

<https://doi.org/10.60043/2949-5938-2025-1-41-65>



Эквиваленты кожи, полученные на основе 3D-биопечати и фибробластов, для заживления ран и регенерации

Ю.С. Саенко^{1,2}, Е.С. Агеева^{1,2,*}, К.А. Юрченко^{1,2}, Э.Т. Дегирменджи^{1,2},
Н.А. Волкова^{1,2}, И.И. Фомочкина^{1,2}, А.В. Кубышкин^{1,2}

¹ Ордена Трудового Красного Знамени Медицинский институт им. С.И. Георгиевского, Россия, 295051, Симферополь, бульвар Ленина, д. 5/7

² Инжиниринговый центр «Генетические и клеточные биотехнологии», Россия, 295051, Симферополь, бульвар Ленина, д. 5/7

* Адрес для корреспонденции: ageevaeliz@rambler.ru

Аннотация

Интенсивное развитие персонализированной медицины раскрывает новые возможности разработки технологий регенеративной медицины и трансляции этих разработок в клинику. Одним из интенсивно развиваемых направлений в создании новых лечебных подходов является использование биопечати для изготовления конструкций тканей и органов. Особое внимание привлекает разработка кожных эквивалентов, способных воспроизводить сложную архитектурную организацию и функциональные свойства тканей кожи. В обзоре проведен анализ публикаций, представленных в базах данных Scopus, PubMed и RSCI, охватывающих области биопечати, тканевой инженерии и регенеративной медицины. Использовались опубликованные данные, посвященные разработке биоматериалов, протоколам 3D-биопечати, характеристикам биопечатных кожных конструкций и результатам как доклинических, так и клинических исследований, актуальные по состоянию на сентябрь 2025 года. Анализ показал, что одним из наиболее перспективных направлений является оптимизация 3D-биопечати кожных конструкций, основанная на использовании фибробластов, кератиноцитов и инновационных биоматериалов, таких как гидрогели, коллагеновые матрицы и GelMA. Эти технологии позволяют создавать полнослойные, васкуляризированные структуры, обеспечивая достаточно высокую точность пространственного распределения клеток и поддержку микросреды, необходимой для регенерации тканей. Дальнейшие исследования по оптимизации параметров печати, правильному выбору компонентов биочернил, интеграции фибробластов и других клеточных компонентов позволят более точно моделировать дермальные слои и стимулировать процессы регенерации. Применение дополнительных биологических факторов будет способствовать формированию устойчивой сосудистой сети, лучшей приживляемости конструкций, что значительно улучшит функциональную интеграцию напечатанных конструкций в ткани организма-реципиента. Таким образом, интеграция передовых методов 3D-биопечати, оптимизированных биочернил и мультিকлеточных конструкций открывает перспективы создания кожных эквивалентов нового поколения, которые смогут не только ускорить процесс регенерации, но и обеспечить эстетически оптимальный результат для пациентов, страдающих от серьезных ожогов, травм и других повреждений кожи.

Ключевые слова: фибробласты, кератиноциты, 3D-биопринтинг, дерма, биоматериалы.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

© Саенко Ю.С., Агеева Е.С., Юрченко К.А., Дегирменджи Э.Т., Волкова Н.А., Фомочкина И.И., Кубышкин А.В., 2025

Саенко Ю.С. и др.

Эквиваленты кожи для заживления ран и регенерации

Финансирование: исследование выполнено при финансовой поддержке ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского» в рамках проекта МОЛ/2024/ 3.

Для цитирования: Саенко Ю.С., Агеева Е.С., Юрченко К.А., Дегирменджи Э.Т., Волкова Н.А., Фомочкина И.И., Кубышкин А.В. Эквиваленты кожи, полученные на основе 3D-биопечати и фибробластов, для заживления ран и регенерации. *Регенерация органов и тканей*. 2025;3(1): 41–65. <https://doi.org/10.60043/2949-5938-2025-1-41-65>

Получена 18.01.2025

Обработана 26.02.2025

Принята 01.03.2025

3D bioprinted and fibroblast-based skin equivalents for wound healing and regeneration

Yulia S. Saenko^{1,2}, Elizabeth S. Ageeva^{1,2,*}, Ksenia A. Yurchenko^{1,2},
Evelina T. Degirmenji^{1,2}, Nadezhda A. Volkova^{1,2}, Irina I. Fomochkina^{1,2},
Anatoly V. Kubyshkin^{1,2}

¹ Order of the Red Banner of Labor Medical Institute named after S.I. Georgievsky, Russia, 295051, Simferopol, Lenin Blvd, 5/7

² Engineering Center “Genetic and Cellular Biotechnologies”, Russia, 295051, Simferopol, Lenin Blvd, 5/7

* Correspondence: ageevaeliz@rambler.ru

Abstract

Intensive development of personalized medicine is revealing new possibilities for the development of regenerative medicine technologies and the translation of these developments into the clinic. One of the rapidly developing directions in creating new therapeutic approaches is the use of bioprinting for the fabrication of tissue and organ constructs. Particular attention is drawn to the development of skin equivalents capable of reproducing the complex architectural organization and functional properties of skin tissues. The review analyzes publications presented in the Scopus, PubMed, and RSCI databases, covering the fields of bioprinting, tissue engineering, and regenerative medicine. Published data were used that are devoted to the development of biomaterials, 3D-bioprinting protocols, characteristics of bioprinted skin constructs, and results of both preclinical and clinical studies, relevant as of September 2025. The analysis showed that one of the most promising directions is the optimization of 3D-bioprinting of skin constructs based on the use of fibroblasts, keratinocytes, and innovative biomaterials such as hydrogels, collagen matrices, and GelMA. These technologies enable the creation of full-thickness, vascularized structures, ensuring sufficiently high accuracy of the spatial distribution of cells and support for the microenvironment necessary for tissue regeneration. Further studies on optimization of printing parameters, proper selection of bioink components, and integration of fibroblasts and other cellular components will allow more precise modeling of the dermal layers and stimulation of regeneration processes. The application of additional biological factors will contribute to the formation of a stable vascular network and better engraftment of constructs, which will significantly enhance the functional integration of printed constructs into the recipient tissue. Thus, the integration of advanced 3D-bioprinting methods, optimized bioinks, and multicellular constructs opens prospects for creating a new generation of skin equivalents, which will not only accelerate the regeneration process but also provide an aesthetically optimal outcome for patients suffering from severe burns, injuries, and other skin damages.

Keywords: fibroblast, keratinocytes, 3D-bioprinting, derma, biomaterials.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

Funding: The study was carried out with the financial support of the Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education “V.I. Vernadsky Crimean Federal University” within the framework of the MOL/2024/ 3 project.

