

ЛАЗЕРНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ ИЗГОТОВЛЕНИЯ ИНДИВИДУАЛЬНЫХ ИМПЛАНТАТОВ И МАТРИЦ ДЛЯ ТКАНЕВОЙ ИНЖЕНЕРИИ

© 2007 г. В. К. Попов*, А. В. Евсеев*, Е. Н. Антонов*, В. Н. Баграташвили*, А. Н. Коновалов*, В. Я. Панченко*, Дж. Дж. Барри**, М. Дж. Уитакер**, С. М. Хоудл**

* Институт проблем лазерных и информационных технологий РАН, г. Троицк, Московская обл.

E-mail: popov@laser.ru

** Ноттингемский университет, г. Ноттингем, Англия

Представлены результаты работ по развитию и модификации лазерных методов быстрого прототипирования и изготовления индивидуальных имплантатов и матриц для тканевой инженерии. Разработана технология формирования минерал-полимерных биоактивных структур, основанная на лазерной фотополимеризации жидкой смеси полифункциональных акриловых олигомеров с микрочастицами гидроксиапатита. Предложен и развит метод поверхностно-селективного лазерного спекания, позволяющий спекать полимерные микрочастицы, не расплавляя их полностью, а лишь подплавляя их поверхность. Это позволило получать биоактивные полимерные матрицы на основе биорезорбируемых алифатических полиэфиров.

Коды OCIS: 170.0170.

Поступила в редакцию 20.01.2006.

Введение

Прецизионное изготовление биорезорбируемых матриц с заданной архитектоникой и индивидуальных имплантатов является сегодня одной из актуальнейших проблем тканевой инженерии, практической хирургии и стоматологии [1]. Наибольших успехов в этом направлении удалось достигнуть с помощью так называемых технологий быстрого прототипирования (Rapid Prototyping – RP), основанных на послойном изготовлении твердых копий трехмерных компьютерных образов требуемых объектов [2].

Лазерная стереолитография (ЛС), базирующаяся на инициированной лазерным излучением полимеризации жидких фотополимеризующихся композиций (ФПК), является наиболее развитой RP-технологией, широко используемой в различных областях науки и техники [3]. Однако, наряду с неоспоримыми преимуществами, такими, как высокое пространственное разрешение ($\sim 0,1$ мм), точность воспроизведения и скорость изготовления изделий, она обладает и существенными недостатками, ограничивающими область ее применения в биомедицинских исследованиях и клинической практике. В первую очередь это связано с тем, что компоненты исходных ФПК: акриловые или эпоксидные мономеры, низкомолекулярные олигомеры, а также фотоинициаторы и ингибиторы (следы которых, как правило, всегда присутствуют в конечном объекте) являются чрезвычайно токсичными [4]. Поэтому для достижения необходимого уровня биосовместимости имплантатов необходима разработка новых методов эффективной очистки изделий. Вторым

недостатком технологии ЛС является отсутствие в настоящее время сертифицированных ФПК для изготовления биорезорбируемых (растворяющихся со временем в организме) структур [5]. В то же время именно биорезорбируемые материалы являются сегодня принципиально необходимыми для решения широкого круга различных биомедицинских проблем [6, 7].

Второй лазерной RP-технологией является технология селективного лазерного спекания (СЛС). Она основана на послойном спекании порошковых материалов (металлов, керамики, полимеров) [8, 9]. Так же, как и ЛС, метод СЛС обладает хорошей производительностью и высоким пространственным разрешением ($\sim 0,1$ мм). Однако до недавнего времени он использовался для изготовления полимерных структур и изделий только из термостойчивых (как правило, биостабильных) материалов. Дело в том, что объемное поглощение и полный расплав полимерных частиц не позволяют использовать СЛС для спекания термически нестабильных систем, таких, как, например, биорезорбируемые алифатические полиэфиры – полилактиды (ПЛ) и полилактогликолиды, представляющие сегодня наибольший интерес для имплантологии и тканевой инженерии. Традиционное СЛС приводит к их деструкции и изменению структуры с возможностью образования токсичных компонентов, что является неприемлемым для биомедицинских применений.

