

# ВИДИ БІОПРИНТЕРІВ ДЛЯ ДРУКУ ОРГАНІВ

*Кулявець В.Р.*

vika.kulyavets@gmail.com

*Беспалова О.Я.*, доц., к.б.н., с.н.с.

bespalova25.05@gmail.com

Кафедра БМІ, ФБМІ

Національний технічний університет України

«Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського»

Київ, Україна

**Реферат** – 3D біодрук це нова революційна галузь регенеративної медицини. Біодрук можна визначити як пошарове формування об'єкту з різних біоматеріалів (живих клітин) на основі попередньо створеної комп'ютерної моделі. На сьогоднішній день вироблення тривимірних структур, навантажених клітинами, для імітації тілесних тканин відіграє важливу роль не тільки в інженерії тканин, але і в дослідженні доставки ліків та ракових дослідженнях. Нестача донорів серйозна медична проблема, при тому тенденція така що донорів стає все менше, а пацієнтів, які потребують донорських органів все більше. Оскільки біодрук має великий потенціал, щоб вирішити такі глобальні питання як трансплантація, експерименти на тваринах, використання експериментальних ліків для спостереження, то є важливим розгляд цієї теми.

У цьому короткому огляді визначаються та порівнюються різні методи виготовлення біологічних структур: лазерний біопрінтинг, струменевий да біопрінтинг на основі екструзії. Визначаються переваги та проблеми кожної методики, а також принцип роботи кожної методики щодо різних станів біочорнил.

Було встановлено, що ці три методи мають різний вплив на життєздатність клітин, роздільну здатність та точність друку. Крім того, на вибір матеріалів та їх концентрацію також впливав вибір біопрінтерів. Кожна методика продемонструвала індивідуальні переваги та недоліки.

**Ключові слова** – 3D-біопрінтинг, біопрінтер, екструзія, сопло, клітини, біочорнило, роздільна здатність, швидкість осадження, струменевий біопрінтер, лазерний біопрінтер.

## I. ВСТУП

Проблема нестачі донорських органів для пересадки змушує шукати біомедичні рішення, які не потребують використання донорського матеріалу. Технології регенеративної медицини на сьогоднішній день вважаються найбільш перспективними. До них відносять генну і клітинну терапію та інжиніринг тканин [1,4, 11].

Останнім часом бурхливий розвиток отримав ще один напрямок регенеративної медицини –3D-моделювання та 3D-біопрінтинг. У наш час 3D-принтери успішно використовуються в ортопедичній стоматології, де за рахунок тривимірного друку отримують протези, моделі, брекети та імплантати без необхідності використання традиційних матеріалів, в найкоротші терміни, в порівнянні з класичною технологією виробництва. Крім цього, вчені почали практику по вирощуванню цілих тканин і навіть органів за допомогою 3D-технологій технікою пошарового друку. Біодрук можна визначити як пошарове

формування об'єкту з різних біоматеріалів (живих клітин) на основі попередньо створеної комп'ютерної моделі [1,5]

Технологія 3D-друку живими клітинами обіцяє неймовірні можливості. Однак, щоб до кінця розкрити її потенціал, необхідно підвищити швидкість і якість друку, життєздатність і керованість клітин, доступність самої технології, а також подумати про відкриття нових технологій друку біочорнилами. У зв'язку з цим вважаємо за доцільне детально розглянути можливості і перспективні напрямки використання 3D-моделювання та 3D-друку [7,8].

Тому метою даної роботи є порівняння різних принципів роботи біопрінтерів для друку органів, визначення їх переваг та недоліків.

Об'єкт дослідження – використання біопрінтерів для створення тканин шкіри.

Предмет дослідження – види 3D біопрінтерів, які використовуються для виготовлення тканин шкіри.

Матеріали дослідження – дані про принцип роботи 3D біопринтерів, їх переваги та недоліки, сфера їх застосування.

Методи дослідження – аналіз та обробка інформації про види 3D біопринтерів, створення порівняльної таблиці.

