

**АГЛЯДЫ**  
**REVIEWS**УДК 577.241  
<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2022-67-1-114-126>Поступила в редакцию 22.07.2021  
Received 22.07.2021**И. Д. Вологовский, С. В. Пинчук***Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь***ТРЕХМЕРНАЯ 3D-БИОПЕЧАТЬ: ОСНОВЫ ТЕХНОЛОГИИ  
И ЕЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ В ИНТЕРЕСАХ БИОЛОГИИ И МЕДИЦИНЫ**

**Аннотация.** Настоящий обзор посвящен одной из актуальных проблем современной биологии и медицины, свидетелями бурного развития которых мы являемся. Представлена информация о сущности метода 3D-печати, оборудовании, используемом для изготовления трехмерных биопродуктов, и природе расходных материалов – биочернил, наполнителей и клеток, которые в ходе биопечати превращаются в трехмерный продукт, характеризующийся жизнеспособностью и экспрессией специфических маркерных факторов соответствующих тканей и органов. Особый акцент сделан на перспективах использования при биопечати стволовых клеток наряду с самыми разнообразными клетками тканей и органов. Дано описание методов 3D-печати – струйного, экструзионного и лазерного и рассмотрены преимущества и недостатки каждого из них. Подробно описываются биочернила, их состав, использование в различных технологиях биопечати и стратегия подбора носителей и клеточного состава биочернил, определяющих жизнеспособность трехмерных структур и возможность их применения в клинической практике. Приводится краткий перечень достижений в области биопечати различных тканей организма и дается характеристика получаемых биопродуктов. Отмечаются значительный прогресс и перспективность исследований в данной области.

**Ключевые слова:** стволовые клетки, биопечать, биочернила, регенеративная медицина, тканевая инженерия, «ниша» стволовых клеток, трехмерные продукты биопечати

**Для цитирования:** Вологовский, И. Д. Трехмерная 3D-биопечать: основы технологии и ее использование в интересах биологии и медицины / И. Д. Вологовский, С. В. Пинчук // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. биол. наук. – 2022. – Т. 67, № 1. – С. 114–126. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2022-67-1-114-126>

**Igor D. Volotovskii, Sergei V. Pinchuk***Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus***THREE-DIMENSIONAL 3D-BIOPRINTING: THE BASIS OF TECHNOLOGY  
AND ITS APPLICATION IN THE INTERESTS OF BIOLOGY AND MEDICINE**

**Abstract.** This review is devoted to one of the actual problem of modern biology and medicine, we are witnessing. The text provides information on 3D printing method, equipment that is used to manufacture of three-dimensional bioproducts and the nature of the consumable materials – bioinks, fillers and cells which during printing transform into three-dimensional bioproduct characterized by vitality and expression of specific marker factors of corresponding tissues and organs. Special emphasis in this review is made on prospects of use of stem cells which are along with a variety of cells of tissues and organs have found application in bioprinting. Three methods of bioprinting: inkjet, extrusion and laser are described. Advantages and disadvantages of each method are discussed. Bioinks, their properties applicability to various printing technologies and strategy selection of bioink and cell composition defining viability of three-dimensional structures and possibility of their application in clinical praxis are detailly described. Short list of achievements in the field of bioprinting of various organism tissues and the characteristics of the bioproducts obtained are given. Significant progress and promising research in the field of 3D bioprinting are marked.

**Keywords:** pluripotent stem cells, bioprinting, biomaterials, bioinks, regenerative medicine, tissue engineering, stem cell “niche”, three-dimensional products of bioprinting

**For citation:** Volotovskii I. D., Pinchuk S. V. Three-dimensional 3D-bioprinting: the basis of technology and its application in the interests of biology and medicine. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2022, vol. 67, no. 1, pp. 114–126 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2022-67-1-114-126>

Тканевая інженерія прадполагае стварэнне адзінага комплексу біоматэрыялаў – розных носьбітаў (матрыц, каркасаў або скаффолдаў), клетак і рэгуляторных біомалекул – з мэтай востановлення, захавання або ўлучнення структуры павяржэнных тканей і нават органаў [1, 2].

Стратэгічнасць працэсу тканевай інженеріі пачынаецца з падбору складанага носьбіта, пасля чаго следуе ўвядзенне ў яго клетак. Варыянтаў для біопечаті ўсё два: пачатковае ўнесенне ў склад носьбітаў клетак розных тыпаў у якасць асновы будучай ткані і ўнесенне ствалоўных клетак з іх далейшай праліферацыяй і дыферэнцыроўкай у неабходныя клеточныя тыпы. Клеткі, выбраныя для біопечаті, павінны максімальна ўспраізвадзіць естэсвеннае фізіялагічнае становішча клетак *in vivo* і захоўваць свае ўласцівасці ў аптымальных умовах. Для аптымізацыі тканевай інженеріі іспользаваныя носьбіты павінны быць дастаткова простымі, а ўносімыя ў іх клеткі павінны захоўваць сваю структуру і функцыянальную жыццеспасобнасць у тэчэнне дастаткова доўгага часу. Інымі словамі, у біокомплексе павінны быць створаны спецыфічныя «нішы», характэрныя мікраархітэктурой, якая забяспечвае падтрыманне структурна-механічных уласцівасцей комплексу, дастатковае паступленне пажыўных рэчываў да клетак, іх інтэграцыю з мішэнню з мэтай яе рэканструіравання і адпаведныя характэрыстыкі набухання і краткасрочнай стабільнасці.

Сучасная 3D-печать забяспечвае эфектыўную зборку пералічаных кампанентаў у канчатковы біоклеточны прадукт пры ўмове правільнага падбору біоматэрыялаў, тэхнікі печаті і метадаў даставкі клетак. 3D-прінтэры ствараюць складаныя мадэльныя структуры з вызначаным прастранственым размяшчэннем кампанентаў, захаваннем клеточных функцый і іх жыццеспасобнасці. Так як напечатаныя з дапамогай 3D-тэхналогій ткані развіваюцца *in vivo*, іх тканевыя структуры (поры, каналы і сеткі) не павінны быць падвержаны калапсу і павінны мець здольнасць да рэмадэліравання, аблегчаючы фарміраванне структур, знаходзяцца пад клеточным і арганізмамным кантролем.

Працэс печаті базіруецца на двух важных складавых: біочэрніле – матэрыяле, выконваючым ролю экстрацэлюлярынага матрыкса, падтрымліваючага клеточную адгезію, праліферацыю і дыферэнцыроўку, і біобумаге. Звычайна клеткі перад печатню дыспергуюцца ў біочэрнілах, зробленых з гідрагеля.

Біобумага – гэта субстрат, дзякуючы структурнай аснове якога ў выніку біопечаті з іспользаваннем біочэрнілаў дэпоніруюцца клеткі, якія з'яўляюцца асновай спецыфічнай мадэльнай біоструктуры [3, 4].

