

*Н. С. Власенко, Е. С. Бочкарев, Е. Б. Брюзгина
Е. В. Брюзгин, А. В. Навроцкий, И. А. Новаков*

ПОЛУЧЕНИЕ ПРОЧНЫХ СКАФФОЛДОВ ДЛЯ КОСТНОЙ ИНЖЕНЕРИИ МЕТОДОМ 3D-ПЕЧАТИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ СШИТОГО ХИТОЗАНА

Волгоградский государственный технический университет, Волгоград, Россия

✉ Никита Сергеевич Власенко, nik.vlasenko.2000@mail.ru

Аннотация. В данной работе предложен подход создания композитных скаффолдов, сочетающих прочную 3D-печатную матрицу из полиглицидилметакрилата (ПГМА) и содержащий биологически активный компонент – хитозан, сшитый глутаровым альдегидом (СХТЗ-ГА). Ключевой особенностью является формирование ковалентных связей между эпоксидными группами ПГМА и аминок группами СХТЗ-ГА. Методами ИК-спектроскопии, СЭМ и физико-механических испытаний установлено, что ковалентное связывание в системе ПГМА/СХТЗ-ГА обеспечивает значительное увеличение прочности на сжатие до $4,8 \pm 0,3$ МПа в сухом состоянии и $3,5 \pm 0,2$ МПа в гидратированном состоянии при сохранении пористости $>78\%$ и размера пор >200 мкм. Это превосходит показатели композита на основе поли(L-лактида) (ПЛА)/СХТЗ-ГА, где связывание происходит за счет физической адсорбции. Данная стратегия позволяет преодолеть ключевое ограничение хитозановых скаффолдов, создавая материал с механическими свойствами, соответствующими требованиям к имплантатам для губчатой костной ткани.

Ключевые слова: костная инженерия, скаффолд, 3D-печать, полиглицидилметакрилат (ПГМА), поли(L-лактид), хитозан, глутаровый альдегид, механическая прочность

Финансирование: исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ (проект № FZUS-2023-0003 по соглашению № 075-03-2023-055 от 13.01.2023).

Для цитирования: Власенко Н. С., Бочкарев Е. С., Брюзгина Е. Б., Брюзгин Е. В., Навроцкий А. В., Новаков И. А. Получение прочных скаффолдов для костной инженерии методом 3d-печати с использованием сшитого хитозана. Известия ВолгГТУ. 2025; 12(307): 106–115. DOI: 10.35211/1990-5297-2025-12-307-106-115.

Информация об авторах:

Никита Сергеевич Власенко – аспирант ВолгГТУ

<http://orcid.org/0009-0004-2690-7070>

e-mail: nik.vlasenko.2000@mail.ru

Евгений Сергеевич Бочкарев – канд. техн. наук, старший преподаватель кафедры ТВБМ ВолгГТУ

e-mail: w_tovn@mail.ru

Екатерина Борисовна Брюзгина – канд. хим. наук, доцент кафедры ТВБМ ВолгГТУ

<http://orcid.org/0000-0002-9627-334X>

Scopus Author ID 57216921752

WOS Research ID A-8229-2018

e-mail: cher-ekaterina18@yandex.ru

Евгений Викторович Брюзгин – канд. хим. наук, профессор кафедры ТВБМ ВолгГТУ

<http://orcid.org/0000-0002-2930-1910>

WOS Research ID L-9379-2015

Scopus Author ID 35572597900

Scopus Author ID 57022048200

e-mail: bryuzgin_e@mail.ru

Александр Валентинович Навроцкий – член-корреспондент РАН, д-р хим. наук, профессор, и. о ректора ВолгГТУ

<http://orcid.org/0000-0001-9500-3607>

Scopus Author ID 6602180318

WOS Research ID N-4097-2015

e-mail: navrotskiy@vstu.ru

Иван Александрович Новаков – академик РАН, профессор, д-р хим. наук, заведующий кафедрой ФАХП ВолгГТУ

<http://orcid.org/0000-0002-0980-6591>

Scopus Author ID 7003436556

WOS Research ID I-4668-2015

e-mail: ianovakov@vstu.ru

Вклад авторов:

Н. С. Власенко – концептуализация, исследование, обработка данных, написание оригинального текста статьи.

Е. С. Бочкарев – концептуализация, исследование, обработка данных.

Е. Б. Брюзгина – рецензирование и редактирование статьи.

Е. В. Брюзгин – концептуализация, привлечение финансирования, обзор и редактирование статьи.

А. В. Навроцкий – рецензирование и редактирование статьи, администрирование проекта, привлечение финансирования.

И. А. Новаков – рецензирование и редактирование статьи, контроль, привлечение финансирования.

Введение

Регенерация критических костных дефектов остается сложной задачей в медицине и биоматериаловедении. Трехмерные биодеградируемые скаффолды служат временным каркасом для адгезии, пролиферации и дифференцировки клеток, а также поддержки формирующейся ткани. Идеальный скаффолд должен обладать биосовместимостью, контролируемой биоразлагаемостью, osteoconducitivностью и специфической микроархитектурой, включая высокую пористость ($> 70\%$) и взаимосвязанные поры размером > 100 мкм, а также необходимыми механическими свойствами, в частности модулем упругости и пределом прочности при сжатии, сопоставимыми с показателями губчатой костной ткани (предел прочности при сжатии $\geq 4,0$ МПа). Такие характеристики обеспечивают достаточную механическую стабильность конструкции при сохранении пористости

и биосовместимости [1–3]. Хитозан (ХТЗ) является перспективным материалом для скаффолдов благодаря биосовместимости, биоразлагаемости и osteoconducitivным свойствам [4–6]. Однако скаффолды на основе ХТЗ обладают недостаточной механической прочностью, особенно во влажном состоянии, что ограничивает их применение [7]. Для преодоления этого ограничения перспективной стратегией является создание композитных материалов [8; 9].

