

ПЕРСПЕКТИВЫ ТЕХНОЛОГИИ 3 D-БИОПРИНТИНГА

М.В. Духанина, А.С. Ольшевская, А.М. Морозов

*ФГБОУ ВО Тверской государственный медицинский университет Минздрава
России*

Нехватка доноров – серьезнейшая медицинская проблема, тенденция такова, что доноров становится все меньше, а пациентов, которым требуются донорские органы, – все больше. Кроме того, пересадка означает для реципиента пожизненный прием иммуносупрессоров, а это делает людей более восприимчивыми к болезням и может приводить к онкологическим заболеваниям.

Актуальность исследования состоит в том, что биопринтинг позволяет отказаться от двух главных проблем трансплантологии и предлагает перспективные решения в лечении органной недостаточности за которыми будущее.

Цель исследования: изучение метода 3D-биопринтинга и его применение в медицине.

Материалы и методы

Анализ отечественных и иностранных источников на предмет ознакомления с механизмом 3D-биопринтинга и обзор спектра применения тканевых биоконструктов.

Результаты и обсуждение

Биопринтинг -это биомедицинское применение послойной трехмерной печати с целью решения проблемы получения копий живых органов для последующей пересадки пациенту; управляемая компьютером технология или цифровая трехмерная печать.

Подготовленный на компьютере графический дизайн органа в стандартном формате обмена данными 3D-графики является обязательным атрибутом биопринтинга. Трехмерные тканевые биоконструкты должны формировать тканевую фиброзную основу самостоятельно без дополнительного полимерного скелета/матрикса. Биопринтинг представляет собой технологию биопроизводства, основанную на принципах синтетической анатомии: от частного к общему через воссоздание органной структуры согласно известным законам физиологии и биологии развития.

3D-биопринтер – биологическая вариация технологии гергар, устройство, способное создавать органы и ткани, послойно нанося клетки друг на друга. Стерильность процесса биопечати обеспечивается размещением биопринтера в стерильном боксе, оснащенный специальными системами для создания оптимальной и комфортной среды для работы с живой тканью.

Современные принтеры имеют форсунки с задаваемым объёмом ёмкости, позволяющие диспенсировать биочернила и биобумагу. В форсунке могут быть размещены либо сфероиды различного типа и диаметра или же

различные клеточные суспензии, материалы. Каждой форсунке может быть задано количество диспенсируемых тканевых сфероидов, или, например, толщина печатаемого слоя, как и другие параметры. Форсунками другого типа, предназначенными для биобумаги, возможны различные методы нанесения, такие как распыление (форсунка Нордсона) и диспенсирование (форсунка Фишмана).

Биопринтер использует два типа «чернил» — клетки различных типов и вспомогательные материалы (коллаген, факторы роста, поддерживающий гидрогель), призванные укрепить создаваемую конструкцию до тех пор, пока между клетками не образуются естественные связи.

Биочернила для печати - это поверхностно активные вещества, которые являются благоприятной средой для клеточной адгезии и пролиферации. Чернила образуют гель, нанесение которого способствует быстрому образованию межклеточных взаимодействий. Качественные чернила должны образовывать гель, нанесение тонких слоев биочернил (1-2 мкм) способствует быстрому образованию межклеточных взаимодействий и не допускает седиментации.

Скаффолд – имплантируемый или вводимый конструкт, вид которого меняется в зависимости от типа выращиваемой ткани. В этой трехмерной конструкции должны присутствовать три главных свойства – это пористость, адгезивность и механическая целостность, которая сходна с нативной проектируемой структурой. Скаффолд позволяет осуществлять доставку клеток-предшественниц и факторов роста при сохранении требуемой формы импланта.

В качестве материала для производства скаффолда используется коллаген, однако трудно спрогнозировать процесс его биодеградации, поэтому в большинстве случаев используется хитозан, который представляет собой производное хитина, в дополнение он обладает антибактерицидным свойством.