Для зборкі «ткані на блюде» прымяняюць і так званую 2D-струйную печатню, з дапамогай якой могуць быць створаны *in vitro* такія біоструктуры, як кожа і нервовая ткань. Пры гэтым у рамках метадаў стварэння многаслойных структур, такіх, напрыклад, 3D-блотцінга, іспользуюцца як сінтэтычныя біадаградуемыя, так і естэсвенныя прыродныя полімеры. Пры стварэнні біочэрнілаў у якасць другога ключавога кампанента прымяняюцца самыя розныя клеткі [5, 6].

**Характэрыстыка расходных матэрыялаў, прымяняемых пры 3D-біопечаті.** Пачаткова тэхналогіі 3D-печаті былі разробнены для тэхнічнага прымянення, не звязанага з біялогіяй (асаждзенне металлаў, зробленне керамікі і термопластычных полімерных матэрыялаў з іспользаваннем арганічных растваральнікаў, высокіх тэмператур і розных давак, якія несумяшчальныя з жывымі клеткамі і біялагічнымі структурамі). Такім чынам, адной з асноўных задач у галіне 3D-біопечаті быў пошук матэрыялаў, якія не толькі сумяшчальныя з біялагічнымі структурамі і працэсам печаті, але і забяспечваюць неабходныя механічныя і функцыянальныя ўласцівасці тканевых сістэм. Такія матэрыялы былі падобраны, і яны атрымалі назву біочэрнілаў.

**Біочэрніла.** У склад біочэрнілаў уваходзяць гідрагелевы раствор і клеткі. Молекулы гідрагеляў не толькі кантактуюць з клеткамі, але і вызначаюць іх многія ўласцівасці. Іспользуюцца гідрагелі двух тыпаў – натуральныя і сінтэтычныя. К першым адносяцца полімеры, якія з'яўляюцца естэсвеннымі кампанентамі экстрацэлюлярынага матрыкса (жэлатін, калаген, ламінін, фібронекцін), а такія ж прыродныя полімеры, як альгінат, хітозан і фіброін шёлка. Сінтэтычных полімераў, іспользуемых у біочэрнілах, вельмі многа, а іх ўласцівасці не толькі добра кантралюемы, але і іх можна праграмаваць пры сінтэзе гэтых злучэнняў [5, 7].

В составе идеальной 3D-конструкции клетки способны пролиферировать и мигрировать, как это имеет место в функционирующей ткани. Микроокружение в «нише», формирующееся в составе биочернил, выступает в роли ключевого фактора, определяющего «судьбу» клетки, как это следует из основных представлений биологии развития. Экстрацеллюлярный клеточный матрикс обеспечивает механические и химические условия самосборки биоконструкта *in vitro*. Чаще всего, как уже указывалось, в качестве биочернил используют гидрогели, благодаря которым клетки могут адгезировать и расти.

В работах В. И. Куликовской с сотр. [8–10], проведенных совместно с Институтом биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, изучены различные полимерные многослойные пленки на основе отрицательно заряженных (пектин, сульфат декстрана, карбоксиметилцеллюлоза) и положительно заряженных (полисахарид хитозан и синтетический полиэлектролит (полиэтиленмин)) полимеров, а также получены тонкие пленки из поли-L-молочной кислоты, которые эффективно адсорбировали стволовые клетки.

Еще одним подходом является использование альгинатов с добавками других гелевых соединений, например желатина [11, 12]. В этой смеси мезенхимальные стволовые клетки (МСК) сохраняли высокую жизнеспособность (до 85 %) в течение 3 дней после внесения в культуру. Другие биочернила с уникальными свойствами термогеллинга, включая карбоксиметилированную агарозу, позволяют изготавливать скаффолды с заданными механическими свойствами, т. е. воспроизводить естественные механические свойства функционирующей ткани. Пептидные биочернила, содержащие в своем составе лизиновые гексапептиды, самособираются в стабильные наноматричные трехмерные гидрогели, обладающие высокой жесткостью, которые, кстати, биосовместимы с МСК.

Говоря о биосовместимости биочернил и клеток, следует отметить следующее. Биосовместимость для процесса биопечати означает активный и контролируемый вклад компонентов в функциональное состояние всей конструкции. Это может проявляться во взаимодействии с тканями организма или иммунной системой, в поддержании необходимой клеточной активности и позитивном воздействии биочернил на молекулярные или механические сигнальные системы. Эти моменты крайне важны для последующего использования полученных продуктов в составе организма или отдельных органов.

Большинство биочернил по своим свойствам гидрофильны. Однако разработаны и гидрофобные биочернила. Так, нашли применение жидкие гидрофобные биочернила на основе перфтортрибутиламина, формирующие в 3D-конструкцию типа экстрацеллюлярного клеточного матрикса, в котором клетки хорошо пролиферируют [13].

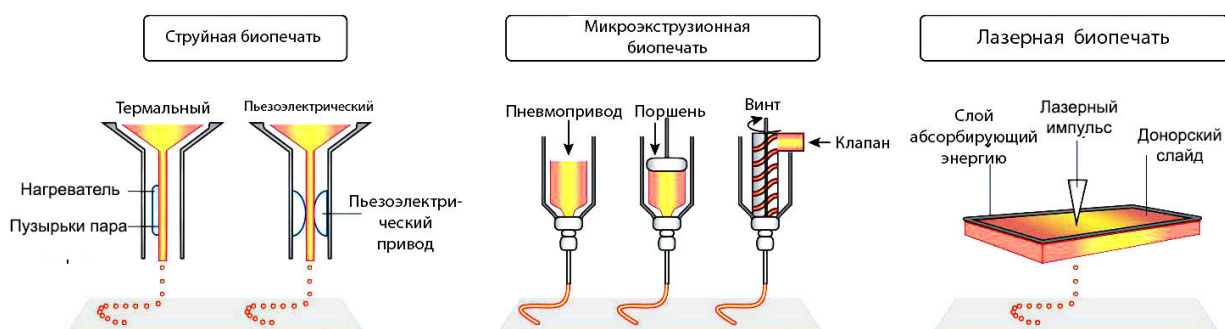
Подводя итог изложенному выше, следует отметить, что биочернила должны обладать рядом ключевых свойств, а именно пригодностью к печати и образованию в своей структуре поперечных связей (сшивок), а после полимеризации им должны быть свойственны достаточные механические свойства, обеспечивающие связь клеток с матрицей, их пролиферативную активность и способность к дифференцировке. Кроме того, биочернила должны обладать биосовместимостью, т. е. клетки в их составе должны сохранять способность к собственным им специфическим ответам, а биочернила не должны оказывать на клетки деградирующее, инактивирующее действие. Более того, эти ожидаемые негативные свойства должны быть контролируемыми.

