуры лишь простой формы, тогда как реальные органы содержат полые кровеносные сосуды. В этой связи актуальной является разработанная в данной диссертации методика, позволяющая создавать тканевые структуры в форме трубок, которые могли бы выполнять функции кровеносных сосудов. Для решения этой проблемы использован метод биофабрикации с помощью совместного использования акустического и магнитного полей.

Целью диссертационной работы является разработка экспериментальных подходов и инструментов для манипулирования объектами с помощью акустической радиационной силы для целей биофабрикации. В качестве объектов воздействия рассматриваются сферические конгломераты живых клеток – тканевые сфероиды, а также имитаторы тканевых сфероидов – гранулы фосфата кальция и полистироловые шарики, а для эффективного манипулирования выбираются оптимальные параметры ультразвукового и магнитного полей. Для достижения обозначенной цели решались следующие **задачи**:

1) Провести теоретический анализ условий, необходимых для левитации и удержания частиц в плоской и цилиндрической стоячих акустических волнах.

2) Найти резонансные частоты полого цилиндрического пьезоэлектрического преобразоватетеля для формирования стоячей цилиндрической волны; осуществить экспериментальное удержание частиц в узловых областях стоячего поля.

3) Выполнить анализ точности метода по расчету акустической радиационной силы, действующей на упругий сферический рассеиватель произвольного волнового размера, и реализацию на основе указанного метода программного обеспечения с графическим интерфейсом.

4) Определить значимые параметры для эффективной магнитной левитации сфероидов и гранул фосфата кальция; оценить время сборки в поле постоянного магнита в зависимости от вязкости жидкой среды и концентрации парамагнетика в ней.

5) Создать экспериментальную установку для сборки и слияния тканевых сфероидов в сильном магнитном поле электромагнита Биттера; разработать экспериментальную методику по формированию трубчатой конструкции из тканевых сфероидов в акустическом поле.

<u>Объект и предмет исследования</u>

Объектом исследования в диссертационной работе являются источники ультразвукового поля и манипулируемые частицы (тканевые сфероиды, полистироловые шарики, гранулы фосфата кальция) размером порядка сотен микрон. Предметом исследования являются пространственно-временная структура акустических полей и новые методы манипулирования частицами с помощью акустической радиационной силы.

<u>Методология исследования</u>

Для осуществления манипулирования частицами в акустическом поле использовались аналитические модели для расчёта акустической радиационной силы, основанные на приближении Горькова в случае малого размера частиц и метода решения полной задачи рассеяния на сфере для каждой угловой компоненты падающего поля для случая произвольного волнового размер частиц. Акустические и магнитные поля, а также динамика движения и сборки частиц в этих полях были теоретически исследованы методом конечных элементов с помощью пакета численного моделирования COMSOL. Расчет акустической радиационной силы, действующий на рассеиватель произвольного размера, производился с использованием программного пакета, созданного автором на языке программирования Python 3.

В экспериментах по манипулированию частицами в качестве источника ультразвукового поля использовался цилиндрический пьезоэлектрический преобразователь, позволявший создавать стоячую цилиндрическую волну, и комбинация плоского пьезоэлектрического диска с расположенным на некотором расстоянии от него рефлектором, позволявшая возбуждать плоскую стоячую волну. Преобразователи работали в мегагерцовом диапазоне частот и управлялись с использованием генератора сигналов Agilent 33250 A, который подавал электрический сигнал в гармоническом режиме, а контроль за излучаемыми сигналами осуществлялся с помощью осциллографа Tektronix TDS5034B. В некоторых экспериментах использовался усилитель мощности ENI RF Power Amplifier. В качестве источников магнитного поля были использованы постоянные кольцевые неодимовые магниты и электромагнит Биттера в лаборатории сильных магнитных полей Университета Неймегена, Нидерланды.

<u>Научная новизна</u> работы заключается в разработке следующих новых методов в рамках подготовки диссертации.

1. Разработана методика биофабрикации тканевых конгломератов тубулярной структуры в стоячем цилиндрическом акустическом поле с использованием подложки из агарозы.

2. Разработан метод левитационной биофабрикации тканевых конгломератов в форме кольца в комбинированном магнито-акустическом поле, когда источником магнитного поля являются постоянные магниты кольцевой формы.
3. Разработан метод левитационной сборки тканевых конгломератов тубулярной формы в комбинированном магнито-акустическом поле, когда источником магнитного поля является электромагнит Биттера.
4. Реализован программный комплекс с графическим интерфейсом для расчета акустической радиационной силы, действующей на упругий сферический рассеиватель произвольного размера со стороны акустического пучка с произвольной структурой.

Практическая значимость работы

1. Разработанные подходы по биофабрикации тканевых конгломератов тубулярной формы могут применяться для создания органоидов для тестирования новых лекарственных препаратов.
2. Предложенные методы биофабрикации тубулярных тканевых конгломератов могут быть использованы для создания искусственных кровеносных сосудов или использоваться для замещения других тубулярных структур в теле человека, например, для уретропластики.
3. Созданный программный комплекс с графическим интерфейсом может быть использован для расчёта акустической радиационной силы в различных приложениях, связанных с акустической левитацией и манипуляцией твердотельными частицами в жидкостях и газах.

Положения, выносимые на защиту:

1. Акустическая радиационная сила, возникающая в жидкости в стоячем плоском или цилиндрическом ультразвуковом поле мегагерцового диапазона частот, способна перемещать в пространстве биологические частицы размером порядка сотен микрон и собирать их в узлах акустического давления в единую структуру.
2. Акустические ловушки, основанные использовании эффекта радиационной силы для манипуляции упругими рассеивателями большого волнового размера в жидкости, могут быть сконструированы и оптимизированы на основе теоретического расчёта с использованием углового спектра акустического поля, излучаемого многоэлементными излучателями.
3. Комбинация акустического и магнитного полей позволяет осуществлять левитацию тканевых сфероидов субмиллимерового размера и тем самым создавать из них органоиды тубулярной формы, обладающие жизнеспособностью и функциональностью.

Достоверность и обоснованность представленных в диссертационной работе результатов подтверждается проверочными численными и физическими экспериментами, а также соответствием результатов экспериментов априорной информации, теоретическим расчетам и результатам, полученным в работах других авторов.

Апробация работы

Вошедшие в диссертацию материалы докладывались и обсуждались на следующих профильных Всероссийских и международных конференциях: на XVI, XXII Всероссийских школах-семинарах «Волновые явления в неоднородных средах» имени А.П. Сухорукова (г. Можайск, 27 мая – 1 июня 2018 г., 6 –11 июня 2021 г.), на 2-ой и 3-ей Всероссийских акустических конференциях (г. Нижний Новгород, 6-9 июня 2017 г., Санкт-Петербург, 21-25 сентября 2020 г.), на XXXII и XXXIV сессиях Российского акустического общества (г. Москва, 14–18 октября 2019 г., 14-24 февраля 2022 г.), на Международном конгрессе по тканевой инженерии и регенеративной медицине TERMIS-EU 2019 (г. Родос, Греция, 27-31 мая 2019 г.), на Международной конференции HFML - FELIX User Meeting 2019 (г. Неймеген, Нидерланды, 8-10 июля 2019 г.), на Международном конгрессе по ультразвуку ICU 2019 (г. Брюгге, Бельгия, 3–6 сентября 2019 г.), на Международной конференции по биофабрикации 2019 (г. Коламбус, США, 20–22 октября 2019 г.), на 4-ом Международном симпозиуме «Физика, инженерия и технологии биомедицины (г. Москва, 26–30 октября 2019 г.), а также на Всероссийском Фестивале Науки (г. Москва, 9–11 октября 2020 г.), на Зимней школе по терапевтическому ультразвуку (Лезуш, Франция, 3–8 марта 2019 г.) и обсуждалась на научных семинарах кафедры акустики физического факультета МГУ.

