



## Обзор

DOI: <https://doi.org/10.17308/kcmf.2020.22/3113>

Поступила в редакцию 10.09.2020

Принята к публикации 28.09.2020

Опубликована онлайн 25.12.2020

ISSN 1606-867X

eISSN 2687-0711

УДК 541.64:544.726

## Современные подходы к медицинскому использованию сополимерных pH- и температурно-чувствительных гидрогелей (обзор)

© 2020 **В. А. Кузнецов**<sup>a,b</sup>, **П. О. Кущев**<sup>a,b</sup>, **И. В. Останкова**<sup>a,b</sup>, **А. Ю. Пульвер**<sup>a,c</sup>, **Н. А. Пульвер**<sup>a,c</sup>, **С. В. Павлович**<sup>a</sup>, **Р. А. Полтавцева**<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В. И. Кулакова Минздрава Российской Федерации, ул. Академика Опарина, 4, Москва 117997, Российская Федерация

<sup>b</sup>Воронежский государственный университет, Университетская пл., 1, Воронеж 394018, Российская Федерация

<sup>c</sup>ООО «Институт Биологии Старения» ул. Платонова, 19, Воронеж 394018, Российская Федерация

### Аннотация

В этой статье приведен обзор медицинского использования pH- и температурно-чувствительных полимерных гидрогелей. Такие полимеры характеризуются термо- и pH-чувствительностью в водных растворах при температуре функционирования живых организмов и могут реагировать на малейшие изменения условий окружения. По причине этого поведения они получили название стимул-чувствительные полимеры. Такой отклик на внешний раздражитель происходит за счет амфифильности (дифильности) этих (со)полимеров. Термин гидрогели включает в себя несколько понятий макро- и микрогели. Микрогели, в отличие от макрогелей, представляют собой полимерные частицы, которые находятся в диспергированном состоянии в жидкости и являются нано- или микрообъектами. В обзоре представлены работы, отражающие основные пути получения таких полимерных материалов, среди них осадительная полимеризация, как основной, наиболее простой и доступный способ, миниэмульсионная полимеризация, микрофлюидика и послойная адсорбция полиэлектролитов. Подобные системы, несомненно, будут перспективны для использования их в биотехнологии и медицине, из-за того, что они представляют собой набухшие жидкостью частицы, способные связывать и нести внутри себя различные вещества, от низко- до высокомолекулярных. Также важным фактором является то, что небольшое нагревание и охлаждение или незначительное изменение pH среды переводит систему из гомогенного в гетерогенное состояние и обратно. Именно это дает возможность использовать данные полимеры как средства направленной доставки лекарств, позволяющие снизить негативное влияние токсичных веществ, используемых для лечения, на весь организм и направить это действие в определенную точку. Помимо этого, такие полимеры можно использовать для создания «умных» покрытий имплантируемых материалов, а также искусственного матрикса для регенерации клеток и тканей, способствуя значительному повышению вероятности приживаемости и скорости восстановления клеток и тканей.

**Ключевые слова:** гидрогель, микрогель, N-изопропилакриламид, термочувствительность, pH-чувствительность, гетерофазная полимеризация.

**Источник финансирования:** исследование выполнено при поддержке Национального медицинского исследовательского центра акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В. И. Кулакова Министерства здравоохранения Российской Федерации, в рамках выполнения государственного задания по теме «Разработка и реализация методики восстановления эндометрия на основе жидкой биоинженерной ткани с регулируемой температурой фазового перехода» в 2020 году.

✉ Кущев Петр Олегович, e-mail: [peter.kushev@gmail.com](mailto:peter.kushev@gmail.com)



Контент доступен под лицензией Creative Commons Attribution 4.0 License.

**Для цитирования:** [Кузнецов В. А.], Кущев П. О., Останкова И. В., Пульвер А. Ю., Пульвер Н. А., Павлович С. В., Полтавцева Р. А., Современные подходы к медицинскому использованию сополимерных рН- и температурно-чувствительных гидрогелей (обзор). *Конденсированные среды и межфазные границы*. 2020; 22(4): 417–429. DOI: <https://doi.org/10.17308/kcmf.2020.22/3113>

**For citation:** [Kuznetsov V. A.], Kushchev P. O., Ostankova I. V., Pulver A. Yu., Pulver N. A., Pavlovich S. V., Poltavtseva R. A. Modern approaches to the medical use of copolymer pH- and temperature-sensitive hydrogels (review). *Kondensirovannye sredy i mezhfaznye granitsy = Condensed Matter and Interphases*. 2020; 22(4): 417–429. DOI: <https://doi.org/10.17308/kcmf.2020.22/3113>

## 1. Введение

В последние десятилетия на стыке химии полимеров, нанотехнологий, биологии, фармацевтики, биотехнологии, медицины возникло и неизменно привлекает постоянно растущее внимание новое научное направление, связанное с так называемыми «умными» или «интеллектуальными» материалами (*smart* или *intelligent materials*) [1]. «Умные» материалы на основе водорастворимых полимеров привлекают заметный как научный, так и практический интерес. Это связано с тем, что они имеют ряд уникальных свойств: температурно-, рН-чувствительность, дифильность структуры и т.д. В связи с этим они получили название стимул-чувствительные полимеры, так как могут откликаться на внешние воздействия среды [2–5]. Реакция на внешнее воздействие происходит за счет амфифильности (дифильности) (со)полимеров. Обычно используются мономеры, имеющие в своей структуре как гидрофильные, так гидрофобные сегменты. На данный момент такие вещества активно применяются в роли дисперсантов, эмульгаторов, солюбилизаторов, в косметологии, для выделения лекарственных препаратов и т. д. [6, 7].

Среди «умных» полимеров есть представители, которые могут реагировать на изменения температуры, рН, ионной силы, содержание неорганических, органических веществ и высокомолекулярных соединений различной природы, интенсивности освещения, напряженности электрического поля и др. Методы синтеза таких гидрогелей (осадительная полимеризация, эмульсионная полимеризация) зачастую просты и предельно легко масштабируются до опытного производства, а синтезируемые частицы, получаемые этими методами, будут иметь достаточно узкое распределение по размерам.

Эти системы бесспорно будут перспективны для использования их в биотехнологии и медицине. Они представляют собой очень простой инструмент управления системой. Незначительный нагрев и охлаждение или небольшое изменение рН среды приводит к переходу от гомогенной системы к гетерогенной и обратно, что сильно меняет значение набухаемости гидрогелей. В

настоящее время такие полимеры уже находят практическое применение для концентрирования и очистки биологически активных веществ или фиксации биокатализаторов.

Для медицинского использования таких гидрогелей в последние годы были разработаны методы их получения из биоразлагаемых и нетоксичных полимеров [8]. Под термином гидрогели понимают как макро-, так микрогели. Последние отличаются тем, что полимерные частицы находятся в диспергированном состоянии в жидкости и представляют собой нано- или микрообъекты. В связи с тем, что микрогель представляет собой набухшую жидкостью частицу, они могут связывать и нести внутри себя различные вещества, от низко- до высокомолекулярных. Этот факт говорит о том, что такие системы идеально подходят на роль доставщиков лекарственных средств. Регулируя размеры частиц в процессе синтеза или с помощью внешнего воздействия среды (температура, рН), а также вводя в состав микрогеля различные мономеры, с помощью которых регулируется чувствительность и скорость разложения, можно создать систему с точно заданными параметрами, при которых она будет эффективно работать, и добиться точной доставки лекарства к пораженным клеткам и тканям. Помимо этого, гидрогели открывают возможности и в регенеративной медицине: поверхности, покрытые такими полимерами, могут использоваться для выращивания клеток с образованием тканей, которые можно использовать либо в качестве наружных покрытий биоматериалов для имплантации, либо для применения в регенерации различных частей организма.

