



СОЗДАНИЕ МЕТОДОМ 3D-ПЕЧАТИ ТКАНЕИНЖЕНЕРНОЙ КОНСТРУКЦИИ, ПРЕДНАЗНАЧЕННОЙ ДЛЯ ЗАМЕЩЕНИЯ ДЕФЕКТОВ ХРЯЩЕВОЙ ТКАНИ

С.А. Мачулин*, Т.А. Астрелина, Д.Ю. Усупжанова, А.О. Завьялов, Т.Ф. Маливанова,
А.И. Головкова, И.В. Кобзева, Ю.Б. Сучкова, В.А. Брунчуков, А.А. Расторгуева,
В.А. Никитина, Е.Е. Ломоносова, О.Г. Михадаркина, А.С. Самойлов

ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации —
Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна» ФМБА России
123182, Российская Федерация, Москва, ул. Живописная, 46

В данной статье описан процесс разработки тканеинженерной конструкции, отвечающей необходимым для замещения дефектов хрящевой ткани параметрам биосовместимости и биodeградации. Представленное исследование выполнено с использованием технологии 3D-биопринтинга, являющейся на данный момент одним из наиболее исследуемых направлений в медицине. Хрящевая ткань, как известно, не способна к полноценной регенерации возникающих повреждений из-за особенностей своего строения. Применяемые на сегодня методы лечения артрозов имеют ряд ограничений и недостатков, вследствие чего исследования, направленные на разработку альтернативных методов лечения артрозов, приобретают всё большую актуальность. Для создания тканеинженерных конструкций методом 3D-биопечати используются материалы, сертифицированные для использования в медицинских целях, а также обладающие свойствами биосовместимости и биodeградации. В частности, полилактид (PLA) и альгинат натрия удовлетворяют вышеописанным требованиям, а кроме того, их экономическая доступность и распространённость делает их одними из самых популярных материалов для 3D-биопечати.

Ключевые слова: 3D-биопечать, альгинат, полилактид, тканеинженерная конструкция, дефекты хрящевой ткани

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Мачулин С.А., Астрелина Т.А., Усупжанова Д.Ю., Завьялов А.О., Маливанова Т.Ф., Головкова А.И., Кобзева И.В., Сучкова Ю.Б., Брунчуков В.А., Расторгуева А.А., Никитина В.А., Ломоносова Е.Е., Михадаркина О.Г., Самойлов А.С. Создание методом 3D-печати тканеинженерной конструкции, предназначенной для замещения дефектов хрящевой ткани. *Биомедицина*. 2023;19(3E):52–58. <https://doi.org/10.33647/2713-0428-19-3E-52-58>

Поступила 28.04.2023

Принята после доработки 20.07.2023

Опубликована 06.11.2023

3D PRINTING OF A TISSUE-ENGINEERED STRUCTURE INTENDED TO REPLACE CARTILAGE DEFECTS

Semen A. Machulin*, Tatiana A. Astrelina, Daria Yu. Usupzhanova, Anton O. Zavialov,
Tatiana F. Malivanova, Anastasia I. Golovkova, Irina V. Kobzeva, Yulia B. Suchkova,
Vitaliy A. Brunchukov, Anna A. Rastorgueva, Viktoria A. Nikitina, Elena E. Lomonosova,
Olga G. Mihadarkina, Alexandr S. Samoilov

State Scientific Center of the Russian Federation — Federal Medical Biophysical Center named
after A.I. Burnazyan of the Federal Medical and Biological Agency of Russia
123182, Russian Federation, Moscow, Zhivopisnaya Str., 46

This article describes the process of developing a tissue-engineered structure that meets the biocompatibility and biodegradation parameters necessary for replacing cartilage tissue defects. The study was carried out using 3D bioprinting technology, which represents a promising research direction in the biomedical field. It is known that, due to the specifics of its structure, cartilage tissue is not capable of complete regeneration of damage. The methods currently used for treating arthrosis are associated with a number of limitations and disadvantages, which makes research aimed at developing alternative methods for arthrosis treatment particularly relevant. The development of tissue-engineered structures by 3D bioprinting requires the materials not only certified for medical use but also exhibiting biocompatibility and biodegradation properties. Polylactide (PLA) and sodium alginate satisfy the above requirements; moreover, their availability and economic affordability make them one of the most popular materials for 3D bioprinting.