Работа, представленная автором в рамках настоящей диссертации, была поддержана РФФИ в рамках научного проекта № 20-32-90093 «Конкурс на лучшие проекты фундаментальных научных исследований, выполняемые молодыми учеными, обучающимися в аспирантуре», стипендией Президента по приоритетным направлениям, стипендией Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова для молодых сотрудников, аспирантов и студентов, добившихся значительных результатов в педагогической и научно-исследовательской деятельности, стипендией фонда развития теоретической физики и математики «Базис» и стипендией Американского акустического общества (ASA International Student Grant).

Публикации

Основные результаты диссертации изложены в 20 печатных работах, в том числе 6 статьях в рецензируемых научных журналах, удовлетворяющих

Положению о присуждении ученых степеней в МГУ имени М.В. Ломоносова, 2 публикациях в других рецензируемых научных изданиях и 12 публикациях в сборниках трудов и тезисов конференций. Список работ автора приведен в конце автореферата перед списком литературы.

Личный вклад автора

Все представленные в диссертационной работе результаты получены автором лично или при его определяющем участии. Постановка задач и обсуждение результатов проводились совместно с научным руководителем. Автором самостоятельно проводились эксперименты по акустическому и магнитному манипулированию частицами, создавались экспериментальные установки, на которых были получены представленные в работе тканевые конгломераты в форме трубки. Лично автором проведены все этапы компьютерного моделирования для планирования экспериментов по сборке частиц и для иллюстрации динамики их движения. Подготовка к публикации полученных результатов проводилась совместно с соавторами. Автором была проведена значительная работа над текстом статей, а также представление их в редакции журналов и переписка с редакторами и рецензентами. Вклад автора в научных трудах [A6] составлял от 1/2 до 1/3; в научных трудах [A4, A5] от 1/4 до 1/5.

Оригинальные результаты, изложенные в научных трудах [A1-A3, A7-A8], получены автором лично либо при его определяющей роли, а также при непосредственном участии автора в теоретических и прикладных исследованиях, которые проводились совместно с соавторами публикаций, изданных по теме диссертации.

Структура и объем диссертации

Диссертация состоит из общего вводного раздела, четырёх глав и заключения. Каждая глава включает в себя краткое введение в рамках поставленной задачи, оригинальную часть и выводы. Работа содержит 121 страницу, включает 36 рисунков, 1 таблицу и 122 библиографические ссылки.

СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Во Введении обоснована актуальность исследуемой проблемы, приведен обзор литературы, сформулированы цели работы и описано ее краткое содержание по главам.

В первой главе изложены теоретические основы принципа действия акустической радиационной силы на рассеиватель малого волнового размера в плоском и цилиндрическом поле, экспериментально продемонстрирована возможность левитации частиц и предложен метод сборки частиц в трубчатый конгломерат с помощью стоячего цилиндрического поля.

В **§1.1** представлено теоретическое описание радиационной силы, действующей на частицы малого волнового размера. Рассмотрены случаи плоской и цилиндрической стоячей волны. Показано, что для рассматриваемых частиц (полистироловых шариков, керамических гранул из трикальций фосфата (ТКФ) и тканевых сфероидов) в стоячей ультразвуковой волне акустическая радиационная сила будет направлена в сторону узлов поля. Найдено соотношение для пороговой амплитуды акустического давления для левитации частиц в плоском стоячем акустическом поле. Приведено соотношение, связывающее радиус первого узла цилиндрического поля R_1 с волновым числом k:

$$R_1 \approx \frac{2.404}{k}. \tag{1}$$

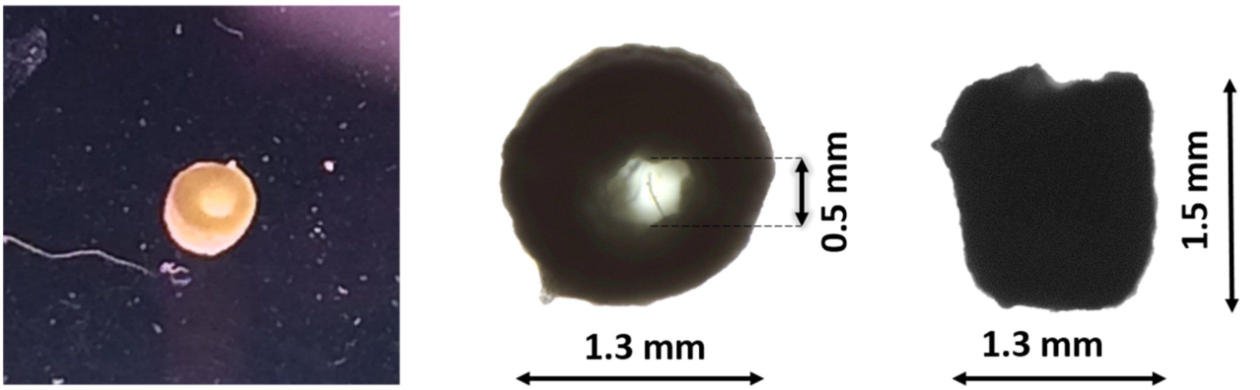
Показан способ моделирования акустического поля в области излучения полого цилиндрического преобразователя методом конечных элементов для более точного определения условий сборки, а также для иллюстрации структуры ультразвукового поля.

В **§1.2** продемонстрирована возможность левитации частиц малого волнового размера в стоячем ультразвуковом поле (рис. 1). Гранулы ТКФ помещались в резонатор, состоящий из расположенных параллельно напротив друг друга плоского пьезоэлектрического преобразователя и стеклянного рефлектора. Была найдена пороговая мощность, обеспечивающая стабильное удержание частиц в воде и в растворе сахарозы. Было показано, что гранулы собираются в узловых областях поля и расстояние между слоями соответствует половине длины волны. Неоднородность акустического поля в радиальном направлении, обусловленная волнами Лэмба в пьезоэлектрической пластине, способствует сборке частиц на горизонтальных уровнях.

а *б* *в*

Рис. 1. Левитация гранул ТКФ в (а) воде, (б) растворе сахарозы. (в) Совпадение расстояния между левитирующими слоями с полуволновым расстоянием между узлами стоячей волны.

В **§1.3** была продемонстрирована возможность биофабрикации тканеинженерного объекта в форме трубки в стоячем цилиндрическом поле заданного радиуса. Предложенный метод подразумевает использование только акустического поля низкой интенсивности, что является безопасным даже при длительном воздействии на сфероиды. Разработан подход по сборке сфероидов внутри полого цилиндрического пьезоэлектрического преобразователя, излучающего на частоте 780 кГц, с помещением сфероидов в специальную агарозную форму, которая является безопасной подложкой, пропускает питательные вещества и не искажает акустическое поле. Длина тканевых трубочек, полученных методом акустической биофабрикации составляла до 7-9 слоев сфероидов в высоту, а радиус порядка 1.3 мм (рис. 2). Анализ слившейся тканевой трубки показал, что клетки сохраняют свою жизнеспособность.