**Клетки.** Для использования в биопечати различных клеток имеются широкие возможности. Применяются практически все типы соматических клеток, из которых построены ткани и органы, и прогениторные (стволовые клетки), которым еще предстоит стать соматическими. Для того чтобы сформировать миметические ткани или органы на макроуровне, клетки, используемые в биопечати, должны пролиферировать в составе биопечатного комплекса. При этом учитываются два важных обстоятельства: первое – насколько клетки в биочернилах по своим свойствам близки к физиологическому состоянию тех же клеток *in vivo*, второе – в какой степени и как долго клетки могут сохранять или изменять свойственные им *in vivo* функции. Искусственные ткани обычно создаются на основе обычных клеток и клеток поддержки или прогениторных клеток (стволовых клеток), способных к дифференцировке. Если речь идет об обычных клетках, то биопечать сталкивается с большими трудностями. Различные типы клеток, вводимые в один

и тот же гидрогель, должны печататься параллельно, т. е. для каждой печати нужно изготавливать свои биочернила. В таком случае контроль стадий принтинга в реальном времени естественным образом усложняется. Со стволовыми клетками свои проблемы. Хотя количество биочернил для каждого печатного события минимизируется, в чернила нужно добавлять гормоны роста или другие биоактивные сигнальные молекулы – стимуляторы дифференцировки. Проблемы возникают и с напечатанным продуктом. Подобранные факторы дифференцировки должны гарантировать протекание основного процесса дифференцировки и не оказывать никаких побочных эффектов, например изменения ее направления. А это бывает не всегда. Тем не менее, очевидно, что клетки для биопечати должны соответствовать самым высоким критериям чистоты и к биопечати практически непригодны те из них, которые после повреждения практически не регенерируют (например, кардиомиоциты).

**Техника биопечати.** На сегодняшний день, поскольку не существует единой техники биопечати, которая обеспечивала бы создание синтетических тканей всех уровней сложности, используют три технических типа биопечати – струйную, лазерную и микроэкструзионную (вытеснительную).

**Струйная биопечать.** Струйные принтеры были первыми устройствами, предназначенными для биопечати. Биочернила (гидрогель и клетки) помещаются в особую емкость – картридж, связанный с головкой прибора, через сопло которого биочернила поступают наружу на биобумагу. По сути дела, они представляют собой модифицированные версии обычных двухмерных струйных принтеров, заправляемых тонером. Просто тонер в картриджах струйного принтера заменен биологическим материалом, а бумага – управляемым электроникой поддоном, контролируемым положением печатающей головки. Головка в ходе биопечати находится под температурным или пьезоэлектрическим контролем специальных устройств, с помощью которых в канале головки под влиянием высокой температуры биочернила преобразуются в капли определенного (контролируемого) размера и выталкиваются из сопла. Нагревание биочернил в головке настолько краткосрочно, что это никак не сказывается на свойствах живых клеток. Для распыления жидкости на мелкие капли в головку встраивается пьезоэлектрический кристалл, который создает внутри ее звуковую волну с определенной частотой. Под напряжением пьезоэлектрический кристалл мгновенно меняет форму, создавая давление, необходимое для выбрасывания капель из сопла. Достоинствами струйного метода являются дешевизна самого прибора и высокая скорость печати. Благодаря нескольким головкам можно проводить параллельную печать при сохранении высокой (от 80 до 90 %) жизнеспособности клеток (см. рисунок) [14].



Схематическое представление принципов устройства и работы различных 3D-биопринтеров [14]

Schematic representation of device principles and operation of various 3D bioprinters [14]

Еще одним преимуществом струйных биопринтеров является их способность создавать градиент концентрации клеток, тканей или факторов роста по всей площади 3D-структуры посредством изменения размеров и плотности капель. Вместе с тем головки представляют собой микроэлектромеханические системы термального и пьезоэлектрического воздействия, вследствие которого в области сопла при его открытии имеют место небольшие деформации, вызывающие образование в биочернилах пузырьков. Через сопло не проходят биочернила с высокой вязко-



стью (т. е. содержащие большое количество клеток), поэтому оно часто засоряется. Кроме того, клетки постепенно оседают в картридже и закупоривают сопло. Чтобы уйти от этой проблемы, сконструированы новые биопринтеры, в головку которых встроен особый сканнер с диспенсером. И наконец, в картриджи первых струйных биопринтеров ввиду их небольшого объема можно было загрузить лишь небольшое количество биочернил, что явно препятствовало проведению продолжительных экспериментов. Реконструкция струйных принтеров проводилась и в этом направлении. Тем не менее для первых струйных принтеров было характерно разрешение между каплями в 10 мкм, а объем отдельной капли составлял порядка 20 пл. Так как размер капель и частота их выброса в струйном принтере контролируются электроникой, объем капель составляет от 1 до 300 пл, а частота подачи – от 1 до 10 000 капель в секунду. На выходе из капель формируются линейные структуры шириной 50 мкм, каждая из которых содержит по одной-две клетки.

**Лазерная биопечать.** Лазерная биопечать, или, точнее говоря, лазер-опосредованная биопечать (laser-assisted bioprinting), возникшая почти одновременно с бумом в области лазерных технологий, основана на принципах прямого лазер-индуцированного переноса, впервые разработанного для металлов. Впоследствии она была успешно применена для биологического материала – пептидов, ДНК и клеток [15]. Типичное лазерное устройство состоит из импульсного лазерного источника, фокусирующей системы, «ленты», изготовленной, как правило, из стекла, покрытого лазер-поглощающим слоем (например, частицами золота или титана) и слоем биологического материала (например, клетками и/или гидрогелем), приготовленного в виде жидкого раствора, и принимающего субстрата перед лентой.

Итак, ключевая часть лазерного биопринтера (см. рисунок) – это так называемый донорский слой, который чувствителен к лазерному облучению. При печати лазерные импульсы стимулируют исчезающе малые участки поглощающего слоя. Под влиянием лазерного воздействия участок донорского слоя вскипает, создавая в слое пузырек с высоким давлением внутри на интерфейсе со слоем биочернил. Затем пузырек продвигается в объеме биочернила. Падающие капли собираются в субстратном слое и сшиваются между собой. По сути дела, это бесконтактная печать, не вызывающая у клеток механического стресса, способного привести к большой вариабельности состояний в клеточном пуле.

Разрешение лазерной биопечати зависит от многих факторов, в том числе от плотности лазерного потока (энергии, приходящейся на единицу площади), поверхностного натяжения, смачиваемости подложки, воздушного зазора между лентой и субстратом, а также толщины и вязкости биологического слоя. Поскольку в лазерной биопечати не используется насадка-сопло, удастся избежать засорения конечного продукта клетками или материалом. Лазерная биопечать совместима с жидкостями различной вязкости (1–300 мПа/с) и может печатать клетки млекопитающих, практически не влияя на их жизнеспособность и функциональную активность. При этом технология с использованием лазера с частотой импульсов 5 кГц и скоростью до 1600 мм/с обеспечивает плотность клеток в конечном продукте до  $10^8$  кл/мл с разрешением 1 клетка на каплю. Однако, несмотря на ряд преимуществ, лазерная биопечать создает и некоторые трудности, связанные с низкой скоростью гелеобразования, что приводит к относительно низкой скорости потока в целом. Для каждого из печатаемых типов клеток или гидрогеля требуется индивидуальная лента, что отнимает много времени, если несколько типов клеток и/или материалов должны быть расположены вместе. Наконец, в конечной биопечатной продукции присутствуют металлические остатки вследствие испарения металлического лазер-поглощающего слоя во время печати. Избежать этого загрязнения можно, используя неметаллические поглощающие слои и модифицируя процесс печати.

