

ТРЕХМЕРНАЯ ПЕЧАТЬ БИОСОВМЕСТИМЫХ МАТЕРИАЛОВ НА ОСНОВЕ ГИДРОГЕЛЕЙ (обзор)*

© И. И. Преображенский, В. И. Путляев

Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, Факультет наук о материалах,
119991, г. Москва, ул. Ленинские Горы, д. 1, стр. 3
E-mail: preo.ilya@yandex.ru

Поступила в Редакцию 27 октября 2021 г.
После доработки 14 сентября 2022 г.
Принята к публикации 14 сентября 2022 г.

Трехмерная печать является перспективным методом создания из биоматериалов конструкций сложной формы для восстановления и регенерации костных и других тканей организма. В качестве матрицы для создания новых биоматериалов путем 3D-печати часто рассматривают гидрогели, которые представляют собой сшитую полимерную сетку, способную впитывать и удерживать большое количество воды или биологических жидкостей, и обладают свойствами, сходными со свойствами естественного внеклеточного матрикса. В статье представлен обзор использования различных мономеров и полимеров для получения конструкций из гидрогелей и органо-неорганических композитов на их основе методами аддитивных технологий, а также потенциального применения созданных макropористых конструкций на основе гидрогелей в биомедицинских целях. В обзоре рассматриваются следующие методы 3D-печати: стереолитография, экструзионная печать и биопечать.

Ключевые слова: 3D-печать; гидрогели; фосфаты кальция; композит; аддитивные технологии; тканевая инженерия

DOI: 10.31857/S0044461822060020, EDN: DJPTNY

Аддитивные технологии позволяют быстро создавать детали и конструкции сложной формы из различных материалов. Такие технологии, например 3D-печать, позволяют изготавливать уникальные конструкции из металлов, керамики или полимеров без помощи пресс-форм или механической обработки [1]. В течение последних двух десятилетий технология трехмерной печати достигла значительных успехов и нашла применение во многих ключевых областях науки и техники, включая медицину, аэрокосмическую и пищевую промышленность [2–5].

Технологию 3D-печати активно применяют для создания изделий для имплантации, особенно в тка-

невой инженерии и регенеративной медицине. При создании изделий для имплантации к материалам предъявляются достаточно жесткие требования: имплантация не должна сопровождаться тяжелыми воспалительными реакциями, что контролируется биосовместимостью изделия; макроструктура имплантата, обеспечивающая адгезию клеток и прорастание новой ткани, должна характеризоваться высокой пористостью [6, 7]. Меняя микроструктуру имплантата, можно варьировать его жесткость и влиять на взаимодействие клеток с материалом. Для проявления отклика в биохимических процессах используют белковые структуры, которые часто явля-

* Научное редактирование проведено научным сотрудником ИНХС им. А. В. Топчиева РАН А. Я. Якимовой.

ются дорогостоящими, излишне лабильными и потенциально иммуногенными. В качестве альтернативы этому возможно использование механического воздействия для дифференцировки клеток. Управление жесткостью имплантата для клеточной дифференцировки — достаточно эффективное средство для создания бесшовных тканевых границ между минерализованной костной тканью и более мягкими тканями, такими как, например, хрящи, связки и сухожилия [8]. Создание соответствующих материалов и конструкций открывает возможности лечения и регенерации таких сложных анатомических структур, как суставы.

Создание на 3D-принтере модели имплантата для медицинского применения включает в себя несколько этапов: 1) идентификацию целевой анатомической области тканевого дефекта, для этого в основном используют томографические исследования; 2) компьютерное проектирование макропористой структуры (архитектуры) имплантата и придание модели имплантата внешней формы согласно томографической визуализации; 3) выбор материала имплантата и подходящего для него метода трехмерной печати; 4) 3D-печать модели имплантата (конструкции) и ее последующая обработка (если требуется, например, удаление полимера при 3D-печати керамики; замена растворителя; дополнительные реакции сшивки). При завершении процесса моделирования архитектуры проводят разбивку модели на тонкие слои, изображение которых отправляют на 3D-принтер для послойного воспроизведения компьютерной модели, что приводит к получению изделия с заданной макроструктурой.

Применение аддитивных технологий обеспечивает персонализированный подход к лечению и учитывает особенности костной ткани пациента в области дефекта. Варьирование условий 3D-печати позволяет регулировать свойства материала, используемого для создания печатной конструкции. Так, например, более мягкие материалы, необходимые для регенерации тканей, могут быть получены в процессе печати путем регулирования процесса полимеризации исходных мономеров [9]. В ходе клинических испытаний было показано, что костные имплантаты, изготовленные с помощью 3D-печати, не претерпевают быстрой потери прочности, не вызывают воспалительных реакций при имплантации, пористая архитектура изделий позволяет обеспечить прорастание костной ткани [10].

В качестве материалов для использования в тканевой инженерии большой интерес вызывают гидрофильные сшитые полимеры — гидрогели. Гидрогели являются одним из наиболее подходящих классов

материалов для создания макропористых структур при использовании аддитивных технологий, поскольку разнообразие мономеров и полимеров позволяет подбирать состав для конкретного метода 3D-печати. Гидрогели образуют трехмерную полимерную сетку, которая может восстанавливать костную ткань посредством миграции и адгезии клеток. Поведение клеток можно регулировать варьированием физических и химических свойств материала.

Цель обзора — анализ литературных данных о материалах, используемых для получения конструкций из гидрогелей и органо-неорганических композиций на их основе методами 3D-печати; рассмотрение особенностей и перспективы указанных методов для изготовления конструкций для тканевой инженерии, включая инженерию костной ткани.

Гидрогели как потенциальные биоматериалы

Гидрогели являются уникальными материалами, применяемыми в современной медицине, благодаря ряду свойств — гидрофильности и способности к набуханию, вязкоупругому поведению, диффузионной проницаемости [11]. Наиболее часто гидрогели определяют как сшитые сетки гидрофильных полимеров, которые способны набухать в водной среде [12]. Полимерные сетки гидрогелей могут относиться к гомо- или сополимерам природного или синтетического происхождения; их структурная и физическая целостность обусловлена наличием перекрестных связей (сшивок), которые могут иметь физическую или химическую природу. Поскольку структура и свойства гидрогелей довольно близки к таковым для многих тканей человеческого организма, эти полимеры активно применяют в различных областях современной биологии и медицины, включая тканевую инженерию [13], создание биосенсоров [14], материалов для доставки и пролонгированного высвобождения лекарств [15].

Взаимодействие между полимерными сетками и водой или растворами происходит за счет капиллярных, осмотических и гидратационных (определяющихся взаимодействием молекул воды с поверхностью твердого тела) сил, которые уравниваются упругой деформацией полимерной сетки, что приводит к остановке набухания гидрогеля. Равновесное состояние гидрогеля зависит от соотношения этих противоположных эффектов и определяет некоторые присущие гидрогелю свойства, в том числе диффузионные и механические характеристики [16]. Варьирование степени сшивки, набухания [17], а также размера, формы и макропористой структуры

имплантата за счет применения аддитивных технологий позволяет создать материалы для тканевой инженерии, реализующие персонализированный подход к лечению пациентов. При наполнении гидрогелей неорганической фазой, в качестве которой можно использовать фосфаты кальция, активно применяющиеся для создания биосовместимых материалов [18, 19], можно улучшить биологические и механические свойства композита.

В зависимости от типа мономеров гидрогели подразделяют на природные и синтетические. Гидрогели на основе природных полимеров (коллагена, фибрина, гиалуроновой кислоты) являются составной частью внеклеточной структуры ткани млекопитающих и поэтому характеризуются хорошей биосовместимостью, низкой цитотоксичностью, поддерживают хорошую адгезию и пролиферацию клеток, способствуют регенерации ряда тканей организма, в том числе костной ткани [20]. Однако вследствие недостаточной механической прочности такие гидрогели могут быть использованы только для восстановления костной ткани в области малых по объему дефектов. К другим недостаткам можно отнести сложности, связанные с контролем степени их полимеризации, управлением процессом набухания геля [21]. Трудность процессов очистки гидрогелей на основе природных полимеров может привести к потенциальной иммуногенности.

Синтетические гидрогели получают на основе биodeградируемых полимеров, таких как полиэтиленгликоль и его акрилатные производные, например полиэтиленгликоль-диакрилат, поливиниловый спирт, полиакриламид, полиакриловая кислота и др. [22]. Гидрогели на основе синтетических полимеров имеют преимущества, заключающиеся в возможности управления механическими свойствами, набуханием, временем деструкции [23].

Механические свойства гидрогелей необходимо учитывать при создании материалов для тканевой инженерии [23]. При использовании гидрогелей в области тканевой инженерии локальные вариации их макроскопических механических свойств влияют на эволюцию клеток и клеточных культур, контактирующих с гидрогелями. Так, клетки, культивируемые на более жестких субстратах, пролиферируют быстрее и мигрируют медленнее, чем те, что развиваются на мягких подложках [24]. Влияние упругости гидрогеля на распространение, адгезию, сократительную способность, рост и развитие клеток было изучено как на плоских поверхностях (2D-системы), так и макропористых гелях (3D-системы) [25]. Жесткость гидрогелевого субстрата является ключевым факто-

ром, определяющим направление дифференцировки недифференцированных (стволовых) клеток, т. е. совокупности фенотипических и генотипических изменений, приводящих к обретению клеточной культурой определенных функций.