а б в

Рис. 2. Слившийся тканеинженерный конгломерат из хондроцитов в форме трубки: (а) – общий вид конгломерата, (б), (в) – вид сверху и сбоку под микроскопом.

Во второй главе обсуждается метод расчета акустической радиационной силы, действующей на рассеиватель произвольного волнового размера, возможность манипулирования крупными объектами подтверждается экспериментально.

В **§2.1** на основе метода углового спектра был реализован сервис с графическим интерфейсом на языке Python, позволяющий проводить расчет акустической радиационной силы, действующей со стороны произвольного акустического пучка на упругий сферический рассеиватель, задавая посредством дружественного интерфейса параметры акустического поля и рассеивателя. Пример графического отображения результатов расчета радиационной силы, действующей на рассеиватель большого волнового размера, в двумерном случае, показан на рис. 3.

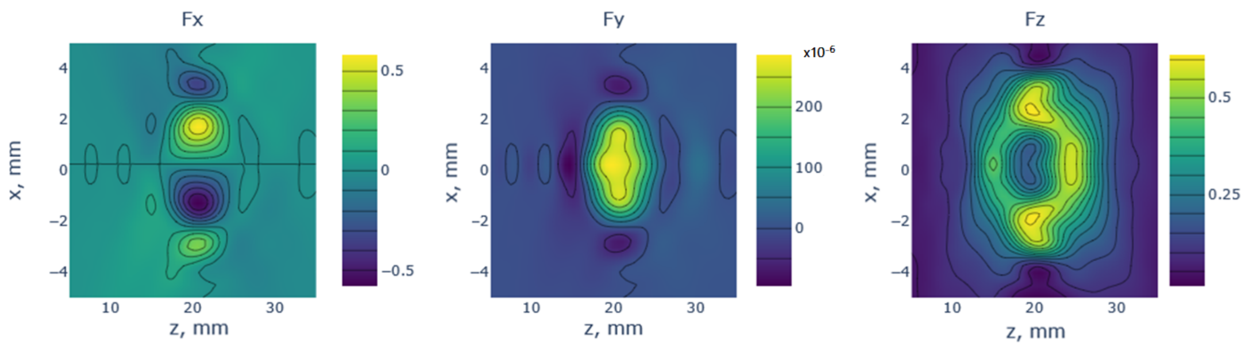


Рис. 3. Радиационная сила на плоскости *xz* в фокусе фокусирующего излучателя, действующая на нейлоновый сферический рассеиватель радиуса 3 мм. Отметим, что в силу симметрии задачи F_y должна быть равна нулю. Расчет показал, что F_y<0.0005, т.е. на 3 порядка меньше характерных значений F_x и F_z.

Разработанный сервис прост в установке и использовании и имеет открытый код, то есть алгоритм доступен широкому кругу пользователей. Была проведена оценка точности метода, которая показала, что для рассеивателя радиуса a и волнового числа в среде k при достижении количества итерационных членов, используемых в расчетном алгоритме, $N_{max} = ka + 5$ (отмечено точкой на каждом графике) точность счета достигает значения 10^{-5}. Также была проведена оптимизация скорости счета, что в совокупности с возможностью загрузки пользователем экспериментально измеренной голограммы звукового поля делает созданное программное обеспечение удобным инструментом для практического применения и может использоваться, например, для моделирования акустических ловушек для объектов, размер которых существенно превышает длину волны. Программный комплекс находится в открытом доступе на сайте https://github.com/nkrokhmal/rfc_calculation [23].

В **§2.2** приводятся результаты моделирования и эксперимента по удерживанию большого рассеивателя в поле многоэлементного излучателя. Для того, чтобы удерживать в некоторой области пространства довольно крупный рассеиватель, предлагается создать структуру звукового поля в виде «чаши», в центре которой амплитуда акустического давления имеет минимум, а по краям – максимум. Было показано с помощью моделирования методом конечных элементов в пакете COMSOL, что такого вида каустика может быть создана, если задать на элементах излучателя фазу, линейно зависящую от полярного угла. В таком случае акустические лучи будут отходить от поверхности излучателя под некоторым постоянным углом, образуя тем самым каустику в виде участка сферы.

Также с помощью упомянутого в **§2.1** программного обеспечения была рассчитана акустическая радиационная сила, действующая на помещенный в области фокуса рассеиватель диаметар 3 мм со стороны многоэлементного кольцевого излучателя, состоящего из 12 колец с минимальным радиусом 2 см и максимальным радиусом 5 см, излучающего на частоте 2 МГц. Кольца являются участками сферической поверхности с радиусом кривизны 7 см.

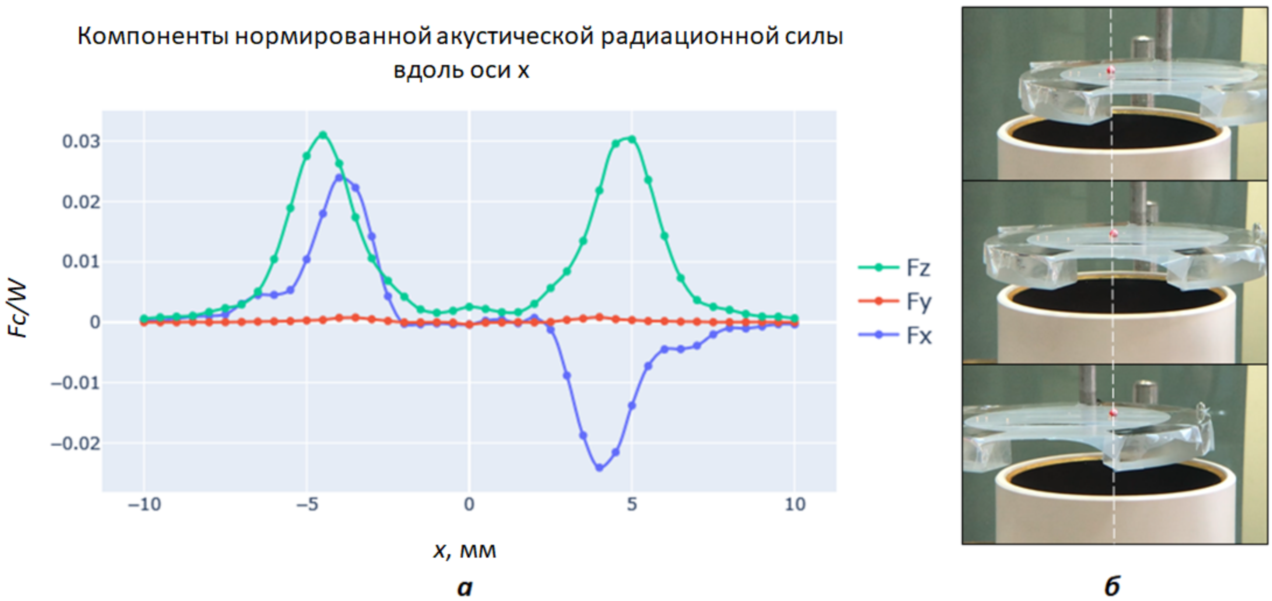


Рис. 4. (а) Результаты расчета компонент радиационной силы в созданном сервисе с графическим интерфейсом вдоль оси x на расстоянии 5.5 см от поверхности излучателя, (б) экспериментальная демонстрация удержания шарика в горизонтальной плоскости с помощью описанной выше конфигурации акустического поля.