К сожалению, лазерные системы для биопечати оказались очень дорогими, и это явилось серьезным сдерживающим фактором их применения на практике. Высокая стоимость лазерных систем стала ощутимой проблемой для исследований в области тканевой инженерии, хотя, как это часто бывает, с развитием лазерных технологий эта стоимость может быстро снижаться.

**Микроэкструзионная биопечать.** Микроэкструзионная (или экструзионная) печать является модификацией струйной. Микроэкструзионные биопринтеры обычно состоят из нагревательного элемента, системы подачи, одного или двух предметных столиков, способных двигаться по

осям  $x$ ,  $y$  и  $z$ , оптоволоконного источника света для освещения области печати и/или для фотоактивации, видеокамеры для  $x$ - $y$ - $z$  команд и контроля, а также пьезоэлектрического увлажнителя (см. рисунок). В некоторых системах для ускорения серийной печати ряда заготовок используется несколько печатных головок. Поскольку печать на струйных принтерах с использованием вязких биочернил невозможна, для преодоления этого недостатка в головку экструзионного принтера встроен воздушный насос или винтовой поршень, чтобы проталкивать биочернила через сопло. Используя постоянное давление на биочернила, принтер печатает непрерывные полосы, а не отдельные капли. Множество материалов совместимы с микроэкструдорами, включая гидрогели, многие полимеры и клетки-сфероиды. Следовательно, почти все типы гидрогелей – предшественников полимеров различной вязкости, так же как и клеточные агрегаты с высокой клеточной плотностью, могут печататься экструзионными принтерами. При печати большого количества биопродуктов эти принтеры могут оказывать сильное механическое воздействие на капсулированные клетки, что, по-видимому, влияет на жизнеспособность последних. Механическая система подачи дает более точный контроль над потоком материала, так как в пневматических системах имеет место задержка выхода сжатого газа. Пневматические принтеры обладают важным преимуществом, заключающемся в простоте системы подачи материала, а их мощность ограничена лишь силой давления воздуха в системе. Механические системы содержат встроенные сложные устройства небольших размеров, позволяющие осуществлять точный пространственный контроль, правда, в ущерб максимальной мощности.

Жизнеспособность клеток после микроэкструзионной биопечати более низкая, чем при струйной биопечати; частота выживания клеток находится в пределах 40–86 % и уменьшается с увеличением давления экструдора и калибра сопла. Уменьшение жизнеспособности клеток в биочерниле в ходе микроэкструзии, вероятнее всего, является результатом стресса клеток при их движении в вязких жидкостях. Возможно, давление в системе подачи может оказывать более существенное влияние на жизнеспособность клеток, чем диаметр сопла. Хотя жизнеспособность клеток может поддерживаться при помощи низких давлений и применения сопел широких размеров, недостатком этих биопринтеров является сильная потеря разрешающей способности и скорости печати. Небиологические микроэкструзоры способны печатать с разрешением 5–200 мкм при скорости в 10–50 мкм/с.

Т а б л и ц а 1. Характеристики струйного, экструзионного и лазерного 3D-биопринтеров [14]

T a b l e 1. Characteristics of inkjet, exstrusion and laser 3D bioprinters [14]

Характеристика	Струйный биопринтер	Экструзионный биопринтер	Лазерный биопринтер
Стоимость	Низкая	Умеренная	Высокая
Жизнеспособность клеток, %	>85	40–80	>95
Скорость печати	Высокая	Низкая	Средняя
Поддерживающая вязкость биочернил	3,5–12 мПа/с	От 30 до $6 \cdot 10^7$ мПа/с	От 1 до 100 мПа/с
Разрешение	Высокое	Умеренное	Высокое
Качество вертикальной структуры	Низкое	Хорошее	Среднее
Плотность клеток	Низкая ( $<10^6$ клеток/мл)	Высокая (клеточные сфероиды)	Средняя ( $<10^8$ клеток/мл)
Наиболее подходящий материал для биочернил	Альгинат, наночастицы полиэтиленгликольдиметакрилата (PEDGMA), коллаген	Альгинат, гельМА, коллаген	Коллаген, матригель
Опубликованные примеры использования	Тканевая инженерия (кровеносные сосуды, костная ткань, хрящевая ткань, нейроны)	Тканевая инженерия (кровеносные сосуды, костная ткань, хрящевая ткань, нейроны, мышцы, опухоли) Контролируемый выброс биомолекул, чипированные органы	Тканевая инженерия (кровеносные сосуды, костная ткань, кожа, жировая ткань)

Достижимы ли эти параметры биопечати при сохранении жизнеспособности клеток и их функционального состояния? Ответ на этот вопрос должен быть получен в ближайшем будущем. Работы в этом направлении ведутся, так как достижение физиологической плотности клеток в тканеинженерных системах – основная задача биопечати. Нередко при микроэкструзионной биопечати 3D-тканей используются биочернила, практически состоящие из клеток сфероидов. При биопечати сфероиды накладываются друг на друга и самоорганизуются в необходимую 3D-структуру.

Микроэкструзионные биопринтеры использовались для создания многих типов тканей, включая клапаны аорты, разветвленные сосудистые системы и модели фармакокинетики *in vitro*, а также модели опухолей. Хотя на изготовление сложных объектов с высоким разрешением может уходить много времени, данная технология позволяет создавать макроткани, применимые в клинической практике, или микроткани для экспериментальной работы.

В табл. 1 приведены характеристики описанных выше типов 3D-печати, анализ которых позволяет сделать вывод о предпочтительности того или иного ее типа для решения конкретных задач, стоящих перед биологией и медициной.

**Примеры практического применения биопечати.** Биопечать позволяет комбинировать клетки с различающимися по своей природе, натуральными или синтетическими биочернилами, создавать каркасные (скаффолды) и бескаркасные конструкции. Для этого используют различные клетки – недифференцированные стволовые клетки и дифференцированные соматические клетки тканей и органов. Выбор клеток для 3D-биопечати тканей или органов – важнейшее условие их правильного функционирования в напечатанном материале. В организме ткани и органы состоят из многочисленных (порядка 200) типов клеток с особыми и необходимыми биологическими свойствами, которые должны быть воспроизведены и в трансплантируемой ткани. К тому же кроме основного функционирующего типа клеток каждая ткань содержит клетки, обеспечивающие опорную, структурную и барьерную функции, которые необходимы для васкуляризации или создания оптимальной микросреды для дифференцировки резидентных стволовых клеток. В табл. 2 приведены примеры биопечати различных тканей.

