

УДК 602

Біологічні науки

**Умаров Денис Васильович**

*аспірант*

*Національного технічного університету України  
«Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського»*

**Umarov Denys**

*Postgraduate of the*

*National Technical University of Ukraine  
"Igor Sikorsky Kyiv Polytechnic Institute"*

**Беспалова Олена Ярославівна**

*кандидат біологічних наук,*

*доцент кафедри трансляційної медичної біоінженерії*

*Національний технічний університет України  
«Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського»*

**Bespalova Olena**

*Doctor of Biological Sciences,*

*Associate Professor of the Department of Translational Medical Bioengineering*

*National Technical University of Ukraine*

*"Igor Sikorsky Kyiv Polytechnic Institute"*

**ОСНОВНІ ОСОБЛИВОСТІ ТА КРИТИЧНІ ПРОБЛЕМИ  
ЕКСТРУЗІЙНОГО БІОПРИНТИНГУ  
MAIN FEATURES AND CRITICAL PROBLEMS OF EXTRUSION  
BASED BIOPRINTING**

*Анотація.* Досліджено питання біопринтингу на основі екструзії та описано основні особливості та проблеми.

*Ключові слова:* біопринтинг, біопринт, біодрук, 3D, 3Д, біоінженерія, біотехнології.

**Summary.** *The issue of bioprinting based on material extrusion was investigated and the main features and problems were described.*

**Key words:** *bioprinting, bioprint, 3D, bioengineering, biotechnologies.*

Однією з вражаючих і перспективних технологій, яка здатна змінити наше розуміння медицини, науки і біології, є біопринтинг. Цей метод, що використовується для створення тривимірних біологічних об'єктів, відкриває безмежні можливості у сферах трансплантації, досліджень інноваційних технологій та відновлювальної медицини. Екструзійний біопринтинг — це нова технологія для точного нанесення біоматеріалів із живими клітинами (так звані біочорнила) шар за шаром для створення тривимірних функціональних конструкцій для тканинної інженерії. Сьогодні біопринтер на основі екструзії є одним із найпопулярніших методів у біомедичних розробках через його здатність друкувати клітини та різні біоматеріали з широким діапазоном в'язкості [1]. Біоматеріали з живими клітинами або ж без них друкуються для формування конструкцій або каркасів. Для цього біоматеріали повинні мати такі характеристики, як біосумісність, біомімікрія, механічна цілісність, здатність до розкладання та придатність для друку [2]. Очікується, що за допомогою 3D-друку надруковані каркаси зможуть імітувати структури, властивості та функції окремих органів для тканинної інженерії. Отже, основними моментами є друк каркасів та культури клітин для дозрівання до функціональних конструкцій. Для друку каркасів придатність для друку вибраних біоматеріалів необхідно враховувати перед процесом друку через відмінності між безпосередньо друкованими каркасами та їх моделями при розробці [3]. Також варто взяти до уваги, що клітини можуть постраждати та навіть сильно пошкодитися під час процесу друку. Отже, життєздатність клітин є ще одним важливим питанням, яке необхідно враховувати. Для цього різними розробниками було проведено численні дослідження для

виготовлення біоміметичних каркасів із збереженою життєздатністю клітин у процесі друку. Ця стаття має на меті розкрити особливості та проблеми біопринтингу на основі екструзії.

По-перше, розглянемо аспект розробки і практичної реалізації. Іноді буває так, що надрукована конструкція може не збігатися з розробленою. Друкована структура може руйнуватися і іноді не зберігає свою стабільність. Надрукований біологічний продукт має імітувати структуру та форму органу або ж іншого конструкту, тому друк має бути точним, із високою роздільною здатністю та точністю форми. Отже, основна задача у практичній реалізації – це забезпечити здатність формувати тривимірну структуру з прийнятною точністю та цілісністю. Придатність розроблених моделей має критичну роль, коли потрібна тканина складного органу або ж просто складні конструкції. Окрім функції, дуже важлива геометрія [3]. Існують різні визначення придатності для друку на основі використовуваних методів друку. Для екструзійного друку придатність моделей до друку характеризує здатність друкувати потоком матеріалу безперервно, з контрольованим діаметром і визначеною морфологією для формування бажаної 3D-структури [2]. Для конкретного аналізу цього аспекту досліджується багато факторів, серед яких тиск екструзії, необхідна швидкість потоку, теоретична та практична діаметри матеріалу, що виходить з екструдера. Наступними після цих базових параметрів можна оцінювати та аналізувати товщину шару, що друкується із заданими попередніми параметрами, а також внутрішню (пори, неоднорідності тощо) за зовнішню (точні розміри, відповідність геометрії тощо) структури уже тривимірних друкованих продуктів, при цьому також порівнюючи теоретичні моделі та практичний результат. Для забезпечення постійної відтворюваності результату та отримання бажаних теоретичних параметрів для аналізу з точки зору конструкції та параметрів друку можна також розглянути властивості матеріалів, з яких друкуються конструкти, або ж