## 2. Средства доставки лекарств

Благодаря сетчатой структуре гидрогелей, содержащей в своих порах до 90 % жидкости, они представляют собой новый класс средств доставки широкого спектра различных препаратов [9]. К неоспоримым преимуществам микрогелей можно отнести возможность при синтезе управлять составом и свойствами путем использования различных подходов. Зачастую микрогели с близким химическим составом могут

быть получены в широком диапазоне размеров от нескольких десятков нанометров до сотен микрометров (в зависимости от способа получения или состава реакционной смеси). Варьируя степень сшивки микрогелей, можно изменять размер пор внутри него, что может использоваться для контролируемого высвобождения препарата, загруженного в микрогель.

Использование многочисленных реакций биоконъюгации позволяет функционализировать микрогели, что является необходимым шагом при переходе от «пассивной» к «активной» доставке [10].

Сетчатая структура дает микрогелям широкие возможности для создания гибридных нанобиоматериалов, способных сочетать в себе такие важные биомедицинские приложения как направленная доставка и визуализация (крайне популярный сейчас принцип «тераностики» [11], произошедший от сочетания слов терапия и диагностика) или направленная доставка и возможность локального разогрева (что используется для гипертермической терапии опухолей).

В отличие от липосом, хорошо изученных в течение последних десятилетий и в настоящее время широко используемых в терапии для направленной доставки лекарственных препаратов, микрогели являются менее изученным и более широким классом контейнеров для доставки. Наиболее популярны микрогели на основе полисахаридов: хитозана, декстрана, целлюлозы и прочих [12, 13]. Использование для направленной доставки микрогелей на основе белков менее предпочтительно, так как они обладают большей иммуногенностью, в свою очередь использование микрогелей на основе человеческих (альбумин) или неиммуногенных белков (коллаген, желатин) открывает возможности для простого синтеза био-разлагаемых лекарственных носителей [14]. Микрогели на основе природных полимеров обладают высокой биосовместимостью и крайне низкой токсичностью, но могут распознаваться компонентами иммунной системы и выводиться из организма. В свою очередь, синтетические полимеры, в особенности те, что содержат гидрофильные макромономеры полиэтиленгликоля или полиглицерина, обладают крайне высокой стабильностью в растворе и пониженной сорбцией белков, что делает их аналогами «*stealth*»-липосом. Среди синтетических полимеров подавляющее большинство работ было посвящено микрогелям на основе поли(N-изопропилакриламида) ПНИПААм [15]. Причинами этого является легкость получения и монодисперсность микрогелей, син-

тезированных по механизму осадительной полимеризации в водном растворе. Среди других полимеров, используемых в направленной доставке при помощи микрогелей, высокое распространение получили полимеры на основе 2-гидроксиэтилметакрилата (ГЭМА), а также олигоэтиленгликольметакрилата (ОЭГМА) [14].

Для доставки лекарства крайне важно, чтобы в микрогель загружались значительные количества препарата, и загруженный препарат высвобождался эффективно и контролируемо. Для этого необходимо, чтобы препарат связывался с микрогелем. Обычно это реализуется за счет гидрофобных взаимодействий (низкой растворимости препарата в воде), но было показано, что для достижения высоких (20 % и более) степеней загрузки препаратом одних гидрофобных взаимодействий недостаточно, и требуется наличие других видов взаимодействия – водородных связей или электростатического притяжения [16].

В большинстве работ микрогели используют для доставки цитостатиков: доксорубицина, даунорубицина, цисплатина и метотрексата [9]. В этих работах микрогели являются аналогами липосомальных формуляций упомянутых препаратов, и эффект, наблюдаемый при их использовании, часто бывает схожим. Но использование микрогелей открывает более широкие возможности для доставки гидрофильных препаратов, имеющих значительное количество заряженных групп. В этом случае связывание между препаратом и микрогелем осуществляется за счет многочисленных ионных взаимодействий между разноименными зарядами препарата и гидрогеля. Данный подход был успешно применен в работах по доставке нуклеотидных аналогов трифосфатов [17].

Использование ионных взаимодействий для создания комплекса препарат – микрогель крайне важно для биомолекул: нуклеиновых кислот и белков. Микрогели могут весьма эффективно выполнять роль контейнеров для доставки таких биомолекул, как белки и пептиды [18], что делает их использование весьма перспективным направлением в векторной доставке лекарственных препаратов.

Использование микрогелей позволяет избежать побочных эффектов цитостатиков, понизить их общую токсичность и нефротоксичность, что способствует улучшению состояния животных на моделях *in vivo*. В настоящее время область изучения направленной доставки препаратов является одной из наиболее быстроразвивающихся и, очевидно, что для внедрения в микрогели будут использованы и другие препараты.

Высвобождение препарата также крайне важно для эффективного воздействия микрогеля. Во многих случаях выход препарата происходит самопроизвольно, за счет диффузии или ионного обмена. Использование термочувствительных, фоточувствительных, рН-чувствительных полимеров позволяет осуществить контролируемое высвобождение препарата, что позволяет добиться селективности воздействия на опухоли [19].

Среда опухоли зачастую имеет более кислый рН, ввиду высокой метаболической активности и плохого развития ее лимфатических сосудов. рН-зависимое набухание микрогелей является универсальным способом высвобождения препарата из микрогеля, широко изучаемых в многочисленных работах. Интересен также подход, когда рН-зависимое набухание приводит к выделению на поверхности микрогеля функциональных групп, скрытых при нормальном рН = 7.4. При этом функциональными группами могут быть как лиганды к рецепторам на поверхности раковых клеток, так и вирусные пептиды (ТАТ-пептид и др.), обеспечивающие эффективное рН-зависимое проникновение микрогелей в клетки [20].

Существует несколько способов, используемых при создании биоразлагаемых микрогелей (8). В первую очередь, можно использовать разлагаемые полимеры. В качестве примера можно привести некоторые природные биополимеры: полисахариды и их производные, коллаген, сшитый глутаровым диальдегидом и многие другие, а также получившие широкое распространение полимеры на основе сополимера молочной и гликолевой кислоты (ПМГК) или их производных. С другой стороны, необязательно, чтобы микрогель распадался в организме до мономеров. Сам полимер может быть неразложимым, но содержать сшивки, способные разлагаться в организме самопроизвольно (зачастую содержат связи, неустойчивые в области кислых рН, наблюдаемые в лизосомах клеток):  $\beta$ -тиопропионатные связи, метакриловые эфиры ПМГК, ортоэфиры, либо под действием некоторых ферментов. Примером последних могут быть производные пептидов, специфически узнаваемых металлопротеиназами.

Одним из самых простых и хорошо изученных способов добиться разлагаемости полимера является введение в него сшивающего агента, содержащего дисульфидную связь. Зачастую реакция синтеза представляет собой «живую» радикальную полимеризацию – RAFT-полимеризацию (от английского «*Reversible Addition-Fragmentation chain Transfer*» – «полимеризация путём обратимого присоединения и фрагмен-

тирования») [21]. Использование RAFT позволяет более четко контролировать состав и свойства синтезированных микрогелей. Дисульфидные связи способны легко восстанавливаться в клеточной цитоплазме за счет наличия системы восстановления, использующей фермент глутатионредуктаза и субстрат трипептидглутатиона, присутствующий в клетках в концентрации порядка 5 ммоль и эффективно восстанавливающий –S–S– связи за счет дисульфидного обмена.