For citation: Saenko Yu.S., Ageeva E.S., Yurchenko K.A., Degirmenji E.T., Volkova N.A., Fomochkina I.I., Kubyshkin A.V. 3D bioprinted and fibroblast-based skin equivalents for wound healing and regeneration. *Tissue and organ regeneration*. 2025;3(1):41–65. <https://doi.org/10.60043/2949-5938-2025-1-41-65>

Received 18.01.2025

Revised 26.02.2025

Accepted 01.03.2025

Список сокращений:

3D — трехмерный

EGF — эпидермальный фактор роста

GelMA — желатина метакрилоил

KGF — фактор роста кератиноцитов

PDGF — тромбоцитарный фактор роста

VEGF — фактор роста эндотелия сосудов

List of abbreviations:

3D — three-dimensional

EGF — epidermal growth factor

GelMA — gelatin methacryloyl

KGF — keratinocyte growth factor

PDGF — platelet-derived growth factor

VEGF — vascular endothelial growth factor

Введение

Интенсивное развитие персонифицированной медицины раскрывает новые возможности для разработки технологий регенеративной медицины и трансляции этих разработок в клинику. Одним из интенсивно развиваемых направлений в создании новых лечебных подходов является использование биопечати для изготовления конструкций тканей и органов. Причем биопечать трехмерных (3D) клеточных каркасов сейчас стоит на переднем крае как надежный заменитель тканей, особенно в рамках трансляционных исследований. Эта технология создает биологические конструкции с иерархической архитектурой, напоминающей ткани человека. Считается, что воспроизведение сложных тканей с использованием технологий 3D-биопечати может стать ключевым фактором сближения эк-

спериментальных лабораторных и клинических исследований, ускорив путь к использованию продуктов регенеративных технологий в клинической практике.

Развитие технологий прототипирования и расширение ассортимента материалов для биопечати позволяют создавать среды, наиболее приближенные и комплементарные структуре нативных тканей. Данные подходы включают последовательную или одновременную послойную печать нескольких материалов, обеспечивающих поддержку различных типов клеток. Гибкость интеграции биокomпонентов при создании функциональных биочернил позволяет выстраивать пространственно сложные конструкции [1]. В качестве основного компонента биочернил обычно используются гидрогели, что обусловлено

высоким содержанием водного компонента и заметным сходством с естественной внеклеточной матрицей (ВКМ). Благодаря этим свойствам гидрогели формируют обогащенную среду для поддержания жизнеспособности клеток, процессов пролиферации и дифференциации. Интеграция наночастиц и нановолокон позволяет улучшать биопечатные свойства и функциональные характеристики гидрогелей, в то время как добавление факторов роста, лекарственных препаратов, мРНК и других регуляторных компонентов способствует целенаправленному модулированию ключевых молекулярных путей для правильной дифференцировки и улучшения приживляемости [2–4].

В современных исследованиях в области регенеративной медицины особое внимание уделяется разработке кожных эквивалентов, способных воспроизводить сложную архитектурную организацию и функциональные свойства тканей кожи. Одним из наиболее перспективных направлений является оптимизация 3D-биопечати кожных конструкций, основанных на использовании фибробластов, кератиноцитов и инновационных биоматериалов, таких как гидрогели, коллагеновые матрицы и желатина метакрилоил (GelMA). Эти технологии позволяют создавать полнослойные, васкуляризированные структуры, обеспечивая высокую точность пространственного распределения клеток и поддержку микросреды, необходимой для регенерации тканей.

Современные исследования демонстрируют, что использование 3D-биопечати позволяет не только точно повторить анатомическую сложность кожи, но и ускорить процессы заживления ран за счет формирования функциональной сосудистой сети и активизации клеточных сигналов. Цель данного обзора — проанализировать современные методы оптимизации 3D-биопечати кожных эквивалентов для регенеративной медицины, обсудить их технологические и биологические аспекты, а также изучить экспериментальные и клинические данные, подтверждающие их эффективность.

В ходе подготовки данного обзора был проведен анализ публикаций, представленных в базах данных Scopus, PubMed и RSCI, охватывающих области биопечати, тканевой инженерии и регенеративной медицины. В качестве исходного материала использовались опубликованные данные, посвященные разработке биоматериалов,

протоколам 3D-биопечати, характеристикам биопечатных кожных конструкций и результатам как доклинических, так и клинических исследований, актуальные по состоянию на сентябрь 2025 года.

Биология кожи, общие механизмы регенерации и история создания кожных эквивалентов

Кожа — это самый большой орган человеческого тела, обладающий сложной структурой, состоящей из эпидермиса, дермы и гиподермы. Эпидермис, состоящий преимущественно из кератиноцитов, обеспечивает барьерную функцию, тогда как дерма, сформированная из фибробластов, содержит коллагеновые волокна, эластин и другие компоненты внеклеточного матрикса, обеспечивающие механическую прочность и эластичность ткани. Фибробласты играют ключевую роль в регенерации кожи, синтезируя коллаген и широкий спектр факторов роста, которые активизируют процессы заживления ран и ревазуляризации поврежденных тканей.

Основные механизмы регенерации кожи включают активацию клеточных сигналов, обеспечивающих пролиферацию и миграцию кератиноцитов и фибробластов; формирование и ремоделирование внеклеточного матрикса; васкуляризацию, способствующую снабжению ткани кислородом и питательными веществами; межклеточное взаимодействие и регуляцию через цитокины и факторы роста.

При нормальном взаимодействии указанных механизмов и незначительной степени повреждения регенераторные процессы обеспечивают самостоятельное восстановление кожных покровов. Однако при обширных повреждениях кожи, характерных для глубоких ран и ожогов, собственного регенераторного потенциала кожи часто бывает недостаточно. В таких случаях наиболее эффективным способом лечения и восстановления кожных дефектов является применение кожных трансплантатов. Однако использование аутологических кожных трансплантатов (дерматоластика), полученных из интактных участков тела пациента, сопряжено с рядом трудностей и ограничено доступной площадью в соответствии с объемом повреждения. Подходы к биоинженерии заменителей кожи основаны на комбинированном использовании биоматериалов, факторов роста и клеток [5, 6]. В последние годы все большее развитие получают технологии создания

кожных трансплантатов на основе биоматериалов в сочетании с аутологичными клетками пациента, применение которых способствует безрубцовому заживлению ран и реконструкции всей толщи кожи [7, 8].