Т а б л и ц а 2. Примеры напечатанных тканей [14]

Table 2. Examples of bioprinted tissues [14]

Ткань	Источник клеток	Материалы биочернил	Метод биопечати
Кровеносные сосуды	Гладкомышечные клетки Клетки аортальных клапанов Эндотелиальные клетки вен Эндотелиальные клетки сердца	Углеродные трубки и альгинат Желатин и альгинат Полиэтиленгликоль Альгинат	Экструзионный Экструзионный Экструзионный Экструзионный
Костная ткань	Остеобласты мыши Остеопрогениторные клетки человека	Наногидроксиапатит Наногидроксиапатит	Струйный Лазерный
Хрящевая ткань	Хрящевые клетки Хондроциты и МСК	Поликапролактан Гидрогель на основе фибрина и коллагена	Струйный Экструзионный
Нервная ткань	Стволовые клетки костного мозга, эмбриональные стволовые клетки	Коллаген и агароза Наногидроксиапатит	Экструзионный Струйный
Скелетная мускулатура	Миобласты мыши	Полиуретан и PCL техника	Экструзионный
Жировая ткань	МСК жировой ткани	Альгинат	Лазерный

**Жировая ткань.** Данная ткань выполняет в организме роль депо липидов и жира и содержит по сравнению с другими тканями достаточно большое количество МСК. Полученный при 3D-печати с использованием МСК продукт точно имитировал архитектуру натуральной жировой ткани. Он был создан с помощью лазерной биопечати с использованием МСК из жировой ткани и биочернил, представляющих собой смесь альгината и сыворотки крови [16]. Ткань хранилась без изменений в течение 21 дня. В ней синтезировались липиды и экспрессировались адипогенные маркеры LPL, aP2 и PPAR- $\gamma$ 2.

**Кровеносные сосуды.** Кровеносная сосудистая сеть обеспечивает транспорт кислорода, питательных веществ, а также удаление отходов метаболизма из тканей. Поэтому создание в систе-

мах биопечати сети васкуляризации имеет принципиальное значение для поддержания жизнедеятельности и минимизации гипоксии в трансплантируемых тканях и органах. Решение данной задачи при биопечати часто сталкивается с непреодолимыми трудностями, связанными в первую очередь с отсутствием соответствия между длиной отдельных сосудов и временными характеристиками доставки кислорода в систему, что в конечном счете приводит к кислородному голоданию и некрозу печатного продукта [12]. Причина кроется чаще всего в лабильности биочернил. Манипулируя носителями, все же удалось получить неплохие результаты. Так, например, применяя силикон и желатин метакрилат, удалось получить в конструкции 100 мкм каналы. В других опытах в полученной искусственной ткани обнаруживались каналы длиной в 1 см, перфузия через которые сохранялась в течение 6 недель. Успешным оказалось и добавление к чернилам тромбина и фибриногена, что способствовало образованию экстрацеллюлярного внутриклеточного матрикса и, как следствие, формированию разнообразной геометрии сосудов [12].

**Костная ткань.** Костная ткань включает в себя остециты, остеобласты и остеокласты, образующие кортикальный (наружный) и губчатый (внутренний) слои кости, межклеточный матрикс и минеральные соединения. На взаимодействии между этими структурными компонентами базируются созревание, дифференцировка, ремоделирование и резорбция костной ткани. Эндостом разделяет кортикальный и губчатый слои друг от друга с помощью надкостницы, покрывающей наружную поверхность. Постеродовая кость формирует свои механические свойства через обновление и ремоделирование. 3D-биопечать решает основную задачу – создание нового каркаса (скаффолда) с инкорпорированными в него клетками и факторами роста с сохранением пространственно-временной диффузии [12]. Например, струйная печать копирует костный морфогенетический белок на поверхности фибрина, направляя стволовые клетки в костную ткань. Чрезвычайно важной представляется структура биочернил. Так, Венц с сотр. [12] использовали полимерные биочернила на основе метакрилата желатина и метакрилата гиалуроновой кислоты с частицами гидроксиапатита. С помощью микроэкструзионного биопринтера авторы получили структуры, которые ремоделировались в костный матрикс. В другой работе было показано, что при биопринтинге МСК жировой ткани распределяются внутри 3D-структуры костной ткани. Данная структура характеризовалась высокой жизнеспособностью клеточных компонентов на фоне формирования костного матрикса.

**Хрящевая ткань.** Хрящевая ткань – это разновидность опорно-трофических тканей, состоящих из хрящевых клеток и плотного межклеточного матрикса. Хрящевая ткань выполняет механическую функцию, покрывая суставные поверхности, осуществляет амортизацию и перераспределение сил сжатия и растяжения в суставах, повышает их устойчивость к износу. Хрящевая ткань обладает ограниченной регенеративной способностью, что часто требует длительного времени для восстановления, и подвержена воспалительным изменениям и травматизму, приводящим к протезированию [17]. 3D-печать позволяет создавать хрящевые трансплантаты, отличающиеся точной пространственной геометрией [10]. В опытах использовали прогениторные клетки, выделенные из хрящевой ткани, МСК и хондроциты с желатинметакрилатом в качестве носителя. Трансплантаты наблюдались в течение 56 дней. Судя по содержанию в образцах гликозоаминогликана, все типы клеток претерпевали хондрогенную дифференцировку, причем МСК превращались в основном в хондроциты. Гидрогель в биочернилах стимулировал образование в образцах типичного для хрящевой ткани экстрацеллюлярного клеточного матрикса и синтез специфических коллагена II и агрекана. Кроме желатинметакрилата в биочернила добавляли сульфат метакрилатхондроитина и альгинат, образующие  $\text{Ca}^{2+}$ -сшивки. При этом время экструзии при биопечати сокращалось, а гидрогелевая основа биочернил стабилизировалась. Через несколько дней альгинат в конструкции разрушался, а  $\text{Ca}^{2+}$ -зависимые сшивки между компонентами оставались без изменения [17].

**Миокард и сердечные клапаны.** Сердечно-сосудистые заболевания, несмотря на последние успехи в области кардиологии и кардиохирургии, остаются главной причиной смертности. Инфаркт миокарда – наиболее частая причина сердечной недостаточности – происходит в результате образования бляшек в артериях и венах, блокирующих кровотоки, снабжающий сердеч-



ную ткань кислородом и питательными веществами, что и приводит к ишемии и гибели кардиомиоцитов. Поскольку кардиомиоциты практически не обладают регенеративной способностью, в области инфаркта образуется соединительнотканый рубец. На фоне трансплантации сердца, введения в систему кровеносных сосудов стентов и даже прямых инъекций кардиомиоцитов в очаг поражения все большее внимание привлекают работы в области биопечати кардиальных трансплантатов. Чаще всего в качестве натуральных гидрогелей для нужд кардиальной тканевой регенерации используются коллаген, фибрин и матригель, а среди синтетических – полиэтиленгликоль, полиакриламид и поли-2-гидроксиэтилметакрилат. Преимуществом обоих типов гидрогелей является возможность их смешивания в различных пропорциях.