Особый интерес представляют микрогели, находящиеся в набухом состоянии в водных растворах. Эта группа микрогелей также часто называется гидрогели. Именно гидрогели привлекают к себе огромный интерес, благодаря своим уникальным физико-химическим свойствам и огромному числу практических приложений от фотонных кристаллов и микролинз до контейнеров для доставки лекарств [22]. Таким образом, микрогели представляют собой крайне широкий класс материалов с различным составом, размерами и морфологией.

По способу получения и характеру сшивок микрогели часто подразделяют на физические и химически сшитые [23]. К первым относят гели, представляющие собой полимерные сетки, связанные между собой благодаря переплетению отдельных макромолекул и/или многочисленным нековалентным взаимодействиям, существующим между полимерными цепями. Силы притяжения, удерживающие цепи между собой представляют собой водородные связи, Ван-дер-ваальсовы, электростатические или гидрофобные взаимодействия. Таким образом, подобные микрогели могут быть обратимо растворены при определенных условиях, ослабляющих эти взаимодействия (изменение рН, ионной силы или добавление хаотропных реагентов).

Другим классом гидрогелей являются химически сшитые гели. Эти микрогели обладают высокой стабильностью, благодаря наличию ковалентных связей, соединяющих цепи полимеров в сетке микрогеля. Основным способом получения такого рода микрогелей является полимеризация с использованием полифункциональных мономеров-сшивателей. На данный момент микрогели включают в себя огромное множество полимерных частиц с различными свойствами. Различие в свойствах приводит к возможности классификации тех или иных микрогелей по типу чувствительности. Чувствительность выражается в способности изменять свои физико-химические свойства под действием различных внешних параметров.

Самыми распространенными из них являются температура, pH, ионная сила, интенсивность света, электромагнитное излучение и даже некоторые простые органические молекулы [24]. Чаще всего микрогели претерпевают изменение своего объема, что можно использовать во многих областях науки, таких как биотехнология и биомедицина [25].

Помимо классификации по типу чувствительности, существует классификация по способу получения. На данный момент существует множество различных методов, имеющих свои преимущества и недостатки. Миниэмульсионная сополимеризация водорастворимых мономеров в несмешивающихся органических растворителях в присутствии ПАВ позволяет строго контролировать состав получаемых микрогелей. Таким образом, легко синтезировать микрогели с включенными в него водорастворимыми макромолекулами (белки и др.), а также наночастицами ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ , Pd, Ag, CdSe). К недостаткам метода полимеризации в миниэмульсиях [26] следует отнести необходимость использования внешнего диспергирующего воздействия, что зачастую приводит к разрушению включаемых в сетку микрогеля биомолекул.

Микрофлюидика является по-своему уникальным методом синтеза микрогелей, позволяющим синтезировать полимерные частицы от 1 до 200 мкм, с максимально узким распределением по размеру. Это достигается за счет контролируемого распада струи одной фазы в среде другой. Особая геометрия канала и возможность генерировать различные типы капель позволяет получать частицы различной формы, а диаметр сечения канала строго определяет область допустимых размеров частиц [27]. Размер частиц таких микрогелей также зависит от скорости потока дисперсионной фазы. К достоинствам этого метода можно отнести контроль за морфологией и структурой получаемых частиц. Микрофлюидика позволяет в очень мягких условиях синтезировать частицы Януса (разновидность полифункциональных микро- или наноразмерных частиц, состоящих из двух и более частей разного химического состава и/или формы, с отличающимися свойствами) [28], микрогели с частицами различной формы, а также слоистые структуры путем полимеризации структур типа капля-в-капле [29], что, в свою очередь, позволяет получать гибридные частицы, в том числе содержащие внутри живые клетки [30]. К недостаткам данного метода можно отнести весьма низкую производительность, высокую стоимость и

область размеров синтезируемых микрогелей от единиц до сотен микрометров.

Принципиально другой подход, схожий с микрофлюидикой был разработан *De Simone*. Данный метод уникален тем, что он универсален и позволяет получать полимерные частицы размером от нескольких десятков нанометров до нескольких микрон. Этот метод [31], названный "PRINT" (*Particle Replication In Non-wetting Templates*), представляет собой вариант импринт-литографии, использующий эластомерные формы, покрытые гидрофобным перфторполимером. Раствор мономеров или макромономеров в воде помещается между двумя гидрофобными поверхностями, проводится процесс полимеризации или поликонденсации, после чего поверхности можно легко отделить друг от друга, а частицы извлечь из формы. Данный метод обладает неоспоримыми преимуществами, такими как строгий контроль размера частиц, их формы и состава, а также функциональность поверхности. Мягкие условия синтеза позволяют вносить в систему микрогелей неустойчивые соединения и биомолекулы без потери их функциональности.

Послойная адсорбция полиэлектролита является одним из наиболее распространенных методов получения капсул и микрогелей. *Decher* создал поколение многослойных пленок на поверхности путем последовательной адсорбции катионных и анионных полиэлектролитов [32]. Данный подход может быть использован для покрытия полиэлектролитами микрогелей или наночастиц. Например, *Sauzedde* [33, 34] описал интересную процедуру, в которой анионные наночастицы оксида железа (около 10 нм) были адсорбированы катионными микрогелями. Далее полимер, содержащий карбоксильные группы, образовывал покрытие на поверхности исходных микрогелей, окружая их своей оболочкой. Огромные возможности для широкомасштабного создания микрогелей с контролируемой структурой предоставляет комбинированный подход, сочетающий в себе два процесса: контролируемую самосборку полимерных мицелл с последующей ковалентной сшивкой. Этот метод позволяет получать широкий спектр микрогелей с разнообразной структурой путем простого подбора растворителей и противоионов. Таким образом были получены сферы, эллипсы и даже тороиды [19]. К недостаткам данного метода можно отнести необходимость использования монодисперсных полимеров со строго контролируемой структурой и молекулярной массой, а также многостадийность синтеза от мономеров до конечных продуктов.

Одним из самых привлекательных подходов к синтезу микрогелей является использование осадительной полимеризации [35]. К неоспоримым преимуществам данного метода можно отнести одностадийность, легкость масштабирования, высокую производительность, использование воды в качестве растворителя («зеленая химия»). Состав можно контролировать путем введения различных мономеров, способных придавать микрогелям требуемые свойства. Особенностью данного процесса является то, что при проведении полимеризации с использованием мономера, образующего термочувствительный полимер, частицы-зародыши образуются практически одновременно по всему объему.

Это, в свою очередь, приводит к необычайно высокой для свободнорадикальной полимеризации монодисперсности микрогелей. К недостаткам этой реакции следует отнести необходимость проведения реакции при нагревании (обычно около 70 °С) и в присутствии свободных радикалов, что исключает возможность прямого введения в реакцию чувствительных реагентов и биомолекул, однако это возможно эффективно осуществить после синтеза и очистки микрогелей.

### 3. Функциональные биоматериалы

Наиболее наглядным применением термочувствительных гидрогелей является культуральная посуда со слоями ПНИПААм различной толщины и плотности на днище [36], позволяющая контролировать адгезию и отслоение клеток путем изменения температуры, формируя отделяемый от подложки монослойный клеточный пласт. Одним из его преимуществ является то, что остающийся на его базальной поверхности термочувствительный гидрогель [37] при температуре тела действует как клеточный клей, и клеточные пласты можно легко трансплантировать, просто размещая пласт на пораженном участке без швов или иных методов фиксации. Кроме того, клеточные пласты после трансплантации остаются на месте, в то время как клетки, трансплантированные в составе инъекционный клеточной суспензии, склонны к миграции [38].