Следует отметить, что разработка методов замещения кожи была давней целью современной медицины, начиная с новаторской работы Жака-Луи Ревердена, проведенной в 1870 году с использованием аллотрансплантатов «свежей кожи», и заканчивая биологическими материалами, которые в настоящее время используются в операционных. С момента своего появления в 1874 году аутологичные кожные трансплан-

таты различной толщины не обеспечивают полного восстановления структурных и функциональных свойств кожи. Кроме того, использование трансплантатов сопряжено с формированием болезненных донорских участков, что послужило стимулом для разработки и внедрения биологических заменителей кожи, получивших широкое применение в современной хирургической практике [9]. На начальных этапах разрабатывались и активно внедрялись биокомпозитные повязки, которые существенно улучшают заживление ран, успешное применение которых сделало их одним из наиболее часто используемых средств для лечения больших поверхностных ожогов [10] (табл. 1).

Таблица 1. Этапы создания тканеинженерных конструкций и типы применяемых клеток [11]

Table 1. Stages of creation of tissue-engineered constructs and types of cells used

Этапы	Вид клеток	Особенности	Недостатки
1950-е годы Billingham R. и Reynolds J. [12]	Аутологичные клетки эпидермиса	Способствует появлению островков эпителизации в ране, которые затем сливались между собой	Слабое прикрепление трансплантата к ложу, отсутствие предотвращения фиброзной контракции, происходящей в подлежащей строме
1971 г. Karasek M. [13]	Аутологичные кератиноциты на раны кроликов	Подложки из биологических тканей (в частности, из кожи свиньи)	Низкий выход клеток при каждом пассаже [14]
1975 г. Phillips и Green H. [15, 16]	Кератиноциты человека	Технология серийного культивирования	Длительность культивирования (3–4 нед.). Дороговизна биологических стимуляторов роста эпидермальных клеток. Ограниченность сроков хранения [17]
1983 г. Bell E. и соавт., 2015 г. Steffens D. и соавт. [18, 19]	Фибробласты и кератиноциты	«Живой эквивалент дермы» – коллагеновый гель, заселенный фибробластами, а на поверхности геля кератиноциты	Трудоемкость, специальное оснащение лаборатории, разработка технологии забора и культивирования клеток, создание банка культур клеток, внедрения системы контроля качества. Кератиноциты, обработанные кондиционированной средой, показали наименьший пролиферативный потенциал, но больший, чем без обработки
1990-е годы Саркисов Д.С. и соавт. [20]	Фибробласты, аллофибробласты	Оптимальные условия для функционирования и пролиферации других типов клеток, способность образовывать межклеточный матрикс, синтезировать цитокины [21]	Риск сенсибилизации организма чужеродными антигенами; вероятность инфекционных заболеваний у донора
1993 г. Wood F. [22]	Аутокератиноциты	Разработали <i>spray on skin</i> . Одноэтапное лечение	Не выявлено
2011 г. Винник Ю.С. и соавт. [23]	Аутофибробласты	Низкий риск отторжения и развития аллергических реакций, исключен риск заражения инфекционными агентами, не возникает трудностей с поиском подходящих доноров, биопсию кожи для получения аутогенных клеток можно проводить неоднократно	Сроки культивации максимально малого количества донорского материала составляют в среднем 3 недели

Современные биологические заменители кожи, как правило, основаны на коллагеновых каркасах, которые обеспечивают инфильтрацию аутологических клеток и стимуляцию дальнейшей регенерации тканей [24]. Также используются инертные бесклеточные матрицы, такие как Al-loderm [25], а также клеточные матрицы с интегрированными компонентами из фибробластов и кератиноцитов, такие как Apligraf [26]. Наиболее приближенный по строению к коже эквивалент Stratograft одобрен FDA (США) в 2022 году и является на данный момент первым зарегистрированным продуктом на основе клеточных технологий для применения при кожных повреждениях [27].

Тканевая инженерия кожи предполагает использование кератиноцитов, выделенных из частичной или полной толщины кожи путем ферментативного расщепления и последующим культивированием на биоактивных каркасах [28, 29]. Такие пористые синтетические или биологические каркасы обеспечивают достаточное питание за счет перфузии и создают условия, благоприятные для пролиферации и дифференцировки клеток, что позволяет формировать ткань, воспроизводящую структурные и биологические характеристики кожи. Интеграция дермального слоя или биомиметического каркаса улучшает эластичность и структурную поддержку лимфатических, сосудистых и других структур, нервных окончаний и, следовательно, функциональность кожи [30]. Выживаемость эпидермального компонента остается одним из основных ограничивающих факторов при биологической замене кожи [31], что связано с относительно большим расстоянием между раневым ложем и аутотрансплантатом. В качестве одного из подходов к преодолению данного ограничения рассматривается заполнение дермальных каркасов мезенхимальными стволовыми клетками и факторами роста для улучшения кровоснабжения сосудов посредством стимуляции ангиогенеза.

Несмотря на большое количество научных исследований по регенерации кожи, в настоящее время создание композитных трансплантатов, состоящих из дермы и эпидермиса на одном этапе трансплантации, остается нерешенной задачей [32]. Это, вероятно, объясняется тем фактом, что многослойную анизотропную структуру эпидермиса [33], содержащую кератиноциты (на разных стадиях дифференцировки), меланоци-

ты и клетки Меркеля, поверх толстой, но эластичной сосудистой структуры дермы, содержащей нервные окончания, сальные железы и волосные фолликулы, трудно воспроизвести *in vitro* с помощью традиционных методов тканевой инженерии кожи.

В связи с этим дальнейший прогресс в данной области напрямую зависит от раскрытия молекулярных и клеточных механизмов регенерации кожи, а также от развития технологий культивирования клеток и методов биопечати, которые рассматриваются как ключевые инструменты для успешной разработки функционально полноценных кожных эквивалентов.

Технологии биопечати и место 3D-биопринтинга для создания кожных эквивалентов

При изготовлении кожных эквивалентов, используемых для заживления ран, применяются *ex vivo* и *in situ* стратегии биопечати. В рамках подхода *ex vivo* формируется кожный конструкт, культивируемый *in vitro*, содержащий дерму и эпидермис, который после достижения необходимой степени зрелости извлекается из системы культивирования и имплантируется в зону повреждения кожи пациента. Используется несколько подходов к биопечати в зависимости от задач и сложности создаваемой структуры (табл. 2).

Одной из наиболее перспективных и быстро развивающихся технологий является трехмерная печать, направленная на воссоздание внеклеточного матрикса тканей и органов человека в комплексе с живыми клетками и факторами роста, на основе биосовместимых материалов [38]. Метод 3D-печати позволяет создавать конструкции, имитирующие архитектуру пространственной геометрии, специфичной для пациента, с управляемым положением клеток, аналогичным структуре нативной ткани [39].

Для биопринтинга используют 3D-принтер с точным послойным нанесением биочернил: смеси живых клеток, питательных веществ и гелевых материалов, имитирующих внеклеточный матрикс [40]. Такая конструкция создает условия для формирования новой ткани, обеспечивает благоприятную среду для миграции, пролиферации и дифференцировки клеток. Существует три основных метода 3D-биопечати (табл. 3).