В настоящей статье представлены результаты работ по развитию и модификации методов ЛС и СЛС, позволяющие изготавливать как чисто полимерные, так и композитные биоактивные индиви-

дуальные имплантаты, а также биорезорбируемые матрицы для тканевой инженерии.

Лазерная стереолитография (материалы и методы)

Для изготовления образцов полимерных структур нами была выбрана ФПК “ОКМ-2” (разработка Института химической физики РАН, г. Москва), приготовленная из жидкой смеси олигокарбонатметакрилата, фотоинициатора “Irgacure 671” (2,2’-диметокси-2-фенилацетофенон) и ингибитора спонтанной полимеризации “Бисалкофен БП”. Для синтеза биоактивных минерал-полимерных композитов в ОКМ-2 добавлялся мелкодисперсный (~ 1 мкм) порошок гидроксиапатита ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) торговой марки “Гидроксипол” (фирма “Полистом”, г. Москва). Гидроксиапатит (ГАП) является основным минеральным компонентом натуральной костной ткани. Поэтому введение ГАП в структуру полимерного имплантата естественным образом приводит к улучшению его физико-механических и остеointеграционных характеристик, а также его остеиндукционной способности [10].

Изготовление полимерных образцов, а также обработка методики синтеза минерал-полимерных структур проводились на разработанном и созданном в ИПЛИТ РАН (г. Шатура Московской области) комплексе ЛС-100 на основе HeCd-лазера с длиной волны излучения $\lambda = 325$ нм. Процесс ЛС включал в себя: создание компьютерного образа детали в заданном STL-формате, его разбиение на тонкие слои (сечения), расчет траектории движения лазерного луча по каждому отдельному сечению и последовательное воспроизведение соответствующих сечений на поверхности жидкой ФПК сфокусированным лазерным лучом. Лазерное излучение практически полностью поглощается в тонком (0,05–0,1 мм) слое ФПК. В облученной области образуется пленка твердого полимера. Переход от одного слоя к другому осуществляется путем перемещения платформы (на которой выращивается деталь) в емкости с жидкой ФПК на глубину, равную толщине следующего слоя. Эта операция циклически повторяется до завершения процесса изготовления изделия. Затем следуют его финальная обработка мощной ультрафиолетовой лампой (для достижения максимальной конверсии жидких мономеров в твердый полимер), промывка в ацетоне, сушка полученной детали и удаление технологических подпорок.

Для очистки и формирования микропористой структуры полимерных и композитных ЛС-образцов, нами было предложено использование сверхкритической двуокиси углерода – sc-CO_2 (критиче-

ская температура $T_{\text{кр}} = 31$ °С и критическое давление $P_{\text{кр}} = 7,2$ МПа). Уникальным образом сочетая в себе свойства газов высокого давления (низкая вязкость, высокий коэффициент диффузии) и жидкостей (высокая растворяющая способность), экологически чистый sc-CO_2 позволяет реализовать экстракцию растворимых токсичных соединений из биоматериалов, полимеров, различных микро- и нанопористых структур с существенно более высокой эффективностью, чем обычные газы или органические растворители [11]. Кроме того, sc-CO_2 легко и практически без остатка удаляется из полимера после экстракции простым сбросом давления. При этом может происходить образование микропористой структуры полимерной матрицы как за счет удаления экстрагируемых веществ, так и за счет набухания полимера в результате его взаимодействия с sc-CO_2 .

Для исследования топологии поверхности и структуры внутреннего объема полученных образцов использовались методы оптической и сканирующей электронной микроскопии (Philips XL-30). Для изучения процессов сверхкритической экстракции токсичных примесей использовались прецизионная гравиметрия и газовая хроматография (Shimadzu GC-17a V4).

Оценка токсичности и биосовместимости ЛС-образцов *in vitro* проводилась с использованием культур человеческих фибробластов и остеобластов. Анализ биоактивности и остеointегрирующей способности ЛС-имплантатов *in vivo* проводился на белых крысах линии “Вистар”.