Результаты расчета показали, что в случае линейной зависимости фазы на элементах в зависимости от полярного угла будет происходить удержание крупного рассеивателя в горизонтальном направлении (рис. 4 а). Это также было подтверждено экспериментально (рис. 4 б). В **§2.3** представлены выводы ко второй главе.

В третьей главе рассмотрены методы биофабрикации с помощью магнитофоретической силы, источником которой выступают постоянные магниты. Рассмотрен механизм и условия магнитной левитации тканевых сфероидов, изучен экспериментально и численно промоделирован процесс их сборки в единый конгломерат. Проанализированы эксперименты по биофабрикации в магнитном поле в земных условия и в условиях невесомости на станции МКС.

В **§3.1** рассматривается явление магнитофореза. Анализ выражения зависимости магнитофоретической силы от значимых параметров показывает, что для воздействия на тканевые сфероиды, взвешенные в жидком питательном растворе и помещенные в магнитное поле, необходимо создать разность магнитных восприимчивостей частиц и окружающей их среды.

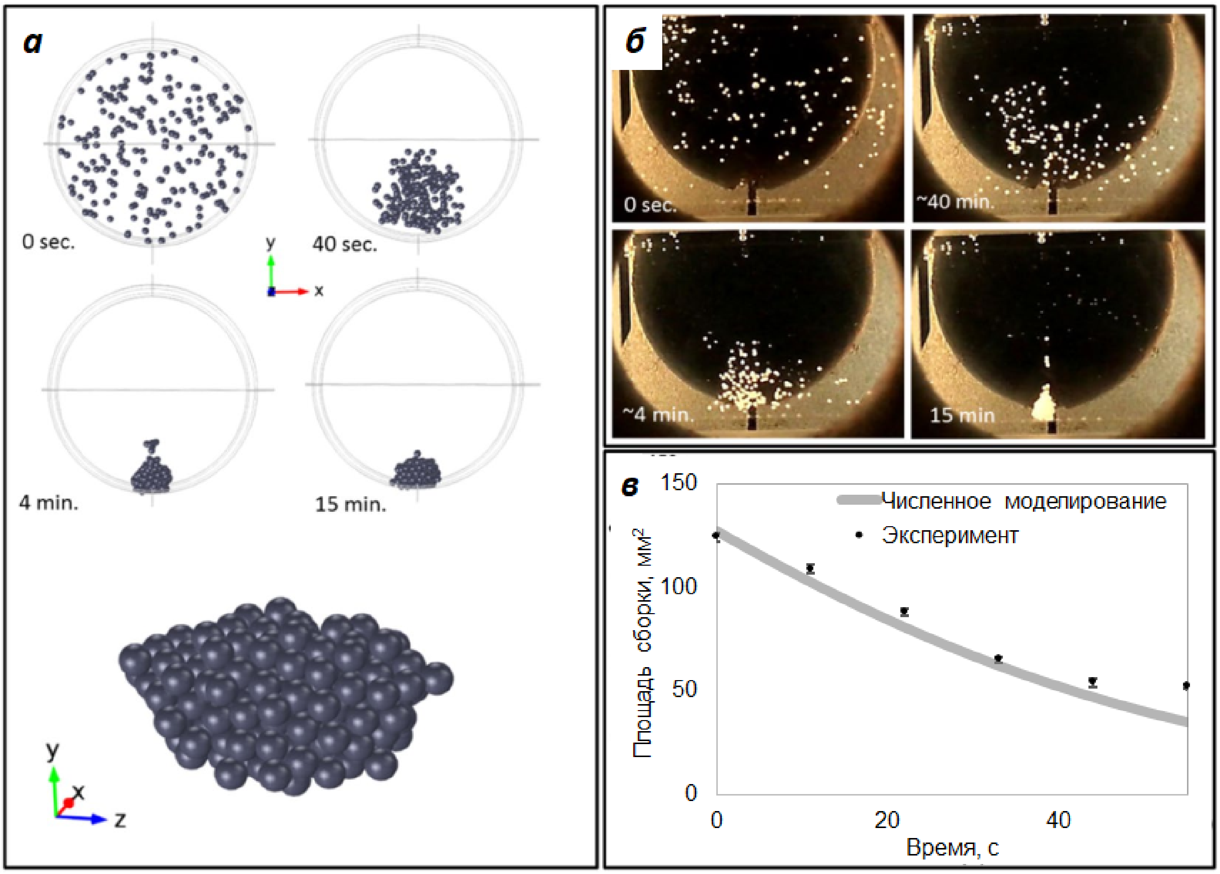


Рис. 5 (а) Численный расчет и (б) эксперимент по сборке гранул фосфата кальция в магнитном поле; (в) зависимость площади сборки от времени – сравнение результатов компьютерного моделирования и экспериментальных данных.

Этого можно достичь, добавив в жидкую среду соли парамагнетика Gd^{3+}. Также необходим большой градиент магнитного поля, что достигается с помощью особенностей конструкции экспериментальной установки, состоящей из двух кольцевых неодимовых магнитов, соединенных друг с другом южными полюсами. Вблизи плоскости соприкосновения магнитов достигается максимум градиента магнитного поля, за счет чего в области отверстия образуется магнитная ловушка, притягивающая тканевые сфероиды.

Результаты численного моделирования методом конечных элементов показали, что экспериментальная динамика сборки гранул ТКФ хорошо описывается компьютерной моделью: верно оценивается положение и форма сборки для заданных параметров расчета – левитация происходит вблизи нижнего края рабочей зоны внутри отверстия в магнитах (рис. 5 а, б). Численная модель позволяет также оценить и зависимость площади сечения ансамбля частиц в зависимости от времени (рис. 5 в).

В **§3.2** была осуществлено проверка возможности биофабрикации тканевых сфероидов в магнитном поле в условиях невесомости на Международной космической станции (МКС). Эксперимент по сборке тканевых сфероидов на Российском сегменте МКС был проведен лабораторией «3Д Биопринтинг Солюшенс» совместно с госкорпорацией «Роскосмос». Для осуществления эксперимента был сконструирован магнитный биопринтер Орган.Авт, который был доставлен на борт космической станции 3 декабря 2018 г. Спустя сутки, 4 декабря 2018 г. космонавт О.Д. Кононенко провел эксперимент по биофабрикации органных формирований хряща и щитовидной железы.

Для анализа процесса сборки сфероидов в магнитном поле в условиях невесомости было проведено численное моделирование динамики частиц (рис. 6), которое показало, что скорость сборки сфероидов напрямую зависит как от разности магнитных проницаемостей среды и сфероидов, так и от вязкости среды, определяющейся температурным режимом. Было найдено соотношение, показывающее, что время сборки прямо пропорционально вязкости жидкой среды η и обратно пропорционально разности магнитных проницаемостей сфероидов и среды $\mu_p - \mu_f$. Этот результат полезен тем, что, измерив время сборки при одной концентрации Gd^{3+} в среде, при неизменных других параметрах эксперимента можно довольно точно оценить время сборки при другой концентрации парамагнетика. Также анализ результатов численного моделирования и эксперимента показал, что в условиях невесомости возможно в несколько раз снизить концентрацию парамагнетика Gd^{3+} в среде, что позволяет осуществить эффективную сборку конгломерата из тканевых сфероидов без уменьшения жизнеспособности клеток. В **§3.3** приведены выводы к третьей главе.

