

## БИОМЕДИЦИНСКАЯ ФИЗИКА И НАНОТЕХНОЛОГИИ

УДК 531.7, 544.162

### УПРУГИЕ СВОЙСТВА СФЕРИЧЕСКИХ ГИДРОГЕЛЕЙ И ФЕРРОГЕЛЕЙ НА ОСНОВЕ АЛЬГИНАТА И ПОЛИАКРИЛАМИДА

Антонина Владимировна Бугаёва<sup>1</sup>, Павел Андреевич Шабатов<sup>1,2</sup>, Тагир Рустамович Калдыров<sup>2</sup>, Татьяна Фридриховна Шкляр<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Отдел биомедицинской физики и инженерии, ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ

<sup>2</sup>ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина»

Екатеринбург, Россия

#### Аннотация

**Введение.** Микрогранулы и сферы из гидрогеля альгината кальция и композиты на его основе используются в качестве клеточных трехмерных конструкций для инженерии тканей. Проектирование таких систем должно учитывать упругие свойства материала, значение которых существенным образом определяет совместимость клеток с полимером. **Цель исследования** – оценить зависимость модуля упругости сферических альгинатных гидрогелей (АГГ) и альгинатных феррогелей (АФГ) от следующих переменных: исходной концентрации альгината при синтезе, добавлении в АГГ химической сетки полиакриламида и магнитных наночастиц (МНЧ). **Материал и методы.** Были синтезированы образцы ГГ и ФГ на основе альгината кальция и полиакриламида (ПААм) диаметром 2-3 мм. В качестве магнитного наполнителя использовались наночастицы маггемита диаметром ~ 20 нм. Для оценки упругих свойств исследуемых объектов всем объектам исследования задавали ступенчатые деформации на сжатие до 5-7% от начального диаметра образцов с шагом 50 мкм. Расчет модуля Юнга проводили, используя результаты решения контактной задачи Герца. **Результаты.** Установлено пятикратное возрастание модуля упругости АГГ при повышении начальной концентрации альгината в составе реакционной смеси с 2 до 5%. Модуль упругости ГГ и ФГ с двойной сеткой (альгинат и ПААм) по сравнению с однокомпонентными гелями альгината и ПААм возрастал в 1,3 и 2,5 раза, соответственно. Установлено также, что включение МНЧ в полимер увеличивает модуль Юнга гелей с двойной сеткой, но не оказывает влияния на упругие свойства альгинатного геля. **Выводы.** Эластичность альгинатных сфер значимым образом зависит от исходной массовой доли альгината и/или полиакриламида в реакционной среде, причем, модуль упругости тем больше, чем выше доля этих компонентов. Добавление МНЧ в сферы с взаимопроникающими сетками также увеличивает модуль упругости композитов.

**Ключевые слова:** альгинатный гидрогель, феррогель, полиакриламид, магнитные наночастицы, маггемит, модуль упругости.

## ELASTIC PROPERTIES OF SPHERICAL HYDROGELS AND FERROGELS BASED ON ALGINATE AND POLYACRYLAMIDE

Antonina V. Bugayova<sup>1</sup>, Pavel A. Shabadrov<sup>1,2</sup>, Tagir R. Kaldyrov<sup>2</sup>, Tatyana F. Shklyar<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Department of biomedical physics and engineering,  
Ural state medical university

<sup>2</sup>Ural Federal University named after the first President of Russia B.N. Yeltsin  
Yekaterinburg, Russia

### Abstract

**Introduction.** Calcium alginate hydrogel microgranules and spheres and composites based on it are used as cellular three-dimensional structures for tissue engineering. The design of such systems must take into account the elastic properties of the material, the value of which essentially determines the compatibility of cells with the polymer. **The purpose of the study** is to evaluate the dependence of the elastic modulus of spherical alginate hydrogels (AHGs) and alginate ferrogels (AFGs) on the following variables: the initial concentration of alginate during synthesis, addition of a chemical polyacrylamide network and magnetic nanoparticles (MNPs) to the AHG.