Результаты и обсуждение

Наибольший интерес для решения проблемы замещения дефектов и отсутствующих фрагментов костного скелета представляют импланты на основе ГАП-содержащих композитов. Однако предложенный нами синтез таких материалов методом ЛС имеет ряд своих особенностей. Дело в том, что плотность порошка ГАП ($3,2$ г/см³) почти в три раза больше, чем ОКМ-2 ($1,2$ г/см³). Поэтому при длительном (несколько часов) ЛС-процессе происходит расслоение данной смеси. Седimentация микрочастиц ГАП приводит к неоднородному распределению его концентрации в вертикальном направлении и осаждению порошка на дно емкости для ФПК. Кроме того, добавление ГАП к жидкой ФПК значительно увеличивает ее вязкость. Это затрудняет формирование нового слоя с заданной толщиной (~ 0,1 мм) на поверхности твердого полимера путем простого погружения платформы с послойно “выращиваемым” объектом. Влияние этих негативных факторов на ЛС-процесс было суще-

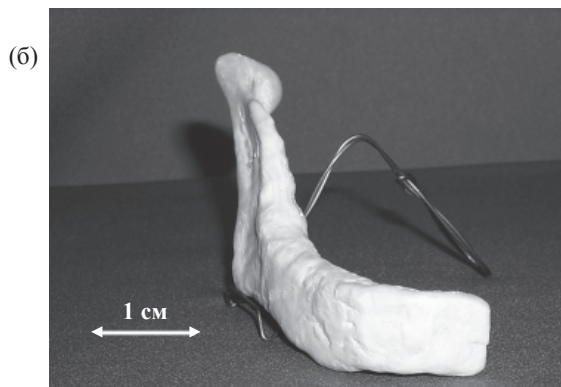
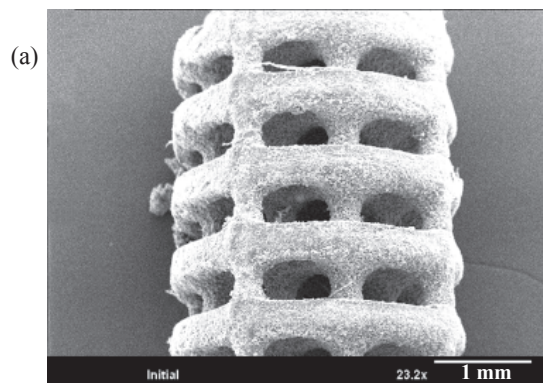


Рис. 1. ЛС-объекты, изготовленные из ОКМ-2 + 30 вес.% ГАП. а – матрица заданной архитектоники, б – индивидуальный имплантат правой половины нижней челюсти.

ственно уменьшено нами за счет предварительной химической модификации поверхности микрочастиц ГАП полимерным комплексом полиакриловая кислота–поливинилпирролидон [12]. Это привело к практически трехкратному снижению вязкости и 50%-ному уменьшению скорости расслоения ФПК, содержащей до 30 вес.% модифицированного ГАП по отношению к такой же ФПК на основе исходного гидроксиопола. В качестве иллюстрации на рис. 1 приведены фотографии изделий, изготовленных из ОКМ-2 + 30 вес.% ГАП.

Основой ОКМ-2 являются полифункциональные метакриловые олигомеры, полимеризация которых протекает с образованием трехмерной пространственной сетки. Структура олигомерного блока между концевыми реакционноспособными группами и параметры пространственной сетки определяют высокие механические и физико-химические свойства конечного продукта. Однако даже с учетом вышесказанного сверхкритическая обработка ЛС-образцов, прошедших все стандартные финишные операции, позволяла удалять до 7 вес.% (рис. 2) непрореагировавших соединений, более 99% которых составлял токсичный исходный олигокарбонат-метакрилат. Дополнительным достоинством этой процедуры являлось образование микропористой структуры полимерного композита, играющей важную роль в процессах первичной клеточной адгезии и пролиферации. На рис. 3 представлены характерные фотографии образцов до и после их обработки sc-CO_2 .