Некоторые гидрогели характеризуются высокоэластичным поведением [26]. Такие гидрогели можно значительно деформировать для адаптации к сложной форме костного дефекта при имплантации; достигаемое при этом плотное прилегание имплантата к краям дефекта чрезвычайно важно для успешной реконструкции костной ткани в области сложных и труднодоступных дефектов (например, полостного типа).

Практически важным свойством гидрогелей является их способность к деструкции под действием внешних факторов (например, среды организма), которая влияет на плотность сшивки и биомеханику гидрогелей. Постепенная деструкция гидрогелей может вызвать ухудшение их механических свойств, следовательно, скорость деструкции гидрогеля, предназначенного для реконструкции костной ткани, должна быть равна скорости образования новой костной ткани. Данную характеристику можно варьировать в зависимости от состава материала и кинетики деструкции [27].

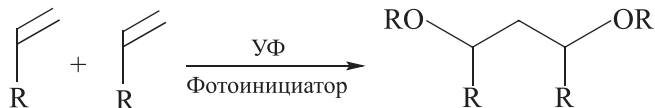
Получение конструкций на основе гидрогелей методами стереолитографической и экструзионной 3D-печати

Среди всех методов трехмерной печати стереолитографическая 3D-печать (стереолитография) занимает особое место, поскольку характеризуется высокой разрешающей способностью (минимальным размером воспроизводимой при печати детали исходной модели). В основе стереолитографического метода лежит локальная фотополимеризация раствора мономера или суспензии в случае получения композитов под действием УФ-излучения (для двухфотонной литографии обычно используется излучение в диапазоне длин волн 600–700 нм). Латеральное (в плоскости xy) разрешение двухфотонной стереолитографии достигает нескольких десятков нм, а разрешение проекционной литографии — 50 мкм. Полимеризацию суспензий осуществляют воздействием сфокусированного лазерного пучка (SLA-модификация стереолитографии, от англ. Stereolithography) или засветки всего поверхностного слоя через динамическую маску (проекционная литография, или DLP-модификация, от англ. Digital Light Processing). Динамическая маска, создающая изображение за-

свечиваемого слоя модели, реализуется с помощью проектора с жидкокристаллическим экраном или стандартного проектора для презентаций с DMD™-системой микрзеркал. DLP-Стереолитография характеризуется более низким разрешением по сравнению с SLA-модификацией, однако за счет меньшей длительности процесса печати и более простой конструкции чаще используется на практике.

На разрешение стереолитографической печати влияют поглощение и рассеяние света полимеризуемым раствором. Рассеяние значительно ухудшает латеральное разрешение, для его подавления к суспензии добавляют УФ-поглотители, чаще всего в роли которых используют красители. В состав раствора также могут входить фотоинициатор, ПАВ (для улучшения агрегативной устойчивости суспензии), ингибитор фотополимеризации (в качестве которого может выступать и краситель), обеспечивающий сохранность мономера при длительном хранении [28].

Мономеры определенных классов [29], такие как акрилаты, малеимиды, виниловые эфиры, акриламиды, fumarаты, вступают в реакцию радикальной фотополимеризации. Ее преимуществами являются низкие энергетические затраты, возможность проведения реакции полимеризации при комнатной или физиологических температурах, возможность контроля процесса. Тем не менее фотоактивация полимеризации в 3D-печати имеет несколько ограничений, в том числе: ингибирование полимеризации молекулярным кислородом, возникновение неоднородностей внутри полимера при случайной цепной полимеризации, в результате которой возникают неоднородности внутри полимера, что приводит к отклонению структуры от заданной [30, 31]. Процесс радикальной фотополимеризации можно представить общей схемой, где $R = C_nH_{2n+1}$:



Стереолитографическая печать включает следующие стадии:

1) платформа, на которой будет сформирована модель, помещается по вертикальной оси на высоту единичного слоя в емкости, содержащей суспензию;

2) осуществляется локальная засветка текущего слоя путем воздействия сфокусированным лазерным пучком в SLA-варианте стереолитографии или проецируется изображение целого слоя при использовании DLP-варианта, в результате чего происходит затвердевание суспензии в определенных точках;

3) платформа перемещается по вертикальной оси до полного выхода из суспензии, ванна с суспензией совершает возвратно-поступательное движение (это необходимо для того, чтобы жидкая суспензия заняла место заполимеризованного слоя при перемещении модели); если суспензия очень вязкая, то происходит разравнивание суспензии специальным ракелем;

4) стадии 2 и 3 повторяются до полного послойного воспроизведения компьютерной модели.

Для проведения стереолитографической печати задают начальные характеристики процесса: размер платформы, длину волны и мощность излучения (в большинстве коммерческих 3D-принтеров данные параметры фиксируются производителем и не могут быть изменены), высоту слоя конструкции и ориентацию детали. Последний параметр зависит от набора поддерживаемых элементов — опор. Варьирование высоты слоя позволяет настраивать разрешение печати: при уменьшении высоты слоя происходит улучшение точности печати, но в то же время увеличивается продолжительность процесса. Высота слоя в процессе печати обычно составляет 20–100 мкм.

Использование исходных высокорекреационноспособных мономерных акрилатов позволяет добиться высокой производительности стереолитографической печати. Интерес к таким мономерам прежде всего связан с их свойствами — биосовместимостью, гидрофильностью и способностью к деструкции в биологической среде. Одним из недостатков акрилатных мономеров является значительная усадка полимерных продуктов на их основе во время печати, способная вызвать деформацию конструкции относительно исходной модели. Дополнительной проблемой является чувствительность этих мономеров к кислороду, поскольку его участие в реакции радикальной фотополимеризации приводит к ингибированию процесса [32].

Гидрогели на основе полиэтиленгликоля являются наиболее часто используемыми материалами в биомедицине [33–35]. При помощи стереолитографической 3D-печати были получены пористые конструкции на основе полиэтиленгликоль-диакрилата, наполненного нановолокнами целлюлозы, и для получения аэрогидрогеля использовали сублимационную сушку. Изготовленные макропористые конструкции характеризовались заданным упругим модулем и высокой пористостью (около 90%), отсутствием цитотоксичного воздействия и высокой жизнеспособностью клеток фибробластов, высеянных на поверхность конструкций [36]. Включение нановолокна целлюлозы в композитные макропористые конструкции позволило достичь целостности структурной формы и механической прочности.

Для получения материалов с заданными механическими и биологическими свойствами используют смеси различных производных акрилатных мономеров. В работе [37] были получены композитные изделия на основе гидрогелей полиэтиленгликоль-метакрилат/полиэтиленгликоль-диакрилат в соотношении мономеров 30/70, наполненные 60 мас% α -Ca₃(PO₄)₂, характеризующиеся макропористой структурой (архитектурой) одностороннего гироида (рис. 1). За счет использования смеси мономеров и наполнения гидрогеля неорганической фазой изменяли свойства композита, такие как модули сдвига (упругие и вязкие компоненты), способность к набуханию, динамика биодеградации. При увеличении содержания в составе композита полиэтиленгликоль-метакрилата с меньшим числом функциональных групп наблюдали улучшение способности гидрогелей к набуханию и увеличение скорости биодеградации.

В работе [38] был синтезирован поли(этиленгликоль-со-депсипептид) с включенными в структуру пептидными и сложноэфирными (в том числе метакрилатными) группами и использован в стереолитографической 3D-печати. Основное назначение депсипептидных блоков состояло в улучшении биодеградируемости геля. Авторами было показано, что, варьируя мощность излучения в процессе стереолитографической печати, можно регулировать некоторые свойства гидрогелей без изменения их состава, такие как способность к набуханию, ско-

рость биодеградации и механические параметры. При увеличении времени воздействия излучения в процессе стереолитографической печати со 100 до 160 с жесткость напечатанных изделий увеличивалась более чем в 10 раз.

В работе [39] была описана печать на основе pH-чувствительных и антимикробных гидрогелей с микрометровым уровнем разрешения конструкций. В их состав входила смесь дифункциональных диметакрилатов полиэтиленгликоля с длиной цепи этиленгликоля от 2 до 14 единиц и акриловая кислота в качестве монофункционального мономера. Благодаря наличию в составе смеси акриловой кислоты объем гидрогелей варьировали при изменении pH, причем степень набухания зависела от ее содержания. Также было улучшено разрешение печати за счет использования УФ-поглотителя, в качестве которого использовали Судан-I, и напечатаны структуры, точно соответствующие компьютерным моделям.

Перспективным вариантом получения гидрогелей для целей регенеративной медицины является использование метакрилоил желатина [40]. Гидрогели на основе этого мономера, способствующие формированию трехмерной клеточной сетки внутри созданной 3D-конструкции, могут быть получены с помощью реакции радикальной фотополимеризации.

Ограниченное число мономеров и высокая стоимость используемых принтеров являются определенным препятствием для более широкого применения метода стереолитографической 3D-печати [31]. Тем не менее, несмотря на недостатки, этот метод позволяет улучшать свойства изделий, и они могут быть использованы не только как прототипы имплантатов, но и как основа для создания конструкций для тканевой инженерии.