Следует отметить, что схожие подходы к созданию композитных скаффолдов с использованием комбинации синтетических и природных полимеров активно исследуются отечественными научными коллективами, например, в Институте металлоорганической химии им. Г. А. Разуваева РАН совместно с Приволжским исследовательским медицинским университетом (Нижний Новгород) [10]. В одном из таких исследований продемонстрировано, что гибридные

ный пористый полимерный материал с ~ 80 %-ной пористостью обеспечивает регенерацию костной ткани, сопоставимую с ксеногенным остеопластическим материалом [10]. Также перспективным является подход к упрочнению биополимерных матриц посредством прививки синтетических полимерных цепей; в частности, ковалентное сшивание природного коллагена метакрилатными фрагментами позволяет значительно повысить прочностные характеристики получаемых материалов [11].

В данном исследовании в качестве структурной матрицы, обеспечивающей механическую прочность, использованы 3D-печатные каркасы из поли(L-лактида) (ПЛА) или полиглицидилметакрилата (ПГМА). В поры матрицы инфильтрировался раствор хитозана с добавлением сшивающего агента – глутарового альдегида, что обеспечивало образование сшитого хитозана (СХТЗ-ГА), выполняющего роль биологически активного компонента. Ключевым аспектом для ПГМА-матрицы является возможность формирования ковалентных связей между эпоксидными группами полимера и аминоклассами хитозана, что потенциально может усилить адгезию на границе раздела фаз и улучшить механические характеристики композита.

Целью настоящего исследования является разработка и комплексная характеристика композитных скаффолдов, полученных методом 3D-печати с использованием сшитого хитозана.

Экспериментальная часть

Материалы. Хитозан (средняя молекулярная масса 200 кДа, степень деацетилирования 83 %, ООО «БиоПрогресс»); поли(L-лактид) (ПЛА), молекулярная масса 200 кДа; глицидилметакрилат (> 97 % стабилизированный гидрохиноном Sigma-Aldrich); глутаровый альдегид (25 %-ный водный раствор, Acros Organics).

Синтез сшитого хитозанового геля проводили следующим образом [12]: в 1 %-ный раствор хитозана, приготовленный в 1 %-ной водной уксусной кислоте, добавляли 25 %-ный водный раствор глутарового альдегида в мольном соотношении $[C=O] : [NH_2] = 0,375 : 1$. Смесь перемешивали на магнитной мешалке при скорости 1200 об/мин в течение 10 мин, после чего полученный гель подвергали дегазации в ультразвуковой ванне в течение 5 мин.

3D-печать матриц осуществляли по следующей методике. В CAD-системе SolidWorks проектировали 3D-модель цилиндрических об-

разцов диаметром 20 мм и высотой 25 мм с кубической решеткой (размер ячейки 4 мм). Далее печатали матрицы двумя методами:

– *печать матриц из ПЛА* выполняли методом FDM на 3D-принтере Ultimaker S5 с использованием филамента торговой марки Ingeo™ 4043D, Ø1,75 мм. Параметры печати: температура экструдера – 200 °С, температура стола – 60 °С (поверхность PEI), скорость печати – 70 мм/с, толщина слоя – 0,2 мм. Охлаждение осуществляли вентилятором с интенсивностью 60 % после первого слоя. Полученные образцы выдерживали 24 ч при 23 °С и относительной влажности 30 % перед проведением испытаний (ASTM D638) [13];

– *печать матриц из глицидилметакрилата* проводили методом стереолитографии (SLA) на принтере Anycubic Photon Mono с использованием фотополимерной композиции на основе глицидилметакрилата (ГМА). В качестве фотoinициатора использовали бис(2,4,6-триметилбензоил)фенилфосфиноксид (BAPO). Параметры печати: светодиодный источник (длина волны 405 нм), интенсивность облучения 10–15 мВт/см², время экспозиции слоя 1,8 с, толщина слоя 50 мкм. После печати образцы промывали дистиллированной водой (3 раза по 10 мин) для удаления непрореагировавших растворимых фрагментов и мономеров. Отвержденный ПГМА представляет собой нерастворимый в воде полимер, поэтому такая промывка не вызывает разрушения структуры. Использование органических растворителей исключалось из-за риска набухания или частичного растворения полимера и изменения морфологии образцов.

Инфильтрация хитозана. Инфильтрацию осуществляли полным погружением напечатанных матриц ПГМА и ПЛА в полученный раствор сшитого хитозана с применением вакуума для обеспечения проникновения раствора в глубинные поры структуры 3D-матрицы. Фиксацию СХТЗ на матрице ПГМА проводили термообработкой при 80 °С в течение 2 ч для активации реакции между эпоксидными группами ПГМА и аминоклассами хитозана. В случае матриц из ПЛА закрепление СХТЗ происходило за счет физических взаимодействий (адсорбции и капиллярных сил); такие образцы выдерживали при 70 °С в течение 2 ч. После завершения инфильтрации образцы трижды промывали дистиллированной водой (по 10 мин) для удаления остатков уксусной кислоты. Перед лиофилизацией образцы замораживали при минус 80 °С в течение 2 ч для формирования

стабильной кристаллической структуры льда, после чего проводили лиофильную сушку до полного удаления влаги.

Морфология материалов. Морфология материалов исследована методом сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) на приборе FEI Versa 3D (низкий вакуум 10–80 Па, ускоряющее напряжение 15–20 кВ) без напыления проводящего покрытия. Для получения сколов образцы подвергали хрупкому разрушению после выдержки в жидком азоте (~5 мин).

ИК-Фурье спектральные исследования скаффолдов проводили на аппарате «Simex FT-801» (Россия).