Результаты экспериментов *in vitro* продемонстрировали ярко выраженную зависимость количества живых клеток и их метаболической активности от степени завершенности стереолитографического процесса, применения сверхкритической обработки и наличия ГАП. Это обуславливалось удалением из полимера токсичных веществ и образованием микропор, увеличивающих площадь поверхности,

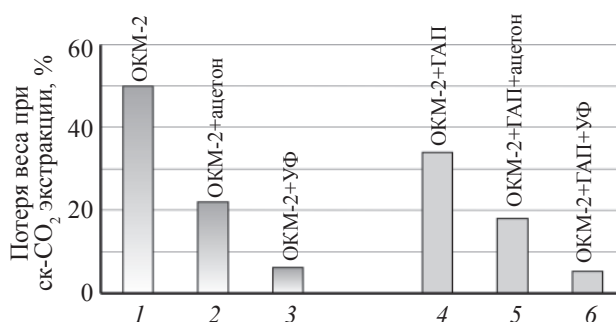


Рис. 2. Зависимости потери массы ЛС-образцов при обработке sc-CO_2 от степени завершенности процесса их изготовления. 1, 4 – матрицы непосредственно после окончания фотополимеризации; 2, 5 – матрицы после промывки в ацетоне и 3, 6 – матрицы после промывки в ацетоне и УФ сушки.

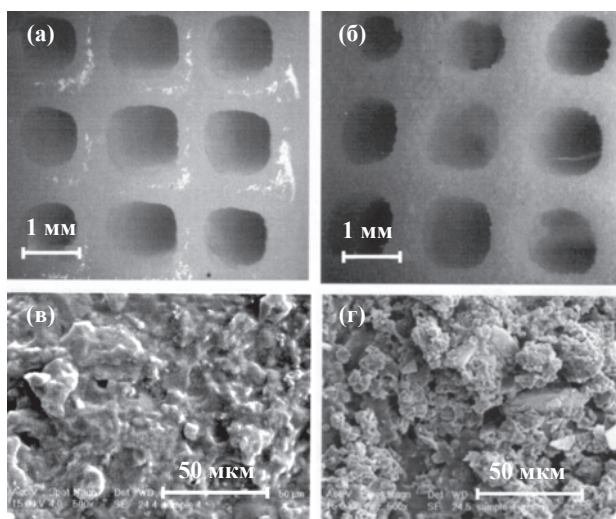


Рис. 3. Характерные фотографии ЛС-образцов до (а, в) и после (б, г) обработки в sc-CO_2 . а, б – общий вид; в, г – микроструктура поверхности.

на которой происходит первичная адгезия и дальнейшее развитие клеток. Более интенсивные процессы пролиферации остеобластов, наблюдав-

шиеся на имплантатах, содержащих ГАП, отражали повышенные остеоиндуктивные свойства данных изделий.

В результате проведенного исследования *in vivo* [13] было показано, что интеграция новообразованной кости с чистыми полимерами определялась в основном неровностями рельефа имплантатов и порами, в которые врастает костная ткань. Остеоинтегративные свойства у этих имплантатов практически отсутствуют. Они начинают проявляться лишь при введении ГАП в состав композита. Однако при более детальном рассмотрении видно, что вновь образованные костные трабекулы имеют непосредственный контакт лишь с агломератами частиц ГАП, избегая при этом поверхности полимера. Применение же ск-СО₂ существенно усиливает процесс интеграции имплантата с костной тканью. Новообразованные костные трабекулы проникают в поры имплантата и связываются в них как с участками, содержащими ГАП, так и непосредственно с полимерной матрицей. При удалении таких имплантатов из их ложа часто происходило разрушение самих трабекул при сохранении целостности зоны контакта костных структур с участками поверхности имплантата, что указывает на высокую прочность такого соединения.

Таким образом, композитные ЛС-имплантаты из ОКМ-2/ГАП, обработанные в ск-СО₂-обладеют, на наш взгляд, вполне приемлемыми для имплантологии биохимическими характеристиками. При их подсадке в костную ткань они не вызывают местных раздражающих и токсических реакций. Вышим проявлением адаптации костной ткани к этому виду имплантатов следует считать образование обширных зон ее прямого контакта с поверхностью имплантатов, что отражает высокий уровень их остеointеграционных свойств.