Экструзионная 3D-печать

Процесс экструзионной 3D-печати основан на воспроизведении компьютерной модели путем экструзии (вытеснения) вязкоупругого материала из фильеры (сопла) (рис. 2). Положение экструдированного материала определяют либо за счет перемещения сопла над столиком, либо перемещением столика под соплом. Трехмерные конструкции создают путем непрерывного нанесения материала слой за слоем [41]. Для успешного построения 3D-конструкции необходимо, чтобы формирование каждого предыдущего слоя было полностью завершено до начала формирования следующего. В этом случае реологические характеристики (вязкость и скорость сдвига) полимерного материала будут критически влиять на



Рис. 1. Конструкция на основе гидрогелей полиэтиленгликоль-метакрилат/полиэтиленгликоль-диакрилат, наполненных α -Ca₃(PO₄)₂, со структурой гироида, полученная путем стереолитографической 3D-печати [37].*

* Разрешение на публикацию получено 18.05.2022, © 2021 Elsevier Ltd on behalf of European Ceramic Society.

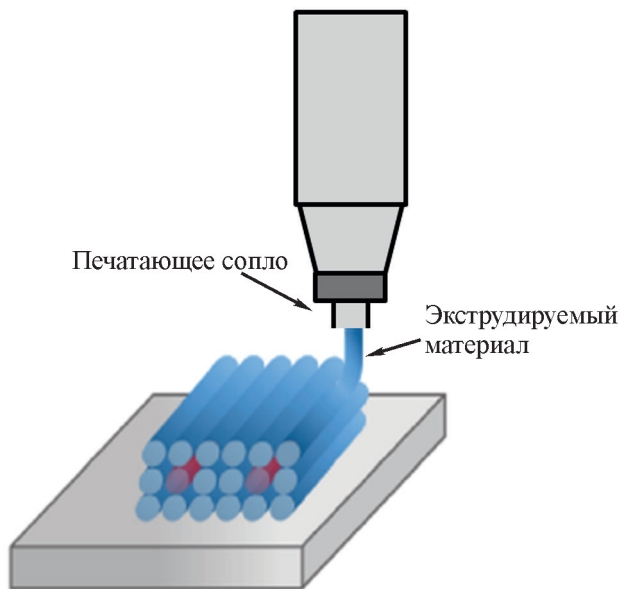


Рис. 2. Послойное получение конструкции в процессе экструзионной 3D-печати.

качество получаемого изделия [42]. При скорости сдвига менее 1000 с^{-1} вязкость материала, пригодного для печати, должна составлять $0.1\text{--}10^3 \text{ Па}\cdot\text{с}$ [43, 44].

Большинство гидрогелей характеризуются неньютоновским поведением, причем вязкость растворов и дисперсных систем на их основе уменьшается с увеличением скорости сдвига [45, 46]. При проведении процесса экструзионной печати важно учитывать тиксотропное поведение коллоидной системы, поскольку при приложении деформации в случае использования материалов с тиксотропными свойствами будет наблюдаться снижение кажущейся вязкости с течением времени. Для оценки тиксотропного поведения полимеров и способности гидрогелей восстанавливаться после экструзии проводят реометрические испытания с определением времени восстановления материалов [47]. Для экструзионной печати можно применять вязкие растворы полимеров, таких как гиалуроновая кислота, однако если сшивание, приводящее к окончательному гелеобразованию, происходит слишком медленно, в процессе печати может произойти засорение сопла 3D-принтера или расслаивание полимерного раствора [48]. Гидрогели, способные восстанавливаться при прекращении деформирования, облегчают процесс экструзии, поскольку при снятии сдвиговой нагрузки происходит увеличение вязкости, что позволяет осуществлять многослойное нанесение [49].

Сшивание материала в процессе экструзии может происходить за счет образования химических связей

(ковалентные, водородные, ионные взаимодействия), а также физических взаимодействий (электростатические, диполь-дипольные и т. д.) [50]. В работе [51] были получены конструкции, состоящие из гидрогелей на основе смеси крахмала/ксантана, с использованием в роли сшивающего агента лимонной кислоты и гипофосфита натрия в качестве катализатора. Ионную сшивку обеспечивают за счет добавления солей многозарядных катионов в раствор полимера, содержащего способные к взаимодействию с катионами боковые функциональные группы (например, карбоксильные), причем в этом случае гидрогели могут быть получены в мягких условиях при комнатной температуре и физиологическом значении pH [52]. Для повышения прочности гидрогеля при экструзии введение катионов в раствор полимера может быть реализовано до экструзии с частичным гелеобразованием [53, 54]; путем экструзии полимера в емкость, содержащую раствор катиона [55]; а также при распылении содержащего ионы металлов раствора на выходящий из сопла 3D-принтера вязкий раствор (гель) [56]. Для получения перед печатью предварительно сшитого полимера в его раствор вводят ионный сшивающий агент в низкой концентрации или смешивают сшивающий агент с полимером при вытеснении каждого из своего сопла, что было реализовано авторами в работе [54]. Так, перед экструзионной печатью для ионной сшивки альгината в качестве сшивающих агентов используют соли кальция, в том числе малорастворимые (например, сульфат кальция). В этом случае сшивающий агент суспендируют в растворе альгината, а затем солиобилизируют добавлением подкисляющих агентов. Частичное высвобождение ионов кальция из его труднорастворимых солей во всем объеме раствора полимера с течением времени приводит к образованию однородной структуры геля [57]. Получение гидрогелей, обладающих высокой прочностью на сжатие ($\sim 11 \text{ МПа}$), при образовании водородных связей было показано в работе [58], в которой авторы использовали сополимер N-акрилоилглицинамида и 1-винил-1,2,4-триазола для экструзионной печати. Термическое сшивание посредством нагревания или охлаждения раствора полимера является одним из простейших методов сшивания, и его можно применять к тем полимерам, которые способны выдерживать нагрев или охлаждение в процессе 3D-печати [59]. Недостатком метода термического сшивания является невозможность точного контроля степени сшивки.

Для получения конструкций на основе гидрогелей посредством экструзионной 3D-печати используют различные полимеры. Так, целлюлоза может приме-

няться при разработке различных функциональных материалов, и существует возможность получения конструкций из гидрогелей на ее основе в процессе экструзионной печати при комнатной температуре [60]. Авторы осуществляли контролируемый процесс экструзионной 3D-печати вязким раствором целлюлозы в диметилсульфоксиде и гидроксиде тетрабутил-аммония, реологическое поведение которых обеспечивало послойное нанесение и сохранение формы в процессе печати с гелеобразованием при комнатной температуре на воздухе при введении сшивающего агента (рис. 3). После экструзии растворитель заменяли деионизированной водой; для улучшения механических свойств и набухания после 3D-печати была проведена обработка гидрогеля сшивающим агентом (N,N'-метиленабисакриламидом) путем выдерживания гидрогеля в растворе сшивающего агента с диметилсульфоксидом. Улучшение механических свойств гидрогеля связано с образованием водородных связей между карбонильными группами сшивающего агента и гидроксильными группами целлюлозы. При добавлении 0.8 мас.% сшивающего агента авторам удалось получить гидрогель, способный поглощать $28 \text{ г} \cdot \text{г}^{-1}$ воды относительно собственного веса и имеющий прочность на сжатие 96 кПа.

В работе [61] показана возможность получения конструкций из гидрогелей на основе карбоксиметилцеллюлозы–хитозангликоля методом экструзионной 3D-печати. Ионные взаимодействия и реакция

Шиффа при окислении карбоксиметилцеллюлозы периодатом натрия с получением альдегида и образованием иминовой связи между альдегидной группой и аминогруппой хитозангликоля приводили к сшивке гидрогелей. Полученные таким образом гидрогели являются биосовместимыми, что было показано при проведении теста на цитотоксичность. Созданные с использованием 3D-печати конструкции на основе гидрогелей толщиной в два и пять слоев характеризовались высокой стабильностью в фосфатном физиологическом буферном растворе при их выдерживании в течение 1 ч под УФ-излучением и после автоклавирования. Такая стабильность может быть объяснена образованием иминовой связи и ионным взаимодействием между катионными и анионными боковыми цепями полимера.