Продуктом 3D-биопечати являются так называемые кардиальные фрагменты – скаффолды, пропитанные жизнеспособными клетками, которые обычно имплантируются *in vivo* в пораженную область сердца. Данные фрагменты представляют собой пластинки из связанных между собой клеток или суспензию клеток в скаффолде, которая сходна с экстрацеллюлярным клеточным матриксом. Через несколько недель после имплантации полые фибриновые трубки с неонатальными кардиомиоцитами проявляют нормальные кардиальные функции. По сведениям Хуанга с соавт., фибриновые трубки сохраняют свою контрактильность до 2 мес. [14]. Появились данные и об использовании индуцированных стволовых клеток (иПСК), получены бескаркасные биопринты, включающие плюрипотентные иПСК, кардиальные фибробласты и UVEC-клетки. Эти фрагменты начинают спонтанно сокращаться в иммуноослабленном сердце мыши [9]. Со временем во фрагментах возникают отдельные кровеносные сосуды, которые, однако, не в состоянии обеспечить оптимальный транспорт питательных веществ к клеткам. Отмечается, что более жизнеспособны тонкие тканеинженерные продукты, которые могут интегрироваться с кардиальной системой подвергнутого имплантации сердца.

Аортальные клапаны обеспечивают бесперебойную работу сердца, регулируя кровоток в аорте и кровеносных сосудах. Наиболее часто встречающаяся патология клапанов – их стеноз и недостаточность. Стеноз заключается в неполном открытии сердечных клапанов вследствие слипания или утолщения створок, что приводит к дополнительной нагрузке на сердце. Недостаточность клапанов наблюдается, когда они полностью не закрываются, что приводит к регургитации, или движению крови в обратном направлении.

В настоящее время в кардиохирургии для замены искусственных аортальных клапанов применяется транскатетеризация. Недостатком этой операции является несовершенная подгонка размеров и геометрии имплантата. Тканевая инженерия предлагает альтернативную стратегию борьбы с этим недугом, хотя работы в этом направлении еще не получили клинического применения. Причиной этого является отсутствие биоматериалов, которые в состоянии испытывать физиологическое давление в течение длительного времени.

**Печень.** Печень – наиболее важный орган, определяющий функционирование всего организма. Ткань печени включает в себя гепатоциты, метаболизирующие чужеродные химические соединения и продуцирующие белки. В ней образуется гликоген – главный источник поддержания постоянной концентрации глюкозы в крови. В печени синтезируются важнейшие белки плазмы крови: фибриноген, альбумины, протромбин и др. Гепатоциты составляют основную массу клеточного материала, обеспечивающего функцию органа. Кроме того, ткань печени обогащена так называемыми синусоидными капиллярами, через которые осуществляется локальное кровоснабжение. Они выстланы внутри эндотелиоцитами, между которыми локализованы звездчатые клетки Купфера, макрофаги, контролирующие воспалительные процессы в органе. Главным отходом функционирования печени является желчь. Заболевания печени часто связаны с действием на нее токсических соединений.

Использование моделей печени снизило бы побочные действия на ее функцию все новых и новых лекарственных соединений. Ли с соавт. [18] использовали для биопечати модели печени биочернила с эмбриональными стволовыми клетками, МСК жировой ткани и раковыми клетками печени и коллагена как носителя биочернил, обработав полученные данные с помощью компьютерного PCL подхода. О воспроизводстве печеночных функций свидетельствовали данные о содержании в образцах белков и мочевины. В биопродукте экспрессировались также специфич-

ческие печеночные транскрипционные факторы. Другими авторами [14] использовались в опытах и ПСК, дифференцированные в прогениторные клетки печени, эндоцелициты и МСК как основной структурный материал. Продукты биопечати напоминали по строению печеночные дольки, в них также экспрессировались печеночные маркеры. По мнению авторов, биопринты печени найдут применение при оценке токсичности различных химических соединений.

**Мышечная ткань.** Тканевая инженерия скелетной мускулатуры предполагает большой прогресс при замене патологически измененной или поврежденной мышечной ткани [19]. В первых опытах для создания скаффолда в качестве биочернил использовался костный морфогенетический белок, иммобилизованный на фибрине, в которых МСК дифференцировались в клетки мышечной ткани. В других опытах с использованием струйного биопринтера биочернила содержали гораздо большее число клеток: МСК собаки и человека, бычьи эндотелициты и альгинат в качестве наполнителя [20]. В напечатанной ткани клетки пролиферировали, соответствовали фенотипическим характеристикам и физиологическим параметрам, после имплантации биоконструкты васкуляризировались. Использование экструзионной биопечати привело к обнадеживающим результатам. Для получения тканевых образцов гладкой мышечной мускулатуры применялись МСК жировой ткани, запущенные в процесс мышечной дифференцировки, и желатин как носитель. Клетки в биообразцах пролиферировали, обнаруживали надежную жизнеспособность и через 3 дня инкубации экспрессировали маркерный белок актин. Предполагается также эффективность тканевой инженерии при повреждениях мышечной ткани, сопряженных с большими тканевыми дефектами.

**Нервная ткань.** Хотя в области клеточной терапии самых разнообразных заболеваний нервной системы достигнут ощутимый прогресс, 3D-печать делает только первые шаги. Так, комбинируя различные биоматериалы, стволовые и нервные клетки, удалось создать 3D-печатные конструкции со специфическими характеристиками нервной ткани [14]. В качестве наполнителя биочернил использовали полиуретан, в который помещали стволовые клетки нервной ткани мыши. Их инкапсулировали в 25 %-ном растворе полиуретана и печатали многослойные структуры (до 8 тонких слоев толщиной 1,5 мм каждый). Биопечать длилась около 24 ч, при этом жизнеспособность клеток не падала ниже 50 %, а в конструкциях регистрировался маркер  $\beta$ -тубулин III. Напечатанные конструкции сохраняли свои свойства после трансплантации в поврежденный мозг карпа. В другой работе биочернила содержали 5 % альгината, 5 % карбоксиметилхитозана, 1,5 % агарозы и нервные стволовые клетки человека. В конструкциях идентифицировали GABA-нервные клетки и клетки глии. Функциональность тканей оценивали по кальциевому ответу (кальциевым спайкам) нейронов, вызванному действием GABA-ингибитора бикуккулина.

**Поджелудочная железа.** Природная поджелудочная железа представляет собой васкуляризированный многочленный 3D-структурный комплекс, выполняющий эндокринную и экзокринную функции. В островках железы содержатся эндокринные  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\sigma$ -,  $\gamma$ - и  $\epsilon$ -клетки, продуцирующие гормоны. Клетки  $\alpha$  и  $\beta$  контролируют содержание глюкозы в крови с помощью гормонов глюкагона и инсулина,  $\sigma$ -клетки синтезируют соматостатин, который ингибирует активность  $\alpha$ - и  $\beta$ -клеток, а  $\epsilon$ -клетки выделяют грелин и регулируют потребление энергии и аппетит. Диабет первого типа возникает при истощении пула  $\beta$ -клеток. Учитывая изложенное выше, тканевая инженерия должна обеспечить трансплантацию  $\beta$ -клеток, панкреатической ткани, донорского клеточного и тканевого материала и преодоление иммунной реакции организма. 3D-печать в состоянии предложить оборудование и биологический материал для создания панкреатических моделей, содержащих точное количество пространственно упорядоченных клеток. В качестве носителей биочернил использовали желатин, альгинат и фибриноген, а в роли биологического материала выступали островки Лангерганса. Установлено, что трипептид аргинин-глицин-аспартат, добавленный к биочернилам, повышает адгезию компонентов в составе биоконструкции. Получены позитивные результаты и при введении в биочернила стволовых клеток, содержащих полимер молочной кислоты. К сожалению, опыты по биопечати поджелудочной железы ограничиваются лабораторными исследованиями [14].