Для эффективного изготовления клеточных пластов были исследованы различные типы культуральной посуды, что привело к появлению новых биомедицинских технологий (табл. 1).

Кроме того, клеточная активность отделяемых от подложки простым понижением температуры монослойных пластов может превышать таковую у клеток, мобилизуемых пищеварительными ферментами (трипсином) и эмульгатора-

ми (ЭДТА/ЭГТА). Таким образом, секреция некоторых цитокинов клетками пласта может быть выше, чем у клеточной суспензии, что способно оказывать терапевтические эффекты.

При изучении потенциального использования микрогелей в качестве покрытий для биоматериалов, *Gap* и *Lyop* исследовали термочувствительные наночастицы ПНИПААм, привитые полиэтиленгликолем (ПЭГ), полученные путем свободно радикальной осадительной сополимеризации с ПЭГ монометиловым эфиром метакрилата ( $M_w = 1$  кДа) [48]. Решение проблем широкого распределения частиц по размерам, расширения объемного фазового перехода микрогелей, и сдвиг температуры фазового перехода в более высокую область температур из-за присутствия ПЭГ, осуществлялось использованием двухстадийного метода осадительной полимеризации. В результате таковой цепи ПЭГ локализовались на внешней границе частиц. В соответствии с многочисленными предыдущими исследованиями по прививке ПЭГ как на макроскопические поверхности, так и на частицы / макромолекулы [49, 50] было обнаружено, что адсорбция белка на микрогеле подавляется в результате включения ПЭГ в частицы, особенно когда эти цепи находятся в оболочке микрогеля.

Как исследования адсорбции белка, так и  $^1\text{H}$  ЯМР показали, что боковые цепи ПЭГ вытягиваются наружу от поверхности частиц, и что частицы разрушаются при температуре выше температуры фазового перехода. Интересно, что аналогичные эффекты наблюдались для частиц, где цепочки ПЭГ локализованы в ядре частицы. Это позволяет предположить, что прививки ПЭГ могут проникать через оболочку ПНИПААм, когда она находится в своем фазово-разделенном состоянии.

Аналогично, *Nolan* и др. исследовали фазовый переход и адсорбцию белка для частиц микрогеля ПНИПААм, сшитых ПЭГ-диакрилатами с различным соотношением и разной длиной цепи [51]. На основании метода светорассеяния было обнаружено увеличение температуры и величины фазового перехода с возрастанием концентрации сшивающего агента ПЭГ, включенного в микрогели. Качественные различия в плотности частиц с использованием центрифугирования показали, что сетки микрогелей получаются тем плотнее, чем выше концентрация ПЭГ. На основании исследований ЯМР-спектроскопии было сделано заключение, что более длинные поперечные связи ПЭГ выступают из плотной глобулярной сети, что приводит к снижению неспецифической адсорбции белка с увеличени-

**Таблица 1.** Типичные направления практического применения клеточных пластов в восстановительной терапии

Терапевтическое применение	Клетки	Способ создания клеточных пластов	Источники
Пластика роговицы	Эпителий слизистой оболочки полости рта	С помощью термочувствительных матриц-вставок для культуральных планшетов, и фидерных клеток линии 3T3, обработанных митомицином С.	[39]
Устранение интраоперационного синдрома утечки воздуха	Дермальные фибробласты	С помощью термочувствительной культуральной посуды, трансплантация двуслойных клеточных пластов.	[40]
Регенерация пародонта	Клетки, полученные из периодонтальной связки	С помощью термочувствительной культуральной посуды, трехслойные клеточные пласты с добавкой тканого полигликолевого материала; костные дефекты заполнены пористым β-трикальцийфосфатом.	[41]
Лечение дилатационной кардиомиопатии	Миобласты поперечно-полосатой мускулатуры	С помощью термочувствительной культуральной посуды, трансплантация многослойных клеточных пластов.	[42]
Предотвращение формирования стриктур после эндоскопического иссечения подслизистой пищевода	Эпителиальные клетки слизистой оболочки полости рта	С помощью термочувствительных матриц-вставок для культуральных планшетов, и эндоскопической аппликации.	[43]
Восстановление хряща	Хондроциты из колленных суставов	С помощью термочувствительной культуральной посуды, трансплантация многослойных клеточных пластов.	[44, 45]
Профилактика внутриматочных спаек	Эпителиальные клетки слизистой оболочки полости рта	С помощью термочувствительных матриц-вставок для культуральных планшетов, и фидерных клеток линии NIH-3T3.	[46]
Послеоперационное восстановление слизистой оболочки среднего уха	Эпителиальные клетки слизистой оболочки полости носа	С помощью термочувствительных матриц-вставок для культуральных планшетов.	[47]

ем длины цепи и содержания ПЭГ. По аналогии, поверхностно-связанные микрогели, содержащие цепи ПЭГ большей длины, демонстрировали отсутствие обрастания и устойчивость к адгезии клеток в среде, содержащей сыворотку.

Аналогичное подавление адсорбции белка и клеточной адгезии наблюдалось Scott и соавторами для микрогелевых агрегатов, образованных октавинилсульфоном, модифицированным ПЭГ и бычьим сывороточным альбумином [52]. Учитывая не зависящую от геометрии модификацию поверхности, ПЭГ-илированные микрогели представляют потенциальный интерес для тех областей науки, где требуются необрастающие покрытия.

В попытке еще более улучшить характеристики покрытий на основе микрогеля путем увеличения плотности его поверхности, South и др. исследовали использование центробежной агрегации микрогелевых пленок [53]. При этом плен-

ки, образованные из частиц микрогеля, были получены либо путем центрифугирования («активный» метод), либо с помощью погружной адсорбции («пассивный» метод). Было обнаружено, что микрогели, активно осаждаемые на поверхность, имеют меньшие отпечатки и более плотно упакованы, в сравнении с уменьшенным поверхностным распространением глобулярных белков при сильном осаждении из потока. При использовании этого преимущества было продемонстрировано «активное» осаждение для изготовления полиэлектролитных многослойных материалов, содержащих анионные микрогели и катионный линейный полимер. Такие многослойные микрогели продемонстрировали эффективное блокирование нижележащего субстрата в отношении адгезии макрофагов, представляющих интерес, например, для модуляции воспалительного ответа на имплантированные биоматериалы.

Кроме того, Wang с соавторами изучали использование самособирающихся микрогелей для подавления бактериальной колонизации синтетических поверхностей [54]. При этом были исследованы два антимикробных механизма, а именно: 1) модуляция поверхностной адгезивности клеток и 2) локальное хранение / высвобождение антимикробных веществ. Для этого микрогели на основе ПЭГ и сополимера ПЭГ с акриловой кислотой (ПЭГ-АК) синтезировали методом суспензионной фотополимеризации, и полученные микрогели осаждали на покрытый поли-L-лизин кремний, которые образовывали субмонослойное покрытие. После осаждения в микрогель вводили катионный антимикробный пептид (L5), причем содержание пептида оказалось значительно выше в микрогелях ПЭГ-АК, чем в чистых микрогелях ПЭГ в связи с электростатическим фактором. Было обнаружено, что покрытие кремниевой подложки, не содержащей пептидов, микрогелем ПЭГ-АК значительно снижает колонизацию поверхности *S. epidermidis*, причем степень ингибирования увеличивается с уменьшением среднего расстояния между микрогелями с поверхностными связями. Введение пептида L5 в микрогели после осаждения дополнительно снижала колонизацию покрытия *S. epidermidis* до низкой величины, наблюдаемой для контрольного макроскопического ПЭГ-геля.