Механические испытания на прочность проводили на универсальной испытательной машине ТРМ-С 10 А1. Цилиндрические образцы испытывали в сухом состоянии и после набухания в буферном растворе (рН 7,4, 37 °С, 24 ч) при скорости деформации 1 мм/мин. Определяли модуль упругости (начальный наклон кривой напряжение-деформация), предел прочности при сжатии и деформацию при разрушении. Рассчитывали среднее значение и стандартное отклонение для $n = 3$ образцов каждой группы.

Исследование набухания проводилось следующим образом. Сухие образцы ($n = 3$) взвешивали, затем погружали в буферный раствор при 37 °С. Образцы извлекали из раствора и взвешивали через 30 мин, 1 ч, 1,5 ч, 2,5 ч, 3 ч, 3,5 ч, 4 ч, 5 ч, 6 ч. Для каждой точки времени рассчитывали коэффициент набухания как отношение массы образца после выдержки к исходной массе в сухом состоянии ($n = 3$). Степень набухания (W , %) рассчитывали по формуле (1):

$$W = \frac{m_i - m_0}{m_0} * 100 \% \quad (1)$$

где m_i – масса образца после погружения, г; m_0 – начальная масса образца, г.

Оценка вымываемости проводилась следующим образом: образцы скаффолдов ($n = 3$) инкубировали в буферном растворе при соотношении площади поверхности к объему среды 1,25 см²/мл (в соответствии с ISO 10993-12) и температуре $37 \pm 0,5$ °С. Через заданные интервалы времени образцы извлекали, высушивали до постоянной массы и взвешивали на аналитических весах. Потерю массы (W , %) рассчитывали по формуле (2):

$$\Delta m = \frac{m_0 - m_i}{m_0} * 100 \% \quad (2)$$

где m_i – масса образца после погружения, г; m_0 – начальная масса образца, г.

Результаты и обсуждение

Ключевым отличием разработанных композитных материалов является природа взаимодействия между синтетической полимерной матрицей и природным компонентом скаффолда. В исследованных системах 3D-печатная структура из ПГМА и ПЛА выполняет функцию жесткой структурной матрицы, а инфильтрованный сшитый хитозан (СХТЗ-ГА) – функцию биологически активного наполнителя. Такая композитная организация позволяет сочетать механическую прочность каркаса с биосовместимостью и гидрофильностью внутреннего наполнителя. При этом на границе раздела фаз возможны как физические, так и химические взаимодействия, повышающие адгезию компонентов.

Данные ИК-спектроскопии (рис. 1) подтверждают образование ковалентных связей

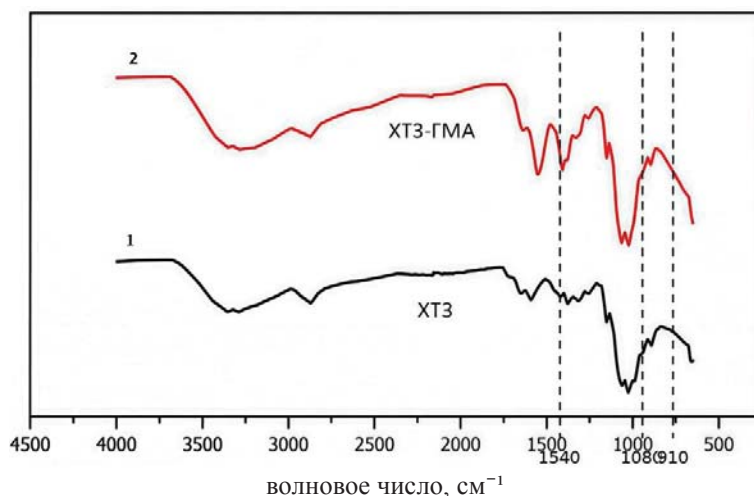


Рис. 1. ИК-спектры хитозановой губки (1) и (2) ПГМА/СХТЗ-ГА

в системе ПГМА/СХТЗ-ГА. На спектре композита наблюдается снижение интенсивности характеристического пика эпоксидных групп ПГМА при 910 см^{-1} , а также появление новых полос поглощения при 1080 см^{-1} (валентные колебания связи C-N) и 1540 см^{-1} (деформационные колебания N-H), что соответствует образованию β -гидроксиаминных связей (Chitosan-NH-CH₂-CH(OH)-ПГМА) в результате реакции нуклеофильного присоединения аминогрупп хитозана к эпоксидным группам ПГМА [12]. В отличие от этого, в спектре системы ПЛА/СХТЗ-ГА отсутствуют признаки химического взаимодействия, что указывает на преобладание физической адсорбции.

Важным доказательством принципиально разной природы межфазного взаимодействия служат результаты исследования вымываемости хитозана (рис. 2). После 14 суток инкубации в буферном растворе (pH 7,4, 37 °C) система ПГМА/СХТЗ-ГА показала сравнительно низкую потерю массы биокомпонента ($6,9 \pm 0,8\%$), что свидетельствует о его эффективном удержании в порах матрицы. Низкая вымываемость

согласуется с данными ИК-спектроскопии и свидетельствует в пользу образования прочных ковалентных связей между фазами, создающих трехуровневую стабилизирующую архитектуру: 1) первичные ковалентные β -гидроксиаминные связи (ХТЗ-NH-CH₂-CH(OH)-ПГМА); 2) возможные поперечные сшивки через реакцию остаточных альдегидных групп глутарового альдегида с гидроксилами ПГМА; 3) стерические ограничения диффузии в плотной полимерной сетке. Напротив, композит ПЛА/СХТЗ-ГА, где связывание происходит за счет физической адсорбции и водородных связей, продемонстрировал значительную вымываемость ($22,0 \pm 1,5\%$), причем 68 % высвобождения произошло в первые 72 часа. Этот характерный кинетический профиль, включающий быстрое начальное высвобождение за счет диффузии несшитых макромолекул из открытых пор и последующее медленное вымывание, связанное с релаксацией полимерной матрицы, однозначно подтверждает отсутствие прочного химического связывания на границе раздела фаз в системе ПЛА/СХТЗ-ГА.