Из чего же состоит «производственная цепочка» биопринтинга? Основой технологии являются тканевые сфероиды. Это упругий сгусток из живых клеток (от 1000 до 10 000 единиц) размером 200-300 мкм, который используется в работах Форгача, Миронова, Вэня и других исследователей в качестве основного материала для биофабрикации. По сути, это кирпичик тканевого здания, которое создается в искусственных условиях. Простой вариант такой структуры можно получить путем инкубации суспензий различных клеток пациента в небольшом объеме культуральной среды, например, в формах в виде мелких пчелиных сот.

Удобным «сырьем» для биопечати являются стволовые клетки жировой ткани пациента, которые можно получить сразу в большом количестве с помощью вакуумной липосакции – малоинвазивной хирургической процедуры. Такие стволовые клетки могут легко дифференцироваться в гладкомышечные клетки, а тканевые сфероиды,

произведенные из них, могут сращиваться в кольцо или торус и сокращаться под действием специфических стимулов.

В настоящее время исследования на эмбриональных тканях показали, что совместное культивирование клеток из пупочной вены и мезенхимальных стволовых клеток значительно увеличивает скорость их пролиферации в отличие от культивирования монокультуры клеток пупочной вены. Возможно, это результат взаимодействия двух типов клеток посредством межклеточного взаимодействия и диффузного паракринного сигнала. Общеизвестно, что стволовые клетки могут вырабатывать биоактивные ростовые факторы, например, факторы роста эндотелия сосудов, таким образом, стимулируя рост клеток из пупочной вены. Важнее, что у стволовых клеток есть возможность пролиферировать *in vitro* и дифференцироваться в различные клетки, такие как остеобласты, хондроциты, адипоциты, миоциты, так же клетки сосудов, что зависит от состояния среды. Дифференцировка стволовых клеток происходит в базальной среде и культуральной среде смешанных в пропорциях 1:1.

Окончательное формирование печатного конструкта происходит в биореакторе под контролем системы неинвазивных неdestructивных методов мониторинга (ультразвук, контроль состава среды, содержания биомаркеров).

Выводы

1. По мнению ученых, будущее клеточных технологий за использованием аутологичных (клетки имеющие происхождение из организма самого пациента) клеток взрослого человека.
2. Лучший банк для хранения клеток пациента – это он сам.
3. Технологии репрограммирования позволяют исправлять те недостатки генома, которые возникли за время жизни пациента.
4. Аутологичные клетки не имеют искусственно привнесенного риска новообразований по сравнению с эмбриональными клетками.

Литература

1. Миронов В.А. Вслед за создателем. Технологии биопринтинга // Наука из первых рук.-2013.- №4 (52) -С.14-23.
2. Лебедева О. С. и др. Генетическое репрограммирование клеток: новая технология для фундаментальных исследований и практического использования //Генетика. – 2015. – Т. 51. – №. 4. – С. 466-478.
3. Gaurav S., Bernard J., Costello. Soft Tissue Regeneration Incorporating 3-Dimensional Biomimetic Scaffolds - Oral and Maxillofacial Surgery Clinics. -2016.- Volume 29, Issue 1, P. 9-18.
4. Jinah J., Hun-Jun Park. 3D printed complex tissue construct using stem cell-laden decellularized extracellular matrix bioinks for cardiac repair - Biomaterials, - 2017. -01-01, V. 112, P. 264-274.
5. Weitao J., Selcan P.,Gungor-Ozkerim. Direct 3D bioprinting of perfusable vascular constructs using a blendbioink-Biomaterials, - 2016-11-01, V. 106, P. 58-68.

6. Образовательный портал о технологии биопечати. [Электронный ресурс]. - <http://edu.bioprinting.ru/>
7. ДИА-М современная лаборатория [Электронный ресурс]- [http:// di-
m.ru/](http://diam.ru/)