Wang и Libera исследовали поверхностное осаждение микрогелей, образованных суспензионной полимеризацией АК и ПЭГ, на модифицированные полилизин поверхности кремния и влияние их гранулярной природы на адсорбцию белков [55]. Было обнаружено, что поверхностно-связанные микрогели ПЭГ-АК эффективно противостоят адсорбции фибронектина. Напротив, незащищенный полилизин между прилипшими частицами микрогеля (субконфлюэнтное покрытие) легко адсорбирует этот белок, тем самым создавая неупорядоченный массив неадгезивных областей субмикронного размера на адгезивной поверхности клеток. Было обнаружено, что по сравнению с поверхностями, адгезированными полностью, микрогелевые покрытия приводят к быстрому распространению и пролиферации клеток, в то время как направление дифференцировки не изменяется. Посредством сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) было показано, что остеобласты растут над поверхностью микрогеля, прилипая к участкам поверхности, подвергавшимся воздействию полилизина, тогда как оптическая микроскопия с временным разрешением демонстрирует более

высокую подвижность клеток на поверхности, покрытой микрогелем. Эти находки соответствуют многочисленным исследованиям поверхностей биоматериала, структурированных различными способами, и согласуются с концепцией межклеточных взаимодействий на поверхности, регулируемой пространственным распределением участков адгезии клеток. Кроме того, они предполагают, что адсорбция микрогеля может представлять интересный способ контроля клеточных процессов, участвующих в заживлении после имплантации биоматериала.

Точно так же Tsai и др. исследовали микрогели ПНИПААм, нанесенные на полистирольные подложки методом погружения [56]. При изменении скоростей удаления субстрата были сформированы структуры поверхности, на которых четко видны полосы плотно упакованных микрогелей ПНИПААм, разделенных промежутками, содержащими редко распределенные микрогели. Было обнаружено, что при посеве на такие микропаттернные субстраты клетки NIH-3T3 закрепляются преимущественно в промежутках, образуя клеточные агрегаты. Через три дня после посева клетки образовали конфлюэнтные клеточные слои. Извлечение клеточных пластов фибробластов из субстратов проводилось путем понижения температуры за счет терморективности нижележащего слоя микрогеля ПНИПААм, аналогично другим модифицированным ПНИПААм слоям или иным образом реагирующим поверхностям для сбора клеточных пластов.

Рассматривая проблему взаимодействия клеток с различными поверхностными особенностями гранулированных микрогелевых пленок, Lynch и др. изучали получение полимерных покрытий с контролируемой топографией поверхности в микрометровом масштабе, используя частицы микрогеля [57]. С помощью изменения взаимодействия между частицами микрогелей было проведено разделение частиц по фазам на плотные и обедненные частицами домены, которые после испарения растворителя оставались на поверхности. При изменении размера частиц меняется размер образовавшихся пор и их распределение в пленке. Было показано, что такие системы могут быть сформированы в различные структуры, даже полученные из частиц микрогеля одинакового размера и одинакового состава. Как показано для клеток *HeLa*, выращенных на поверхностях микрогеля на основе трет-бутилакриламида / изопропилакриламида 200 нм, клетки могут либо расти в порах микрогеля, где их распространение ограничено размером пор,

либо они могут расти вдоль плотных доменов между порами, в этом случае клетки принимают удлиненную форму.

Сделав ставку на управляемую неоднородность поверхности, *Li* и др. комбинировали сборку с контролем смачиваемости поверхности микрокаплями с использованием тиснения полидиметилдисилоксаном и последующей фиксацией для сборки тысяч гетерогенных трехмерных микроокружений для клеток с точным контролем индивидуальных форм, размеров, химических концентраций, плотности клеток и трехмерного пространственного распределения множества компонентов [58].

В работе *Bridges* и др. по исследованию биологического отклика тонких пленок, образованных микрогелями ПНИПААм, сшитыми с полиэтиленгликольдиакрилатом, были наиболее полно описаны биологические реакции на поверхностях, покрытых микрогелем [59]. Эти частицы были привиты к ПЭТ-субстрату с конформным покрытием, которые, как было обнаружено, значительно снижают адсорбцию фибриногена, а также адгезию и распространение первичных человеческих моноцитов / макрофагов. Также было обнаружено, что микрогелевые покрытия приводят к снижению адгезии лейкоцитов, а также противовоспалительных цитокинов (TNF $\alpha$ , IL-1b, MCP-1) после внутрибрюшинной имплантации.

Оценивая биологический отклик поверхности, покрытой микрогелем *in vivo*, *Bridges* и др. исследовали хронические воспалительные реакции на микрогелевые покрытия, состоящие из микрочастиц ПНИПААм, сшитых с полиэтиленгликольдиакрилатом, нанесенным на ПЭТ [60]. При этом немодифицированные и покрытые микрогелем ПЭТ-диски имплантировали подкожно крысам в течение 4 недель, а эксплантаты анализировали с помощью гистологии и иммуногистохимии. Обнаружено, что микрогелевые покрытия уменьшают хроническое воспаление и приводят к более тонким волокнистым капсулам, которые содержат на 40 % меньше клеток по сравнению с немодифицированными ПЭТ-дисками. Кроме того, образцы, покрытые микрогелем, содержали значительно более высокие уровни макрофагов (80 %), чем немодифицированные ПЭТ. Эти результаты демонстрируют, что микрогелевые покрытия уменьшают хроническое воспаление, вызванное имплантированными биоматериалами.

Однако имеются также сообщения о том, что микрогелевые покрытия не обеспечивают улучшенных характеристик и биологической реак-

ции на биоматериалы. Таким образом, учитывая, что эффективность нейронных электродов, имплантированных в мозг, часто ограничивается реакцией хозяина в окружающей мозговой ткани, включая образование астроцитарного рубца, гибель нейрональных клеток и воспаление. *Gutowski* и др. исследовали реакцию хозяина на кремниевые нейронные электроды с поверхностными покрытиями, сформированными микрогелями ПНИПААм-АК-ПЭГ и без них [61]. *In vitro* значительно уменьшена адгезия астроцитов и микроглии для покрытых микрогелем электродов по сравнению с контрольными элементами без покрытия. Кроме того, микрогелевые покрытия уменьшали набор астроцитов вокруг имплантата для электродов, имплантированных в кору головного мозга крысы. Однако реакция микроглии указала на постоянство воспаления, и плотность нейронов вокруг имплантированных электродов была ниже для обеих групп имплантатов по сравнению с неповрежденным образцом. Таким образом, в совокупности был сделан вывод о том, что микрогелевые покрытия не улучшают значительно реакции хозяина на имплантированные нейронные электроды.

Хотя основное внимание в контексте биоматериалов было уделено вопросам, связанным с имплантатами, использование микрогелевых покрытий открывают широкие возможности, например, для дифференциации и роста клеток, которые можно использовать либо в качестве покрытий поверхности биоматериалов, либо для применения в регенеративной медицине.

По аналогии с поверхностями, модифицированными прививкой или адсорбцией ПНИПААм или других термочувствительных полимеров [62], клеточная адгезия улучшается при повышенной температуре (то есть при разрушении связей, вызванным ухудшением условий растворения), тогда как отрыв клетки происходит при понижении температуры или увеличении растворимости цепей ПНИПААм, вызывая их набухание. Исследуя эти эффекты, *Schmidt* и соавторы продемонстрировали, что пленки микрогеля ПНИПААм можно использовать для контролируемого отделения адсорбированных клеток с помощью термочувствительности [63]. При этом свойства микрогеля в адсорбированном состоянии, а также их изменения при изменении температуры изучались с помощью метода атомно-силовой микроскопии (АСМ). Анализ показывает, что содержание воды, поверхностная адгезия и наномеханические свойства резко изменяются при достижении полимерной пленкой критической темпе-

ратуры, создавая при этом основу для быстрого отклика клеток на изменения температуры, как с точки зрения количества закрепившихся клеток, так и их морфологии. Аналогичные результаты были представлены также Uhlig и др. [64].