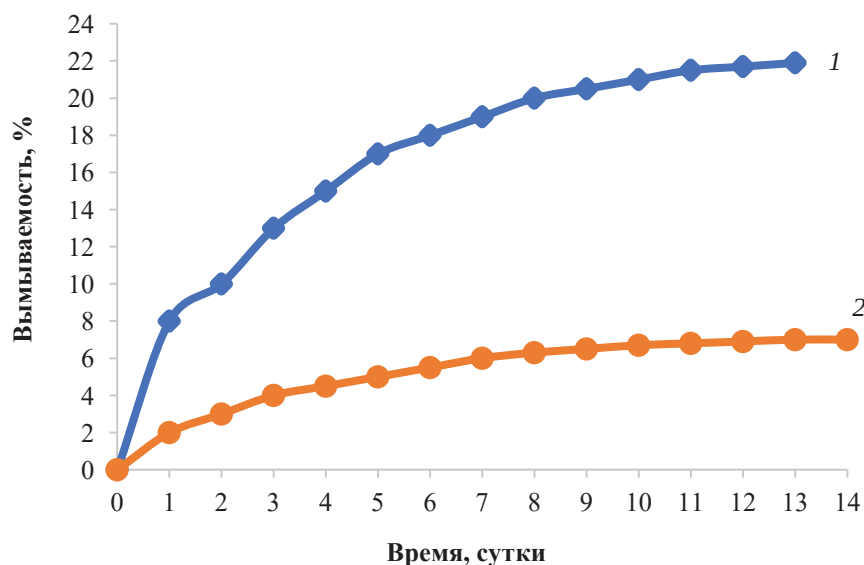


Рис. 2. Кинетика вымываемости (Δm , %):
1 – ПЛА/СХТЗ-ГА; 2 – ПГМА/СХТЗ-ГА

Взаимодействие между ПГМА и сшитым хитозаном напрямую отразилось на механических свойствах композитов. Система ПГМА/СХТЗ-ГА продемонстрировала предел прочности при сжатии $4,8 \pm 0,3\text{ МПа}$ в сухом состоянии, что значительно превышает показатель системы ПЛА/СХТЗ-ГА ($2,8 \pm 0,2\text{ МПа}$) и соответствует уровню механических свойств губчатой костной ткани [14; 15; 16]. Данный

качественный скачок обусловлен несколькими особенностями строения разрабатываемого материала. Во-первых, 3D-печатные матрицы формируют жесткий каркас с регулярной архитектурой (размер ячейки $500 \pm 25\text{ мкм}$, толщина нити $300 \pm 15\text{ мкм}$), обеспечивающий сопротивление макроскопической деформации. Во-вторых, микропористый наполнитель СХТЗ-ГА (размер пор 10–50 мкм), равномерно

распределенный по объему макропор, выполняет функцию дисперсного армирующего элемента, эффективно перераспределяющего локальные напряжения.

После гидратации все композиты показали снижение прочности, обусловленное пластифицирующим действием воды. Однако система ПГМА/СХТЗ-ГА сохранила 73 % исходной прочности ($3,5 \pm 0,2$ МПа), в то время как прочность системы ПЛА/СХТЗ-ГА снизилась на 46 % (до $1,5 \pm 0,1$ МПа). Такое различие прямо связано с природой межфазного взаимодействия: ковалентные связи в системе ПГМА/СХТЗ-ГА устойчивы к гидратации и формируют поперечно-сшитую сетку, ограничивающую подвижность макромолекул хитозана, тогда как в системе ПЛА/СХТЗ-ГА нарушение межфазной адгезии между гидрофобной матрицей и гидрофильным

наполнителем приводит к разупрочнению. Водопоглощение ($W = 320 \pm 15$ % для ПЛА/СХТЗ-ГА) инициирует два деструктивных процесса: 1) разупрочнение микропористой структуры СХТЗ-ГА за счет разрыва водородных связей; 2) формирование капиллярных напряжений на границе раздела фаз.

Анализ кривых деформации (рис. 3) выявил качественные различия в поведении материалов. Композит ПЛА/СХТЗ-ГА разрушался хрупко при деформации ~ 20 % с образованием ступенчатого сброса напряжения. Напротив, система ПГМА/СХТЗ-ГА демонстрировала плато текучести в диапазоне 15–22 % деформации, что характерно для вязкоупругих материалов и свидетельствует о более эффективном перераспределении нагрузки и поглощении энергии, обусловленном ковалентным сшиванием фаз.