Таблица 2. Сравнительная характеристика различных типов биопечати [34–37]

Table 2. Comparative characteristics of different types of bioprinting [34–37]

Тип	Основа и компоненты	Определение ключевые функции	Преимущества	Недостатки
2D	Клетки могут расти и расширяться в двух измерениях в виде монослоя на пластине	Для исследования клеточных взаимодействий одного типа клеток с другим	Клетки культуры одинаково получают питательные вещества и факторы роста, находятся в одной стадии клеточного цикла	Слабая дифференцировка клеток. Неустойчивость к препаратам. Быстрая пролиферация. Неточное представление о реакции клеток на механические стимулы
3D	Гидрогели: натуральные (альгинат, желатин), коллаген, синтетические (полиэтиленгликоль), бесклеточные биопленки	Фиксированная структура. Совместимость с различными биокомпонентами. Послойное нанесение клеток	Простая и продуманная технология. Точный контроль формы. Экономичность и масштабируемость	Отсутствие адаптивности. Ограниченная способность имитировать динамические биологические функции
4D	Умные биополимеры (хитозан, полинизопропилакриламид), гидрогели со встроенными наночастицами	Реагирует на раздражители (например, pH, температуру). Динамическая трансформация	Изменение формы в ответ на раздражители. Улучшенная биофункциональность	Сложные требования к материалам. Трудно контролируемые преобразования
5D	Наноцеллюлоза, наноглин, оксид графена. Гибридные гидрогели: GelMA (желатина метакрилоил) с наполнителями и наночастицами для дистанционного управления	Тканеспецифичный матричный каркас. Высокая механическая точность. Дополнительные оси вращения для более сложной печати	Возможность создавать вогнутые или изогнутые формы для лучшего сохранения механических свойств. Возможность машинного обучения	Механически сложный материал. Высокая стоимость. Проблемы с движением
6D	Гидрогели, интегрированные с мягкой электроникой (гибкие токопроводящие чернила)	Умные материалы. Динамическое и анатомическое соответствие. Сочетание пространственной гибкости 5D и динамической отзывчивости 4D	Точность и адаптивность. Имитирует архитектуру <i>in vivo</i> . Возможность печати на теле. Способность изменять форму, интеллектуальное поведение ткани	Сложность. Предназначен для научных исследований. Высокая стоимость и ограниченная доступность

Таблица 3. Сравнение методов, применяемых в биопечати кожи [41–45]

Table 3. Comparison of methods used in skin bioprinting [41–45]

Характеристики	Экструзионная	Струйная	Лазерная
Тип печати	Построчная	По каплям (микрокапельная)	По каплям
Точность	Средняя и низкая	Средняя	Высокая
Плюсы	Низкая стоимость, простота выполнения, возможность печати с высокой плотностью и вязкостью клеток	Низкая стоимость, высокая жизнеспособность клеток, высокое разрешение и производительность, бесконтактная печать	Высокая жизнеспособность клеток, бесконтактная печать, без сопла
Минусы	Засоряющиеся сопла, механическое напряжение, возникающее при нанесении биочернил. Снижение жизнеспособности клеток при увеличении скорости печати	Ограниченное использование биочернил, низкая прочность, засорение сопел, риск механического и термического повреждения клеток, возможность агрегации и седиментации клеток	Низкая масштабируемость, медленная скорость потока из-за быстрого гелеобразования, длительность производства

Каждая из этих технологий имеет свои преимущества и ограничения, связанные с вязкостью биочернил, параметрами печати, сохранением жизнеспособности клеток и возможностями масштабирования. При выборе оптимальной технологии учитываются особенности конструкции кожного эквивалента, требования к биоматериалам и клинической применимости.

Наиболее популярным и распространенным является экструзионный метод, при котором биочернила непрерывно наносятся под пневматическим давлением или с использованием механических поршневых систем [46]. Данный метод позволяет осуществлять печать вязких биочернил с высокой плотностью клеток. Струйная биопечать [47] использует режим печати «капля по требованию», обычно с применением термического или пьезоэлектрического эффектов. При термической биопечати небольшой нагреватель в печатающей головке использует высокие температуры для создания пузырьков пара в биочернилах. Образующиеся паровые пузырьки создают импульс давления, обеспечивающий выброс биочернил. Данный метод отличается высокой скоростью печати и относительной экономической доступностью. Лазерная биопечать применяется для создания аналогов кожи с использованием биочернил с высокой плотностью клеток и разрешением, близким к уровню отдельных клеток.

Биопечатные конструкции могут выполняться в трех различных форматах: в виде клеточных суспензий, инкапсулированных клеток в гидрогеле или бесклеточных моделей. Следует отметить, что при использовании дермоэпидермальных заменителей кожи кератиноциты демонстрируют ограниченную адгезию и пролиферацию на поверхности бесклеточных гидрогелей коллагена. В любом случае функциональные и структурные характеристики конечного продукта определяются свойствами биочернил, которые должны отвечать высоким требованиям биосовместимости, быть механически стабильными и поддерживать сохранение формы напечатанной конструкции [48].

Подбор и оптимизация биочернил и биоматериалов для биопринтинга

Одним из ключевых аспектов оптимизации процессов биопечати является выбор подходящих биочернил, способных обеспечить формирование функционально полноценных кожных эк-

вивалентов. На сегодняшний день большое внимание уделяется гидрогелям на основе GelMA, коллагена, альгината натрия и других компонентов, которые обеспечивают биосовместимую среду, поддерживающую клеточную жизнеспособность, предоставляют возможность регулировать механические свойства, вязкость и скорость кросс-сшивания белковых цепей.

Оптимальные биочернила должны соответствовать ряду ключевых требований: обладать высокой биосовместимостью и способностью к поддержанию жизнеспособности клеток; характеризоваться адекватной печатной адаптивностью и возможностью создания стабильных структур; демонстрировать контролируемую биодеградацию, согласованную с регенеративным процессом, а также воспроизводить среду, близкую к естественной для клеток кожи.

В таблице 4 приведены основные биоматериалы, используемые для включения в состав биочернил, и условия их применения в экспериментальных исследованиях.