#### 4. Заключение

Исследование pH- и термочувствительных сополимеров для использования их в медицинских целях является очень перспективным направлением. Этот вывод можно сделать, увидев значительное количество работ, посвященных использованию таких материалов как в роли контейнеров для транспортировки лекарственных веществ, так и в роли функциональных биоматериалов, посредством которых можно создавать покрытия для имплантатов, а также искусственного матрикса для регенерации клеток и тканей. Такие «умные» полимеры позволяют гибко настраивать необходимые в каждом конкретном случае свойства под те условия, в которых они будут максимально эффективно выполнять свой функционал. Это можно осуществлять за счет варьирования состава сополимера, степени сшивки макромолекул, использования различных стабилизирующих и иницилирующих систем, а также разных способов синтеза. Таким образом, pH- и термочувствительные полимерные и сополимерные материалы дают в руки исследователей мощный инструмент, способный изменить подходы к лечению многих серьезных заболеваний.

#### Конфликт интересов

Авторы заявляют, что у них нет известных финансовых конфликтов интересов или личных отношений, которые могли бы повлиять на работу, представленную в этой статье.

#### Список литературы

1. Gisser K. R. C., Geselbracht M. J., Cappellari A., Hunsberger L., Ellis A. B., Perepezko J., et al. Nickel-titanium memory metal: A "Smart" material exhibiting a solid-state phase change and superelasticity. *Journal of Chemical Education*. 1994;71(4): 334. DOI: <https://doi.org/10.1021/ed071p334>
2. Erman B., Flory P.J.. Critical phenomena and transitions in swollen polymer networks and in linear macromolecules. *Macromolecules*. 1986;19(9): 2342–2353. DOI: <https://doi.org/10.1021/ma00163a003>
3. Tanaka T., Fillmore D., Sun S.-T., Nishio I., Swislow G., Shah A. Phase transitions in ionic gels. *Physical Review Letters*. 1980;45(20): 1636–1639. DOI: <https://doi.org/10.1103/physrevlett.45.1636>
4. *Polymer Gels*. DeRossi D., Kajiwara K., Osada Y., Yamauchi A. (eds.). Boston, MA: Springer US; 1991.

354 p. DOI: <https://doi.org/10.1007/978-1-4684-5892-3>

5. Ilmain F., Tanaka T., Kokufuta E. Volume transition in a gel driven by hydrogen bonding. *Nature*. 1991;349(6308): 400–401. DOI: <https://doi.org/10.1038/349400a0>

6. Kuhn W., Hargitay B., Katchalsky A., Eisenberg H. Reversible dilation and contraction by changing the state of ionization of high-polymer acid networks. *Nature*. 1950;165(4196): 514–516. DOI: <https://doi.org/10.1038/165514a0>

7. Steinberg I. Z., Oplatka A., Katchalsky A. Mechanochemical engines. *Nature*. 1966;210(5036): 568–571. DOI: <https://doi.org/10.1038/210568a0>

8. Tian H., Tang Z., Zhuang X., Chen X., Jing X. Biodegradable synthetic polymers: Preparation, functionalization and biomedical application. *Progress in Polymer Science*. 2012;37(2): 237–280. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2011.06.004>

9. Gonçalves C., Pereira P., Gama M. Self-Assembled hydrogel nanoparticles for drug delivery applications. *Materials*. 2010;3(2): 1420–1460. DOI: <https://doi.org/10.3390/ma3021420>

10. Pangburn T. O., Petersen M. A., Waybrant B., Adil M. M., Kokkoli E. Peptide- and Aptamer-functionalized nanovectors for targeted delivery of therapeutics. *Journal of Biomechanical Engineering*. 2009;131(7): 074005. DOI: <https://doi.org/10.1115/1.3160763>

11. Caldorera-Moore M. E., Liechty W. B., Pappas N. A. Responsive theranostic systems: integration of diagnostic imaging agents and responsive controlled release drug delivery carriers. *Accounts of Chemical Research*. 2011;44(10): 1061–1070. DOI: <https://doi.org/10.1021/ar2001777>

12. Das M., Sanson N., Fava D., Kumacheva E. Microgels loaded with gold nanorods: photothermally triggered volume transitions under physiological conditions†. *Langmuir*. 2007;23(1): 196–201. DOI: <https://doi.org/10.1021/la061596s>

13. Oh J. K., Lee D. I., Park J. M. Biopolymer-based microgels/nanogels for drug delivery applications. *Progress in Polymer Science*. 2009;34(12): 1261–1282. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2009.08.001>

14. Oh J. K., Drumright R., Siegwart D. J., Matyjaszewski K. The development of microgels/nanogels for drug delivery applications. *Progress in Polymer Science*. 2008;33(4): 448–477. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2008.01.002>

15. Talelli M., Hennink W. E. Thermosensitive polymeric micelles for targeted drug delivery. *Nanomedicine*. 2011;6(7): 1245–1255. DOI: <https://doi.org/10.2217/nnm.11.91>

16. Bromberg L., Temchenko M., Hatton T. A. Smart microgel studies. Polyelectrolyte and drug-absorbing properties of microgels from polyether-modified poly(acrylic acid). *Langmuir*. 2003;19(21): 8675–8684. DOI: <https://doi.org/10.1021/la030187i>