Активно применяют ионотропные гели на основе альгината, получаемые сшивкой многозарядными ионами; существуют, однако, трудности экструзионной печати из-за низких значений модуля сдвига этих гелей. В работе [62] показана возможность управления реологическими свойствами таких соединений за счет добавления оксида графена. Известно, что время сшивания и количество сшивающего агента играют решающую роль в модуляции механических свойств 3D-напечатанных изделий [63]. Гидрогели на основе альгината с добавлением 5 мас.% лапонита проявляли оптимальные механические свойства, пригодные для экструзионной 3D-печати, что было

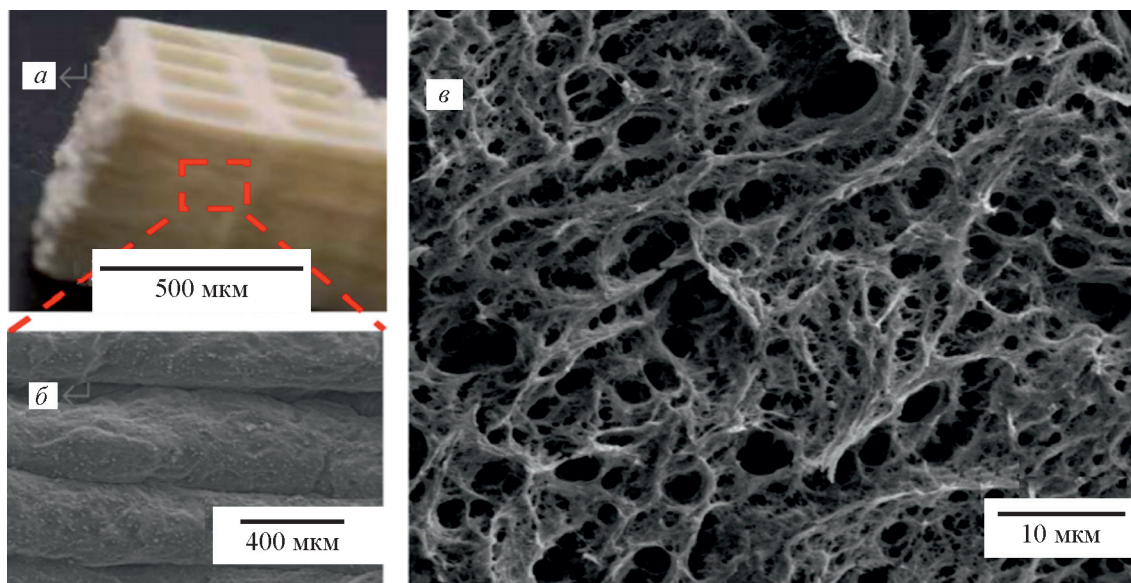


Рис. 3. Изображение конструкции на основе целлюлозы, напечатанной на экструзионном 3D-принтере. *a* — послойная печать, *б* — морфология поверхностных слоев, *в* — поперечное сечение конструкции [60].*

* Разрешение на публикацию получено 19.04.2022, © 2020 De Gruyter Rights & Licenses Team.

показано при определении вязкости и точки текучести [64]. Поскольку механические свойства макропористых конструкций, созданных при помощи 3D-печати, определяют поведение прикрепленных к ним слабодифференцированных клеток, необходим подбор модуля упругости гидрогеля в соответствии с предполагаемым применением (уровнем жесткости регенерируемой ткани).

Трехмерные конструкции из гидрогелей находят применение в регенеративной медицине при реконструкции поврежденной костной ткани. Однако в большинстве случаев гидрогели проявляют низкие прочностные свойства и недостаточную жесткость. Для улучшения механических свойств композитов на основе гидрогелей в работе [65] разработан гидрогель, полученный из биodeградируемой термопластичной полимолочной кислоты в сочетании с фотоотверждаемым желатином и наполненный биоактивными наночастицами золота, с последующей печатью конструкций для тканевой инженерии. После экструзионной 3D-печати изделий на основе полимолочной кислоты фотоотверждаемый желатин вводили в напечатанную конструкцию и подвергали УФ-облучению. За счет подбора состава композитов авторам удалось улучшить прочностные характеристики и получить композит с модулем сжатия, близким к таковому для костной ткани челюсти человека. Исследование морфологии и остеогенной дифференцировки стволовых клеток человека, инкапсулированных в желатиновый гидрогель, показало хорошую биосовместимость геля, поддерживающего жизнеспособность клеток, и их распластывание на поверхности конструкций, созданных с использованием 3D-печати.

Биопечать конструкций на основе гидрогелей

Изготовление макропористых конструкций с последующим включением в них клеток различного типа может быть эффективным подходом при регенерации костной ткани [66], однако могут возникнуть проблемы при восстановлении гетерогенных тканей из-за сложности точного размещения таких клеток в определенных частях конструкции, ограниченной плотности клеток и недостаточной васкуляризации [67]. Биопечать позволяет создавать конструкции для тканевой инженерии путем точного размещения клеток в одновременно создаваемой макропористой структуре [68]. Отличительной особенностью биопечати является предварительное наполнение материала клетками перед процессом печати. Гидрогели являются перспективными материалами для биопе-

чати, поскольку они позволяют поддерживать жизнеспособность инкапсулированных клеток и имеют подходящие механические свойства для получения структурно стабильных и проницаемых трехмерных конструкций и облегчают проведение процесса экструзии [69]. Для биопечати часто используют экструзионные 3D-принтеры, в частности, для заполнения готовых форм с целью создания анатомических структур. Такие устройства позволяют создавать макропористые изделия, наполненные клетками, клеточными агрегатами (сфероидами), или микроносителями с клеточным посевом [70].

В работе [71] с использованием экструзионной 3D-печати были получены конструкции на основе биodeградируемого, фотополимеризуемого и термочувствительного гидрогеля на основе триблочного сополимера А-В-А, где А — поли(N-(2-гидроксипропил)метакриламид), частично модифицированный метакрилатными группами, В — полиэтиленгликоль. Гель был синтезирован термической полимеризацией с образованием дополнительных поперечных связей при фотополимеризации метакрилатных групп. Такие продукты характеризуются сходными с природными полимерами механическими свойствами, при их использовании возможно послойное нанесение и формирование стабильных конструкций высотой не менее 0.6 см. Полученные конструкции имели воспроизводимую пористость вдоль вертикальной оси печати и способность поддерживать жизнедеятельность инкапсулированных клеток. В работе [72] с использованием биопечати были получены трехмерные конструкции для использования в качестве макропористых конструкций при регенерации хряща, которые изготавливали путем послойного нанесения поликапролактона и гидрогеля на основе альгината с инкапсулированными клетками.

В случае использования биопечати возможно достижение высокого латерального разрешения. Так, авторам [73] удалось достичь разрешения 50 мкм при печати с ковалентной сшивкой конструкций из гидрогелей на основе полиэтиленгликоля с клеточными гликозаминогликанами, добавление которых позволяет контролировать внеклеточный матрикс, в частности, выделение из нерастворимых молекул белков [74]. Использование ковалентной сшивки позволяет избежать присутствия потенциально токсичных фотоинициаторов, УФ-облучения, а также достичь разрешения печати, приближающегося к размерам отдельных клеток (~50 мкм). Было показано, что в полученных конструкциях наблюдаются градиенты пространственного распределения компонентов.

Трехмерная печать конструкций на основе восприимчивых к внешним воздействиям гидрогелей

Способность полимерных гидрогелей изменять свою структуру и объемную фазу при изменении внешних условий открыла новые возможности для различных технологий в области медицины [75–77]. Так, например, гидрогели, способные изменять степень набухания в зависимости от внешних воздействий, перспективны для применения в биосенсорике и биоэлектронике [78]. В зависимости от чувствительности к внешним воздействиям гидрогели на основе полимеров можно классифицировать на термочувствительные, pH-чувствительные, светочувствительные, окислительно-восстановительные, ферментативные, магнитно-чувствительные гидрогели и т. д. 3D-Печать такими гидрогелями иногда называют 4D-печатью, имея в виду дополнительное к трем пространственным направлениям четвертое, связанное с временем изменения свойств гидрогелей при внешнем воздействии.

Поли(N-изопропилакриламид) является термочувствительным полимером, конструкции на основе которого могут быть получены при использовании аддитивных технологий [79]. При применении гидрогелей на основе поли(N-изопропилакриламида) можно контролировать процесс набухания путем изменения температуры. Набухание конструкций на основе гидрогелей в латеральном и вертикальном направлениях зависит от толщины слоя, благодаря чему была показана возможность достижения анизотропного термочувствительного набухания путем подбора архитектуры изделия. Были получены восприимчивые к внешним воздействиям гидрогели на основе триблок-сополимера АВА, где блок А — поли(аллилглицидиловый эфир)-поли(алкилглицидиловый эфир), блок В — полиэтиленгликоль [80]. Данные полимеры образуют гидрогели, структура которых является чувствительной к изменению температуры, давления и к воздействию ультрафиолетового света. Поведение гелей, реагирующих на раздражители, зависит от состава и молекулярной массы А-блоков триблочных сополимеров. Способность гидрогелей реагировать на внешние воздействия позволяет облегчить процесс 3D-печати. Гидрогели могут быть использованы для печати в жидком состоянии, при понижении температуры ниже 5°C происходит их гелеобразование. Обработка УФ-излучением макропористых конструкций приводит к дополнительной сшивке гидрогеля и повышению эластичной компоненты комплексного модуля сдвига

с 40 до 68 кПа при увеличении времени засветки с 60 до 200 с.

В работе [81] был получен гидрогель на основе хитозана, проявляющий антибактериальные свойства и способный изменять свойства в ответ на изменение внешних условий, в частности на изменение pH. Поскольку инфицирование микроорганизмами места имплантации медицинского изделия приводит к понижению pH, авторами был разработан гидрогель, способный при снижении кислотности выделять наночастицы оксида цинка, обладающие антибактериальными свойствами. Разработанный гидрогель подвергают термическому сшиванию при физиологических температурах, что улучшает тиксотропные свойства и облегчает процесс печати. Были определены параметры экструзионной 3D-печати и изготовлены трехмерные конструкции на основе гидрогелей. Исследование высвобождения Zn^{2+} *in vitro* показало, что макропористые конструкции при низком pH высвобождают значительно большее количество Zn^{2+} , чем при нейтральном, проявляя при этом антибактериальное действие во время лечения.