Краткий обзор проведенных исследований показывает, что Albanna и соавт. [88], Liu и соавт. [52] и Jorgensen и соавт. [58] применяли комбинации, включающие коллаген типа I, желатин, фибриноген или гиалуроновую кислоту, что позволило достичь эффективного дермально-эпидермального взаимодействия, усиленной депозиции коллагена и снижения выраженности контрактуры раны. Cavallo и соавт. [50], Huyan и соавт. [61], Jiao и соавт. [51] и Liu и соавт. [52] использовали формулы желатин-альгинат или коллаген-альгинат для моделирования кожи и поддержки жизнеспособности клеток, улучшая заживление ран, особенно при включении нескольких типов клеток. Somasekharan и соавт. [53] далее подтвердили эти выводы, демонстрируя потенциал биочернил на основе альгината-желатина-диэтиламинэтилацетилцеллюлозы для поддержания жизнеспособности клеток и сохранения фенотипов и функциональности клеток, при этом обеспечивая высокую точность воспроизведения формы.

Zhang и соавт. [60] использовали GelMA и биочернила на основе метакриловых производных гиалуроновой кислоты, подчеркивая важность обработки ВКМ жировой ткани для биосовместимых и печатаемых материалов.

Таблица 4. Свойства и применение биоматериалов

Table 4. Properties and applications of biomaterials

Биоматериалы	Свойства	Применение	Ссылки
Сыворотка Ab	Созревание конструктора, выживаемость клеток при нанесении на поверхность кожи, механическая стабильность	Васкуляризированный конструктор кожи	[49]
Альгинат	Пригодность для печати, биосовместимость, способность к биологическому разложению, достаточная вязкость и упругость, быстрое сшивание в присутствии ионов кальция в гидрогеле, низкая стоимость, отсутствие биологической активности	Эквивалент кожи, заживление ран, ожоги второй степени тяжести	[50–53]
Бактериальная наноцеллюлоза (BNC)	Высокая влагоудерживающая способность, благоприятные реологические свойства, пригодность для печати, прочность и эластичность, структурная стабильность, морфологическое сходство с коллагеном	Полнослойная гетерогенная ткань искусственная кожа, заживление ран. Может использоваться в качестве механического усилителя для улучшения механической прочности биочернил	[54]
Биоразлагаемый полиуретан (PU)	Пригодность для печати, высокая разрешающая способность, биосовместимость, возможность повлиять на скорость биоразложения, эластичность, умеренная контракция ткани, свойства к истончению, миграция тканей	Обширные раны во всю толщину	[55]
CaCl ₂	Химическая сшивка геля после печати тканевой структуры	Используется с альгинатными биочернилами и биочернилами на основе желатина	[50, 52, 53, 55]
Хитозан	Биосовместимость с тканями, биоразлагаемость, биоактивность, механическая прочность, пригодность для печати, показано фармакологическое действие на разных стадиях заживления ран, включая гемостатическую и антибактериальную активность	Регенерация кожи <i>in vitro</i> и заживление ран	[56]
Коллаген I типа	Созревание конструкции, стабильное приживление тканеинженерного конструктора в ране, механическая стабильность, имеются лиганды для прикрепления клеток	Полнослойные раны, ожоги, язвы	[49, 51]
Диэтиламиноэтил-целлюлоза (DCEL)	Отсутствие цитотоксичности, стабильность, эластичность и пористость; обладает адгезивной способностью, стабильностью; в DCEL клетки однородно распределяются по всей печатной конструкции	Васкуляризованная кожная конструкция, эквиваленты кожных тканей	[53]
Фибриноген	Биосовместимость, способность к биодеградации, клеточная адгезия, быстрое гелеобразование с сохранением трехмерной формы	Раны на всю толщину, ожоги второй степени тяжести, язвы, заживление ран,	[50, 57, 58]
Фибронектин	Стабильное приживление, механическая стабильность, обладает биологической активностью, биодеградация	Васкуляризированный конструктор кожи	[50, 52, 57]
Желатин	Биосовместимость, чувствительность к температуре, небольшое количество лигандов для клеточной адгезии и более низкая биологическая активность, хорошая клеточная жизнеспособность, низкая стоимость; благодаря адгезии клеток подходят для роста, пролиферации фибробластов и ремоделирования внеклеточного матрикса	Ткани <i>in vivo</i> и <i>in vitro</i> ; искусственный кожный трансплантат с эндотелиальными клетками сосудов, моделирование свежей раны	[58, 61]

Биоматериалы	Свойства	Применение	Ссылки
Композиты GelMA	Биосовместимость, ферментативное расщепление, клеточная адгезия и остаточные механические свойства	Модификация желатиновых гидрогелей для улучшения возможности печати, воспроизводимости и тканеинженерных конструкций, системы доставки лекарств и 3D-печать	[59, 60]
Генипин	Биоактивность, механическая прочность, пригодность для печати, противовоспалительные свойства	Регенерация кожи <i>in vitro</i> и заживление ран	[58]
Глицерин	Антибактериальные свойства, биосовместимость повышают стойкость гелей и предотвращают засорение сопел биопринтера	Многоклеточная биопечать; заживление ран	[58]
Гиалуроновая кислота	Повышает равномерность распределения клеток в тканеинженерном конструкте	Раны на коже во всю толщу	[58, 60]
Литий фенил-2,4,6-фосфонат триметилбензоила (LAP)	Фотоинициаторная сшивка для индукции цепной полимеризации при воздействии света	Используется с биочернилами желатина метакрилата	[54, 59]
Биоразлагаемая полигликолевая кислота (PGA)	Созревание конструкции, стабильное приживление, механическая стабильность	Васкуляризированный конструкт кожи	[49]
Фиброин шелка	Биосовместимость (высокая пролиферация и адгезия клеток, низкий воспалительный ответ), способность к биодеградации, отсутствие цитотоксичности, высокая прочность на растяжение; образует стабильные пористые 3D-структуры	Полнослойная модель искусственной кожи <i>in vitro</i>	[59]
Термопластичный полиуретан (PU)	Создает эффект перевязки ран при регенерации кожи; поддерживающий раневой перевязочный материал; обладает высокой эластичностью по сравнению с другими биосовместимыми термопластичными полимерами	Индивидуальная печать биомаска для ухода регенерации кожи лица пациента	[55]
Тромбин	Осаждение тромбина на фибриногеновую матрицу приводит к образованию фибрина	Раны по всей толщине, ожоги, язвы	[58, 88]

Включение таких материалов ускоряет заживление ран за счет усиленного сокращения ткани, секреции коллагена, ремоделирования и неоангиогенеза. Choi и соавт. [59], Li и соавт. [54] и Jin и соавт. [62] представили биопечатные конструкции с использованием GelMA, бактериальной целлюлозы или матриц кожи свиньи, применение которых приводило к улучшению васкуляризации, секреции компонентов ВКМ и даже способствовало формированию структур, напоминающих волосяные фолликулы. Совокупность представленных данных указывает на значимость создания пространственно организованных и многослойных конструкций для достижения более

полной регенерации. Hafezi и соавт. [56] использовали хитозан с генипином для повышения сохранности структуры и жизнеспособности клеток при низком давлении печати, в то время как Lee и соавт. [63] реализовали гибридный метод с использованием микропринтера для лучшего контроля осаждения эпидермального слоя. Использование полимеров на основе полиуретана также свидетельствует о попытках обеспечить функциональные механические свойства *in vivo*, что приводит к значительной вторичной эпителизации и стимуляции ангиогенеза. Наконец, Desanlis и соавт. [57] и Baltazar и соавт. [49] продемонстрировали возможность использования только что изолированных

аутологичных кожных клеток или материалов без компонентов животного происхождения, что способствовало формированию стратифицированных эпидермальных слоев и индукции неоангиогенеза *in vivo*. Данные модели представляют высокую научную и прикладную значимость, поскольку поддерживают концепцию использования аутологичных или полностью гуманизированных систем в будущих терапевтических применениях.