**Material and methods.** Calcium alginate and polyacrylamide (PAAm) based HG and FG samples with a diameter of 2-3 mm were synthesized. Maghemite nanoparticles with a diameter of ~ 20 nm were used as a magnetic filler. To estimate the elastic properties of the studied objects, all the objects were given stepwise compressive strains up to 5-7% of the initial diameter of the samples with a step of 50  $\mu\text{m}$ . The Young's modulus was calculated using the results of the Hertz contact problem. **Results.** A fivefold increase in the elastic modulus of AHG was observed when the initial concentration of alginate in the reaction mixture was increased from 2 to 5%. The elastic modulus of HGs and FGs with double network (alginate and PAAm) compared to single-component gels of alginate and PAAm increased by 1,3 and 2,5 times, respectively. It was also found that the inclusion of MNPs in the polymer increases the Young's modulus of the gels with double network, but has no effect on the elastic properties of the alginate gel. **Conclusions.** The elasticity of alginate spheres significantly depends on the initial mass fraction of alginate and/or polyacrylamide in the reaction medium, and the higher the proportion of these components, the greater the elastic modulus. The addition of MNPs to spheres with interpenetrating networks also increases the elastic modulus of the composites.

**Keywords:** alginate hydrogel, ferrogel, polyacrylamide, magnetic nanoparticles, maghemite, elastic modulus.

### ВВЕДЕНИЕ

В области биоинженерии широкое применение находят биополимеры, в том числе альгиновая кислота и ее соли – альгинаты. Альгинаты характеризуются прекрасной биосовместимостью, низкой цитотоксичностью, способностью к биоразложению, высокой гелеобразующей способностью. Альгинатные гидрогели (АГГ) широко используются в биомедицине для таких целей, как доставка лекарственных средств, заживление ран, в качестве biomaterialов в тканевой инженерии и регенеративной медицине [1].

Для успешного применения новых материалов, среди прочего, важно имитировать механические и биологические свойства живых тканей. АГГ, набухшие в воде, обладают слабыми механическими свойствами и низкой активностью связывания клеток. Улучшение механических свойств АГГ позволяет расширить области применения в биомедицине, где механические характеристики имеют особое значение. Желаемого можно достичь несколькими путями.

Увеличение массовой доли альгината при создании АГГ и способов сшивки позволяет варьировать плотность материала и структуру, что отражается на упругих свойствах созданного материала [2]. Сочетание АГГ с другими материалами, например синтетическими полимерами, улучшает его физические и биологические свойства [3]. Введение в гидрогели частиц разной природы также увеличивает упругость и вязкость материала. Так, нами ранее было показано, что упругие свойства феррогелей (ФГ), наполненных магнитными частицами (МЧ) гидрогелей (ГГ), возрастают с увеличением массовой доли частиц [4].

Особое внимание в последние годы уделено клеточным технологиям, созданию матриц и носителей клеток. Одно из современных направлений – формирование микрогранул и сфер из АГГ, которые используют в биомедицинской области, особенно для создания трехмерных (3D) систем для культивирования *in vitro* и доставки клеток *in vivo* [5]. Проектирование таких систем должно учитывать упругие свойства материала, значение которых существенным образом определяет совместимость клеток с полимером. Определение упругих свойств гидрогелиевых сфер – нетривиальная задача, поисками решения которой занимаются некоторые авторы [2]. Среди методов оценки упругих свойств таких объектов микропипеточная аспирация (МПА), атомно-силовая микроскопия (АСМ) и метод сжатия.

**Цель исследования** – оценить зависимость модуля упругости сферических АГГ и альгинатных феррогелей (АФГ) от следующих переменных: исходной концентрации альгината при синтезе, добавлении в АГГ химической сетки полиакриламида и магнитных наночастиц (МНЧ).