В работе [82] при использовании экструзионной 3D-печати были получены конструкции из композита, содержащего гидрогели на основе альгината и метилцеллюлозы, наполненные магнитными наночастицами. При введении таких наночастиц авторы наблюдали изменение реологических свойств и механической стабильности гидрогелей. Присутствие метилцеллюлозы оказывает двоякий эффект: она улучшает реологические свойства, но также способствует потере механической стабильности такого композита. Полученные трехмерные конструкции на основе гидрогелей характеризуются хорошей механической стабильностью и обладают магнитными свойствами.

Биокомпозиты на основе гидрогелей, наполненные фосфатом кальция

В настоящее время предложен широкий набор армирующих материалов для создания композитов на основе гидрогелей, включая фосфаты кальция, введение в состав которых улучшает биологические свойства композита. В случае композитной системы гидрогель–гидрогель взаимопроникновение между полимерными сетками формирует механическое зацепление гидрогелей, которое сильно влияет на реологию, скорость деструкции, проницаемость и механические свойства такой системы [83]. В композитах с неорганическими наполнителями минеральная фаза взаимодействует с матрицей гидрогеля посредством ван-дер-ваальсовых сил, дипольных

взаимодействий и водородных связей [84]. Эти взаимодействия приводят к сильной адгезии матрицы гидрогеля к поверхности неорганической фазы; изменение механических свойств композита зависит от размера, формы и доли неорганических частиц, а также соотношения объемов взаимодействующих и не взаимодействующих полимерных сеток [85]. Введение в полимер функциональных групп и образование ковалентных связей на границе раздела фаз улучшают адгезию, энергия межфазной границы в таком случае составляет от 40 до 400 кДж·моль⁻¹, т. е. намного выше, чем в исходном, немодифицированном варианте (8–16 кДж·моль⁻¹) [84]. Таким образом, наполнение и химическая модификация гидрогеля позволяют существенно повысить механическую прочность композитной системы.

Процесс наполнения микро- или наночастицами гидрогелей является достаточно простым и широко используется для улучшения механических и биологических свойств гидрогелевых композитов [86–88]. Композит на основе гидрогелей, армированный малыми частицами, часто формируют в процессе *ex situ*, при этом предварительно полученные частицы суспендируют и затем используют в 3D-печати. Большинство композитов на основе гидрогелей, наполненных неорганическими частицами, изготавливают с использованием этого подхода. Существует широкий набор микро/наночастиц, таких как углеродные, полимерные, керамические и металлические, которые могут быть включены в состав гидрогелей для получения композитов с улучшенными свойствами.

В работе [89] исследовали гидрогели на основе смеси желатина и альгината, армированные наночастицами $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)(\text{OH})_2$. Была проведена печать спиралевидных слоев композитов гидрогель/ $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)(\text{OH})_2$ и определено расстояние между нитями до слияния их между собой. Для композитов с содержанием неорганической фазы 0, 8 и 16 мас% слияние соседних слоев наблюдалось при расстоянии между ними 500 мкм и не происходило при расстоянии 1 мм. При более высоком содержании наполнителя и, следовательно, более высокой вязкости гидрогеля экструдированные слои были менее однородными, и авторы наблюдали скопление гидрогеля в углах изделия. Полученные гидрогели, армированные наночастицами фосфата, характеризовались улучшенными механическими и биологическими свойствами по сравнению с ненаполненными гидрогелями.

В работе [90] исследовали возможность проведения экструзионной 3D-печати конструкций на основе композитов, содержащих желатин, наполненный $\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$. В процессе печати в работе изменяли

давление экструзии, в то время как другие условия были постоянными. По мере увеличения количества $\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ для получения однородных слоев было необходимо увеличение давления, достаточного для экструзии материала, поскольку оно зависит от вязкости и упругости, которые увеличиваются при увеличении содержания наполнителя. Конструкции на основе композитов, изготовленные в процессе экструзионной 3D-печати при оптимальном давлении, имели толщину слоев 500 мкм.

Включение неорганических частиц в гидрогели во время и (или) после 3D-печати позволяет достичь равномерного распределения наполнителя и высоких степеней наполнения. При этом также происходит увеличение вязкости суспензии, что затрудняет процесс печати. В работе [85] авторы получали композиты гидрогель/фосфаты кальция при печати конструкции и последующего осаждения наночастиц фосфатов кальция из раствора хлорида кальция и фосфорной кислоты. Основными фазами, которые наблюдали после осаждения, были $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$ и $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$. Композиты на основе гидрогелей характеризовались однородным распределением наполнителя и более высокими значениями прочности по сравнению с ненаполненными гидрогелями. Улучшение прочностных свойств наблюдалось при увеличении доли наполнителя до 40 мас%. В работе [37] показана возможность проведения конверсии $\alpha\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, предварительно введенного в гидрогель на основе полиэтиленгликоль-диакрилата, в пластинчатые частицы $\text{Ca}_8(\text{HPO}_4)_2(\text{PO}_4)_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ или $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ при выдерживании композита в буферных растворах, в результате чего удалось увеличить степень наполнения композита до 60 мас%.

Заключение

Аддитивные технологии, в частности 3D-печать, позволяют создать уникальную платформу для компьютерного проектирования и изготовления изделий и конструкций сложной формы, включая создание имплантатов для тканевой инженерии и регенеративной медицины. Возможность контроля механических свойств, пористости, формы, а также обеспечение быстрого цифрового производства конструкций являются несомненными преимуществами аддитивного подхода к изготовлению биоматериалов. Материалы для восстановления и регенерации тканей должны характеризоваться достаточной механической и адгезионной прочностью, определенной пористостью для обеспечения проницаемости, для чего необходим рациональный выбор материала, макроструктуры и

метода 3D-печати. Представляется важным проводить поиск материалов, обладающих всеми требуемыми свойствами, предъявляемыми к биоматериалам для тканевой инженерии, включая биосовместимость, механические характеристики и способность к биодеградации. Большое значение имеет также возможность использования такого материала в конкретном методе 3D-печати, что позволяет создать на его основе макропористую конструкцию. Использование гидрогелей для создания конструкций тканевой инженерии методами аддитивных технологий имеет ряд преимуществ: настраиваемые механические свойства, диффузионные характеристики, биосовместимость и возможность создания материалов, способных проявлять отклик на триггеры. Использование композитов, наполненных фосфатами кальция, позволяет компенсировать недостаток гидрогелей, связанный с низкими прочностными свойствами, и получить материалы и конструкции с улучшенными механическими и биологическими свойствами. В настоящее время наблюдается расширение спектра мономеров и полимеров, пригодных для получения конструкций для тканевой инженерии на основе гидрогелей при помощи 3D-печати, включая стереолитографию, экструзионную печать и биопечать. Это создает определенную перспективу реализации персонализированного подхода при регенерации различных тканей организма [91].

Финансирование работы

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда № 19-19-00587.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Информация об авторах