Фибробласты как ключевой клеточный компонент кожных эквивалентов

Фибробласты играют критически важную роль при формировании дермальных слоев кожных эквивалентов. Они синтезируют коллаген и другие матричные белки, создавая каркас, который не только поддерживает механическую целостность ткани, но и способствует ускоренной регенерации ран.

В организме фибробласты представлены несколькими видами клеток, расположенными в разных тканях с характерной специфичностью (перидиты, фибробласты сердца, мышечные фибробласты, дермальные фибробласты). Существуют и другие типы фибробластов, связанные со структурой и функцией толстой кишки, мочевого пузыря, легких и органов пищеварения [64].

По происхождению можно выделить первичные фибробласты, которые происходят из мезенхимы после эпителиально-мезенхимального перехода эпидермальных клеток, давая начало резидентным фибробластам и резидентным «покоящимся» фибробластам. Последние являются основным фактором гомеостаза внеклеточного матрикса. Взаимодействуя с окружающей их средой, фибробласты могут модифицировать свойства клеток и продуктов их секреции, регулируя тем самым процессы развития тканей и способствуя купированию патологических состояний [65].

К основным функциям фибробластов относятся: синтез и поддержание ВКМ, обеспечивающие структурную организацию мягких соединительных тканей; секреция цитокинов и факторов роста; межклеточные взаимодействия как между фибробластами, так и с другими типами клеток, посредством которых они формируют сигнальную среду ниш стволовых клеток; участие в процессах ремоделирования тканей, фиброгенеза и заживления ран.

Фибробласты классифицируют по функциональной активности: фиброз-ассоциированные фибробласты; фибробласты, ассоциированные с заживлением ран; фибробласты, ассоциированные с раком, и фибробласты, ассоциированные со старением.

Наиболее перспективным является изучение физиологии дермальных фибробластов. Популяция клеток представлена несколькими подтипами: папиллярные (поддерживающие эпидермис), ретикулярные (расположенные в более глубоком слое).

При заживлении ран или в ходе воспалительной реакции дермальные фибробласты дифференцируются в миофибробласты, характеризующиеся сократительной активностью и организацией в волокнистые структуры. В результате клетки формируют структурный каркас заживающей раны, способствуя ее закрытию, однако их персистирующая активация может приводить к развитию фиброза, при котором ткани становятся жесткими или рубцуются. Независимо от органа регенерация обычно включает три перекрывающиеся фазы. Сразу после травмы первыми клетками реагирования являются макрофаги и нейтрофилы (стадия воспаления). Через 2–10 дней наступает пролиферативная стадия, которая включает ангиогенез, отложение ВКМ и пролиферацию клеток. В результате образуется новая ткань и уменьшается поврежденная область [66]. Третья стадия — ремоделирование, когда ткань восстанавливает предыдущую гистеоархитектонику, а лежащий в ее основе ВКМ подвергается реорганизации.

Современная концепция заживления тканей после глубоких ран кожи с формированием лоскутов заключается в том, что фасциальные фибробласты способствуют поступлению композитных материалов в рану, при этом коллективная миграция меченых фибробластов лежит в основе этого конвейерного управления. В процессе мобилизации фасции межклеточная адгезия и взаимодействие через N-кадгерин и коннексин 43 играют ключевую роль, способствуя агрегации и закрытию ран плотными пробками из предварительно сформированного фасциального матрикса. Со временем этот временный кожный барьер, сформированный фасцией, ремоделируется в зрелый гипертрофический рубец [67].

Широкое использование фибробластов обусловлено их относительной доступностью, которая достигается за счет возможности легко изолировать клетки из тканей, выращивать в культуре на искусственных поверхностях (стекло и пластик), на природных и/или биоинженерных материалах [68]. Под воздействием определенных стимулов, таких как трансформирующий фактор роста бета β -1, тромбоцитарный фактор роста и инсулиноподобный фактор роста-1, фибробласты способны синтезировать ВКМ, секретировать цитокины, вызывать миграцию и пролиферацию разных типов клеток при повреждениях кожи.

Определение оптимальных параметров культивирования фибробластов, направленных на увеличение их выживаемости и сохранение пролиферативного потенциала *in vitro*, остается

в числе актуальных задач регенеративной медицины. В таблице 5 приведены основные подходы к созданию оптимальных условий культивирования фибробластов.

Недостатком во многих протоколах получения аутологичных дермоэпидермальных заменителей кожи является длительный период культивирования — от начала выращивания до трансплантации кожного лоскута, который варьирует от пяти [74] до девяти недель [75], а в некоторых моделях может достигать 5 месяцев (табл. 5). Для пациентов с большими ожоговыми ранами это удлиняет время ожидания трансплантации, а сокращение периода культивирования *in vitro* без ухудшения качества кожного трансплантата представляет собой важную задачу, решение которой приведет к улучшению результатов их применения.