## II. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Тривимірний біодрук – це нова сфера, яка робить революційний вплив на медичні науки. Він здобув значну увагу з боку численних дослідників різних наукових дисциплін, а також широкої громадськості. Біодрук можна визначити як автоматизований процес передачі для одночасного запису живих клітин та біоматеріалів із встановленою організацією пошарового складання для виготовлення біоінженерних конструкцій для тканинної інженерії, регенеративної медицини або інших біологічних досліджень [2,6]. Основна відмінність 3D-друку для тканинної інженерії та 3D-друку в тому, що біодрук передбачає друк живих клітин та інші біологічні засоби. Він забезпечує велику точність щодо просторового розміщення клітин, білків, ДНК, частинок лікарських засобів, факторів росту та біологічно активних частинок для кращого керівництва генерацією та формуванням тканин [9,10]. Ця нова технологія, здається, є більш перспективною для просування тканинної інженерії у напрямку функціональної тканини та виготовлення органів для трансплантації, врешті-решт, пом'якшує дефіцит органів та врятує життя.

Процес біодруку можна розділити умовно на такі три основні етапи: попередня обробка, обробка (фактична) та післяобробка.

Попередня обробка – це процес дизайну тканини чи органу з використанням візуалізації і комп'ютерного моделювання. Після створення макету та підбору біоматеріалів іде власне біодрук. І третій етап – це процес проліферації клітин і дозрівання клітин в біореакторі, який прискорює дозрівання клітин, або ж власне імплантація в живий організм.

Біодрук пропонує керований процес виготовлення, який дозволяє точно розміщувати різні біоматеріальні та / або типи клітин одночасно відповідно до природних

відділень тканини-мішені або органів. Система біодруку складається з трьох основних компонентів: апаратна система, програмна система та передавальне середовище для доставки клітин. Апаратна система виготовлена з системи друку робототехніки, яка може переміщуватися як мінімум в трьох вимірах, і системи осадження для доставки осередків до стадії друку. Обидва апаратні компоненти контролюються програмною системою.

В біодруці можна виділити три основні методи біопринтингу, класифікувавши їх за принципом роботи: біодрук на основі екструзії, на основі крапель та лазерний біодрук [2].

### 1. Біодрук на основі крапель.

Біодрук на основі крапель (1-ий тип) можна згрупувати на такі дві технології, як п'єзоелектричний або термальний біодрук для викиду крапель рідини на субстрат (рис. 1).

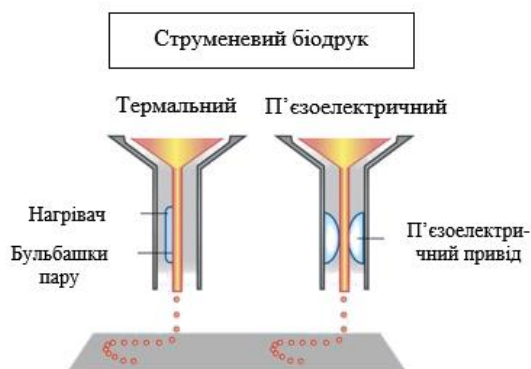


Рис. 1 – Види струменевого біодруку

#### 1) Термальний біодрук

Тепловий привід в біодруці локально нагріває розчин біочорнила при застосуванні імпульсу напруги. Локалізоване нагрівання утворює парову бульбашку. Згодом бульбашка швидко розростається і руйнується (вибухає), що створює імпульс тиску всередині камери рідини. Отже, біочорнило долає поверхневий натяг у отворі форсунки, і крапля викидається. Тепловий елемент може досягати температури від 100 °С до 300 °С. Спочатку існували занепокоєння, що такі високі температури можуть пошкодити клітини, проте дослідження показали, що високі температури локалізуються і існують лише на короткий проміжок часу.

#### 2) П'єзоелектричний біодрук

П'єзоелектричний привід в біодруку змінює свою форму при застосуванні імпульсу

напруги. Це деформує камеру рідини, в якій різка зміна об'єму камери викликає хвилю тиску. Як результат, поверхневий натяг у отворі форсунки подолано, і крапля біочорнила викидається.