Поверхностно-селективное лазерное спекание (ПСЛС) (материалы и методы)

В отличие от традиционного СЛС, предложенный и разработанный нами метод ПСЛС [14] основан не на объемном поглощении лазерного излучения полимерным порошком, а на инициировании процесса спекания прозрачных для этого излучения полимерных частиц за счет нагрева наночастиц углерода, равномерно распределенных по их поверхности. При этом, варьируя скорость сканирования лазерного луча и его интенсивность, можно осуществить формирование трехмерной структуры за счет плавления только поверхностных слоев полимерных частиц, избегая перегрева их внутреннего объема.

В наших экспериментах основное внимание было уделено созданию трехмерных структур на основе

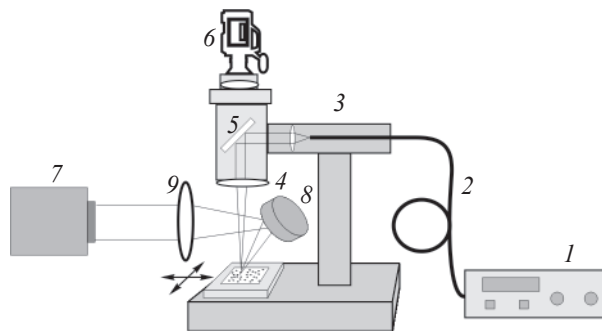


Рис. 4. Схема экспериментальной установки для исследования процесса ПСЛС. 1 – диодный лазер, 2 – транспортное волокно, 3 – микроскоп, 4 – объектив, 5, 8 – зеркала, 6 – видеокамера, 7 – тепловизор, 9 – ИК линза.

D,L-полилактида Medisorb® 100 DL HIGH IV и D,L-полилактидогликолида Medisorb® 7525 DL HIGH IV молекулярной массой $M_w = 80\,000\text{--}120\,000$ и полидисперсностью $M_n = 1,4$ производства компании “Alkermes” (Бостон, МА, США). Полимеры использовались как в чистом виде, так и с различными минеральными и биоактивными (ГАП, рибонуклеаза) добавками. Полимерные порошки получались измельчением исходных материалов с помощью шаровой и/или роторной мельниц и отличались как размером, так и формой (чешуйчатые или в виде гранул) своих частиц. Для поглощения лазерного излучения в полимерные порошки добавлялись наночастицы углерода (с размером агломератов частиц порядка 350 нм и удельной поверхностью 50 м²/г) в количестве 0,1–1,0 вес. %.

Исследование и оптимизация процесса ПСЛС осуществлялись на экспериментальной установке, схема которой представлена на рис. 4. Она включала в себя двухкоординатный X–Y-стол с поршневой системой подачи полимерного порошка для последовательного формирования полимерных слоев, оптическую систему формирования и фокусировки лазерного излучения, а также систему визуализации и записи изображений на базе оптического микроскопа и цифровой видеокамеры. Источником непрерывного излучения являлся волоконный лазер ЛС-0.97 с длиной волны $\lambda = 0,97$ мкм и средней мощностью до 20 Вт (НТО “ИРЭ-Полус”, Фрязино Московской области). На данной длине волны полимерные частицы являлись практически прозрачными ($\sigma_{\text{пол}} < 10^{-1}$ см⁻¹). Диаметр пучка лазерного излучения на поверхности порошка полимера варьировался в пределах от 80 до 500 мкм. Скорость сканирования луча изменялась в интервале 0,1–10 мм/с. Характерная толщина одного слоя порошка составляла 0,15–0,3 мм. Температурные поля в области лазерного воздействия изучались с

помощью тепловизора (ИРТИС 2000М, ИРЭ РАН, Москва). Пороги плавления полимеров с размерами частиц около 100 мкм с добавкой 0,5 вес.% углерода составляли порядка 10 мВт (для каждого конкретного образца проводилось независимое измерение) при диаметре лазерного пучка 80 мкм. Отработка технологических режимов и изготовление биорезорбируемых матриц для дальнейших исследований их биохимических свойств проводились на опытном образце установки СЛС-80, разработанной и изготовленной в ИПЛИТ РАН (г. Шатура Московской области).