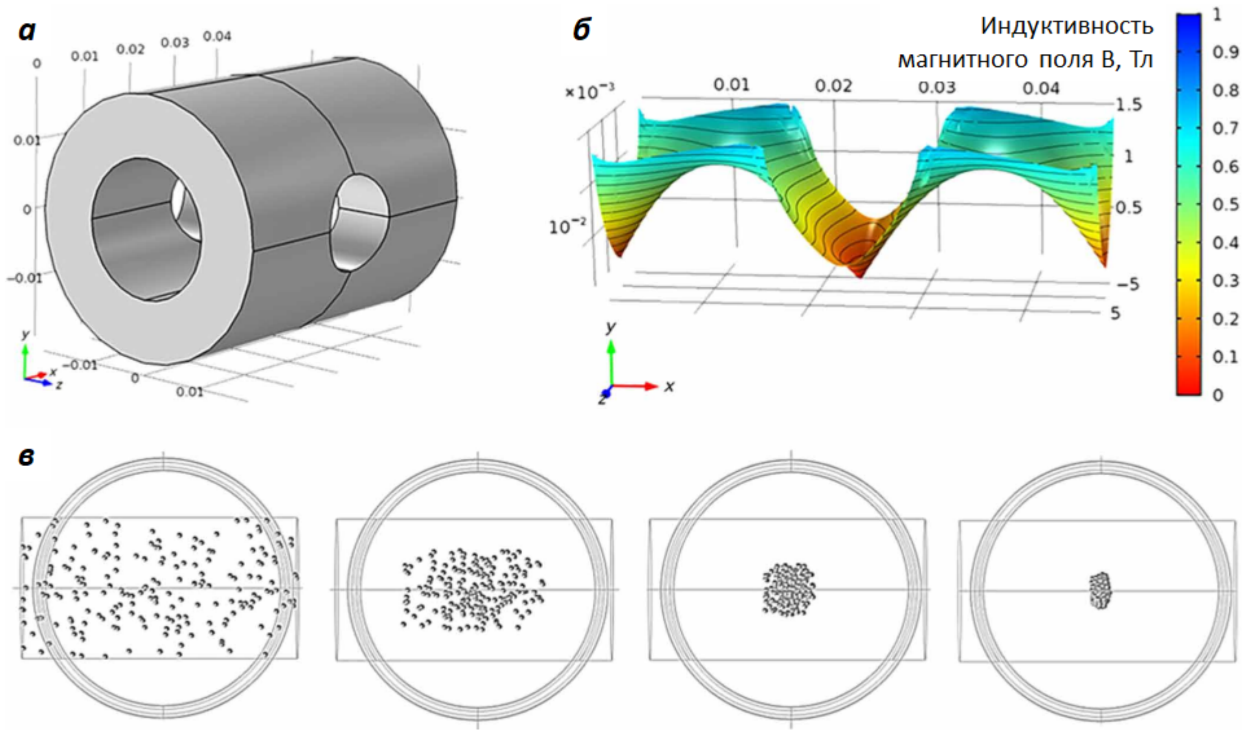


Рис. 6. (а) Схема магнитной установки, состоящей из двух кольцевых магнитов, ориентированных одинаковыми полюсами друг к другу, с отверстием для наблюдения; (б) рассчитанное методом конечных элементов поле внутри магнитов на плоскости xz, цветом и координатой вдоль оси y показала амплитуда индукции магнитного поля, минимум наблюдается в центре поля; (в) моделирование динамики сборки сфероидов внутри магнитной установки, вид через отверстие для наблюдения.

В четвертой главе изложены методы левитационной сборки тканевых сфероидов в форме трубки под совместным действием акустических и магнитных сил, причем в качестве источника магнитного поля были использованы как постоянные магниты, так и мощный электромагнит Биттера, проведен биологический анализ жизнеспособности сфабрикованных тканевых конгломератов.

В **§4.1** описываются результаты эксперимента по магнито-акустической левитации в поле цилиндрической акустической волны и магнитного поля постоянного магнита. Была разработана методика, позволяющая осуществить быструю левитационную сборку конструкции из тканевых сфероидов, случайным образом распределенных в рабочем объеме питательной среды. В условиях эксперимента, чтобы получить трубку диаметром 1.5 мм, требовалось излучить ультразвуковую волну частотой 775 кГц, а для осуществления магнитной левитации в питательной среде были растворены соли парамагнетика гадолиния, концентрация которых была 50 ммоль/л. В результате сборки левитирующих в магнитном поле тканевых сфероидов разных типов в узлах ультразвукового поля в течение 24 часов при температуре 37° C они слились в единый тканевый конгломерат в форме кольца диаметра 1.5 мм, что соответствовало расчетному значению (рис. 7). Толщина конгломерата была неоднородной и составила 1-2 слоя сфероидов.