17. Vinogradov S. V. Polymeric nanogel formulations of nucleoside analogs. *Expert Opinion on Drug Delivery*. 2007;4(1): 5–17. DOI: <https://doi.org/10.1517/17425247.4.1.5>
18. Vinogradov S. V. Colloidal microgels in drug delivery applications. *Current Pharmaceutical Design*. 2006;12(36): 4703–4712. DOI: <https://doi.org/10.2174/138161206779026254>
19. Kabanov A. V., Vinogradov S. V. Nanogels as pharmaceutical carriers: finite networks of infinite capabilities. *Angewandte Chemie International Edition*. 2009;48(30): 5418–5429. DOI: <https://doi.org/10.1002/anie.200900441>
20. Lee E. S., Gao Z., Bae Y. H. Recent progress in tumor pH targeting nanotechnology. *Journal of Controlled Release*. 2008;132(3): 164–170. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2008.05.003>
21. Dong H., Mantha V., Matyjaszewski K. Thermally responsive PM(EO)2MA magnetic microgels via activators generated by electron transfer atom transfer radical polymerization in miniemulsion. *Chemistry of Materials*. 2009;21(17): 3965–3972. DOI: <https://doi.org/10.1021/cm901143e>
22. Nayak S., Lyon L. A. Soft nanotechnology with soft nanoparticles. *Angewandte Chemie International Edition*. 2005;44(47): 7686–7708. DOI: <https://doi.org/10.1002/anie.200501321>
23. Hennink W. E., van Nostrum C. F. Novel crosslinking methods to design hydrogels. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2012;64: 223–236. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.addr.2012.09.009>
24. Motornov M., Roiter Y., Tokarev I., Minko S. Stimuli-responsive nanoparticles, nanogels and capsules for integrated multifunctional intelligent systems. *Progress in Polymer Science*. 2010;35(1-2): 174–211. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2009.10.004>
25. Saunders B. R., Laajam N., Daly E., Teow S., Hu X., Stepto R. Microgels: From responsive polymer colloids to biomaterials. *Advances in Colloid and Interface Science*. 2009;147-148: 251–262. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cis.2008.08.008>
26. Landfester K. Miniemulsion polymerization and the structure of polymer and hybrid nanoparticles. *chemInform*. 2009;40(33). DOI: <https://doi.org/10.1002/chin.200933279>
27. Seo M., Nie Z., Xu S., Mok M., Lewis P. C., Graham R., et al. Continuous microfluidic reactors for polymer particles. *Langmuir*. 2005;21(25): 11614–11622. DOI: <https://doi.org/10.1021/la050519e>
28. Nie Z., Li W., Seo M., Xu S., Kumacheva E. Janus and ternary particles generated by microfluidic synthesis: design, synthesis, and self-assembly. *Journal of the American Chemical Society*. 2006;128(29): 9408–9412. DOI: <https://doi.org/10.1021/ja060882n>
29. Seiffert S., Thiele J., Abate A. R., Weitz D. A. Smart microgel capsules from macromolecular precursors. *Journal of the American Chemical Society*. 2010;132(18): 6606–6609. DOI: <https://doi.org/10.1021/ja102156h>
30. Rossow T., Heyman J. A., Ehrlicher A. J., Langhoff A., Weitz D. A., Haag R., et al. Controlled synthesis of cell-Laden Microgels by Radical-Free Gelation in Droplet Microfluidics. *Journal of the American Chemical Society*. 2012;134(10): 4983–4989. DOI: <https://doi.org/10.1021/ja300460p>
31. Perry J. L., Herlihy K. P., Napier M. E., DeSimone J. M. PRINT: A novel platform toward shape and size specific nanoparticle theranostics. *Accounts of Chemical Research*. 2011;44(10): 990–998. DOI: <https://doi.org/10.1021/ar2000315>
32. Caruso F., Sukhorukov G. Coated Colloids: Preparation, characterization, assembly and utilization. In: Decher G., Schlenoff J. B., editors. *Multilayer Thin Films*. Weinheim, FRG: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA; 2002. p. 331–362.
33. Sauzedde F., Elaïssari A., Pichot C. Hydrophilic magnetic polymer latexes. 2. Encapsulation of adsorbed iron oxide nanoparticles. *Colloid & Polymer Science*. 1999;277(11): 1041–1050. DOI: <https://doi.org/10.1007/s003960050488>
34. Sauzedde F., Elaïssari A., Pichot C. Hydrophilic magnetic polymer latexes. 1. Adsorption of magnetic iron oxide nanoparticles onto various cationic latexes. *Colloid & Polymer Science*. 1999;277(9): 846–855. DOI: <https://doi.org/10.1007/s003960050461>
35. Pich A., Richtering W. Microgels by Precipitation Polymerization: Synthesis, Characterization, and Functionalization. In: Pich A., Richtering W. (eds.) *Chemical Design of Responsive Microgels*. Springer Heidelberg Dordrecht London New York; 2011. p. 1–37. DOI: <https://doi.org/10.1007/978-3-642-16379-1>
36. Yamada N., Okano T., Sakai H., Karikusa F., Sawasaki Y., Sakurai Y. Thermo-responsive polymeric surfaces; control of attachment and detachment of cultured cells. *Die Makromolekulare Chemie, Rapid Communications*. 1990;11(11): 571–576. DOI: <https://doi.org/10.1002/marc.1990.030111109>
37. Kushida A., Yamato M., Konno C., Kikuchi A., Sakurai Y., Okano T. Decrease in culture temperature releases monolayer endothelial cell sheets together with deposited fibronectin matrix from temperature-responsive culture surfaces. *Journal of Biomedical Materials Research*. 1999;45(4): 355–362. DOI: [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1097-4636\(19990615\)45:4<355::aid-jbm10>3.0.co;2-7](https://doi.org/10.1002/(sici)1097-4636(19990615)45:4<355::aid-jbm10>3.0.co;2-7)
38. Sekine H., Shimizu T., Dobashi I., Matsuura K., Hagiwara N., Takahashi M., et al. Cardiac cell sheet transplantation improves damaged heart function via superior cell survival in comparison with dissociated cell injection. *Tissue Engineering Part A*. 2011;17(23-24): 2973–2980. DOI: <https://doi.org/10.1089/ten.tea.2010.0659>
39. Nishida K., Yamato M., Hayashida Y., Watanabe K., Yamamoto K., Adachi E., et al. Corneal

reconstruction with tissue-engineered cell sheets composed of autologous oral mucosal epithelium. *The New England Journal of Medicine*. 2004;351(12): 1187–1196. DOI: <https://doi.org/10.1056/nejmoa040455>

40. Kanzaki M., Yamato M., Yang J., Sekine H., Kohno C., Takagi R., et al. Dynamic sealing of lung air leaks by the transplantation of tissue engineered cell sheets. *Biomaterials*. 2007;28(29): 4294–4302. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2007.06.009>

41. Iwata T., Yamato M., Tsuchioka H., Takagi R., Mukobata S., Washio K., et al. Periodontal regeneration with multi-layered periodontal ligament-derived cell sheets in a canine model. *Biomaterials*. 2009;30(14): 2716–2723. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2009.01.032>

42. Sawa Y., Miyagawa S., Sakaguchi T., Fujita T., Matsuyama A., Saito A., et al. Tissue engineered myoblast sheets improved cardiac function sufficiently to discontinue LVAS in a patient with DCM: report of a case. *Surgery Today*. 2012;42(2): 181–184. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00595-011-0106-4>

43. Ohki T., Yamato M., Ota M., Takagi R., Murakami D., Kondo M., et al. Prevention of esophageal stricture after endoscopic submucosal dissection using tissue-engineered cell sheets. *Gastroenterology*. 2012;143(3): 582–588. DOI: <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2012.04.050>

44. Ebihara G., Sato M., Yamato M., Mitani G., Kutsuna T., Nagai T., et al. Cartilage repair in transplanted scaffold-free chondrocyte sheets using a minipig model. *Biomaterials*. 2012;33(15): 3846–3851. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2012.01.056>

45. Sato M., Yamato M., Hamahashi K., Okano T., Mochida J. Articular cartilage regeneration using cell sheet technology. *The Anatomical Record*. 2014;297(1): 36–43. DOI: <https://doi.org/10.1002/ar.22829>

46. Kuramoto G., Takagi S., Ishitani K., Shimizu T., Okano T., Matsui H. Preventive effect of oral mucosal epithelial cell sheets on intrauterine adhesions. *Human Reproduction*. 2014;30(2): 406–416. DOI: <https://doi.org/10.1093/humrep/deu326>

47. Yamamoto K., Yamato M., Morino T., Sugiyama H., Takagi R., Yaguchi Y., et al. Middle ear mucosal regeneration by tissue-engineered cell sheet transplantation. *NPJ Regenerative Medicine*. 2017;2(1): 6. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41536-017-0010-7>

48. Gan D., Lyon L. A. Synthesis and Protein adsorption resistance of PEG-modified poly(N-isopropylacrylamide) core/shell microgels. *Macromolecules*. 2002;35(26): 9634–9639. DOI: <https://doi.org/10.1021/ma021186k>

49. Veronese F. M., Mero A. The impact of PEGylation on biological therapies. *BioDrugs*. 2008;22(5): 315–329. DOI: <https://doi.org/10.2165/00063030-200822050-00004>