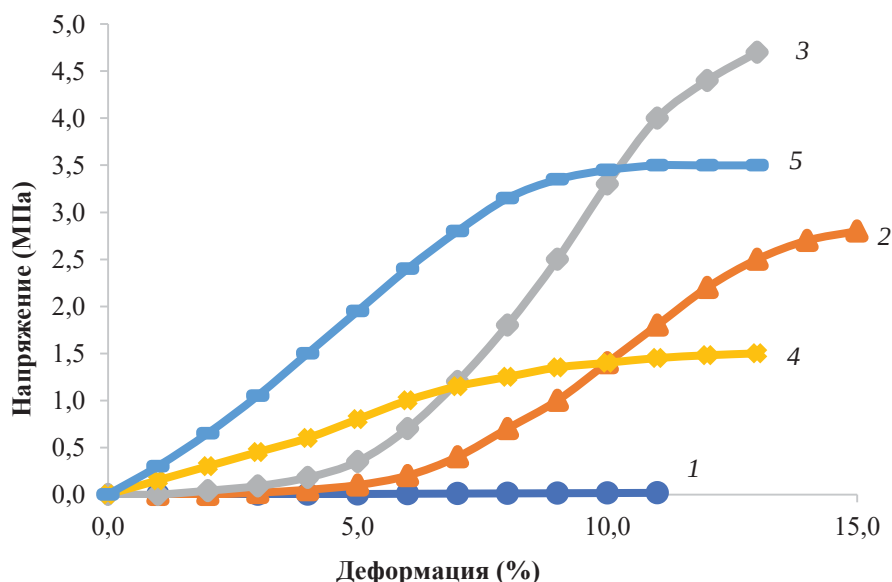


Рис. 3. Кривые сжатия:
1 – ХТЗ-губка, 2 – ПЛА/СХТЗ-ГА (сухой), 3 – ПГМА/СХТЗ-ГА (сухой),
4 – ПЛА/СХТЗ-ГА (гидратированный), 5 – ПГМА/СХТЗ-ГА (гидратированный)

Морфологическое исследование методом сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) исходных хитозановых губок подтвердило формирование высокопористой структуры с размерами пор от 100 до 300 мкм (рис. 6). Полученные 3D-печатные каркасы характеризуются открытой взаимосвязанной пористой ар-

хитектурой (рис. 4), что является критически важным параметром для потенциального применения в качестве скаффолдов в костной инженерии. Инфильтрованный сшитый хитозан образует микропористую фазу (размер пор 150–250 мкм), равномерно распределенную внутри макропор каркаса (рис. 5).



Рис. 4. Внешний вид скаффолда

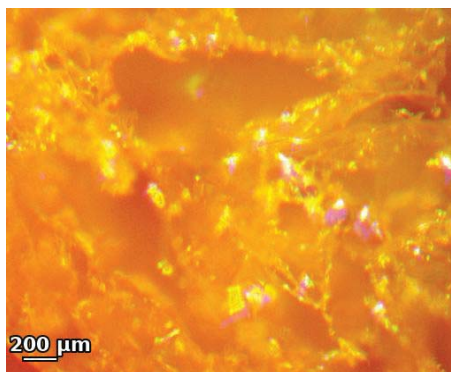


Рис. 5. Изображения пор в стереомикроскопе хитозанового компонента в скаффолде

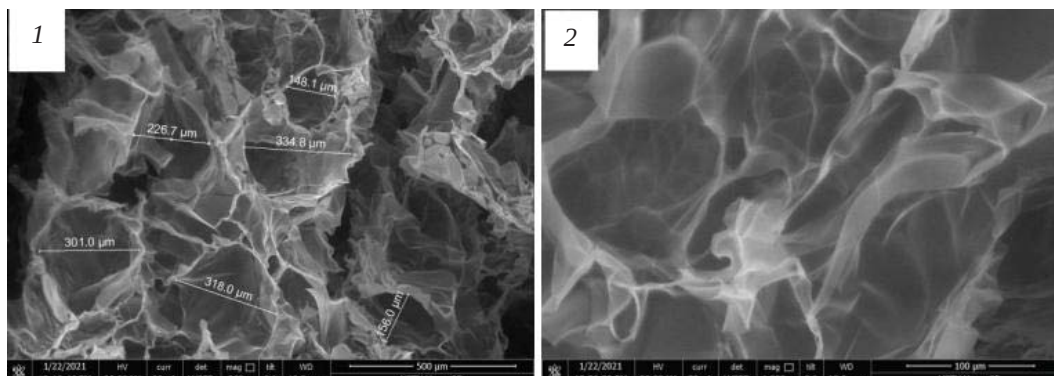


Рис. 6. СЭМ-изображения сколов хитозановых губок с увеличением X250 (1), X 1000 (2)

Анализ СЭМ-изображений показывает, что хитозановые губки обладают губчатой структурой с преобладанием пор размером 150–250 мкм, что оптимально для адгезии и пролиферации клеток костной ткани. Поверхность поровых перегородок имеет шероховатую микроструктуру, что может способствовать улучшенной клеточной адгезии. Отмечается высокая степень взаимосвязанности пор, обеспечивающая потенциальную возможность для васкуляризации и транспорта питательных веществ.

Исследование кинетики набухания (рис. 7) дополнительно подтвердило роль межфазного взаимодействия. Система ПЛА/СХТЗ-ГА

достигала максимальной степени набухания ($W = 320 \pm 15 \%$) за 6 часов, что значительно превышает показатель ПГМА/СХТЗ-ГА ($W = 250 \pm 10 \%$). Такой контраст объясняется двумя факторами: 1) гидрофобностью ПЛА-матрицы, создающей осмотический градиент на границе с гидрофильным СХТЗ-ГА; 2) отсутствием химической связи между компонентами, способствующим проникновению воды в микропоры наполнителя. В системе ПГМА/СХТЗ-ГА ковалентные связи формируют дополнительную сетку сшивки, ограничивающую подвижность полимерных цепей и, как следствие, препятствующие набуханию [17; 18; 19].