Таблица 5. Схемы культивирования с применением фибробластов и их особенности

Table 5. Fibroblast culture schemes and their features

Основные характеристики исследования	Культивируемые клетки / печатаемые компоненты кожи	Биополимер	Недостатки способа
3 этапа: выделение клеток из биоптата кожи, культивирование; поэтапная подсадка и культивирование клеток для формирования молодого эпидермиса [69]	Фибробласты и кератиноциты	Коллагеновый гидрогель	Длительность до 5 недель
3D-модель кожи для пересадки мышам породы NOD/SCID [70]	Кератиноциты и фибробласты, дифференцированные из ЧИПСК	Планшет Transwell	Длительное культивирование клеток (до 30 дней)
Создание сплошных стратифицированных слоев культивируемых кератиноцитов человека на поверхности модифицированного коллагено-хитозанового каркаса, содержащего фибробласты [71]	Кератиноциты и фибробласты крайней плоти новорожденного	Коллаген-хитозановый каркас	Необходимость исследования отдаленных последствий безопасности и приживаемости
Система культивирования органоидов — модулировали сигнальные пути ФНО- β и фактора роста и клеток. Сформированный органоид кожи повторяет схему рецепторов осязания человека [72]	Фибробласты, стволовые клетки эмбриона	96-луночные планшеты, содержащие среду для дифференцировки: матригель, BMP и ФНО- β	Длительность 4–5 месяцев
Биопленка на основе фибрина (жизнеспособность и пролиферация клеток), сшитые раствором тромбина [73]	МСК из ткани пуповины (жизнеспособность — более 94% в течение 7 дней культивирования)	Трехмерная матрица, среда Eagle (1% раствор антибиотика-антимикотика, 1% L-глутамин, 10% фетальная бычья сыворотка)	Стоимость. Необходимость постоянного добавления клеток в среду

Примечание: GelMA — желатина метакрилоил; NOD — мышьяная модель диабета без ожирения [non-obese diabetic]; SCID — мыши с тяжелым комбинированным иммунодефицитом (severe combined immunodeficiency); ЧИПСК — человеческие индуцированные плюрипотентные стволовые клетки; ФНО- β — фактор некроза опухоли-бета; МСК — мезенхимальные стромальные клетки; HUVEC — эндотелиальные клетки пупочной вены человека

Технологические и биологические аспекты создания кожных эквивалентов

Ключевыми параметрами, влияющими на качество биопечати клеточных конструкций, являются вязкость биочернил, температура печати, скорость экструзии и время кросс-сшивания. Исследования показывают, что оптимизация этих параметров позволяет добиться высокоточных 3D-конструкций с минимальными механическими повреждениями клеток. Дополнительные исследования в области реологии биочернил помогают корректировать фазовые переходы материалов и повышать стабильность итоговых структур.

Для успешного формирования функциональных кожных эквивалентов важно воспроизвести микросреду, максимально приближенную к естественной. Это достигается за счет интеграции клеточных факторов, стимуляторов васкуляризации (например, фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), фактор роста кератиноцитов (KGF), эпидермальный фактор роста (EGF)) и применения динамических систем культуры с перфузией. Оптимальный подбор факторов, увеличивающих скорость роста культуры клеток и повышающих устойчивость и жизнеспособность клеток в составе искусственного матрикса, улучшает процесс приживляемости конструкции и обеспечивает более эффективное самовосстановление тканей.

Многообещающим подходом для ускорения роста и начала функционирования тканеинженерных трансплантатов являются динамические биореакторные системы [76].

В биореакторе напечатанный биологический объект проходит стадию «дозревания» и стабилизации своей структуры [77]. Для контроля за этим критически важным процессом, в ходе которого формируются механическая прочность, структурная целостность и биологическая функциональность конструкта, применяются неинвазивные и недеструктивные методы мониторинга [78].

Для создания модели кожи разработана динамическая биореакторная система, которая позволяет подвергать большие (диаметром 30 мм) гидрогели коллагена, содержащие фибробласты, циклической деформации за счет контролируемого надувания мембраны под давлением. После трех дней циклической нагрузки обрабо-

танные биореактором дермальные заменители продемонстрировали трехкратное увеличение жесткости материала, обусловленное уплотнением и истончением гидрогелевой матрицы. В отличие от статического культивирования, при котором фибробласты оставались в состоянии покоя, динамические условия стимулировали их вход в клеточный цикл и интенсивную пролиферацию, что приводило к 75%-му увеличению числа клеток независимо от состояния деформации. Было показано, что динамически культивируемые дермальные заменители поддерживают более быструю пролиферацию кератиноцитов и ускоренное образование эпидермиса по сравнению со статически культивируемыми дермальными матрицами. Обсуждается влияние жесткости матрицы, потока интерстициальной жидкости и направленности деформации на пролиферацию фибробластов, что обеспечивает механо-биологическое понимание ускоренного созревания тканей.

Одним из основных факторов, ограничивающих возможности биопечати кожи, как и большинства других тканеинженерных конструкций, является обеспечение адекватной васкуляризации. Реновация кожных эквивалентов становится значительно эффективнее при наличии интегрированной сосудистой сети, что обеспечивает доставку кислорода и питательных веществ к клеткам. Новейшие подходы включают создание предформированных сосудистых каналов, в результате чего достигается генерация капиллярных сетей внутри 3D-структур [79]. Эта технология позволяет не только ускорить процесс заживления ран, но и повысить устойчивость конструкций в условиях динамического культивирования.

Ранние попытки использовать факторы роста, такие как VEGF, с кератиноцитами или каркасами, такими как композит из желатинсульфированного шелка, для стимулирования неоваскуляризации увенчались некоторым успехом, но очевидно, что необходимы дальнейшие исследования в этой области. Потенциальное преимущество 3D-биопечати в организации микро- и макроархитектуры тканей заключается в том, что по мере улучшения разрешения принтера в будущем сосудистая сеть сможет быть напечатана на биопринтере вместе с самой тканью, что позволит создать микрососудистый анастомоз с сосудами реципиента. Некоторые исследователи работали над созданием

многомасштабных сосудистых сетей, включающих дендритные каналы и прямые каналы; однако они все еще были далеки от кровеносных сосудов нативной кожи [79]. Альтернативный подход включает использование микрофлюидных систем, способствующих васкуляризации. В частности, такой подход применен для биопечати с использованием иммуномодулирующих биоматериалов, что может улучшить интеграцию трансплантата и снизить риск отторжения, а также расширить клиническое применение биопечатной кожи [80]. В целом в настоящее время ведется интенсивный поиск различных подходов к совершенствованию васкуляризации тканей, созданных путем биопринтинга [81], но на данный момент требуется еще много исследований в этом направлении.

Алгоритм разработки кожного эквивалента с использованием 3D-биопечати и культуры фибробластов можно представить в виде схемы, показанной на рисунке.

Следует отметить, что для создания полноценных кожных эквивалентов необходимо использовать многоуровневую стратегию печати, при которой отдельные слои моделируются с учетом специфики клеточного состава. Обычно такие конструкции включают базальный слой, где доминируют плотные сети фибробластов, отвечающие за синтез внеклеточного матрикса; эпидермальный слой, состоящий из кератиноцитов, располагающихся в виде моно- или многослойной структуры с характеристиками нормального кожного покрова.

Важно отметить, что выбор биочернил занимает приоритетное место при моделировании дермальных конструкций, поскольку именно их свойства определяют эффективность клеточной адгезии, сохранение функциональной активности клеток в процессе печати и последующей приживляемости конструкции.