Морфология ПСЛС-структур изучалась с помощью оптической и сканирующей электронной микроскопии. Определение молекулярного веса полимеров до и после лазерного воздействия проводилось методом гель-проникающей хроматографии (ГПХ). Биоактивность рибонуклеазы, введенной в структуру исходного полимера, до и после процесса ПСЛС определялась по скорости гидролиза цитидин-2,3-фосфата согласно методу, описанному в [15]. Оценка биосовместимости синтезированных матриц *in vitro* проводилась с использованием культур 3Т3 фибробластов и овечьих менисковых хондроцитов.

Результаты и обсуждение

Варьируя интенсивность лазерного излучения и скорость его сканирования по поверхности полимерного порошка можно реализовывать разнообразные режимы спекания. При этом частицы будут подвергаться тепловым воздействиям, приводящим к различным степеням интеграции, а получаемые матрицы, соответственно, будут иметь разную пористость и прочность. Кроме того, динамика процесса ПСЛС, его температурные режимы и механические характеристики формирующихся структур будут также зависеть от формы, размеров и структуры самих полимерных частиц. Так, например, для наименее плотных порошков, состоящих из частиц чешуйчатой формы (размер отдельных чешуек составлял ~ 10 мкм, а частицы размером в 100 мкм, просеянные через сито, являлись, по сути, слипшимися агломератами – рис. 5а), наблюдается значительная усадка материала (рис. 5в). Частицы с периферии зоны облучения при спекании стягиваются в центральную зону, обнажая прилегающие участки. Заметно меньшая усадка наблюдалась для гранулированного порошка (рис. 5б). Добавка же 30 вес.% ГАП практически исключала усадку (рис. 5г). Так, при диаметре лазерного пятна 80 мкм и использовании гранулированного порошка с размером частиц ~ 100 мкм характерное пространственное разрешение составляло порядка 150–200 мкм.

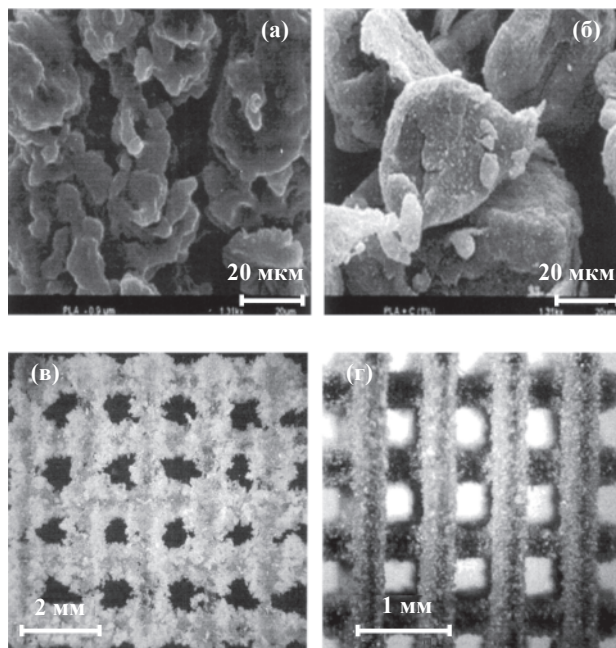


Рис. 5. Структура частиц полимерных порошков и соответствующие им ПСЛС-матрицы. а – частицы чешуйчатой формы, б – гранулированные частицы, в – матрица из чешуйчатых частиц, г – матрица из гранулированных частиц с добавкой ГАП.