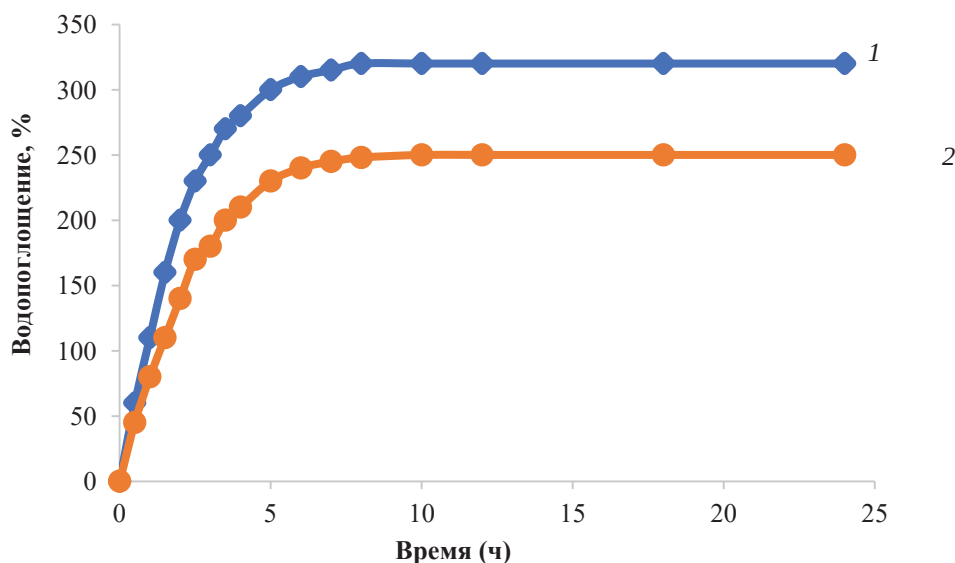


Рис. 7. Кинетика набухания (W, %):
1 – ПЛА/СХТЗ-ГА; 2 – ПГМА/СХТЗ-ГА

Таким образом, взаимодействие между эпоксидными группами 3D-печатной матрицы на основе ПГМА и аминогруппами сшитого хитозана подтверждается результатами ИК-спектроскопии и анализом вымываемости компонентов. Формирование ковалентных β -гидроксиаминных связей позволяет достичь значительного увеличения механической прочности композитных скаффолдов до $4,8 \pm 0,3$ МПа в сухом состоянии и $3,5 \pm 0,2$ МПа в гидратированном состоянии, снизить водопоглощение системы до 250 ± 10 % по сравнению с образцом ПЛА/СХТЗ-ГА (320 ± 15 %) при сохранении высокой пористости (> 78 %) и взаимосвязанной поровой структуры с размером макропор 150–250 мкм. Полученный комплекс структурно-механических характеристик является предпосылкой для дальнейшего изучения биомедицинских свойств разработанных материалов с позиции их потенциального применения в качестве остеокондуктивных скаффолдов для регенерации костной ткани [20; 21], а также в качестве носителей для контролируемой доставки биоактивных веществ.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. *Hutmacher, D. W.* Scaffolds in tissue engineering bone and cartilage / D. W. Hutmacher // *Biomaterials*. – 2000. – Vol. 21, № 24. – P. 2529–2543. – DOI: 10.1016/S0142-9612(00)00121-6.
2. *Mallick, K. K.* Biomaterial scaffolds for tissue engineering / K. K. Mallick, S. C. Cox // *Frontiers in Bioscience (Elite Edition)*. – 2013. – Vol. 5, № 1. – P. 341–360. – DOI: 10.2741/e620.
3. *Никольский, В. И.* Скаффолд-технологии в восстановительной медицине: история проблемы, современное

состояние и перспективы применения / В. И. Никольский, К. И. Сергацкий, Д. П. Шеремет, А. В. Шабров // *Хирургия. Журнал им. Н. И. Пирогова*. – 2022. – № 11. – С. 36–41. – DOI 10.17116/hirurgia202211136.

4. *Di Martino, A.* Chitosan: a versatile biopolymer for orthopaedic tissue-engineering / A. Di Martino, M. Sittiger, M. V. Risbud // *Biomaterials*. – 2005. – Vol. 26, № 30. – P. 5983–5990. – DOI: 10.1016/j.biomaterials.2005.03.016.

5. *Rinaudo, M.* Chitin and chitosan: Properties and applications / M. Rinaudo // *Progress in Polymer Science*. – 2006. – Vol. 31, № 7. – P. 603–632. – DOI: 10.1016/j.progpolymsci.2006.06.001.

6. *Karageorgiou, V.* Porosity of 3D biomaterial scaffolds and osteogenesis / V. Karageorgiou, D. Kaplan // *Biomaterials*. – 2005. – Vol. 26, № 27. – P. 5474–5491. – DOI: 10.1016/j.biomaterials.2005.02.002.

7. *Rho, J. Y.* Mechanical properties and the hierarchical structure of bone / J. Y. Rho, L. Kuhn-Spearing, P. Zioupos // *Medical Engineering & Physics*. – 1998. – Vol. 20, № 2. – P. 92–102. – DOI: 10.1016/S1350-4533(98)00007-1.

8. *Sheikh, Z.* Natural graft tissues and synthetic biomaterials for periodontal and alveolar bone reconstructive applications: a review / Z. Sheikh, N. Hamdan, Y. Ikeda [et al.] // *Biomaterials Research*. – 2017. – Vol. 21. – Art. № 9. – DOI: 10.1186/s40824-017-0095-5.

9. *Turnbull, G.* 3D bioactive composite scaffolds for bone tissue engineering / G. Turnbull, J. Clarke, F. Picard [et al.] // *Bioactive Materials*. – 2018. – Vol. 3, № 3. – P. 278–314. – DOI: 10.1016/j.bioactmat.2017.10.001.

10. *Aleynik, D. Ya.* Specifics of porous polymer and xenogeneic matrices and of bone tissue regeneration related to their implantation into an experimental rabbit defect / D. Ya. Aleynik, O. P. Zhivtsov, V. V. Yudin [et al.] // *Polymers*. – 2024. – Vol. 16, № 8. – Art. № 1165. – DOI: 10.3390/polym16081165.

11. *Kuznetsova, Yu. L.* Scaffold chemical model based on collagen-methyl methacrylate graft copolymers / Yu. L. Kuznetsova, K. S. Gushchina, K. S. Lobanova [et al.] // *Polymers*. – 2023. – Vol. 15, № 12. – Art. № 2618. – DOI: 10.3390/polym15122618.