Преображенский Илья Иванович

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2352-6745>

Путляев Валерий Иванович, к.х.н., доцент

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7601-6787>

Список литературы

- [1] *Eshkalak S. K., Ghomi E. R., Dai Y., Choudhury D., Ramakrishna S.* The role of three-dimensional printing in healthcare and medicine // *Mater. & Design*. 2020. P. 108940–108967. <https://doi.org/10.1016/j.matdes.2020.108940>
- [2] *Murphy S. V., Atala A.* 3D bioprinting of tissues and organs // *Nature Biotech*. 2014. V. 32. N 8. P. 773–785. <https://doi.org/10.1038/nbt.2958>
- [3] *Гаджиев М. А., Кравчук К. С., Гладких Е. В., Султанова Г. Х., Русаков А. А., Усеинов А. С., Апресян С. В.* Сравнительные испытания объемных и поверхностных механических свойств материалов для стоматологических конструкций, полученных с помощью аддитивных технологий // *Наноиндустрия*. 2021. Т. 14. № 3–4. С. 196–205. <https://doi.org/10.22184/1993-8578.2021.14.3-4.196.204>
- [4] *Mishra A., Srivastava V.* Biomaterials and 3D printing techniques used in the medical field // *J. Med. Eng. & Techn.* 2021. V. 45. N 4. P. 290–302. <https://doi.org/10.1080/03091902.2021.1893845>
- [5] *Yadav L. R., Chandran S. V., Lavanya K., Selvamurugan N.* Chitosan-based 3D-printed scaffolds for bone tissue engineering // *Int. J. Biol. Macrom.* 2021. V. 183. P. 1925–1938. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.05.215>
- [6] *Тихилов Р. М., Шубняков И. И., Денисов А. О., Конев В. А., Гофман И. В., Михайлова П. М., Нетьилько Г. И., Васильев А. В., Анисимова Л. О., Билык С. С.* Костная и мягкотканная интеграция пористых титановых имплантатов (экспериментальное исследование) // *Травматология и ортопедия России*. 2018. Т. 24. № 2. С. 95–107. <https://doi.org/10.21823/2311-2905-2018-24-2-95-107>
- [7] *Haleem A., Javaid M., Khan R. H., Suman R.* 3D printing applications in bone tissue engineering // *J. Clinic. Orthopaedics and Trauma*. 2020. V. 11. ID S118. <https://doi.org/10.1016/j.jcot.2019.12.002>
- [8] *Chatterjee K., Lin-Gibson S., Wallace W. E., Parekh S. H., Lee Y. J., Cicerone M. T., Young M. F., Simon C. G.* The effect of 3D hydrogel scaffold modulus on osteoblast differentiation and mineralization revealed by combinatorial screening // *Biomaterials*. 2010. V. 31. N 19. P. 5051–5062. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2010.03.024>
- [9] *Cooke M. E., Jones S. W., Ter Horst B., Moiemmen N., Snow M., Chouhan G., Hill L. G., Esmaeli M., Moakes R. J., Holton J., Nandra R., Williams R. L., Smith A. M., Grover L. M.* Structuring of hydrogels across multiple length scales for biomedical applications // *Adv. Mater.* 2018. V. 30. N 14. ID 1705013. <https://doi.org/10.1002/adma.201705013>
- [10] *Hikita A., Chung U. I., Hoshi K., Takato T.* Bone regenerative medicine in oral and maxillofacial region using a three-dimensional printer // *Tissue Eng. Part A*. 2017. V. 23. N 11–12. P. 515–521. <https://doi.org/10.1089/ten.tea.2016.0543>
- [11] *Hoffman A. S.* Hydrogels for biomedical applications // *Adv. Drug Delivery Rev.* 2012. V. 64. P. 18–23. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2012.09.010>
- [12] *Buwalda S. J., Boere K. W., Dijkstra P. J., Feijen J., Vermonden T., Hennink W. E.* Hydrogels in a historical

- perspective: From simple networks to smart materials // *J. Control. Release*. 2014. V. 190. P. 254–273. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2014.03.052>
- [13] Баранова Н. В., Курсанова Л. А., Гоникова З. З., Пономарева А. С., Севастьянов В. И. Роль мезенхимальных стволовых клеток костного мозга крысы в жизнеспособности островков Лангерганса при совместном культивировании с микрогетерогенным коллагенсодержащим гидрогелем // *Вестн. трансплантологии и искусств. органов*. 2018. Т. 20. № 3. С. 54–63. <https://doi.org/10.15825/1995-1191-2018-3-54-63>
- [14] Choi J. R., Yong K. W., Tang R., Gong Y., Wen T., Yang H., Li A., Chia Y., Pingguan-Murphy B., Xu F. Lateral flow assay based on paper–hydrogel hybrid material for sensitive point-of-care detection of dengue virus // *Adv. Healthcare Mater.* 2017. V. 6. N 1. ID 1600920. <https://doi.org/10.1002/adhm.201600920>
- [15] Chen X., Fan M., Tan H., Ren B., Yuan G., Jia Y., Li J., Xiong D., Xing X., Niu X., Hu X. Magnetic and self-healing chitosan-alginate hydrogel encapsulated gelatin microspheres via covalent cross-linking for drug delivery // *Mater. Sci. Eng. C*. 2019. V. 101. P. 619–629. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.04.012>
- [16] Ahadian S., Yamada S., Ramón-Azcón J., Estili M., Liang X., Nakajima K., Shiku H., Khademhosseini A., Matsue T. Hybrid hydrogen aligned carbon nanotube scaffolds to enhance cardiac differentiation of embryoid bodies // *Actabiomaterialia*. 2016. V. 31. P. 134–143. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2015.11.047>
- [17] Preobrazhensky I. I., Tikhonov A. A., Klimashina E. S., Evdokimov P. V., Putlyaev V. I. Swelling of acrylate hydrogels filled with brushite and octacalcium phosphate // *Russ. Chem. Bull.* 2020. V. 69. N 8. P. 1601–1603. <https://doi.org/10.1007/s11172-020-2942-0>
- [18] Fadeeva I. V., Fomin A. S., Barinov S. M., Davydova G. A., Selezneva I. I., Preobrazhenskii I. I., Rusakov M. K., Fomina A. A., Volchenkova V. A. Synthesis and properties of manganese-containing calcium phosphate materials // *Inorg. Mater.* 2020. V. 56. N 7. P. 700–706. <https://doi.org/10.1134/S0020168520070055>
- [19] Fadeeva I. V., Goldberg M. A., Preobrazhensky I. I., Mamin G. V., Davidova G. A., Agafonova N. V., Fosca M., Russo F., Barinov S. M., Cavalu S., Rau J. V. Improved cytocompatibility and antibacterial properties of zinc-substituted brushite bone cement based on β -tricalcium phosphate // *J. Mater. Sci.: Mater. Med.* 2021. V. 32. N 9. P. 1–12. <https://doi.org/10.1007/s10856-021-06575-x>
- [20] Varaprasad K., Vimala K., Raghavendra G. M., Jayaramudu T., Sadiku E. R., Ramam K. Cell encapsulation in polymeric self-assembled hydrogels // *Nanotechn. Appl. Tissue Eng.* 2015. P. 149–171. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-323-32889-0.00010-8>
- [21] Annabi N., Tamayol A., Uquillas J. A., Akbari M., Bertassoni L. E., Cha C., Camci-Unal G., Dokmeci M. R., Peppas N. A., Khademhosseini A. 25th anniversary article: Rational design and applications of hydrogels in regenerative medicine // *Adv. Mater.* 2014. V. 26. N 1. P. 85–124. <https://doi.org/10.1002/adma.201303233>
- [22] Ванчугова Л. В., Валуев Л. И., Валуев И. Л., Талызенков Ю. А. Регулирование структуры полиакриламидного гидрогеля // *Высокомолекуляр. соединения. Сер. Б*. 2013. Т. 55. № 2. С. 225–225. <https://doi.org/10.7868/S0507547513020141>
- [23] Oyen M. L. Mechanical characterisation of hydrogel materials // *Int. Mater. Rev.* 2014. V. 59. N 1. P. 44–59. <https://doi.org/10.1179/1743280413Y.0000000022>
- [24] Ghosh K., Pan Z., Guan E., Ge S., Liu Y., Nakamura T., Ren X., Rafailovich M., Clark R. A. Cell adaptation to a physiologically relevant ECM mimic with different viscoelastic properties // *Biomaterials*. 2007. V. 28. N 4. P. 671–679. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2006.09.038>
- [25] Loessner D., Stok K. S., Lutolf M. P., Huttmacher D. W., Clements J. A., Rizzi S. C. Bioengineered 3D platform to explore cell-ECM interactions and drug resistance of epithelial ovarian cancer cells // *Biomaterials*. 2010. V. 31. N 32. P. 8494–8506. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2010.07.064>
- [26] Zhang Y., An D., Pardo Y., Chiu A., Song W., Liu Q., Zhou F., McDonough S. P., Ma M. High-water-content and resilient PEG-containing hydrogels with low fibrotic response // *Actabiomaterialia*. 2017. V. 53. P. 100–108. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2017.02.028>
- [27] Kharkar P. M., Kiick K. L., Kloxin A. M. Designing degradable hydrogels for orthogonal control of cell microenvironments // *Chem. Soc. Rev.* 2013. V. 42. N 17. P. 7335–7372. <https://doi.org/10.1039/C3CS60040H>
- [28] Nevado J. J., Flores J. R., Llerena M. J. Simultaneous spectrophotometric determination of Tartrazine, Sunset Yellow and Ponceau 4R in commercial products by partial least squares and principal component regression multivariate calibration methods // *Fresenius' J. Analyt. Chem.* 1998. V. 361. N 5. P. 465–472. <https://doi.org/10.1007/s002160050927>
- [29] Pirman T., Ocepek M., Likozar B. Radical polymerization of acrylates, methacrylates, and styrene: Biobased approaches, mechanism, kinetics, secondary reactions, and modeling // *Indust. & Eng. Chem. Res.* 2021. V. 60. N 26. P. 9347–9367. <https://doi.org/10.1021/acs.iecr.1c01649>
- [30] Tibbitt M., Kloxin A., Sawicki L., Anseth K. Mechanical properties and degradation of chain and step polymerized photodegradable hydrogels //