Цей механізм обмежує використання висококонцентрованих і в'язких біочорнил, оскільки їх в'язкість пригнічує застосувані хвилі тиску, перешкоджаючи викиду краплі. Низька в'язкість досягається використанням розчинів з низькою концентрацією, що є обмежуючим фактором для отримання 3D-структур.

На даний момент струменеві біопринтери спеціально пристосовані правильно зберігати і розподіляти біологічні матеріали в кращій якості, точніше і швидше.

*Переваги:*

- низька вартість;
- висока роздільна здатність;
- висока швидкість друку;
- здатність створювати градієнтні концентрації клітин, тканин або факторів росту по всій площі 3D-конструкцій, шляхом зміни розміру та густини крапель.

*Недоліки:*

- обмеження у в'язкості біоматеріалів;
- матеріали мають знаходитись в рідкій формі;
- засорення сопла або накопичення «клітинного сміття»;
- пошкодження та гибель клітин.

## 2. Лазерний біодрук.

Лазерний біодрук (2-ий тип) використовує лазерну енергію (рис. 2). Його можна розділити на дві категорії: процеси, що включають фотополімеризацію і процеси, основані на переносі клітин.

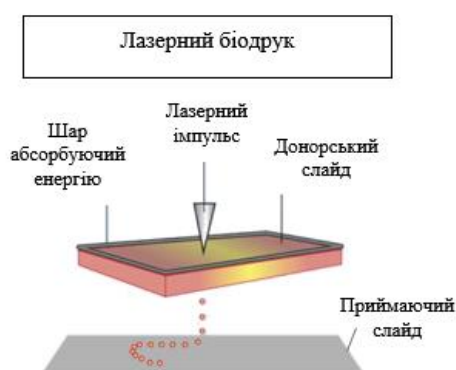


Рис. 2 – Лазерний біодрук

Лазерний біопринтинг складається з трьох частин: донорського слайда (або стрічки), лазерного імпульсу та слайда приймача. Стрічка виготовляється із шару прозорого скла, тонкого шару металу та шару біочорнила. Біочорнило переноситься з стрічки на слайд приймача, коли шар металу під гідрогелем випаровується лазерним імпульсом. Цей пристрій функціонує за допомогою сфокусованих лазерних імпульсів на поглинаючому шарі стрічки для створення бульбашки високого тиску, який просуває вперед речовини, що містять клітини, у напрямку до підкладки колектора.

*Переваги:*

- висока життєздатність клітин;
- відсутня проблема засорення форсунки;
- дозволяє проводити біодрук клітин у більшій кількості;
- висока роздільна здатність (більша ніж у двох інших методів);
- безконтактна природа.

*Недоліки:*

- через високу напругу зсуву та механізм утворення крапель, дуже обмежена кількість клітин може бути інкапсульована у кожен краплю;
- приготування різних стрічок для різних типів клітин, що забирає певний час;
- висока вартість.

## 3. Біодрук на основі екструзії

Біодрук на основі екструзії (3-й тип) являє собою комбінацію дозування рідини й автоматизованої роботизованої системи для екструзії і біодруку, відповідно. Такі принтери на основі біоекструзії зазвичай складаються з нагрівального елемента, системи подачі, одного або двох предметних столиків, здатних рухатися по осях  $x$ ,  $y$  і  $z$ , оптоволоконного джерела світла для освітлення області друку і / або для фотоактивації, відеокамери для  $x$ - $y$ - $z$  команд і контролю, а також п'єзоелектричного зволожувача. Складним елементом є система подачі, частиною якої є сопло – канал поперечного січення довільної форми для подачі рідини з певною швидкістю і в потрібному напрямку. Під час біодруку біоінк розподіляється системою осадження під

управлінням комп'ютера, що призводить до точного осадження клітин, інкапсульованих в циліндричні нитки бажаних тривимірних структур довільної форми. Ця технологія швидкого виготовлення забезпечує відносно кращу структурну цілісність завдяки безперервному осадженню ниток. Крім того, цей метод легко може включати комп'ютерне програмне забезпечення, таке як програмне забезпечення автоматизованого проектування (CAD), яке дозволяє користувачам завантажувати файл CAD для автоматичного друку структури. Файл CAD може бути отриманий з медичних зображень або в довільній формі за запитом. Тому він вважається найбільш зручним методом отримання тривимірних пористих клітинних структур.