Анализ изменений молекулярного веса и полидисперсности полимеров методом ГПХ показали их незначительное монотонное уменьшение при повышении интенсивности лазерного излучения (см. таблицу). Интересно отметить, что M_w и M_n материалов, получаемых при 2-кратном превышении над порогом плавления поверхности полимерных частиц (составлявшего приблизительно 50 Вт/см²), сопоставимы с аналогичными характеристиками полимеров, полученных при обычном термическом нагреве до 70 °С. При 8-кратном превышении порога плавления вместо уменьшения M_w наблюдается его увеличение, что свидетельствует о начале

Изменение молекулярного веса и полидисперсности образцов структур из полилактида, полученных при различных режимах лазерного и термического нагрева

Тип образца	M_w	M_n
Полилактид исходный (250 мкм)	89370	63982
Спеченный вблизи порога	88282	63093
2-кратное превышение над порогом	83753	59186
4-кратное – " –	81841	58128
8-кратное – " –	102889	58848
10-кратное – " –	Не растворяется в хлороформе	
Термический нагрев до 70 °С	83672	61044
Термический нагрев до 90 °С	85794	62878

процесса термодеструкции полимера, приводящего к образованию структурных сшивок. Анализ же образцов, полученных при 10-кратном превышении интенсивности лазерного излучения над его пороговым значением, оказался невозможным, поскольку они уже не растворялись в хлороформе. Это явилось проявлением высокой степени сшитости структуры спеченного полимера, делая невозможным его дальнейшее использование в качестве биорезорбируемой матрицы.

При исследовании применимости метода ПСЛС для синтеза полимерных матриц, содержащих биоактивные протеины, в качестве модельной системы была выбрана рибонуклеаза, предварительно введенная в количестве 5 вес.% в структуру частиц полилактида в атмосфере сверхкритического диоксида углерода [16]. Показано, что при плотностях мощности лазерного излучения на поверхности порошка ПЛ (содержащего 0,1 вес.% углерода) в диапазоне от 60 до 180 Вт/см² (приблизительно четырехкратное превышение над порогом плавления) и скорости сканирования 1 мм/с активность рибонуклеазы сохранялась на уровне 60–80% от активности исходного образца.

Тестирование ПСЛС-структур *in vitro*, проведенное с использованием культур 3Т3 фибробластов и овечьих хондроцитов, продемонстрировало отсутствие какой бы то ни было токсичности образцов содержащих до 1,0 вес.% углерода и спеченных при 2- и 4-кратном превышении интенсивности излучения над пороговым значением. Высокая биосовместимость полученных матриц проявилась в эффективности деления и пролиферации овечьих хондроцитов, культуры которых уже через 24 часа после высевания покрывали более 50% поверхности ПЛ-матриц.

Заключение

Таким образом, разработана технология лазерной стереолитографии, основанная на фотополимеризации жидкой композиции полифункциональных акриловых олигомеров с мелкодисперсным порошком ГАП и последующей обработке полученных изделий сверхкритической двуокисью углерода. Она дает возможность быстрого и высокоточного изготовления трехмерных биостабильных и биоактивных структур заданной архитектоники и микропористости. Предложена и развита технология ПСЛС, с помощью которой можно спекать полимерные частицы, не расплавляя их полностью, а лишь деликатно подплавляя их поверхность. Такой подход позволяет не только использовать термически нестабильные полимеры (такие, как полилактиды или полилактогликолиды), но и получать по-

лимерные матрицы с биоактивными протеинами. Данные результаты в совокупности с успешными *in vitro* и *in vivo* биотестами полученных образцов позволяют рассматривать эти технологии как весьма перспективные для прямого лазерного изготовления индивидуальных имплантатов для челюстно-лицевой хирургии и стоматологии, а также матриц для тканевой инженерии на основе CAD/CAM данных.

Авторы благодарят проф. А.П. Краснова и О.В. Афоничеву за помощь в разработке метода химической модификации ГАП, М.А. Маркова за подготовку ЛС-образцов, а также проф. А.И. Воложина за проведение *in vivo* тестов и анализ их результатов. Данная работа выполнялась при финансовой поддержке британского фонда The Wellcome Trust (Collaborative Research Initiative Grants №№ 062760 and 073913) и РФФИ (проект 04-02-16933).