#### **МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ**

Для синтеза сферических АГГ готовился базовый раствор, состоящий из дистиллированной воды и альгината натрия, для синтеза АФГ в указанную реакционную смесь вводилась суспензия наночастиц маггемита диаметром ~ 20 нм. Реакционную смесь по каплям добавляли в водный раствор, содержащий 0,5 М хлорида кальция. В результате диффузии хлорида кальция в раствор и замещения ионов  $\text{Na}^+$  на  $\text{Ca}^{2+}$  происходило гелеобразование. Для синтеза композитных ГГ и ФГ в указанную реакционную смесь вводили акриламид (ААм) и сшивающий агент N,N'-метиленбисакриламид в мольном соотношении 1:50 к ААм, а в водный раствор хлорида кальция добавляли 0,05 М инициатора – персульфата аммония. Полученные ГГ и ФГ сферической формы выдерживали в солевом растворе 2 суток для окончательного ионного обмена и завершения процесса полимеризации ААм.

Для получения ФГ на основе полиакриламида (ПААм) из имеющихся композитных сферических гелей удаляли полимерную сетку альгината кальция, путем помещения их в раствор, содержащий компоненты, хелатирующие ионы  $\text{Ca}^{2+}$ .

Все образцы промывали дистиллированной водой в течение 7 дней с ежедневным обновлением воды для достижения равновесного набухания. В результате были получены 7 типов ГГ и ФГ разного состава исходной реакционной смеси (Таблица 1).

Для оценки упругих свойств исследуемых объектов образцам ГГ и ФГ диаметром 2-3 мм задавали ступенчатые деформации на сжатие с шагом 50 мкм величиной до 5-7% от начального диаметра образцов.

Используя результаты решения контактной задачи Герца [6], связь между величиной деформации верхней части шара ( $h$ ), возникающей в шаре силой ( $F$ ) и его радиусом ( $R$ ) может быть выражена следующим образом:

$$h = F^{2/3} \left[ \frac{D^2}{R} \right]^{1/3}, \quad (1)$$

где  $D$  – коэффициент, связанный с модулем Юнга ( $E$ ) материала шара:

$$D = \frac{9}{16E}. \quad (2)$$

Из уравнения (1), зная начальный радиус шара, величину задаваемой деформации, и регистрируя величину возникающей в образце силы, рассчитывали коэффициент  $D$  через вышеназванные характеристики:

$$D = \sqrt{\frac{h^3 R}{F^2}}. \quad (3)$$

Вычислив коэффициент  $D$ , используя формулу (2), определяли модуль упругости образцов для заданной величины деформации:

$$E = \frac{9}{16D}. \quad (4)$$

Число измерений для каждого состава геля составляло 14-16 (по 3-4 образца на каждый тип геля). Для каждого типа геля были вычислены средние значения модуля упругости и границы доверительного интервала при уровне значимости  $p = 0,05$ . Для сравнительного анализа двух независимых групп использовали непараметрический критерий Манна-Уитни в прикладном пакете программ «Statistica 10», статистическую гипотезу считали подтвержденной при уровне значимости  $p \leq 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ

В таблице 1 приведены результаты по определению модуля упругости исследуемых образцов ГГ и ФГ.

Таблица 1

## Модули упругости гидрогелей и феррогелей на основе альгината и ПААм

Тип геля	$\omega_{\text{альгинат}}$ (%)	$\omega_{\text{ПААм}}$ (%)	$\omega_{\text{МНЧ}}$ (%)	$E$ (кПа)
1	5	-	-	$893,33 \pm 36,68$
2	2	-	-	$178,32 \pm 15,75$
3	2	8	-	$225,21 \pm 30,14$
4	2	-	10	$183,71 \pm 19,65$
5	2	8	10	$284,80 \pm 18,63$
6	-	20	10	$192,62 \pm 9,16$
7	3	20	10	$491,90 \pm 36,81$