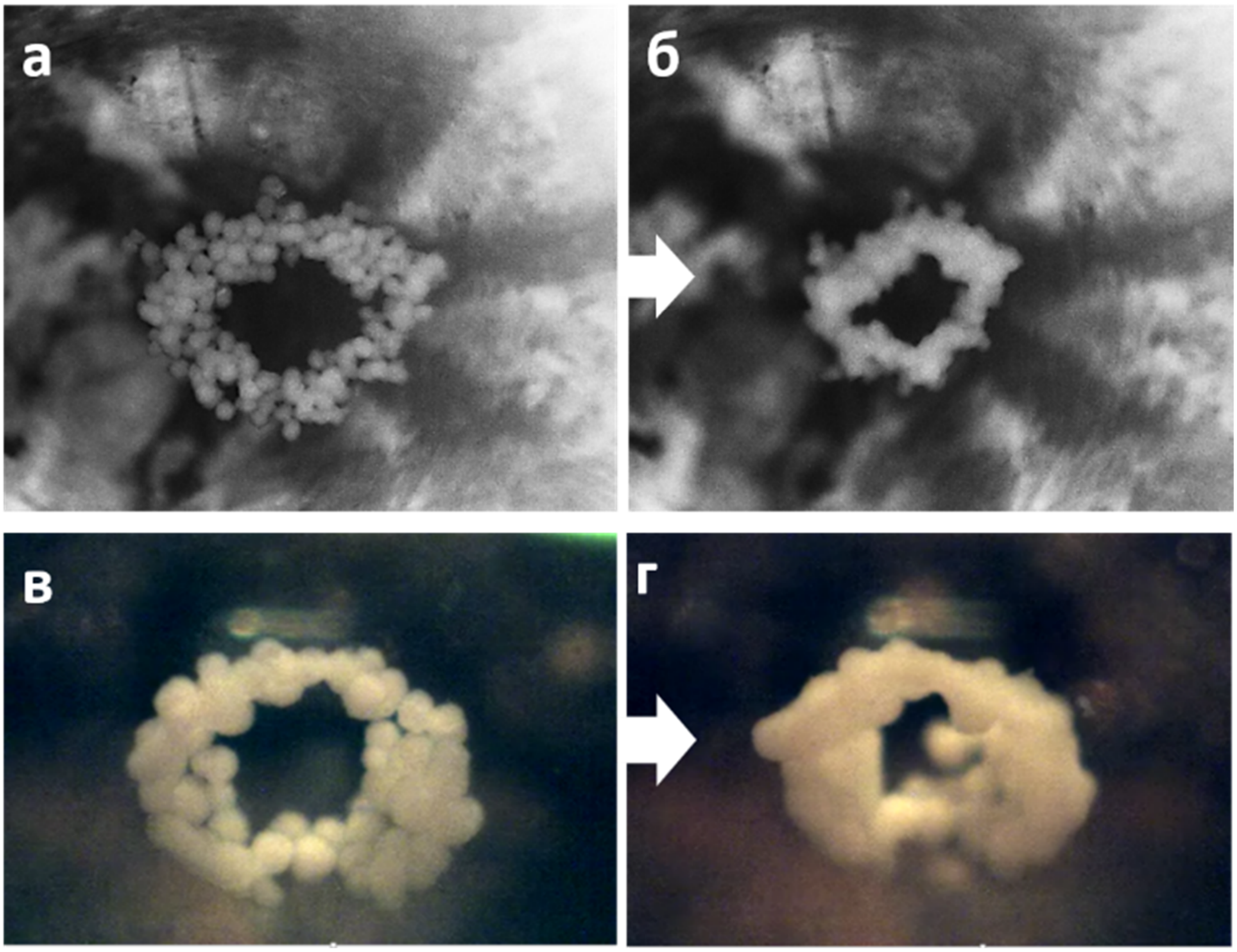


Рис. 7. Формирование кольца из сфероидов в начале эксперимента и после 20 часов слияния из (а, б) гладкомышечных клеток и (в, г) хондроцитов.

В **§4.2** предложен метод манипулирования микроскопическими объектами для формирования единого трубчатого конгломерата с помощью сильного постоянного магнитного поля и стоячего цилиндрического акустического поля. Эксперимент по магнитной левитации был проведен на биттеровских магнитах в Лаборатории сильных магнитных полей университета Неймегена (г. Неймеген, Нидерланды) в рамках совместных проектов NSO04-218 и NMA11-119 университета Неймегена (Нидерланды) с компанией «3Д Биопринтинг Солюшенс» (Россия) при поддержке European Magnetic Field Laboratory.

Экспериментально продемонстрировано, что использованный подход позволяет создавать трехмерную трубку из тканевых сфероидов заданного размера из живых клеток при поле безопасной концентрации парамагнетика. Показано, что диаметр сборки зависит от частоты излучаемой ультразвуковой волны в соответствии с выражением (1) (рис. 8). Магнито-акустическая сборка в постоянного магнита позволяет собрать конгломерат в форме кольца и требует довольно высокой концентрации солей парамагнетика в питательный раствор сфероидов, что вызывает ощутимое (на 13 %) снижение жизнеспособности клеток, тогда как левитация в сильном поле электромагнита Биттера позволяет собрать ровный цилиндрический конгломерат и позволяет более чем в два раза до 20 ммоль/л снизить концентрацию парамагнетика в среде.

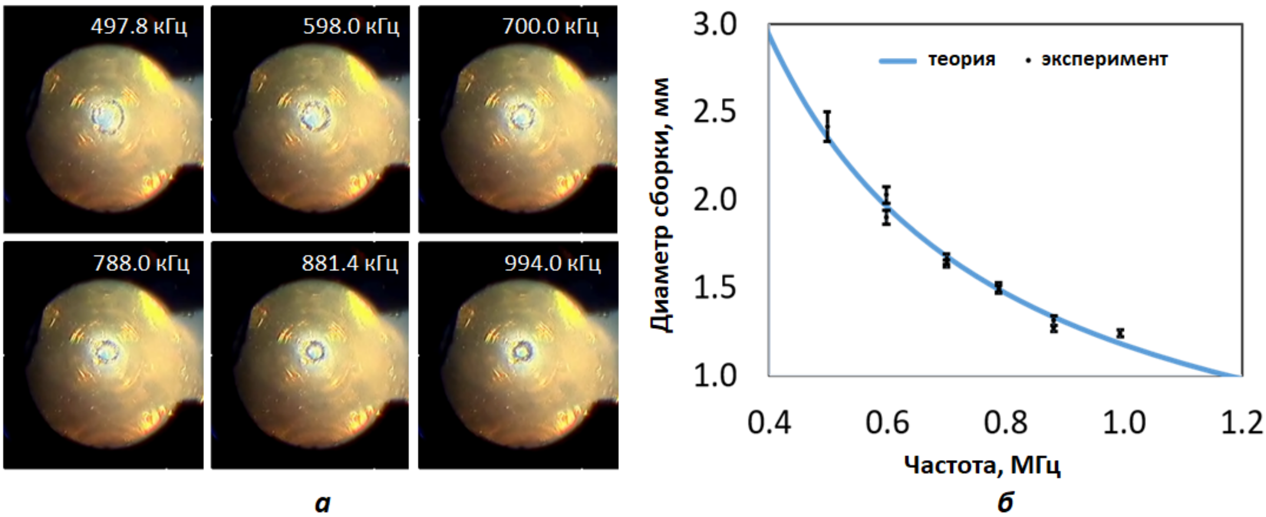


Рис. 8 (а) Изменение диаметра сборки полистироловых шариков в зависимости от частоты; (б) сравнение диаметра сборки с аналитической зависимостью от частоты.

Также было проведено исследование биологических свойств тканевого конгломерата. Показано, что конгломерат остается жизнеспособным и сохраняет функциональную способность к сжатию в ответ на воздействие вазоконстриктора. **§4.3** приведены выводы к четвертой главе.

В Заключении сформулированы основные результаты и выводы диссертационной работы.

ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

1. Создан вычислительный комплекс с графическим интерфейсом, позволяющий рассчитать акустическую радиационную силу, действующую со стороны произвольного звукового поля на твердотельный сферический рассеиватель большого волнового размера. Оценена точность используемого метода. С помощью созданного комплекса было реализовано поперечное удержание крупного рассеивателя в поле многоэлементного излучателя.
2. Разработаны методы биофабрикации, основанные на действии акустической радиационной силы. Экспериментально продемонстрирована возможность сборки и слияния конгломератов в форме кольца в магнито-акустическом поле, когда источник магнитного поля – постоянный магнит, а источник стоячего ультразвукового поля – полый пьезоэлектрический преобразователь. Показана возможность биофабрикации тканевых конгломератов из сфероидов в акустическом стоячем поле с использованием специальной формы из агарозы.
3. Разработана методика левитационной сборки сфероидов в конгломерат тубулярной формы в поле электромагнита Биттера и стоячем цилиндрическом ультразвуковом поле внутри полого пьезоэлектрического преобразователя. Разработана оригинальная экспериментальная установка. Показана возможность биофабрикации жизнеспособного и функционального тканевого конгломерата.