ЛИТЕРАТУРА

1. *Hutmacher D.W.* Scaffold in tissue engineering bone and cartilage // *Biomaterials*. 2000. V. 21. P. 2529–2543.
2. *Rapid Manufacturing: the Technologies and Applications of Rapid Prototyping and Rapid Tooling* / Eds. *Pham T.D., Dimov S.S.* London: Springer, 2000.
3. *Jacobs P.F.* Rapid Prototyping & Manufacturing: Fundamentals of Stereolithography // *SME*. 1992. Dearborn M.I.
4. *Воложин А.И., Сашкина Т.И.* Аллергия и другие формы непереносимости в стоматологии. М.: Наука, 1996.
5. *Coullerez G., Lowe C., Pechy P., Kausch H.H., Hilborn J.* Synthesis of acrylate functional telechelic poly(lactic acid) oligomer by transesterification // *J. Mater. Science: Mater. Med.* 2000. V. 11. P. 505–510.
6. *Gilding D.K., Reed A.M.* Biodegradable polymers for use in surgery – polyglycolic:poly(lactic acid) homo and copolymers // *Int. Polymer*. 1979. V. 20. P. 1459–1464.
7. *Maquet V., Jerome R.* Design of macroporous biodegradable polymer scaffolds for cell transplantation // *Mater. Sci. Forum*. 1997. V. 250. P. 15–42.
8. *Rimell J.T., Marquis P.M.* Selective laser sintering of ultra high molecular weight polyethylene for clinical applications // *J. Biomed. Mater. Res.* 2000. V. 53. P. 414–420.
9. *Tan K.H., Chua C.K., Leong K.F., Cheah C.M., Cheang P., Abu Bakar M.S., Cha S.W.* Scaffold development using selective laser sintering of polyetheretherketone–hydroxyapatite biocomposite blends // *Biomaterials*. 2003. V. 24. P. 3115–3123.
10. *Антонов Е.Н., Евсеев А.В., Марков М.А., Панченко В.Я., Попов В.К., Топольницкий О.З., Воложин А.И., Докторов А.А., Курдюмов С.Г.* Формирование биоактивных минерал-полимерных композитов методом лазерной стереолитографии // *Оптическая техника*. 1998. Т. 13. С. 55–60.

11. Воложин А.И., Карачков А.Г., Суханов Ю.П., Шехтер А.Б., Попов В.К., Антонов Е.Н., Карротт М. Тканевая реакция на акриловые пластмассы, модифицированные сверхкритической экстракцией двуокисью углерода // *Стоматология*. 1998. Т. 77. С. 4–8.
 12. Krasnov A.P., Afonicheva O.V., Popov V.K., Volozhin A.I. Polymer-polymer complex at the interface of polymethylmetacrylate with hydroxyapatite // *Int. J. Polymeric Mater.* 2004. V. 53. P. 1–10.
 13. Popov V.K., Evseev A.V., Ivanov A.L., Roginski V.V., Volozhin A.I., Howdle S.M. Laser Stereolithography and Supercritical Fluid Processing for Custom-Designed Implant Fabrication // *J. Mater. Science: Mater. Med.* 2004. V. 15. P. 123–128.
 14. Popov V.K., Antonov E.N., Bagratashvili B.N., Kononov A.N., Howdle S.M. Selective Laser Sintering of 3-D Biodegradable Scaffolds for Tissue Engineering // *Proc. MRS Fall Meeting*. 2003. Boston, USA, V.EXS-1, F5.4. P. 1–3.
 15. Crook E.M., Mathias A.P., Rabin B.R. Spectrophotometric Assay of Bovine Pancreatic Ribonuclease by the use of Cytidine 2':3' – Phosphate // *Biochemical Journal*. 1960. V. 74. P. 234–238.
 16. Howdle S.M., Watson M.S., Whitaker M.J., Popov V.K., Davies M.C., Mandel F.S., Wang J.D., Shakesheff K.M. Supercritical fluid mixing: preparation of thermally sensitive polymer composites containing bioactive materials // *Chem. Commun.* 2001. P. 109–110.
-