**Перспективы развития тканевой инженерии.** Нами приведен далеко не полный перечень использования 3D-печати в биологических исследованиях и клинической практике. Кратко опи-

саны принципы работы струйной, экструзионной и лазерной 3D-биопечати. Очевидно, что прогресс в данной области ограничивается небольшим количеством применяемых в качестве наполнителей материалов в составе биочернил, их оптимальным подбором при использовании в биочернилах, разрешающей способностью напечатанных конструкций. Индукция васкуляризации в образцах представляется очень важной для дальнейшего использования биопродукции в медицине. Недостатки тканевых технологий являются мощным импульсом для совершенствования 3D-биопечати и в первую очередь в плане разработки более сложного оборудования, позволяющего ускорить процесс печати, получить большее количество напечатанного материала, сохраняющего жизнеспособность клеток в течение достаточно длительного времени и позволяющего быстро оценивать маркерные и физиологические свойства биопринтов. Ведутся также исследования по разработке более оптимальных составов биочернил, что является одним из приоритетных направлений в решении данной проблемы. Можно не сомневаться, что в будущем на замену донорских органов придут тканеинженерные технологии, основанные на клеточном материале пациентов. Это позволит не только восполнять в организме тканевые дефекты, но и печатать, а затем трансплантировать целые органы. На первый взгляд данные перспективы кажутся фантастическими, но практика показывает, что это далеко не так. Мы все являемся свидетелями необычайно бурного развития биологии и медицины, и это очень обнадеживает.

### Список использованных источников

1. AlGhamdi, K. M. Low-level laser therapy: a useful technique for enhancing the proliferation of various cultured cells / K. M. AlGhamdi, A. Kumar, N. A. Moussa // *Lasers Med. Sci.* – 2012. – Vol. 27, N 1. – P. 237–249. <https://doi.org/10.1007/S10103-011-0885-2>
2. Tsoulfas, G. 3D printing applications in medicine and surgery / G. Tsoulfas, P. I. Bangeas, J. Suri. – Amsterdam : Elsevier, 2020. – 185 p.
3. Wüst, S. Controlled positioning of cells in biomaterials – approaches towards 3D tissue printing / S. Wüst, R. Müller, S. Hofmann // *J. Funct. Biomater.* – 2011. – Vol. 2, N 3. – P. 119–154. <https://doi.org/10.3390/jfb2030119>
4. 3D printing in medicine. A practical guide for medical professionals / eds. : F. J. Rybicky, G. T. Grant. – Cham : Springer Nature, 2017. – 138 p.
5. Zorlutuna, P. The expanding world of tissue engineering: the building blocks and new applications of tissue engineered constructs / P. Zorlutuna, N. E. Vrana, A. Khademhosseini // *IEEE Rev. Biomed. Eng.* – 2013. – Vol. 6. – P. 47–62. <https://doi.org/10.1109/RBME.2012.2233468>
6. 3D printing of human tissue: biofabrication, bioinks, bioreactors / J. Zhang [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2021. – Vol. 22, N 8. – P. 3971–3992. <https://doi.org/10.3390/ijms22083971>
7. Zhu, J. Design properties of hydrogel tissue-engineering scaffolds / J. Zhu, R. T. Marchant // *Exp. Rev. Med. Devices.* – 2011. – Vol. 8, N 5. – P. 607–626. <https://doi.org/10.1586/erd.11.27>
8. Layer-by-layer build-up of polysaccharide-containing films: physico-chemical properties and mesenchymal stem cells adhesion / V. I. Kulikouskaya [et al.] // *J. Biomed. Mater. Res. Part A.* – 2018. – Vol. 106, N 8. – P. 2093–2104. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.36408>
9. Биополимерные мультислойные пленки в качестве носителей мезенхимальных стволовых клеток / В. И. Куликовская [и др.] // *Докл. НАН Беларуси.* – 2017. – Т. 61, № 3. – С. 38–46.
10. Fabrication and characterization of ultrathin spin-coated poly (L-lactic acid) films suitable for cell attachment and curcumin loading / V. Kulikouskaya [et al.] // *Biomed. Mater.* – 2020. – Vol. 15, N 6. – Art. 065022. <https://doi.org/10.1088/1748-605X/aba40a>
11. *Tunable hydrogel composite with two-step processing in combination with innovative hardware upgrade for cell-based three-dimensional bioprinting* / S. Wüst [et al.] // *Acta Biomater.* – 2014. – Vol. 10, N 2. – P. 630–640. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2013.10.016>
12. Skeldon, G. Three-dimension bioprinting of stem cells derived tissues for human regenerative medicine / G. Skeldon, B. Lucendo-Villarin, W. Shu // *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B, Biol. Sci.* – 2018. – Vol. 373. – Art. 20170224. <https://doi.org/10.1098/rstb.2017.0224>
13. *Three-dimensional printing of stem cell-laden hydrogels submerged in a hydrophobic high-density fluid* / D. F. D. Campos [et al.] // *Biofabrication.* – 2012. – Vol. 5, N 1. – Art. 015003. <https://doi.org/10.1088/1758-5082/5/1/015003>
14. 3D bioprinting for engineering complex tissues / C. Mandrycky [et al.] // *Adv. Biotechnol.* – 2016. – Vol. 34, N 4. – P. 422–434. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2015.12.011>
15. Guillotin, B. Cell patterning technologies for organotypic tissue fabrication / B. Guillotin, F. Guillemot // *Trends Biotechnol.* – 2011. – Vol. 29, N 4. – P. 183–190. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2010.12.008>
16. Adipogenic differentiation of laser-printed 3D tissue grafts consisting of human adipose-derived stem cells / M. Gruene [et al.] // *Biofabrication.* – 2011. – Vol. 3, N 1. – Art. 015005. <https://doi.org/10.1088/1758-5082/3/1/015005>
17. *In vivo* chondrogenesis in 3D bioprinted human cell-laden hydrogel constructs / T. Möller [et al.] // *Plast. Reconstr. Surg. Glob. Open.* – 2017. – Vol. 5, N 2. – P. e1227. <https://doi.org/10.1097/GOX.0000000000001227>

18. Development of liver decellularized extracellular matrix bioink for three-dimensional cell printing-based liver tissue engineering / H. Lee [et al.] // *Biomacromolecules*. – 2017. – Vol. 18, N 4. – P. 1229–1237. <https://doi.org/10.1021/acs.biomac.6b01908>

19. Tissue-engineered heart valves / E. Filova [et al.] // *Physiol. Res.* – 2009. – Vol. 58, N 2. – P. S141–S158. <https://doi.org/10.33549/physiolres.931919>

20. Complex heterogeneous tissue constructs containing multiple cell types prepared by inkjet printing technology / T. Xu [et al.] // *Biomaterials*. – 2013. – Vol. 34, N 1. – P. 130–139. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2012.09.035>

## References

1. AlGhamdi K. M., Kumar A., Moussa N. A. Low-level laser therapy: a useful technique for enhancing the proliferation of various cultured cells. *Lasers in Medical Science*, 2012, vol. 27, no. 1, pp. 237–249. <https://doi.org/10.1007/s10103-011-0885-2>

2. Tsoulfas G., Bangeac P. I., Suri J. *3D printing applications in medicine and surgery*. Amsterdam, Elsevier Publ., 2020. 185 p.