Цей метод використовує механічну чи пневматичну потенціальну енергію (рис. 3).

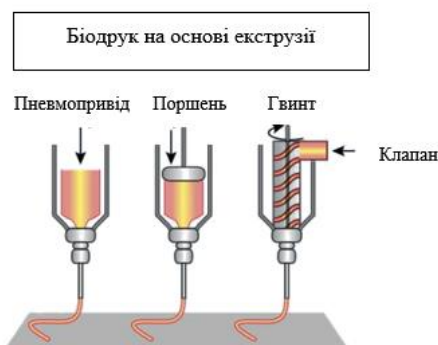


Рис. 3 – Біодрук на основі екструзії

#### 1) Пневматична система

Пневматична система використовує повітря під тиском, використовуючи конфігурацію без клапанів або на клапанній основі. Хоча конфігурація без клапанів широко застосовується завдяки своїй простоті, конфігурація на основі клапана може бути кращою з керованим тиском та частотою імпульсів для високоточних застосувань. Конфігурація без клапанів працює достатньо добре для гідрогелів із властивістю розрідження; однак біочорнила з дуже низькою в'язкістю можуть легко протікати через форсунку, навіть якщо тиск не застосовується. Тому конфігурація на основі клапанів настійно рекомендується застосовувати для матеріалів з низькою в'язкістю або розчинами зшивання. Пневматичні системи біопринтерів на основі екструзії потребують стерилізації

використовуваного повітря з компресора повітряного дозатора. Таким чином, використання фільтра на дихальних шляхах було б ідеальним для мінімізації забруднення біодруківаних конструкцій. Пневматичні системи не генерують плавного видавлювання напівтвердого або твердого біочорнила і потребує іншого рідкого або гелевого середовища для доставки біочорнила через наконечник сопла. В іншому випадку біочорнило легко кріпиться на стінці насадки. При застосуванні біочорнил на основі гідрогелю не виникає проблем через його рідкий або золь-гелевий характер.

#### 2) Механічна система

Механічні мікроекструзійні системи використовують поршневі або гвинтові конфігурації. Поршнева конфігурація, як правило, забезпечує більш прямий контроль над потоком біочорнила через форсунку. Гвинтові конфігурації можуть давати більше просторового контролю та вони є вигідні для дозування матеріалу з більш високою в'язкістю. Однак конфігурація з гвинтовим приводом може генерувати великі перепади тиску вздовж сопла, що може завдати шкоди завантаженим клітинами. Таким чином, конструкція обертового гвинта повинна бути ретельно виконана, щоб могли використовувати його в біопринтері. Крім того, системи з механічним приводом є дуже доступними, легко програмуються і переносяться, і не потребують повітряного компресорного блоку. Механічні системи забезпечують кращу здатність до друку для напівтвердих або твердих матеріалів, таких як агрегати клітин.

Життєздатність клітин після біодруку на основі екструзії нижче, ніж при струменевому біодруці; частота виживання клітини знаходиться в межах 40-86% і зменшується зі збільшенням тиску екструдора і калібру сопла.