- Macromolecules. 2013. V. 46. N 7. P. 2785–2792. <https://doi.org/10.1021/ma302522x>
- [31] Melchels F. P., Feijen J., Grijpma D. W. A review on stereolithography and its applications in biomedical engineering // *Biomaterials*. 2010. V. 31. N 24. P. 6121–6130. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2010.04.050>
- [32] Ligon S. C., Husar B., Wutzel H., Holman R., Liska R. Strategies to reduce oxygen inhibition in photoinduced polymerization // *Chem. Rev.* 2014. V. 114. N 1. P. 557–589. <https://doi.org/10.1021/cr3005197>
- [33] Benoit D. S., Durney A. R., Anseth K. S. Manipulations in hydrogel degradation behavior enhance osteoblast function and mineralized tissue formation // *Tissue Eng.* 2006. V. 12. P. 1663–1673. <https://doi.org/10.1089/ten.2006.12.1663>
- [34] Browning M. B., Cereceres S. N., Luong P. T., Cosgriff-Hernandez E. M. Determination of the in vivo degradation mechanism of PEGDA hydrogels // *J. Biomed. Mater. Res. Part A*. 2014. V. 102. N 12. P. 4244–4251. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.35096>
- [35] Martinez P. R., Goyanes A., Basit A. W., Gaisford S. Fabrication of drug-loaded hydrogels with stereolithographic 3D printing // *Int. J. Pharmaceut.* 2017. V. 532. N 1. P. 313–317. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2017.09.003>
- [36] Tang A., Li J., Li J., Zhao S., Liu W., Liu T., Wang J., Liu Y. Nanocellulose/PEGDA aerogel scaffolds with tunable modulus prepared by stereolithography for three-dimensional cell culture // *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* 2019. V. 30. N 10. P. 797–814. <https://doi.org/10.1080/09205063.2019.1602904>
- [37] Preobrazhenskiy I. I., Tikhonov A. A., Evdokimov P. V., Shibaev A. V., Putlyaev V. I. DLP printing of hydrogel/calcium phosphate composites for the treatment of bone defects // *Open Ceram.* 2021. V. 6. ID 100115. <https://doi.org/10.1016/j.oceram.2021.100115>
- [38] Elomaa L., Pan C. C., Shanjani Y., Malkovskiy A., Seppälä J. V., Yang Y. Three-dimensional fabrication of cell-laden biodegradable poly(ethylene glycol-co-depsipeptide) hydrogels by visible light stereolithography // *J. Mater. Chem. B*. 2015. V. 3. N 42. P. 8348–8358. <https://doi.org/10.1039/C5TB01468A>
- [39] Garcia C., Gallardo A., López D., Elvira C., Azzahiti A., Lopez-Martinez E., Rodríguez-Hernández J. Smart pH-responsive antimicrobial hydrogel scaffolds prepared by additive manufacturing // *ACS Appl. Biomater.* 2018. V. 1. N 5. P. 1337–1347. <https://doi.org/10.1021/acsabm.8b00297>
- [40] Wang Z., Kumar H., Tian Z., Jin X., Holzman J. F., Menard F., Kim K. Visible light photoinitiation of cell-adhesive gelatin methacryloyl hydrogels for stereolithography 3D bioprinting // *ACS Appl. Mater. & Interf.* 2018. V. 10. N 32. P. 26859–26869. <https://doi.org/10.1021/acsami.8b06607>
- [41] Zhu W., Ma X., Gou M., Mei D., Zhang K., Chen S. 3D printing of functional biomaterials for tissue engineering // *Current Opinion Biotechnol.* 2016. V. 40. P. 103–112. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2016.03.014>
- [42] Panda B., Unluer C., Tan M. J. Extrusion and rheology characterization of geopolymer nanocomposites used in 3D printing // *Composites. Part B: Eng.* 2019. V. 176. ID 107290. <https://doi.org/10.1016/j.compositesb.2019.107290>
- [43] Hölzl K., Lin S., Tytgat L., Van Vlierberghe S., Gu L., Ovsianikov A. Bioink properties before, during and after 3D bioprinting // *Biofabrication*. 2016. V. 8. N 3. ID 032002. <https://doi.org/10.1088/1758-5090/8/3/032002>
- [44] Li L., Lin Q., Tang M., Duncan A. J., Ke C. Advanced polymer designs for direct-ink-write 3D printing // *Chemistry — A Europ. J.* 2019. V. 25. N 46. P. 10768–10781. <https://doi.org/10.1002/chem.201900975>
- [45] Jungst T., Smolan W., Schacht K., Scheibel T., Groll J. Strategies and molecular design criteria for 3D printable hydrogels // *Chem. Rev.* 2016. V. 116. N 3. P. 1496–1539. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.5b00303>
- [46] Yu I., Chen R. An experimental and numerical study on coaxial extrusion of a non-newtonian hydrogel material // *J. Manuf. Sci. Eng.* 2021. V. 143. N 8. ID 081008. <https://doi.org/10.1115/1.4050181>
- [47] Peak C. W., Stein J., Gold K. A., Gaharwar A. K. Nanoengineered colloidal inks for 3D bioprinting // *Langmuir*. 2018. V. 34. N 3. P. 917–925. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.7b02540>
- [48] Loebel C., Rodell C. B., Chen M. H., Burdick J. A. Shear-thinning and self-healing hydrogels as injectable therapeutics and for 3D-printing // *Nature Protocols*. 2017. V. 12. N 8. P. 1521–1541. <https://doi.org/10.1038/nprot.2017.053>
- [49] Pekkanen A. M., Mondschein R. J., Williams C. B., Long T. E. 3D printing polymers with supramolecular functionality for biological applications // *Biomacromolecules*. 2017. V. 18. N 9. P. 2669–2687. <https://doi.org/10.1021/acs.biomac.7b00671>
- [50] Ali A., Ahmed S. Recent advances in edible polymer based hydrogels as a sustainable alternative to conventional polymers // *J. Agric. Food Chem.* 2018. V. 66. N 27. P. 6940–6967. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b01052>
- [51] Simões B. M., Cagnin C., Yamashita F., Olivato J. B., Garcia P. S., de Oliveira S. M., Grossmann M. V. Citric acid as crosslinking agent in starch/xanthan gum hydrogels produced by extrusion and thermopressing // *Lwt*. 2020. V. 125. ID 108950. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108950>
- [52] Du L., GhavamiNejad A., Yan Z. C., Biswas C. S., Stadler F. J. Effect of a functional polymer on the

- rheology and microstructure of sodium alginate // *Carbohydrate Polym.* 2018. V. 199. P. 58–67. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.07.001>
- [53] *Chung J. H., Naficy S., Yue Z., Kapsa R., Quigley A., Moulton S. E., Wallace G. G.* Bio-ink properties and printability for extrusion printing living cells // *Biomater. Sci.* 2013. V. 1. N 7. P. 763–773. <https://doi.org/10.1039/C3BM00012E>
- [54] *Faulkner-Jones A., Fyfe C., Cornelissen D. J., Gardner J., King J., Courtney A., Shu W.* Bioprinting of human pluripotent stem cells and their directed differentiation into hepatocyte-like cells for the generation of mini-livers in 3D // *Biofabrication.* 2015. V. 7. N 4. ID 044102. <https://doi.org/10.1088/1758-5090/7/4/044102>
- [55] *Rastogi P., Kandasubramanian B.* Review of alginate-based hydrogel bioprinting for application in tissue engineering // *Biofabrication.* 2019. V. 11. N 4. ID 042001. <https://doi.org/10.1088/1758-5090/ab331e>
- [56] *Ahn S., Lee H., Bonassar L. J., Kim G.* Cells (MC3T3-E1)-laden alginate scaffolds fabricated by a modified solid-freeform fabrication process supplemented with an aerosol spraying // *Biomacromolecules.* 2012. V. 13. N 9. P. 2997–3003. <https://doi.org/10.1021/bm3011352>
- [57] *Sardelli L., Tunesi M., Briatico-Vangosa F., Petrini P.* 3D-Reactive printing of engineered alginate inks // *Soft Matter.* 2021. V. 17. N 35. P. 8105–8117. <https://doi.org/10.1039/D1SM00604E>
- [58] *Wang H., Zhu H., Fu W., Zhang Y., Xu B., Gao F., Cao Z., Liu W.* A high strength self-healable antibacterial and anti-inflammatory supramolecular polymer hydrogel // *Macromol. Rapid Comm.* 2017. V. 38. N 9. ID 1600695. <https://doi.org/10.1002/marc.201600695>
- [59] *Forget A., Blaeser A., Miessmer F., Köpf M., Campos D. F., Voelcker N. H., Blencowe A., Fischer H., Shastri V. P.* Mechanically tunable bioink for 3D bioprinting of human cells // *Adv. Health. Mater.* 2017. V. 6. N 20. ID 1700255. <https://doi.org/10.1002/adhm.201700255>
- [60] *Hu X., Yang Z., Kang S., Jiang M., Zhou Z., Gou J., Hui D., He J.* Cellulose hydrogel skeleton by extrusion 3D printing of solution // *Nanotechn. Rev.* 2020. V. 9. N 1. P. 345–353. <https://doi.org/10.1515/ntrev-2020-0025>
- [61] *Gopinathan J., Hao T. N., Cha E., Lee C., Das D., Noh I.* 3D printable and injectable lactoferrin-loaded carboxymethyl cellulose-glycol chitosan hydrogels for tissue engineering applications // *Mater. Sci. Eng. C.* 2020. ID 111008. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2020.111008>
- [62] *Li H., Liu S., Lin L.* Rheological study on 3D printability of alginate hydrogel and effect of graphene oxide // *Int. J. Bioprint.* 2016. V. 2. N 2. P. 54–66. <http://dx.doi.org/10.18063/IJB.2016.02.007>
- [63] *Naghieh S., Karamooz-Ravari M. R., Sarker M. D., Karki E., Chen X.* Influence of crosslinking on the mechanical behavior of 3D printed alginate scaffolds: Experimental and numerical approaches // *J. Mech. Behavior Biomed. Mater.* 2018. V. 80. P. 111–118. <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2018.01.034>
- [64] *Davila J. L., d'Avila M. A.* Rheological evaluation of laponite/alginate inks for 3D extrusion-based printing // *Int. J. Adv. Manuf. Techn.* 2019. V.101. N 1. P. 675–686. <https://doi.org/10.1007/s00170-018-2876-y>
- [65] *Heo D. N., Castro N. J., Lee S. J., Noh H., Zhu W., Zhang L. G.* Enhanced bone tissue regeneration using a 3D printed microstructure incorporated with a hybrid nanohydrogel // *Nanoscale.* 2017. V. 9. N 16. P. 5055–5062. <https://doi.org/10.1039/C6NR09652B>
- [66] *Lee J. W., Kang K. S., Lee S. H., Kim J. Y., Lee B. K., Cho D. W.* Bone regeneration using a microstereolithography-produced customized poly(propylene fumarate)/diethyl fumarate photopolymer 3D scaffold incorporating BMP-2 loaded PLGA microspheres // *Biomaterials.* 2011. V. 32. N 3. P. 744–752. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2010.09.035>
- [67] *Mironov V., Visconti R. P., Kasyanov V., Forgacs G., Drake C. J., Markwald R. R.* Organ printing: Tissue spheroids as building blocks // *Biomaterials.* 2009. V. 30. N 12. P. 2164–2174. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2008.12.084>
- [68] *Visconti R. P., Kasyanov V., Gentile C., Zhang J., Markwald R. R., Mironov V.* Towards organ printing: Engineering an intra-organ branched vascular tree // *Expert Opinion Biolog. Therapy.* 2010. V. 10. N 3. P. 409–420. <https://doi.org/10.1517/14712590903563352>
- [69] *Skardal A., Zhang J., McCoard L., Xu X., Oottamasathien S., Prestwich G. D.* Photocrosslinkable hyaluronan-gelatin hydrogels for two-step bioprinting // *Tissue Eng. Part A.* 2010. V. 16. N 8. P. 2675–2685. <https://doi.org/10.1089/ten.tea.2009.0798>
- [70] *Fedorovich N. E., Alblas J., de Wijn J. R., Hennink W. E., Verbout A. J., Dhert W. J.* Hydrogels as extracellular matrices for skeletal tissue engineering: State-of-the-art and novel application in organ printing // *Tissue Eng.* 2007. V. 13. N 8. P. 1905–1925. <https://doi.org/10.1089/ten.2006.0175>
- [71] *Censi R., Schuurman W., Malda J., Di Dato G., Burgisser P. E., Dhert W. J., Nostrum C. F., Martino P., Vermonden T., Hennink W. E.* A printable photopolymerizable thermosensitive p(HPMAm-lactate)-PEG hydrogel for tissue engineering // *Adv. Funct. Mater.* 2011. V. 21. N 10. P. 1833–1842. <https://doi.org/10.1002/adfm.201002428>
- [72] *Kundu J., Shim J. H., Jang J., Kim S. W., Cho D. W.* An additive manufacturing-based PCL-alginate-chondrocyte bioprinted scaffold for cartilage tissue