3. Wüst S., Müller R., Hofmann S. Controlled positioning of cells in biomaterials – approaches towards 3D tissue printing. *Journal of Functional Biomaterials*, 2011, vol. 2, no. 3, pp. 119–154. <https://doi.org/10.3390/jfb2030119>

4. Rybicky F. J., Grant G. T. (eds.). *3D printing in medicine. A practical guide for medical professionals*. Cham, Springer Nature, 2017. 138 p.

5. Zorlutuna P., Vrana N. E., Khademhosseini A. The expanding world of tissue engineering: the building blocks and new applications of tissue engineered constructs. *IEEE Reviews in Biomedical Engineering*, 2013, vol. 6, pp. 47–62. <https://doi.org/10.1109/RBME.2012.2233468>

6. Zhang J., Wehrli E., Rubert M., Miller R. 3D printing of human tissue: biofabrication, bioinks., bioreactors. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, vol. 22, no. 8, pp. 3971–3992. <https://doi.org/10.3390/ijms22083971>

7. Zhu J., Marchant R. T. Design properties of hydrogel tissues-engineering scaffolds. *Expert Review of Medical Devices*, 2011, vol. 8, no. 3, pp. 607–626. <https://doi.org/10.1586/erd.11.27>

8. Kulikouskaya V. I., Pinchuk S. V., Hileuskaya K. S., Kraskouski A. N., Vasilevich I. B., Matievski K. A., Agabekov V. E., Volotovskii I. D. Layer-by-layer build-up of polysaccharide-containing films: Physico-chemical properties and mesenchymal stem cells adhesion. *Journal of Biomedical Materials Research. Part A*, 2018, vol. 106, no. 8, pp. 2093–2104. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.36408>

9. Kulikouskaya V. I., Pinchuk S. V., Hileuskaya K. C., Kraskouski A. N., Vasilevich I. B., Matievski K. A., Agabekov V. E., Volotovskii I. D. Biopolymer multilayer films as a carriers of mesenchymal stem cells. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi* [Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus], 2017, vol. 61, no. 3, pp. 38–46 (in Russian).

10. Kulikouskaya V., Chyshankou I., Pinchuk S., Vasilevich I., Volotovskii I., Agabekov V. Fabrication and characterization of ultrathin spin-coated poly (L-lactic acid) films suitable for cell attachment and curcumin loading. *Biomedical Materials*, 2020, vol. 15, no. 6, art. 06502. <https://doi.org/10.1088/1748-605X/aba40a>

11. Wüst S., Godla M. E., Muller R., Hofman S. *Tunable hydrogel composite with two-step processing in combination with innovative hardware upgrade for cell-based three-dimensional bioprinting*. *Acta Biomaterialia*, 2014, vol. 10, no. 2, pp. 630–640. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2013.10.016>

12. Skeldon G., Lucendo-Villarin B., Shu W. Three-dimension bioprinting of stem cells derived tissues for human regeneration medicine. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*, 2018, vol. 373, art. 20170224. <https://doi.org/10.1098/rstb.2017.0224>

13. Campos D. F. D., Blaaser A., Weber M., Jäkel J., Neuss S., Jahnke-Dechent W., Fischer H. *Three-dimensional printing of stem cell-laden hydrogels submerged in a hydrophobic high-density fluid*. *Biofabrication*, 2012, vol. 5, no. 1, art. 015003. <https://doi.org/10.1088/1758-5082/5/1/015003>

14. Mandrycky C., Wang Z., Kim K., Kim D.-H. 3D bioprinting for engineering complex tissues. *Biotechnology Advances*, 2016, vol. 34, no. 4, pp. 422–434. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2015.12.011>

15. Guillotin B., Guillemot F. Cell patterning technologies for organotypic tissue fabrication. *Trends Biotechnology*, 2011, vol. 29, no. 4, pp. 183–190. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2010.12.008>

16. Gruene M., Pflaum M., Deiwick A., Koch L., Schlie S., Unger C., Wilhelmi M., Haverich A., Chichkov B. N. Adipogenic differentiation of laser-printed 3D tissue grafts consisting of human adipose-derived stem cells. *Biofabrication*, 2011, vol. 3, no. 1, art. 015005. <https://doi.org/10.1088/1758-5082/3/1/015005>

17. Möller T., Amoroso M., Haegg D., Brautsing C., Rotter N., Apeltgren P., Lindahl A., Kochley L., Gatenholm P. *In vivo* chondrogenesis in 3D bioprinted human cell-laden hydrogel constructs. *Plastic and Reconstructive Surgery. Global Open*, 2017, vol. 5, no. 2, p. e1227. <https://doi.org/10.1097/GOX.0000000000001227>

18. Lee H., Han W., Kim Y., Ha D.-H., Jang J., Kim B. S., Cho D.-W. Development of liver decellularized extracellular matrix bioink for three-dimensional cell printing-based liver tissue engineering. *Biomacromolecules*, 2017, vol. 18, no. 4, pp. 1229–1237. <https://doi.org/10.1021/acs.biomac.6b01908>

19. Filova E., Straka F., Mirejovsky T., Masin J., Bacakova L. Tissue-engineered heart valves. *Physiological Research*, 2009, vol. 58, no. 2, pp. S141–S158. <https://doi.org/10.33549/physiolres.931919>

20. Xu T., Zhao W., Zhu J.-M., Albanna M. Z., Atala A. Complex heterogeneous tissue constructs containing multiple cell types prepared by inkjet printing technology. *Biomaterials*, 2013, vol. 34, no. 1, pp. 130–139. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2012.09.035>



### Информация об авторах

*Волотовский Игорь Дмитриевич* – академик, д-р биол. наук, профессор, гл. науч. сотрудник. Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: volotovski@yahoo.com

*Пинчук Сергей Владимирович* – канд. биол. наук, вед. науч. сотрудник. Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: pinchuksv@mail.ru

### Information about the authors

*Igor D. Volotovski* – Academician, D. Sc. (Biol.), Professor, Chief Researcher. Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: volotovski@yahoo.com

*Sergei V. Pinchuk* – Ph. D. (Biol.), Leading Researcher. Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: pinchuksv@mail.ru