12. *Ярцева, В. М.* Получение и лиофильные свойства хитозановых аэрогелей, модифицированных сополимера-

- ми глицидилметакрилата / В. М. Ярцева, Е. Б. Брюзгина, В. В. Климов [и др.] // Известия ВолгГТУ : научный журнал № 12(247) / ВолгГТУ. – Волгоград, 2020. – С. 82–89. – DOI: 10.35211/1990-5297-2020-12-247-82-89.
13. ASTM D638-14. Standard Test Method for Tensile Properties of plastics. – West Conshohocken, PA : ASTM International, 2014. – 17 p.
 14. Rahman, M. S. Epoxy-amine crosslinking for fabrication of chitosan-based scaffolds / M. S. Rahman, T. H. Khan, M. A. Hussain [et al.] // Journal of Applied Polymer Science. – 2018. – Vol. 135, № 15. – Art. № 46123. – DOI: 10.1002/app.46123.
 15. Croisier, F. Chitosan-based biomaterials for tissue engineering / F. Croisier, C. Jérôme // European Polymer Journal. – 2013. – Vol. 49, № 4. – P. 780–792. – DOI: 10.1016/j.eurpolymj.2012.12.009.
 16. O'Brien, F. J. The effect of pore size on cell adhesion in collagen-GAG scaffolds / F. J. O'Brien, B. A. Harley, I. V. Yannas, L. J. Gibson // Biomaterials. – 2005. – Vol. 26, № 4. – P. 433–441. – DOI: 10.1016/j.biomaterials.2004.02.052.
 17. Fedorovich, N. E. Hydrogels as extracellular matrices for skeletal tissue engineering: state-of-the-art and novel application in organ printing / N. E. Fedorovich, J. Alblas, J. R. de Wijn [et al.] // Tissue Engineering. – 2007. – Vol. 13, № 8. – P. 1905–1925. – DOI: 10.1089/ten.2006.0175.
 18. Murphy, S. V. 3D bioprinting of tissues and organs / S. V. Murphy, A. Atala // Nature Biotechnology. – 2014. – Vol. 32, № 8. – P. 773–785. – DOI: 10.1038/nbt.2958.
 19. Gleadall, A. Review of additive manufactured tissue engineering scaffolds: relationship between geometry and performance / A. Gleadall, J. Segal // Burns & Trauma. – 2022. – Vol. 10. – P. 1–19. – DOI: 10.1093/burnst/tkac013.
 20. Zhang, J. 3D printing of graphene oxide/poly(glycidyl methacrylate) composites with hierarchical structures / J. Zhang, X. Yang, H. Deng [et al.] // ACS Applied Materials & Interfaces. – 2020. – Vol. 12, № 15. – P. 17627–17638. – DOI: 10.1021/acsami.0c01804.
 21. Thomson, R. C. Fabrication of controlled release biodegradable foams by phase separation / R. C. Thomson, M. J. Yaszemski, J. M. Powers, A. G. Mikos // Tissue Engineering. – 1995. – Vol. 1, № 1. – P. 53–69. – DOI: 10.1089/ten.1995.1.53.
 - 26(27), 5474–5491. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2005.02.002>.
 7. Rho, J. Y.; Kuhn-Spearing, L.; Zioupos, P. Mechanical properties and the hierarchical structure of bone. Medical Engineering & Physics, 1998, 20(2), 92–102. [https://doi.org/10.1016/S1350-4533\(98\)00007-1](https://doi.org/10.1016/S1350-4533(98)00007-1).
 8. Sheikh, Z.; Hamdan, N.; Ikeda, Y.; et al. Natural graft tissues and synthetic biomaterials for periodontal and alveolar bone reconstructive applications: A review. Biomaterials Research, 2017, 21, 9. <https://doi.org/10.1186/s40824-017-0095-5>.
 9. Turnbull, G.; Clarke, J.; Picard, F.; et al. 3D bioactive composite scaffolds for bone tissue engineering. Bioactive Materials, 2018, 3(3), 278–314. <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2017.10.001>.
 10. Aleynik, D. Ya.; Zhivtsov, O. P.; Yudin, V. V.; et al. Specifics of porous polymer and xenogeneic matrices and of bone tissue regeneration related to their implantation into an experimental rabbit defect. Polymers, 2024, 16(8), 1165. <https://doi.org/10.3390/polym16081165>.
 11. Kuznetsova, Yu. L.; Gushchina, K. S.; Lobanova, K. S.; et al. Scaffold chemical model based on collagen–methyl methacrylate graft copolymers. Polymers, 2023, 15(12), 2618. <https://doi.org/10.3390/polym15122618>.
 12. Yartseva, V. M.; Bryuzgina, E. B.; Klimov, V. V.; et al. Preparation and lyophilic properties of chitosan aerogels modified with glycidyl methacrylate copolymers. Izvestiya Volgograd State Technical University, 2020, (12[247]), 82–89. <https://doi.org/10.35211/1990-5297-2020-12-247-82-89>.
 13. ASTM D638–14. Standard Test Method for Tensile Properties of Plastics. West Conshohocken, PA: ASTM International, 2014. 17 p.
 14. Rahman, M. S.; Khan, T. H.; Hussain, M. A.; et al. Epoxy–amine crosslinking for fabrication of chitosan-based scaffolds. Journal of Applied Polymer Science, 2018, 135(15), 46123. <https://doi.org/10.1002/app.46123>.
 15. Croisier, F.; Jérôme, C. Chitosan-based biomaterials for tissue engineering. European Polymer Journal, 2013, 49(4), 780–792. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2012.12.009>.
 16. O'Brien, F. J.; Harley, B. A.; Yannas, I. V.; Gibson, L. J. The effect of pore size on cell adhesion in collagen–GAG scaffolds. Biomaterials, 2005, 26(4), 433–441. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2004.02.052>.
 17. Fedorovich, N. E.; Alblas, J.; de Wijn, J. R.; et al. Hydrogels as extracellular matrices for skeletal tissue engineering: State-of-the-art and novel application in organ printing. Tissue Engineering, 2007, 13(8), 1905–1925. <https://doi.org/10.1089/ten.2006.0175>.
 18. Murphy, S. V.; Atala, A. 3D bioprinting of tissues and organs. Nature Biotechnology, 2014, 32(8), 773–785. <https://doi.org/10.1038/nbt.2958>.
 19. Gleadall, A.; Segal, J. Review of additive manufactured tissue engineering scaffolds: Relationship between geometry and performance. Burns & Trauma, 2022, 10, 1–19. <https://doi.org/10.1093/burnst/tkac013>.
 20. Zhang, J.; Yang, X.; Deng, H.; et al. 3D printing of graphene oxide/poly(glycidyl methacrylate) composites with hierarchical structures. ACS Applied Materials & Interfaces, 2020, 12(15), 17627–17638. <https://doi.org/10.1021/acsami.0c01804>.
 21. Thomson, R. C.; Yaszemski, M. J.; Powers, J. M.; Mikos, A. G. Fabrication of controlled release biodegradable foams by phase separation. Tissue Engineering, 1995, 1(1), 53–69. <https://doi.org/10.1089/ten.1995.1.53>.