біочорнил. Найпопулярнішим класом біоматеріалів для друку є гідрогелі через їх здатність створювати життєздатне середовище для адгезії, росту та проліферації живих клітин. Головною особливістю гідрогелів є їх здатність поглинати й утримувати велику кількість води. Гідрогелі — це рідини з тиксотропною поведінкою, які підходять для процесу екструзії. Тиксотропія, залежна від часу розрідження при зсуві, змушує гідрогелі демонструвати низьку в'язкість під час друку та відновлювати стабільність після екструзії [4, с. 217-239]. Ці властивості є критично важливим фактором для друку гідрогелів. Друк матеріалів з низькою в'язкістю призводить до м'яких і водянистих структур; однак високов'язкі матеріали для друку важко екструдувати [5]. Окрім цього, варто також враховувати ефект поверхневого натягу. Проведені дослідження описують особливості та значимість цього ефекту, розкриваючи вплив цього фактору на друкований продукт на виході [6, с. 75-82].

По-друге, важливою проблемою, яка теж являє собою результат сукупності факторів, є життєздатність клітин в процесі та після друку. Більшість факторів із попередньої частини були зосереджені на впливі різних параметрів на придатність моделей для друку взагалі. Однак для досягнення успішного результату біопрентингу іншим важливим фактором є одночасна оцінка впливу різних параметрів на життєздатність клітин. Основною перевагою екструзійного біопрентингу є здатність друкувати безпосередньо біоматеріалом з клітинами, проте слід пам'ятати, що клітини чутливі до змін навколишнього середовища. У процесі друку клітини та біоматеріали видавлюються через екструдер з певним тиском, і цей тиск може створювати напруження зсуву та розтягування. Якщо ці напруження перевищують певний поріг, критичний власне для кожного специфічного поєднання матеріалів та клітин, вони можуть пошкодити мембрани клітин і призвести до їх нежиттєздатності. Напруження зсуву має критичний вплив на клітинну біологію. У дослідженнях було показано, що напруження зсуву

посилює дозрівання деяких клітин і збільшує диференціювання стовбурових клітин [7, с. 2184-2190]. Варто також розуміти, що напруга зсуву як фактор, що може пошкодити клітини, є неминучим у процесі видавлювання матеріалу, саме тому його слід враховувати під час друку. Напруження зсуву - це механічна сила, яка викликає деформацію матеріалів вздовж площини, паралельної напрямку напруги. Залежно від чутливості клітин і величини напруги зсуву, яка впливає на матеріал, пошкодження клітин може змінюватися майже до 100% при високих значеннях напруги зсуву [8]. Напруження зсуву безпосередньо залежить від тиску подачі, діаметра сопла та в'язкості біоматеріалу, особливо коли діаметр голки зменшено з метою покращення роздільної здатності друку [9]. В'язкість, в свою чергу, є мірою опору течії, а високов'язкі матеріали можуть збільшити напругу зсуву під час екструзії та призвести до розриву клітинної мембрани [10]. Для друку високов'язких матеріалів потрібен високий тиск, що може, як було зазначено раніше, негативно впливати на життєздатність клітин [8]. Деякі проведені дослідження показують, що тиск видавлювання більш критично впливає на пошкодження клітин порівняно з експериментами по зміні діаметра сопла [11, с. 1168-1177]. Вибір і зміни діаметру і типу сопла також безпосередньо впливають на життєздатність клітин. Менший діаметр сопла призводить до більш високого градієнта швидкості, а також більшого напруження зсуву і, як наслідок, більшого пошкодження клітин. У екструзійному друці зазвичай використовуються два типи голок, циліндричні та конічні. Через свою геометрію вони мають різні ефекти; конічна голка забезпечує вищу швидкість потоку, ніж циліндрична за однакового тиску друку [9]. Також є такі фактори, як температура сопла та камери. За представленими дослідженням, контролюючи температури, життєздатність клітин збільшили з 55,52% до 90% [12]. Окрім цього, необхідно враховувати період або тривалість друку. Показано, що тривалий час друку може зменшити життєздатність клітин після екструзії [13, с. 773-

785]. Концентрація біоматеріалів також може впливати на життєздатність клітин. Повідомлялося, що концентровані полімери негативно впливають на культуру клітин. Наприклад, із вищими концентраціями альгінату (що найчастіше використовується як компонент для матеріалу) було більше мертвих клітин [14, с. 159-170].