#### Переваги:

- накладення клітин з дуже високою щільністю;
- низька ціна і широкий спектр біопринтерів;
- має більшу швидкість осадження та друку, ніж інші, що може полегшити масштабування за відносно короткий проміжок часу;

- дозволяє проводити біодрук широкого спектру матеріалів;
- дозволяє проводити біодрук анатомічно правильних пористих конструкцій, що є дуже складним завданням

#### Недоліки:

- проблема засорення форсунки;
- обмежена роздільна здатність (нижча ніж у двох інших методів);
- біоінк в рідкому або сольгелевому стані повинен мати здатність до зсуву для подолання поверхневого натягу;
- напруга зсуву на стінці наконечника сопла викликає значне падіння кількості живих клітин при високій щільності клітин

## ВИСНОВКИ

Кожна техніка біодруку пред'являє різні вимоги до біочорнил, які можуть створювати різноманітні ефекти на інкапсульовані клітини. Струйний біодрук забезпечує високу роздільну здатність та точне позиціонування клітин. Однак він вимагає, щоб у біоматеріалі була низька концентрація, що може призвести до поганої структурної цілісності та неефективної інкапсуляції клітин. Ця методика показала великий успіх у створенні нервових та шкірних тканин.

Лазерна методика хоч і має багато переваг, проте вона багато коштує та має проблему з часом виготовлення структур.

Друк на основі екструзії є найбільш кращою технікою з точки зору вертикальної конфігурації, проте важливою проблемою є те, що при збільшенні швидкості викладання клітин, збільшується тиск на клітини, а отже, зменшується кількість живих клітин, те саме і з діаметром сопла, чим вужче сопло, тим більше клітин гине. Проте, якщо зменшити швидкість і збільшити діаметр, ми програємо в роздільній здатності і швидкості друку. хоча він має найнижчий відсоток життєздатних клітин на виході серед усіх методик. Низька живучість пояснюється напругою зсуву, яка виникає під час друку. Важливим аспектом

екструзійного друку є його вплив на гідрогель під час та після друку. Через великі напруги зсуву, що виникають під час друку, гідрогель може втратити структурну цілісність. Це призвело до розвитку гідрогелів, що самовідновлюються, які повертають свою механічну цілісність після застосування зсуву. За допомогою біодруку на основі екструзії вдалося створити складні тканинні конструкції. Ця технологія біодруку широкодоступна, здатна накладати тканини з високою щільністю та друкувати аналоги пористої тканини для поліпшення можливостей дифузії і перфузії середовища.

Біодрук все ще знаходиться в стадії розробки та має багато етапів, які потрібно пройти перед тим, як увійти в клінічний світ, особливо як застосування безпосередньо *in situ*. З цього короткого огляду зроблено висновок, що різні програми вимагають різних технік виготовлення, залежно від необхідної роздільної здатності, швидкості, вартості, можливості вертикального друку тощо. Майбутні розробки зараз зосереджені на поєднанні прийомів роботи в доповненнях для оптимізації процесу створення тканинних імітуючих структур.

## ПЕРЕЛІК ПОСИЛАНЬ

- [1] Миронов В. О. Вслед за создателем технологии биопринтинга. Журнал «Наука из первых рук». – 2013. – ст.2
- [2] Ibrahim T. Ozbolat. 3D Bioprinting: Fundamentals, Principles and Applications.- 2016.- ст. 126-262
- [3] Murphy S.V., Atala A. 3D bioprinting of tissues and organs. Nat. Biotechnol. 2014;773–785.
- [4] Željka P. Kačarević, Patrick M. Rider. An Introduction to 3D Bioprinting: Possibilities, Challenges and Future Aspects.2018;1-40.
- [5] Ng, W. L., Wang, S., Yeong, W. Y., & Naing, M. W. (2016). Skin Bioprinting: Impending Reality or Fantasy? Trends in Biotechnology, 689–699.
- [6] Tasoglu, S., & Demirci, U. (2013). Bioprinting for stem cell research. Trends in Biotechnology, 10–19.
- [7] MacNeil, S. (2007). Progress and opportunities for tissue-engineered skin. Nature, 874–880.
- [8] Mandrycky C, Wang Z, Kim K, Kim DH. 3D bioprinting for engineering complex tissues. Biotechnol Adv. 2015;22–34.
- [9] Koch L, Deiwick A, Schlie S, Michael S, Gruene M, Coger V, et al. Skin tissue generation by laser cell printing. Biotechnol Bioeng. 2012;55–63.
- [10] Malkoc V. Challenges and the Future of 3D Bioprinting. [accessed on 28 March 2018]; Available online: <http://www.alliedacademies.org/articles/challenges-and-the-future-of-3d-bioprinting.pdf>.
- [11] Авдеенко Г.Ю., Галкина А.В. Биопринтеры в медицине. Український медичний альманах, том 16, № 2. – 2013. - ст. 7-8