50. Sahay G., Alakhova D. Y., Kabanov A. V. Endocytosis of nanomedicines. *Journal of Controlled Release*. 2010;145(3): 182–195. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2010.01.036>

51. Nolan C. M., Reyes C. D., Debord J. D., García A. J., Lyon L. A. Phase transition behavior, protein adsorption, and cell adhesion resistance of poly(ethylene glycol) cross-linked microgel particles. *Biomacromolecules*. 2005;6(4): 2032–2039. DOI: <https://doi.org/10.1021/bm0500087>

52. Scott E. A., Nichols M. D., Cordova L. H., George B. J., Jun Y.-S., Elbert D. L. Protein adsorption and cell adhesion on nanoscale bioactive coatings formed from poly(ethylene glycol) and albumin microgels. *Biomaterials*. 2008;29(34): 4481–4493. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2008.08.003>

53. South A. B., Whitmire R. E., García A. J., Lyon L. A. Centrifugal deposition of microgels for the rapid assembly of nonfouling thin films. *ACS Applied Materials & Interfaces*. 2009;1(12): 2747–2754. DOI: <https://doi.org/10.1021/am9005435>

54. Wang Q., Uzunoglu E., Wu Y., Libera M. Self-assembled poly(ethylene glycol)-co-acrylic acid microgels to inhibit bacterial colonization of synthetic surfaces. *ACS Applied Materials & Interfaces*. 2012;4(5): 2498–2506. DOI: <https://doi.org/10.1021/am300197m>

55. Wang Q., Libera M. Microgel-modified surfaces enhance short-term osteoblast response. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2014;118: 202–209. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2014.04.002>

56. Tsai H.-Y., Vats K., Yates M. Z., Benoit D. S. W. Two-dimensional patterns of poly(N-isopropylacrylamide) microgels to spatially control fibroblast adhesion and temperature-responsive detachment. *Langmuir*. 2013;29(39): 12183–12193. DOI: <https://doi.org/10.1021/la400971g>

57. Lynch I., Miller I., Gallagher W. M., Dawson K. A. Novel method to prepare morphologically rich polymeric surfaces for biomedical applications via phase separation and arrest of microgel particles. *The Journal of Physical Chemistry B*. 2006;110(30): 14581–14589. DOI: <https://doi.org/10.1021/jp061166a>

58. Li Y., Chen P., Wang Y., Yan S., Feng X., Du W., et al. Rapid assembly of heterogeneous 3D cell microenvironments in a microgel array. *Advanced Materials*. 2016;28(18): 3543–3548. DOI: <https://doi.org/10.1002/adma.201600247>

59. Bridges A. W., Singh N., Burns K. L., Babensee J. E., Andrew Lyon L., García A. J. Reduced acute inflammatory responses to microgel conformal coatings. *Biomaterials*. 2008;29(35): 4605–4615. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2008.08.015>

60. Bridges A. W., Whitmire R. E., Singh N., Templeman K. L., Babensee J. E., Lyon L. A., et al. Chronic inflammatory responses to microgel-based implant coatings. *Journal of Biomedical Materials*

*Research Part A*. 2010;94A(1): 252–258. DOI: <https://doi.org/10.1002/jbm.a.32669>

61. Gutowski S. M., Templeman K. L., South A. B., Gaulding J. C., Shoemaker J. T., LaPlaca M. C., et al. Host response to microgel coatings on neural electrodes implanted in the brain. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*. 2014;102(5): 1486–1499. DOI: <https://doi.org/10.1002/jbm.a.34799>

62. da Silva R. M. P., Mano J. F., Reis R. L. Smart thermoresponsive coatings and surfaces for tissue engineering: switching cell-material boundaries. *Trends in Biotechnology*. 2007;25(12): 577–583. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2007.08.014>

63. Schmidt S., Zeiser M., Hellweg T., Duschl C., Fery A., Möhwald H. Adhesion and mechanical properties of PNIPAM microgel films and their potential use as switchable cell culture substrates. *Advanced Functional Materials*. 2010;20(19): 3235–3243. DOI: <https://doi.org/10.1002/adfm.201000730>

64. Uhlig K., Wegener T., He J., Zeiser M., Bookhold J., Dewald I., et al. Patterned thermoresponsive microgel coatings for noninvasive processing of adherent cells. *Biomacromolecules*. 2016;17(3): 1110–1116. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.biomac.5b01728>

### Информация об авторах

*Кузнецов Вячеслав Алексеевич*, д. х. н., профессор кафедры высокомолекулярных соединений и коллоидной химии, Воронежский государственный университет, Воронеж, Российская Федерация; с. н. с. лаборатории клинической иммунологии Национального медицинского исследовательского центра акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В. И. Кулакова Минздрава Российской Федерации, Москва, Российская Федерация; ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-5508-6978>.

*Куцев Петр Олегович*, к. х. н., доцент кафедры высокомолекулярных соединений и коллоидной химии, Воронежский государственный университет, Воронеж, Российская Федерация, с. н. с. лаборатории клинической иммунологии Национального медицинского исследовательского центра акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В. И. Кулакова Минздрава Российской Федерации, Москва, Российская Федерация; e-mail: [peter.kushev@gmail.com](mailto:peter.kushev@gmail.com). ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-9715-4756>.

*Останкова Ирина Валерьевна*, ведущий инженер кафедры высокомолекулярных соединений и коллоидной химии, Воронежский государственный университет, Воронеж, Российская Федерация, с. н. с. лаборатории клинической иммунологии Национального медицинского исследовательского

центра акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В. И. Кулакова Минздрава Российской Федерации, Москва, Российская Федерация; e-mail: [sharcky7819@mail.ru](mailto:sharcky7819@mail.ru). ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-0314-1402>.

*Пульвер Александр Юрьевич*, с. н. с. лаборатории клинической иммунологии Национального медицинского исследовательского центра акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В. И. Кулакова Минздрава Российской Федерации, Москва, Российская Федерация, генеральный директор, заведующий лабораторией ООО «Институт Биологии Старения»; e-mail: [pulver.ibs@gmail.com](mailto:pulver.ibs@gmail.com). ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0001-6673-1859>.

*Пульвер Наталья Александровна*, к. м. н., член Воронежской областной Общественной палаты, доцент кафедры системного анализа и управления в медицинских системах Воронежского государственного технического университета, заведующий приемного отделения по оказанию медицинской помощи больным COVID-19 Бюджетного учреждения здравоохранения Воронежской области «Воронежская городская клиническая больница скорой медицинской помощи № 10», Воронеж, Российская Федерация, с. н. с. лаборатории клинической иммунологии Национального медицинского исследовательского центра акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В. И. Кулакова Минздрава Российской Федерации, Москва, Российская Федерация; e-mail: [elektronika10@yandex.ru](mailto:elektronika10@yandex.ru). ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0003-4549-54764>.

*Павлович Станислав Владиславович*, к. м. н., научный секретарь Национального медицинского исследовательского центра акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В. И. Кулакова Минздрава Российской Федерации, Москва, Российская Федерация, профессор кафедры акушерства, гинекологии, перинатологии и репродуктологии, Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), Москва, Российская Федерация; e-mail: [st.pavlovich@mail.ru](mailto:st.pavlovich@mail.ru). ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-1313-7079>.

*Полтавцева Римма Алексеевна*, к. б. н., с. н. с. лаборатории клинической иммунологии Национального медицинского исследовательского центра акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В. И. Кулакова Минздрава Российской Федерации, Москва, Российская Федерация; e-mail: [rimpol@mail.ru](mailto:rimpol@mail.ru). ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0001-8625-9205>.

Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.