ПУБЛИКАЦИИ АВТОРА ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Публикации в рецензируемых научных журналах, удовлетворяющих Положению о присуждении ученых степеней в МГУ имени М.В. Ломоносова:

А1. **Крохмаль А.А.**, Сапожников О.А., Кудан Е.В., Грядунова А.А., Цысарь С.А., Петров С.В., Перейра Ф., Хесуани Ю.Д., Миронов В.А., Парфенов В.А. *Создание полых цилиндрических конструктов из тканевых сфероидов с помощью акустической радиационной силы* // Известия Российской академии наук. Серия физическая. 2021. Т. 85. № 6. С. 883–888. **IF = 0.8 (Scopus)**

А2. **Крохмаль А.А.**, Николаев Д.А., Цысарь С.А., Сапожников О.А. *Создание эталонной плоской ультразвуковой волны в жидкости с помощью плоского пьезоэлектрического преобразователя большого волнового*

размера // Акустический журнал. 2020. Т. 66. № 5. С. 475–488. **IF = 0.782 (WoS)**

A3. **Крохмаль А.А.**, Крохмаль Н.Е., Сапожников О.А. *Расчёт акустической ловушки для упругого сферического рассеивателя большого волнового размера* // Известия Российской академии наук. Серия физическая. 2022. Т. 86. № 2. С. 257–262. **IF = 0.8 (Scopus)**

A4. Parfenov V.A., Mironov V.A., Koudan E.V., Nezhurina E.K., Karalkin P.A., Pereira F.D.A.S., Petrov S.V, **Krokhmal A.A.**, Aydemir T., Vakhrushev I.V., Zobkov Y.V., Smirnov I.V., Fedotov A.Y., Demirci U., Khesuani Y.D., Komlev V.S. *Fabrication of calcium phosphate 3D scaffolds for bone repair using magnetc levitational assembly* // Scientific reports. 2020. V. 10. N. 1. P. 4013. **IF = 3.998 (WoS)**

A5. Parfenov V.A., Khesuani Y.D, Petrov S.V., Karalkin P.A., Koudan E.V., Nezhurina E.K., Pereira F.D.A.S., **Krokhmal A.A.**, Gryadunova A.A., Bulanova E.A., Vakhrushev I.V., Babichenko I.I., Kasyanov V.A., Petrov O.F., Vasiliev M.M., Brakke K., Belousov S.I., Grigoriev T.E., Osidak E.O., Rossiyskaya E.I., Buravkova L.B., Kononenko O.D., Demirci U., Mironov V.A. *Magnetic levitational bioassembly of 3D tissue construct in space* // Science Advances. 2020. V. 6. N. 29. P. eaba4174. **IF = 13.116 (WoS)**

A6. Parfenov V.A., Koudan E.V., **Krokhmal A.A.**, Annenkova E.A., Petrov S.V., Pereira F.D.A.S., Karalkin P.A., Nezhurina E.K., Gryadunova A.A., Bulanova E.A., Sapozhnikov O.A., Tsysar S.A., Liu K., Oosterwijk E., van Beuningen H., van der Kraan P., Granneman S., Engelkamp H., Christianen P., Kasyanov V., Khesuani Y.D., Mironov V.A. *Biofabrication of a functional tubular construct from tissue spheroids using magnetoacoustic levitational directed assembly* // Advanced healthcare materials. 2020. V. 9. N. 24. P. 2000721. **IF = 8.273 (Scopus)**

Публикации в других рецензируемых научных изданиях:

A7. **Krokhmal A.A.**, Sapozhnikov O.A., Koudan E.V., Tsysar S.A., Khesuani Y.D., Parfenov V.A. *Assembly of a ring-shaped construct from tissue spheroids in a magneto-acoustic field* // Proceedings of Meetings on Acoustics. 2019. V. 38. N. 1. P. 020006. **IF = 0.19 (Scopus)**

A8. **Крохмаль А.А.**, Сапожников О.А., Цысарь С.А., Кудан Е.В., Нежурина Е.К., Хесуани Ю.Д., Парфенов В.А. *Биофабрикация кольцеобразного конгломерата из тканевых сфероидов в магнитоакустическом поле* // Ученые записки физического факультета Московского Университета. 2020. № 1. С. 2010902. **IF = 0.065 (РИНЦ)**

Публикации в сборниках и тезисы докладов:

A9. **Дорофеева А. А.**, Сапожников О. А., Цысарь С. А., Николаев Д. А. Плоский пьезоэлектрический преобразователь как устройство по созданию эталонного поля // Труды школы-семинара Волны-2018, секция 7, Акустоэлектроника и акустооптика. Физический факультет МГУ, Можайск, 2018. С. 13–15.

A10. **Крохмаль А. А.**, Сапожников О. А., Кудан Е. В., Цысарь С. А., Петров С. В., Перейра Ф., Хесуани Ю. Д., Энгелькамп Х., Граннеман С., Миронов В. А., Парфенов В. А. Акустическое манипулирование левитирующими в магнитном поле сферическими частицами // Труды Всероссийской акустической конференции. — ПОЛИТЕХ-ПРЕСС Санкт-Петербург, 2020. С. 309–314.

A11. **Крохмаль А. А.**, Николаев Д. А., Крохмаль Н. Е., Сапожников О. А. Моделирование акустической ловушки с помощью сервиса с графическим интерфейсом по расчету радиационной силы // Сборник трудов XXXIV сессии Российского акустического общества. ГЕОС Москва, 2022. С. 57–64.

A12. **Крохмаль А. А.**, Крохмаль Н. Е., Сапожников О. А. Сервис с графическим интерфейсом для расчета акустической радиационной силы, действующий на упругий сферический рассеватель в жидкости // Сборник трудов XXXII Всероссийской школы-семинара Волновые явления: физика и применения имени А.П. Сухорукова (Волны-2021), Секция 12. Математическое моделирование в задачах волновой физики. 2021. С. 10–11.

A13. Котельникова Л. М., **Крохмаль А. А.**, Николаев Д. А., Цысарь С. А., Сапожников О. А. Управление коэффициентом отражения звука от плоской пьезопластины путем выбора ее электрической нагрузки // Сборник трудов XXXII Всероссийской школы-семинара Волновые явления: физика и применения имени А.П. Сухорукова (Волны-2021). Секция 5. Акустоэлектроника и акустооптика. 2021. С. 20–24.

A14. **Крохмаль А. А.**, Сапожников О. А., Кудан Е. В., Цысарь С. А., Петров С. В., Перейра Ф., Хесуани Ю. Д., Энгелькамп Х., Граннеман С., Миронов В. А., Парфенов В. А. Акустическое манипулирование левитирующими в магнитном поле сферическими частицами // Программа III Всероссийской акустической конференции. Издательско-полиграфический центр Санкт-Петербургского политехнического университета СПб, 2020. С. 99–100.

A15. **Krokhmal A. A.**, Mironov V. A., Petrov S. V., Pereira F. D. A. S., Khesuani Y. D., Parfenov V. A. Fabrication of the tubular construct from polystyrene beads by acoustic radiation force in high magnetic field // Abstract book HFML - FELIX User Meeting 2019, 2019. P. 19–19.

A16. Koudan E. V., Petrov S. V., Karalkin P. A., Pereira F. D. A. S., Khesuani Y. D., Nezhurina E. K.**, Krokhmal A. A.**, Zobkov Y. V., Fedotov A. Y., Komlev V. A., Parfenov V. A. Magnetic levitation of calcium phosphate particles as new approach for 3d scaffolds biofabrication // 4th International Symposium and International School for Young Scientists on Physics, Engineering and Technologies for Bio-Medicine: Book of Abstracts. Moscow MEPhI, 2019. P. 168–169.