УДК 004.386.6

# ВИДЫ БИОПРИНТЕРОВ ДЛЯ ПЕЧАТИ ОРГАНОВ

*Кулявец В.Р.*

vika.kulyavets@gmail.com

*Беспалова Е.Я.*, доц., к.б.н., с.н.с.

bespalova25.05@gmail.com

Кафедра БМИ, ФБМИ

Национальный технический университет Украины

«Киевский политехнический институт имени Игоря Сикорского»

Киев, Украина

**Реферат** - 3D биопечать это новая революционная отрасль регенеративной медицины. Биопечать можно определить как послойное формирование объекта с различных биоматериалов (живых клеток) на основе предварительно созданной компьютерной модели. На сегодняшний день выработка трехмерных структур, нагруженных клетками, для имитации телесных тканей играет важную роль не только в инженерии тканей, но и в исследовании доставки лекарств и раковых исследований. Недостаток доноров серьезная медицинская проблема, при том тенденция такова что доноров становится все меньше, а пациентов, нуждающихся в донорских органах все больше. Поскольку биопечать имеет большой потенциал, чтобы решить такие глобальные вопросы как трансплантология, эксперименты на животных, использование экспериментальных лекарств для наблюдения, то есть важным рассмотрением этой темы.

В этом кратком обзоре определяются и сравниваются различные методы изготовления биологических структур: лазерный биопринтинг, струйный биопринтинг и биопечать на основе экструзии. Определяются преимущества и проблемы каждой методики, а также принцип работы каждой методики по отношению к различным состояниям биочернил.

Было установлено, что эти три метода имеют различное влияние на жизнеспособность клеток, разрешение и точность печати. Кроме того, на выбор материалов и их концентрацию также влиял выбор биоприINTER. Каждая методика продемонстрировала индивидуальные преимущества и недостатки.

**Ключевые слова** - 3D-биопринтинг, биоприINTER, экструзия, сопло, клетки, биочернила, разрешение, скорость осаждения, струйный биоприINTER, лазерный биоприINTER.

UDC 004.386.6

# TYPES OF BIOPRINTERS FOR PRINTING ORGANS

*Kulyavets V.R.*

vika.kulyavets@gmail.com

*Bespalova O.Y.*, Assoc., Candidate of Science, Ph.D.

bespalova25.05@gmail.com

Department of BMI, FBMI

National Technical University of Ukraine

«Igor Sikorsky Kyiv Polytechnic Institute»

Kyiv, Ukraine

**Abstract** - 3D bioprinting is a new revolutionary field of regenerative medicine. Bioprinting can be defined as a layer-by-layer formation of an object made of different biomaterials (living cells) based on a pre-created computer model. To date, the development of three-dimensional structures loaded with cells for imitation of body tissue plays an important role not only in tissue engineering but also in drug delivery research and cancer research. The lack of donors is a serious medical problem, with the trend of donors becoming smaller and the number of patients in need of donor organs increasing. As bioprinting has great potential to address such global issues as transplantation, animal experiments, the use of experimental drugs for surveillance, it is important to consider this topic.

In this brief overview, different methods of manufacturing biological structures are identified and compared: laser bioprinting, inkjet-based bioprinting, and extrusion-based bioprinting. The advantages and problems of each technique are determined, as well as the principle of operation of each technique for different states of bio-ink.

These three methods have been found to have different effects on cell viability, resolution and print accuracy. In addition, the choice of materials and their concentration was also influenced by the choice of bioprinters. Each technique demonstrated individual advantages and disadvantages.

**Keywords** - 3D bioprinting, bioprinter, extrusion, nozzle, cells, bioblock, resolution, deposition rate, inkjet-based bioprinter, laser bioprinter.