- engineering // *J. Tissue Eng. Regener. Med.* 2015. V. 9. N 11. P. 1286–1297. <https://doi.org/10.1002/term.1682>
- [73] Zimmermann R., Hentschel C., Schrön F., Moedder D., Büttner T., Atallah P., Wegener T., Gehring T., Howitz S., Werner C. High resolution bioprinting of multi-component hydrogels // *Biofabrication*. 2019. V. 11. N 4. ID 045008. <https://doi.org/10.1088/1758-5090/ab2aa1>
- [74] Freudenberg U., Liang Y., Kiick K. L., Werner C. Glycosaminoglycan-based biohybrid hydrogels: A Sweet and smart choice for multifunctional biomaterials // *Adv. Mater.* 2016. V. 28. ID 8861. <https://doi.org/10.1002/adma.201601908>
- [75] Yoshida R., Okano T. Stimuli-responsive hydrogels and their application to functional materials // *Biomed. App. Hydrogels Handbook*. 2010. P. 19–43. https://doi.org/10.1007/978-1-4419-5919-5_2
- [76] White E. M., Yatvin J., Grubbs J. B., Bilbrey J. A., Locklin J. Advances in smart materials: Stimuli-responsive hydrogel thin films // *J. Polym. Sci. Part B: Polym. Phys.* 2013. V. 51. N 14. P. 1084–1099. <https://doi.org/10.1002/polb.23312>
- [77] Kim S. M., Lee B., Yoon H., Suh K. Y. Stimuli-responsive hydrogel patterns for smart microfluidics and microarrays // *Analyst*. 2013. V. 138. N 21. P. 6230–6242. <https://doi.org/10.1039/C3AN01119D>
- [78] Song H. S., Kwon O. S., Kim J. H., Conde J., Artzi N. 3D hydrogel scaffold doped with 2D graphene materials for biosensors and bioelectronics // *Biosensors Bioelectr.* 2017. V. 89. P. 187–200. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2016.03.045>
- [79] Han D., Lu Z., Chester S. A., Lee H. Micro 3D printing of a temperature-responsive hydrogel using projection micro-stereolithography // *Sci. Rep.* 2018. V. 8. N 1. P. 1–10. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-20385-2>
- [80] Karis D. G., Ono R. J., Zhang M., Vora A., Storti D., Ganter M. A., Nelson A. Cross-linkable multi-stimuli responsive hydrogel inks for direct-write 3D printing // *Polym. Chem.* 2017. V. 8. N 29. P. 4199–4206. <https://doi.org/10.1039/C7PY00831G>
- [81] Ramesh S., Kovelakuntla V., Meyer A. S., Rivero I. V. Three-dimensional printing of stimuli-responsive hydrogel with antibacterial activity // *Bioprinting*. 2020. ID e00106. <https://doi.org/10.1016/j.bprint.2020.e00106>
- [82] Podstawczyk D., Nizioł M., Szymczyk P., Wiśniewski P., Guiseppi-Elie A. 3D printed stimuli-responsive magnetic nanoparticle embedded alginate–methylcellulose hydrogel actuators // *Additive Manuf.* 2020. ID 101275. <https://doi.org/10.1016/j.addma.2020.101275>
- [83] Gwon K., Han I., Lee S., Kim Y., Lee D. N. Novel metal-organic framework-based photocrosslinked hydrogel system for efficient antibacterial applications // *ACS Appl. Mater. & Interf.* 2020. V. 12. N 18. P. 20234–20242. <https://doi.org/10.1021/acsami.0c03187>
- [84] Ehrburger P. Interface in composite materials // *Philosoph. Transactions of the Royal Society of London. Ser. A. Mathem. Phys. Sci.* 1980. V. 294. N 1411. P. 495–505. <https://doi.org/10.1098/rsta.1980.0059>
- [85] Jeong S. H., Koh Y. H., Kim S. W., Park J. U., Kim H. E., Song J. Strong and biostable hyaluronic acid-calcium phosphate nanocomposite hydrogel via in situ precipitation process // *Biomacromolecules*. 2016. V. 17. N 3. P. 841–851. <https://doi.org/10.1021/acs.biomac.5b01557>
- [86] Kabiri K., Omidian H., Zohuriaan-Mehr M. J., Doroudiani S. Superabsorbent hydrogel composites and nanocomposites: A Review // *Polym. Composites*. 2011. V. 32. N 2. P. 277–289. <https://doi.org/10.1002/pc.21046>
- [87] Ahmadi M., Monji D., Taromi F. A. Bio-inspired surface modification of iron oxide nanoparticles for active stabilization in hydrogels // *Soft Matter*. 2021. V. 17. N 4. P. 955–964. <https://doi.org/10.3390/nano11092337>
- [88] Franca C. G., Plaza T., Naveas N., Santana M. H., Manso-Silván M., Recio G., Hernandez-Montelongo J. Nanoporous silicon microparticles embedded into oxidized hyaluronic acid/adipic acid dihydrazide hydrogel for enhanced controlled drug delivery // *Micropor. Mesopor. Mater.* 2021. V. 310. ID 110634. <https://doi.org/10.1016/j.micromeso.2020.110634>
- [89] Wüst S., Godla M. E., Müller R., Hofmann S. Tunable hydrogel composite with two-step processing in combination with innovative hardware upgrade for cell-based three-dimensional bioprinting // *Actabiomaterialia*. 2014. V. 10. N 2. P. 630–640. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2013.10.016>
- [90] Jeong J. E., Park S. Y., Shin J. Y., Seok J. M., Byun J. H., Oh S. H., Kim W. D., Lee J. H., Park W. H., Park S. A. 3D printing of bone-mimetic scaffold composed of gelatin/ β -tri-calcium phosphate for bone tissue engineering // *Macromol. Biosci.* 2020. V. 20. N 12. ID 2000256. <https://doi.org/10.1002/mabi.202000256>
- [91] Дедов И. И. Персонализированная медицина // *Вестн. ПАМН*. 2019. Т. 74. № 1. С. 61–70. <https://doi.org/10.15690/vramn1108>