Підбиваючи підсумки, друк на основі екструзії широко використовується для створення клітинних конструкцій для тканинної інженерії, і розбіжність у теоретичних розробках та практичних результатах друку, а також життєздатність клітин є двома критичними проблемами, які потребують подальшого дослідження та вирішення. Різниця між друкованими та розробленими конструкціями становить велику проблему, обмежуючи прогрес у імітації конструктів природних тканин. В дослідженій літературі представлено різні характеристики, які досліджувались у питанні друку. Багато параметрів, які можуть впливати на друк конструкцій, в основному включають параметри, пов'язані з властивостями біоматеріалів та фізичними явищами. Для врахування всіх цих параметрів, як з точки зору теоретичної розробки, так і практичної реалізації (експерименти та їх інтерпретація), були оглянуті результати чисельних досліджень, аналізуючи які можна сфокусуватися на критично важливих аспектах для екструзійного друку для подальшого практичного використання цих даних у розробці та вдосконалення існуючих методик друку.

### **Література**

1. Naghieh S., Sarker M.D., Sharma N.K., Barhoumi Z., Chen X. Printability of 3D printed hydrogel scaffolds: Influence of hydrogel composition and printing parameters. *Appl. Sci.* 2020. 10. 292 p.
2. Zhang Z., Jin Y., Yin J., Xu C., Xiong R., Christensen K., Ringeisen B.R., Chrisey D.B., Huang Y. Evaluation of bioink printability for bioprinting applications. *Appl. Phys. Rev.* 2018. 5. 041304.

3. Kyle S., Jessop Z.M., Al-Sabah A., Whitaker I.S. 'Printability' of Candidate Biomaterials for Extrusion Based 3D Printing: State-of-the-Art. *Adv. Healthc. Mater.* 2017. 6. 1700264.
4. Hospodiuk M., Dey M., Sosnoski D., Ozbolat I.T. The bioink: A comprehensive review on bioprintable materials. *Biotechnol. Adv.* 2017. 35. P. 217–239.
5. Zhao Y., Li Y., Mao S., Sun W., Yao R. The influence of printing parameters on cell survival rate and printability in microextrusion-based 3D cell printing technology. *Biofabrication.* 2015. 7. 045002.
6. Chen X.B., Ke H. Effects of fluid properties on dispensing processes for electronics packaging. *IEEE Trans. Electron. Packag. Manuf.* 2006. 29. P. 75–82.
7. Potter C.M.F., Lao K.H., Zeng L., Xu Q. Role of Biomechanical Forces in Stem Cell Vascular Lineage Differentiation. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2014. 34. P. 2184–2190.
8. Boularaoui S., Al Hussein G., Khan K.A., Christoforou N., Stefanini C. An overview of extrusion-based bioprinting with a focus on induced shear stress and its effect on cell viability. *Bioprinting.* 2020. 20. e00093.
9. Li M., Tian X., Kozinski J.A., Chen X., Hwang D.K. Modeling Mechanical Cell Damage in the Bioprinting Process Employing a Conical Needle. *J. Mech. Med. Biol.* 2015. 15. 1550073.
10. Hull S.M., Brunel L.G., Heilshorn S.C. 3D Bioprinting of Cell-Laden Hydrogels for Improved Biological Functionality. *Adv. Mater.* 2022. 34. 2103691.
11. Nair K., Gandhi M., Khalil S., Yan K.C., Marcolongo M., Barbee K., Sun W. Characterization of cell viability during bioprinting processes. *Biotechnol. J.* 2009. 4. P. 1168–1177.
12. Kingsley D.M., Ouyang L., Yao R., Mao S., Chen X., Na J., Sun W. Three-dimensional bioprinting of embryonic stem cells directs highly uniform

embryoid body formation Three-dimensional bioprinting of embryonic stem cells directs highly uniform embryoid body formation. *Biofabrication*. 2015. 7. 044101.

13. Murphy S.V., Atala A. 3D bioprinting of tissues and organs. *Nat. Biotechnol.* 2014. 32. P. 773–785.

14. Mohd Bohari S.P., Hukins D., Grover L. Effect of calcium alginate concentration on viability and proliferation of encapsulated fibroblasts. *Biomed. Mater. Eng.* 2011. 21. P. 159–170.