Примечание:  $\omega_{\text{альгинат}}$ ,  $\omega_{\text{ПААм}}$ ,  $\omega_{\text{МНЧ}}$  – массовые доли альгината натрия, акриламида и МНЧ соответственно в составе реакционной смеси

Для АГГ с разной начальной концентрацией альгината натрия установлено, что при увеличении исходной концентрации альгината с 2% до 5% (см. типы гелей 1 и 2 в таблице 1) упругие свойства усиливаются в 5 раз. Для композитного ГГ альгинат/ПААм (тип 3) установлено статистически значимое ( $p < 0,05$ ) увеличение модуля упругости по сравнению с базовым АГГ (тип 2) с такой же исходной концентрацией альгината. Включение МНЧ маггемита в концентрации 10% в состав реакционной смеси приводит к неоднозначному результату. Модуль упругости альгинатного феррогеля (тип 4) не изменяется по сравнению со значением  $E$  для базового АГГ (тип 2). Для ФГ с комбинированной сеткой альгинат/ПААм (тип 5) добавление МНЧ маггемита приводит к значимому ( $p < 0,05$ ) увеличению  $E$  по сравнению со значением  $E$  для ГГ того же состава (тип 3).

Упругие свойства феррогелей с однокомпонентными сетками не отличаются (см. типы гелей 4 и 6). Однако в композитном ФГ, где присутствуют две взаимопроникающие сети ПААм и альгината (тип 7), отмечено существенное повышение ( $p < 0,01$ ) значений  $E$  по сравнению с величиной  $E$  базового ФГ ПААм (тип 6).

### ОБСУЖДЕНИЕ

В данной работе, используя метод задания деформаций сжатия и описанные в методике уравнения, были получены значения модуля Юнга для исследуемых образцов сферических ГГ и ФГ. Показанный рост модуля упругости при увеличении концентрации альгината объясняется уплотнением полимерной сетки ГГ за счет увеличения количества полимерного материала на единицу объема образца.

Изготовление гибридных структур на основе взаимопроникающих полимерных сеток [3] позволяет моделировать упругие свойства таких материалов. Установленное нами усиление упругих свойств в композитах с комбинацией физической и химической сетки (типы гелей 3 и 7) по сравнению с однокомпонентными образцами только с физической (тип 2) или химической (тип 6) сетками обусловлено их переплетением и, следовательно, так же уплотнением полимерной сети.

Сходные упругие свойства АФГ (тип 4) и АГГ (тип 2) могут быть связаны с агрегированием МНЧ в процессе образования АФГ при высокой концентрации (10%) магнитного наполнителя [7]. Напротив, введение МНЧ в композитную сеть альгинат/ПААм (тип 5) приводит к увеличению модуля упругости. Можно предположить, что этот эффект обусловлен взаимодействием МНЧ маггемита с ПААм. Подобный результат введения МНЧ был продемонстрирован нами ранее [4].

### **ВЫВОДЫ**

1. Увеличение исходной массовой доли альгината при создании гидрогеля альгината кальция приводит к возрастанию упругих свойств материала.

2. Модуль упругости для композитного геля (альгинат/ПААм) существенно выше по сравнению с модулем упругости однокомпонентных сеток геля.

3. Внедрение МНЧ маггемита приводит к возрастанию упругих свойств композитных гелей альгинат/ПААм.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Государственного задания Минздрава РФ (№ 121032300335-1).

### **СПИСОК ИСТОЧНИКОВ**

1. Advances in Algin and Alginate-Hybrid Materials for Drug Delivery and Tissue Engineering / Q. He, T. Tong, C. Yu, Q. Wang // Marine Drugs. – 2023. – Vol. 21, № 1. – P. 14.

2. Preparation of alginate hydrogel microparticles by gelation introducing cross-linkers using droplet-based microfluidics: a review of methods / C. Zhang, R. Grossier, N. Candoni, S. Veessler // Biomaterials Research. – 2021. – Vol. 25, № 1. – P. 41.