Keywords: 3D bioprinting, alginate, polylactide, tissue-engineered structure, cartilage tissue defects

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

For citation: Machulin S.A., Astrelina T.A., Usupzhanova D.Yu., Zavalov A.O., Malivanova T.F., Golovkova A.I., Kobzeva I.V., Suchkova Yu.B., Brunchukov V.A., Rastorgueva A.A., Nikitina V.A., Lomonosova E.E., Mihadarkina O.G., Samoilov A.S. 3D Printing of a Tissue-Engineered Structure Intended to Replace Cartilage Defects. *Journal Biomed.* 2023;19(3E):52–58. <https://doi.org/10.33647/2713-0428-19-3E-52-58>

Submitted 28.04.2023

Revised 20.07.2023

Published 06.11.2023

Введение

В последнее время технология 3D-печати получает всё большее распространение в медицине [2]. Внедрение данного метода позволяет упростить многие процедуры и расширить спектр оказываемых услуг. Одним из самых популярных исследуемых направлений 3D-биопечати является регенерация повреждённых тканей человека, среди которых особое внимание уделяется костной и хрящевой тканям [4]. Из-за своего строения и состава хрящевая ткань неспособна в полной мере регенерировать возникающие паталогические изменения, что со временем приводит к развитию артрозов, в частности коленных и тазобедренных суставов, и, как следствие, снижению качества жизни человека. Одним из решений данной проблемы является замещение дефектов хрящевой ткани. Недавние исследования показали возможность использование технологии 3D-биопечати для создания тканеинженерных конструкций, подобных хрящевой ткани, с использованием комбинации биочернил [5]. В частности, поли-

лактид (PLA) и альгинат натрия обладают такими важными свойствами, как биосовместимость и биodeградация, а изделие, полученное на их основе, выдерживает нагрузки, сравнимые с нагрузками на суставной хрящ здорового человека [1]. Оба материала одобрены для использования в медицинских целях, а доступность и относительная дешевизна делает их одними из самых популярных материалов для 3D-биопечати. Основными препятствиями для применения 3D-печати в области медицины является отсутствие единых протоколов печати и большое разнообразие производителей 3D-принтеров с различным набором функций [3]. Совокупность данных факторов требует индивидуального подбора параметров печати для каждого конкретного принтера и различных задач.

Целью данной работы явилась разработка протокола создания тканеинженерной конструкции на основе PLA и альгината натрия методом 3D-печати для замещения дефектов хрящевой ткани.

Материалы и методы

В работе были использованы 3D-биопринтер Dr. Invivo 4D (“Rokit Healthcare”, Корея), программное обеспечение New Creator K (“Rokit Healthcare”, Корея), программное обеспечение Blender (“Blender Foundation”, Нидерланды), препарат альгината (“Cellink”, Швеция), агароза (“VWR Amresco”, США), PLA (“REC”, Россия), р-р CaCl_2 (“ХимМед”, Россия), р-р Coomassie brilliant blue (“Servicebio”, Китай).

Результаты исследований

Тканеинженерная конструкция была смоделирована исходя из необходимости в ее механической прочности и создания благоприятной среды для заселения клетками-резидентами (рис. 1). PLA обладает достаточной механической прочностью и способен выдерживать нагрузки, сравнимые с нагрузками в суставных хрящах здорового человека. В свою очередь, альгинат

натрия способен обеспечивать подходящую среду для выживания и нормальной жизнедеятельности клеток, в т.ч. мезенхимальных стромальных клеток (МСК) и хондроцитов.

На первом этапе работы была отработана 3D-печать каждым используемым материалом в отдельности. При 3D-печати PLA были отрегулированы такие параметры, как ретракция (обратное всасывание материала), скорость печати, а также процент заполнения модели. 3D-печать альгинатом натрия отработывалась с использованием метода печати в поддерживающей суспензии из агарозы различной концентрации — 1, 1,5 и 2%. Полимеризация альгината натрия достигалась за счёт добавления в поддерживающую суспензию ионов Ca^{2+} в составе CaCl_2 до конечной концентрации 0,11% (рис. 1). Наилучшим образом печать альгинатом натрия осуществлялась в 1% суспензии агарозы. По итогам данного этапа были настроены такие параметры,

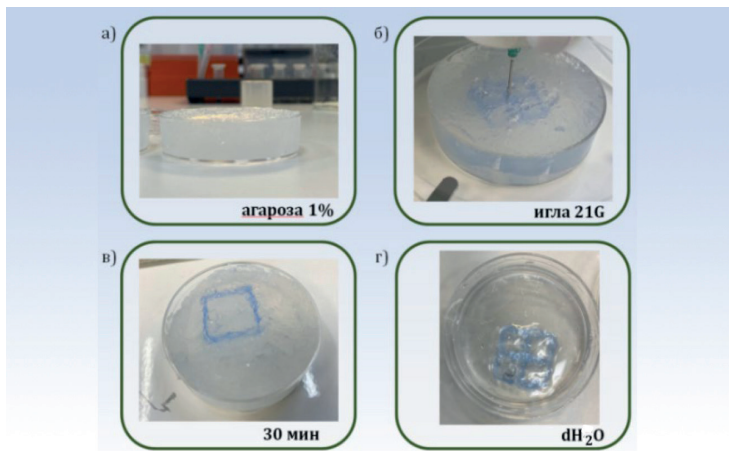


Рис. 1. Метод CLASS:

- а) 1% поддерживающая суспензия из агарозы;
- б) процесс печати альгинатом натрия в поддерживающей суспензии иглой 21G;
- в) полимеризация модели 30 мин при комнатной температуре;
- г) извлечение модели путём растворения агарозы в воде.