A17. Parfenov V., Khesuani Y., Petrov S., Koudan E., Nezhurina E., Pereira F., **Krokhmal A.**, Gryadunova A., Bulanova E., Vasiliev M., Brakke K., Belousov S., Grigoriev T., Osidak E., Karalkin P., Petrov O., Mironov V. Magnetic levitational bioassembly in space // TERMIS EU Abstracts 2019, 2019. V. 3. P. 1383–1383.

A18. **Krokhmal A. A.**, Sapozhnikov O. A., Koudan E. V., Tsysar S. A., Khesani Y. D., Parfenov V. A. Ring-shaped assembly of tissue spheroids in a magneto-acoustic field // Abstract Book of 2019 International Congress on Ultrasonics. Bruges, Belgium, 2019. P. 112–112.

A19. **Крохмаль А. А.**, Сапожников О. А., Кудан Е. В., Цысарь С. А., Нежурина Е. К., Хесуани Ю. Д., Парфенов В. А. Сборка кольцеобразного конструкта из тканевых сфероидов в магнитоакустическом поле // Программа и аннотации докладов XXXII-ой сессии Российского акустического общества. М.: ГЕОС, 2019. С. 108–108.

A20. Котельникова Л. М., Николаев Д. А., **Крохмаль А. А.**, Сапожников О. А. Метод взвешивания твердотельного шара в жидкости для измерения действующей на него акустической радиационной силы // Сборник трудов XXXIV сессии Российского акустического общества, ГЕОС Москва, 2022. С. 1042–1049.

СПИСОК ЦИТИРОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ozcelik A., Rufo J., Guo F., Gu Y., Li P., Lata J., Huang T. J. Acoustic tweezers for the life sciences // *Nature methods.* 2018. V. 15. N. 12. P. 1021-1028.
2. Zhang P., Bachman H., Ozcelik A., Huang T. J. Acoustic microfluidics //*Annual Review of Analytical Chemistry*. 2020. V. 13. P. 17-43.
3. Sapozhnikov O. A., Khokhlova V. A., Cleveland R. O., Blanc-Benon P., Hamilton M. F. Nonlinear acoustics today // *Acoustics Today.* 2019. V. 15. P. 55 – 64.
4. Harper J. D., Sorensen M. D., Cunitz B. W., Wang Y.-N., Simon J. C., Starr F., Paun M., Dunmire B., Liggitt H. D., Evan A. P., McAteer J. A., His R. S., Bailey M. R. Focused ultrasound to expel calculi from the kidney: safety and efficacy of a clinical prototype device // *The Journal of Urology*. 2013. V. 190. N. 3. P. 1090-1095.
5. Friend J., Yeo L. Y. Microscale acoustofluidics: Microfluidics driven via acoustics and ultrasonics // *Reviews of Modern Physics*. 2011. V. 83. N. 2. P. 647.
6. Shi J., Ahmed D., Mao X., Lin S. C. S., Lawit A., Huang T. J. Acoustic tweezers: patterning cells and microparticles using standing surface acoustic waves (SSAW) // *Lab on a Chip.* 2009. V. 9. N. 20. P. 2890 – 2895.
7. Горьков Л. П. О силах, действующих на малую частицу в акустическом поле в идеальной жидкости // *Доклады Академии наук. Российская академия наук.* 1961. Т. 140. №. 1. С. 88 – 91.
8. Jerome T. S., Ilinskii Y. A., Zabolotskaya E. A., Hamilton M. F. Born approximation of acoustic radiation force and torque on soft objects of arbitrary shape // *The Journal of the Acoustical Society of America*. 2019. V. 145. N. 1. P. 36-44.
9. Cai F., Meng L., Jiang C., Pan Y., Zheng H. Computation of the acoustic radiation force using the finite-difference time-domain method // *The Journal of the Acoustical Society of America*. 2010. V. 128. N. 4. P. 1617 – 1622.
10. Wijaya F. B., Lim K. M. Numerical calculation of acoustic radiation force and torque acting on rigid non-spherical particles // *Acta Acustica united with Acustica*. 2015. V. 101. N. 3. P. 531-542.
11. Baasch T., Pavlic A., Dual J. Acoustic radiation force acting on a heavy particle in a standing wave can be dominated by the acoustic microstreaming // *Physical Review E*. 2019. V. 100. N. 6. P. 061102.
12. Olofsson K., Hammarström B., Wiklund M. Ultrasonic based tissue modelling and engineering // *Micromachines*. 2018. V. 9. N. 11. P. 594.

13. Achilli T. M., Meyer J., Morgan J. R. Advances in the formation, use and understanding of multi-cellular spheroids // *Expert Opinion on Biological Therapy*. 2012. V. 12. N. 10. P. 1347 – 1360.
14. Bulanova E. A., Koudan E. V., Degosserie J., Heymans C., Pereira F. D., Parfenov V. A., Sun Y., Wang Q., Akhmedova S. A., Sviridova I. K., Sergeeva N. S., Frank G. A., Khesuani Y. D., Pierreux C. E., Mironov V. A. Bioprinting of a functional vascularized mouse thyroid gland construct // *Biofabrication.* 2017. V. 9. N. 3. 034105.
15. Olofsson K., Carannante V., Ohlin M., Frisk T., Kushiro K., Takai M., Lundqvist A., Onfelt B., Wiklund M. Acoustic formation of multicellular tumor spheroids enabling on-chip functional and structural imaging // *Lab on a Chip*. 2018. V. 18. N. 16. P. 2466 – 2476.
16. Armstrong J. P., Puetzer J. L., Serio A., Guex A. G., Kapnisi M., Breant A. et al. Engineering anisotropic muscle tissue using acoustic cell patterning // *Advanced Materials*. 2018. V. 30. N. 43. P. 1802649.
17. Kang B., Shin J., Park H. J., Rhyou C., Kang D., Lee S. J. et al. High-resolution acoustophoretic 3D cell patterning to construct functional collateral cylindroids for ischemia therapy // *Nature Communications.* 2018. V. 9. N. 1. P. 1 – 13.
18. Ma Z., Holle A. W., Melde K., Qiu T., Poeppel K., Kadiri V. M., Fischer P. Acoustic holographic cell patterning in a biocompatible hydrogel // *Advanced Materials.* 2020. V. 32. N. 4. P. 1904181.
19. Priya S. G., Jungvid H., Kumar A. Skin tissue engineering for tissue repair and regeneration // *Tissue Engineering Part B: Reviews*. 2008. V. 14. N. 1. P. 105 – 118.
20. De Filippo R. E., Kornitzer B. S., Yoo J. J., Atala A. Penile urethra replacement with autologous cell-seeded tubularized collagen matrices // *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine.* 2015. V. 9. N. 3. P. 257 – 264.
21. Zhang K., Fu Q., Yoo J., Chen X., Chandra P., Mo X. 3D bioprinting of urethra with PCL/PLCL blend and dual autologous cells in fibrin hydrogel: An in vitro evaluation of biomimetic mechanical property and cell growth environment // *Acta Biomaterialia.* 2017. V. 50. P. 154 – 164.
22. Norotte C., Marga F. S., Niklason L. E., Forgacs G. Scaffold-free vascular tissue engineering using bioprinting // *Biomaterials. 2009. V. 30. N. 30. P.* 5910 – 5917.
23. https://github.com/nkrokhmal/rfc_calculation