3. Strengthening alginate/polyacrylamide hydrogels using various multivalent cations / C. H. Yang, M. X. Wang, H. Haider [et al.] // ACS applied materials & interfaces. – 2013. – Vol. 5, № 21. – P. 10418–10422.

4. Effect of the polyacrylamide ferrogel elasticity on the cell adhesiveness to magnetic composite / F. A. Blyakhman, A. P. Safronov, O. G. Makeyev [et al.] // Journal of Mechanics in Medicine and Biology. – 2018. – Vol. 18, № 06. – P. 1850060.

5. Alginate microgels as delivery vehicles for cell-based therapies in tissue engineering and regenerative medicine / M. Xu, M. Qin, Y. Cheng [et al.] // Carbohydrate Polymers. – 2021. – Vol. 266. – P. 118128.

6. Ландау, Л. Д. Теоретическая физика : учебное пособие в 10 томах. Т. 7 / Л. Д. Ландау, Е. М. Лифшиц. – Москва : Наука, 1987. – 248 с.

7. Alginate based nanocomposites with magnetic properties / G. A. Kloster, D. Muraca, O. M. Londoño [et al.] // Composites Part A: Applied Science and Manufacturing. – 2020. – Vol. 135. – P. 105936.

### **Сведения об авторах**

А.В. Бугаёва\* – младший научный сотрудник ЦНИЛ УГМУ

П.А. Шабатов – младший научный сотрудник

Т.Р. Калдыров – студент

Т.Ф. Шкляр – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник ЦНИЛ УГМУ

### Information about the authors

A.V. Bugayova\* – Researcher of CRL USMU

P.A. Shabadrov – Researcher

T.R. Kaldyrov – Student

T.F. Shklyar – Doctor of Sciences (Biology), leading researcher of CRL USMU

\*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):  
antonina.v.bugayova@mail.ru

УДК 577.3

## ИССЛЕДОВАНИЕ МЕХАНИЗМА ЭЛЕКТРОМЕХАНИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ АЛЬГИНАТНОГО ГИДРОГЕЛЯ

Дарья Сергеевна Владельщикова<sup>1</sup>, Татьяна Фридриховна Шкляр<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина»

<sup>2</sup>Отдел биомедицинской физики и инженерии, ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ  
Екатеринбург, Россия

### Аннотация

**Введение.** Альгинат кальция является анионным полиэлектролитным гидрогелем (АГ) и в постоянном электрическом поле (ПЭП) проявляет электромеханический отклик. Эффекты электроактивных гелей связаны с обменной диффузией, то есть, зависят от состава растворов. **Цель исследования** - выявить зависимость ответа АГ на приложенное ПЭП от состава окружающего раствора. **Материал и методы.** Изготовлены прямоугольные образцы гидрогеля альгината кальция (Сечения  $S=1 \text{ mm}^2$ , длины  $L=7 \text{ mm}$ ). Образцы помещены в растворы с разным содержанием эквивалентных растворов NaCl и CaCl<sub>2</sub>. Приложено ПЭП с напряженностью 440 В/м. Регистрировали и анализировали изменение длины, видимой площади, объема и угла отклонения образцов. **Результаты.** Увеличение доли NaCl в комплексном растворе приводит к усилению электромеханического эффекта. Существенно возросло набухание образца и интенсивность отклонения к катоду. **Выводы.** Замена противоионов Ca<sup>2+</sup> в сетке АГ на двойное количество ионов Na<sup>+</sup> приводит к усилению набухания АГ и величины изгиба.

**Ключевые слова:** альгинатный гидрогель, электрическое поле, электромеханическая активность.

## INVESTIGATION OF THE MECHANISM OF ELECTROMECHANICAL ACTIVITY OF ALGINATE HYDROGEL

Daria S. Vladelshchikova<sup>1</sup>, Tatyana F. Shklyar<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Ural Federal University named after the first President of Russia B.N. Yeltsin

<sup>2</sup>Department of biomedical physics and engineering,