Fig. 1. CLASS method:

- a) 1% agarose slurry;
- b) 3D-printing with sodium alginate using support medium with needle 21G;
- c) model polymerization at room temperature for 30 min;
- d) model extraction by agarose dissolution in H_2O .

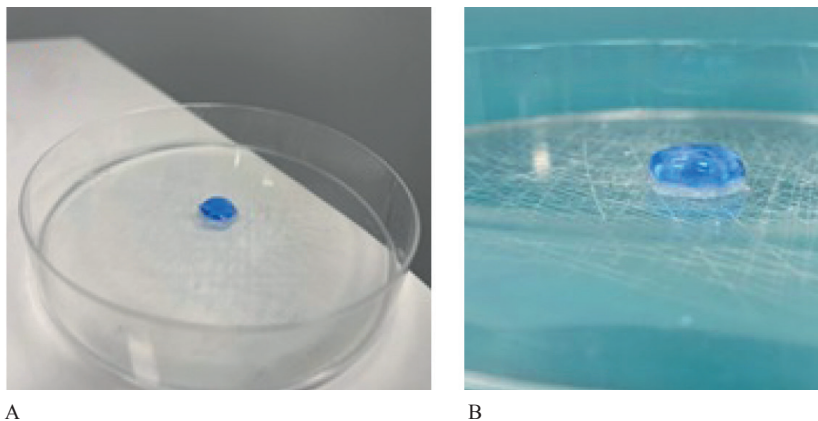


Рис. 2. Тканеинженерная конструкция после печати:
А) до полимеризации;
В) после полимеризации.

Fig. 2. Tissue-engineering constructions after printing:
А) before polymerization;
В) after polymerization.

как ретракция, input flow (количество материала, которое выдётся за единицу времени) и толщина слоя.

Запуск 3D-биопечати тканеинженерной конструкции осуществлялся с учётом значений параметров, отработанных на первом этапе работы. Поскольку конструкция из PLA обеспечивает поддержание формы 3D-модели, поддерживающая суспензия из агарозы не использовалась. Для достижения полимеризации альгината натрия напечатанная конструкция помещалась в 0,11% р-р CaCl_2 на 30 мин (рис. 2). Важно, что 3D-биопринтер ROKIT Dr.Invivo 4D позволяет одновременно использовать два типа чернил при печати одной модели, од-

нако имеется ограничение в виде строгого соблюдения послойности печати независимо от материала. Это наложило некоторые ограничения на обрабатываемый протокол, которые были успешно скорректированы внесением изменений в 3D-модель разрабатываемой конструкции, а также в параметры печати, такие как input flow и diameter.

Выводы

Таким образом, с учётом особенностей задаваемых параметров 3D-биопечати PLA и альгината натрия был разработан протокол создания тканеинженерной конструкции для замещения дефектов хрящевой ткани.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Antich C., de Vicente J., Jiménez G., et al. Bio-inspired hydrogel composed of hyaluronic acid and alginate as a potential bioink for 3D bioprinting of articular cartilage engineering constructs. *Acta Biomaterialia*. 2020; 106:114–123. DOI: 10.1016/j.actbio.2020.01.046.
2. Fatimi A., Okoro O.V., Shavandi A. Biopolymer-Based Hydrogels for 3D Bioprinting. *Mater. Proc.* 2021;7:19. DOI: 10.3390/IOCP2021-11284.
3. Kačarević Ž.P., Rider P.M., Alkildani S., Retnasingh S., Smeets R., Jung O., Ivanišević Z., Barbeck M. An Introduction to 3D Bioprinting: Possibilities, Challenges and Future Aspects. *Materials (Basel)*. 2018;11:2199. DOI: 10.3390/ma11112199.
4. Saini G., Segaran N., Mayer J.L., Saini A., Albadawi H., Oklu R. Applications of 3D Bioprinting in Tissue Engineering and Regenerative Medicine. *J. Clin. Med.* 2021;10(21):4966. DOI: 10.3390/jcm10214966.
5. Shiwarski D.J., Hudson A.R., Tashman J.W., Feinberg A.W. Emergence of FRESH 3D printing as a platform for advanced tissue biofabrication. *APL Bioeng.* 2021;5(1):010904. DOI: 10.1063/5.0032777.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Мачулин Семён Александрович*, ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации — Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна» ФМБА России;
e-mail: machulin_s@rambler.ru