REFERENCES

N. S. Vlasenko, E. S. Bochkarev, E. B. Bryuzgina, E. V. Bryuzgin, A. V. Navrotsky, I. A. Novakov

**CREATION OF DURABLE SCAFFOLDS FOR BONE ENGINEERING
USING 3D PRINTING AND CROSS-LINKED CHITOSAN**

Volgograd State Technical University, Volgograd, Russia

✉ Nikita S. Vlasenko, nik.vlasenko.2000@mail.ru

Abstract. This study proposes an approach for creating composite scaffolds combining a robust 3D-printed matrix of poly (glycidyl methacrylate) (PGMA) with a bioactive filler – chitosan cross-linked with glutaraldehyde (CS-GA). A key feature is the formation of covalent bonds between the epoxy groups of PGMA and the amino groups of CS-GA. Using methods of IR spectroscopy, SEM, and physico-mechanical testing, it was shown that covalent bonding in the PGMA/CS-GA system provides a significant increase in compressive strength up to $4,8 \pm 0,3$ MPa in the dry state and $3,5 \pm 0,2$ MPa in the hydrated state, while maintaining a porosity of $> 78\%$ and a pore size of $> 200\ \mu\text{m}$. These results surpass the indicators of a composite based on poly(L-lactide) PLA/CS-GA, where binding occurs via physical adsorption. This strategy overcomes a key limitation of chitosan scaffolds, creating a material with mechanical properties that meet the requirements for implants intended for cancellous bone tissue.

Keywords: bone tissue engineering, scaffold, 3D-printing, poly (glycidyl methacrylate) (PGMA), poly(L-lactide), chitosan, glutaraldehyde, mechanical strength

Funding: The study was carried out with the financial support of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (project No. FZUS 2023 0003 under agreement No. 075 03 2023 055 dated 13.01.2023).

For citation: Vlasenko N. S., Bochkarev E. S., Bryuzgina E. B., Bryuzgin E. V., Navrotsky A. V., Novakov I. A. Creation of durable scaffolds for bone engineering using 3D printing and cross-linked chitosan. *Izvestiya VSTU*. 2025; 12(307): 106–115. DOI: 10.35211/1990-5297-2025-12-307-106-115.

Information about the authors:

Nikita S. Vlasenko – postgraduate student VSTU

<http://orcid.org/0009-0004-2690-7070>

e-mail: nik.vlasenko.2000@mail.ru

Evgeny S. Bochkarev – Ph.D., Senior lecturer TVVM VSTU

e-mail: w_tovn@mail.ru

Ekaterina B. Bryuzgina – Candidate of Chemical Sciences, Associate Professor TVVM VSTU

<http://orcid.org/0000-0002-9627-334X>

Scopus Author ID 57216921752

WOS Research ID A-8229-2018

e-mail: cher-ekaterina18@yandex.ru

Evgeny V. Bryuzgin – Doctor of Chemical Sciences, Professor TVVM VSTU

<http://orcid.org/0000-0002-2930-1910>

WOS Research ID L-9379-2015

Scopus Author ID 35572597900

Scopus Author ID 57022048200

e-mail: bryuzgin_e@mail.ru

Alexander V. Navrotsky – Corresponding Member of the RAS, Doctor of Chemical Sciences, Professor, Acting Rector of VSTU

<http://orcid.org/0000-0001-9500-3607>

Scopus Author ID 6602180318

WOS Research ID N-4097-2015

e-mail: navrotsky@vstu.ru

Ivan A. Novakov – Academician of the RAS, Professor, Doctor of Chemical Sciences, Head of the Department of FAHP VSTU

<http://orcid.org/0000-0002-0980-6591>

Scopus Author ID 7003436556

WOS Research ID I-4668-2015

e-mail: ianovakov@vstu.ru

Contribution of the authors:

Nikita S. Vlasenko – conceptualization, research, data processing, writing the original text of the article.

Evgeny S. Bochkarev – conceptualization, research, data processing.

Ekaterina B. Bryuzgina – review and editing of the article.

Evgeny V. Bryuzgin – conceptualization, fundraising, review and editing of the article.

Alexander V. Navrotsky – reviewing and editing the article, project administration, attracting financing.

Ivan A. Novakov – review and editing of the article, control, attraction of financing.

Статья поступила в редакцию 09.11.2025, доработана 14.11.2025, подписана в печать 03.12.25

The article was submitted 09.11.2025, revised 14.11.2025, accepted for publication 03.12.25