Semen A. Machulin*, State Scientific Center of the Russian Federation — Federal Medical Biophysical Center named after A.I. Burnazyan of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;
e-mail: machulin_s@rambler.ru

Астрелина Татьяна Алексеевна, д.м.н., проф., ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации — Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна» ФМБА России;
e-mail: t_astrelina@mail.ru

Tatiana A. Astrelina, Dr. Sci. (Med.), Prof., State Scientific Center of the Russian Federation — Federal Medical Biophysical Center named after A.I. Burnazyan of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;
e-mail: t_astrelina@mail.ru

Усупжанова Дарья Юрьевна, к.б.н., ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации — Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна» ФМБА России;
e-mail: usupzhanova94@mail.ru

Daria Yu. Usupzhanova, Cand. Sci. (Biol.), State Scientific Center of the Russian Federation — Federal Medical Biophysical Center named after A.I. Burnazyan of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;
e-mail: usupzhanova94@mail.ru

Завьялов Антон Олегович, ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации — Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна» ФМБА России;
e-mail: antonzavval@yandex.ru

Anton O. Zavialov, State Scientific Center of the Russian Federation — Federal Medical Biophysical Center named after A.I. Burnazyan of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;
e-mail: antonzavval@yandex.ru

Маливанова Татьяна Фёдоровна, к.м.н., ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации — Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна» ФМБА России;
e-mail: tmalivanova@yandex.ru

Tatiana F. Malivanova, Cand. Sci. (Med.), State Scientific Center of the Russian Federation — Federal Medical Biophysical Center named after A.I. Burnazyan of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;
e-mail: tmalivanova@yandex.ru

Головкова Анастасия Игоревна, ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации — Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна» ФМБА России;
e-mail: nikidan88@mail.ru

Anastasia I. Golovkova, State Scientific Center of the Russian Federation — Federal Medical Biophysical Center named after A.I. Burnazyan of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;
e-mail: nikidan88@mail.ru

Кобзева Ирина Владимировна, к.м.н., ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации — Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна» ФМБА России;

e-mail: irina-kobzeva@yandex.ru

Сучкова Юлия Борисовна, к.м.н., ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации — Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна» ФМБА России;

e-mail: yuls11349@yandex.ru

Брунчуков Виталий Андреевич, ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации — Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна» ФМБА России;

e-mail: brunya2008@yandex.ru

Расторгуева Анна Андреевна, ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации — Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна» ФМБА России;

e-mail: rastorgueva.ann@gmail.com

Никитина Виктория Андреевна, ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации — Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна» ФМБА России;

e-mail: nikitinava@yandex.ru

Ломоносова Елена Евгеньевна, ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации — Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна» ФМБА России;

e-mail: mrs.lomonosova@gmail.com

Михадаркина Ольга Геннадьевна, ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации — Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна» ФМБА России;

e-mail: olya1019988@mail.ru

Irina V. Kobzeva, Cand. Sci. (Med.), State Scientific Center of the Russian Federation — Federal Medical Biophysical Center named after A.I. Burnazyan of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;

e-mail: irina-kobzeva@yandex.ru

Yulia B. Suchkova, Cand. Sci. (Med.), State Scientific Center of the Russian Federation — Federal Medical Biophysical Center named after A.I. Burnazyan of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;

e-mail: yuls11349@yandex.ru

Vitaliy A. Brunchukov, State Scientific Center of the Russian Federation — Federal Medical Biophysical Center named after A.I. Burnazyan of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;

e-mail: brunya2008@yandex.ru

Anna A. Rastorgueva, State Scientific Center of the Russian Federation — Federal Medical Biophysical Center named after A.I. Burnazyan of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;

e-mail: rastorgueva.ann@gmail.com

Viktoria A. Nikitina, State Scientific Center of the Russian Federation — Federal Medical Biophysical Center named after A.I. Burnazyan of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;

e-mail: nikitinava@yandex.ru

Elena E. Lomonosova, State Scientific Center of the Russian Federation — Federal Medical Biophysical Center named after A.I. Burnazyan of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;

e-mail: mrs.lomonosova@gmail.com

Olga G. Mihadarkina, State Scientific Center of the Russian Federation — Federal Medical Biophysical Center named after A.I. Burnazyan of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;

e-mail: olya1019988@mail.ru

Самойлов Александр Сергеевич, д.м.н., чл.-корр. РАН, проф. РАН, ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации — Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна» ФМБА России;
e-mail: fmba@fmba.gov.ru

Alexandr S. Samoilov, Dr. Sci. (Med.), Corr. Member of the RAS, Prof. of the RAS, State Scientific Center of the Russian Federation — Federal Medical Biophysical Center named after A.I. Burnazyan of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;
e-mail: fmba@fmba.gov.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author