Доклинические и клинические исследования эффективности приживляемости кожных эквивалентов

Большинство исследований с использованием модельных экспериментов на животных показали обнадеживающие результаты при применении дермальных и кожных эквивалентов, однако в значительной части случаев такие конструкции обладают существенными ограничениями для клинической трансляции.

Модели на мышах и крысах широко применяются на ранних этапах исследований благодаря их доступности и воспроизводимости. Однако кожа мелких экспериментальных животных существенно отличается от кожи человека: она заметно тоньше, имеет более высокую плотность волосяных фолликулов, и заживление происходит преимущественно за счет контрактуры ран. Указанные анатомические и физиологические различия ограничивают возможность точного моделирования процессов заживления ран у человека. В этом контексте модели на свиньях, напротив, обладают некоторыми преимуществами для трансляционных исследований. Кожа свиньи по толщине эпидермиса и дермы, структуре коллагена, сосудистой сети, иммунному ответу и механизму заживления, основанному

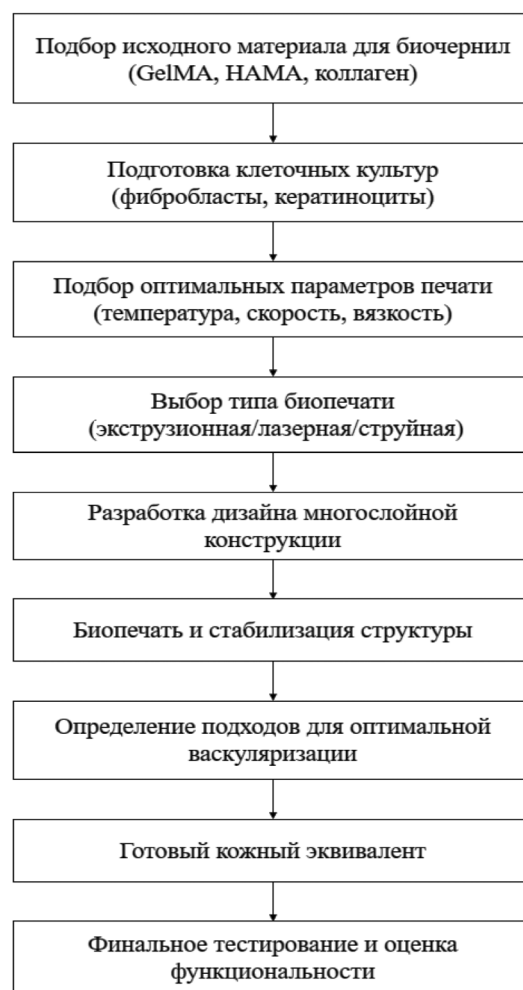


Рис. Блок-схема: процесс создания 3D-биопечатного кожного эквивалента

Fig. Flowchart: the process of creating a 3D bioprinted equivalent of each

преимущественно на реэпителизации, в значительной степени сопоставима с кожей человека [82, 83]. Однако использование свиной часто ограничено более высокими расходами, этическими соображениями и необходимостью специализированной инфраструктуры, что делает их менее доступными для рутинных экспериментов и клинической валидации.

Ключевая проблема в 3D-биопечати кожных заменителей — подбор идеальных биочернил, которые обеспечивают как отличную биосовместимость, так и контролируемые механические свойства [84]. Коллаген, хотя и напоминает естественный ВКМ, обладает недостаточной механической прочностью, что усложняет его использование в качестве самостоятельного печатного материала. Включение желатина, альгината и гиалуроновой кислоты улучшает вязкость биочернил и возможность воспроизводимой печати [85, 86]. Фибриноген способен к перекрестной полимеризации с тромбином для образования фибрина, который поддерживает клеточную адгезию и пролиферацию, обеспечивая быстрое гелеобразование для сохранения 3D-структуры биопечатных конструкций. Дополнительно включение компонентов, таких как глицерол, фотоинициаторы, хитозан и бактериальная наноцеллюлоза, может улучшать механические свойства, клеточные взаимодействия и биодеградацию, адаптируя биочернила под конкретные задачи [87]. Предметом дискуссий остается введение переменных биоматериалов, что создает значительные проблемы не только для воспроизводимости, но и для дальнейших тестов и регуляторной валидации, необходимых для клинической трансляции.

В ряде доклинических исследований было продемонстрировано, что применение 3D-биопечатных кожных эквивалентов позволяет ускорить процессы заживления ран, улучшить качество регенерации тканей и снизить риск возникновения инфекционных осложнений. Показано, что при использовании коллагена в виде гидрогеля максимальная стабильность формы и оптимальная микро- и макропористая структура достигаются при 37 °С. Хотя авторы отмечают, что прямая 3D-биопечать коллагена ограничена его физическими свойствами, особенно при включении в печать клеток или тканевых сфероидов [88]. Для улучшения печатных свойств используют смешивание с другими материалами (фибриноген и тромбин, хитозан [89]); а также применение низ-

ких концентраций коллагена (2–4%). Оценка влияния различных концентраций коллагена на жизнеспособность клеток показала, что снижение концентрации от 4 до 2% приводит к увеличению жизнеспособности клеток с $87,2 \pm 2,1$ до $97,2 \pm 1,2\%$ ($p < 0,05$). Подобный эффект продемонстрирован при снижении концентрации экстракта коллагена (со 100 до 25%) возрастает жизнеспособность клеток с $85,07 \pm 6,73$ до $111,31 \pm 3,65\%$ ($p < 0,05$) [88]. Таким образом, как для кератиноцитов, так и для фибробластов кожи их жизнеспособность изменяется пропорционально плотности клеточной суспензии и обратно пропорционально пространству между каплями.

Низкая плотность клеточной суспензии (0,5 млн клеток/мл) и большое расстояние между каплями (400 нм) приводят к умеренной жизнеспособности фибробластов (84%). В то время как наиболее высокие показатели жизнеспособности клеток (98–99%) наблюдались при плотности клеточной суспензии 1–2 млн клеток/мл и расстоянии между каплями 200 нм [90].

В качестве приоритетных параметров механических свойств материалов необходимо отметить высокий коэффициент набухания, возможность влаго- и воздухообмена в области раны. Средний модуль упругости человеческой кожи — от 100 до 1100 кПа (модуль Юнга) [91]. Степень набухания имеет обратную связь со значениями модуля Юнга.

Одним из ключевых параметров тканеинженерных конструкций является пористость, поскольку она оказывает влияние на образование и рост сосудистой сети. Пористость определяется как отношение суммарного объема полостей (пор) к общему объему тканеинженерной конструкции и находится в тесной взаимосвязи с ее физико-механическими характеристиками. Оптимальная пористость не нарушает процессы адгезии, пролиферации, дифференцировки и миграции клеток; при этом поры должны быть открытыми и взаимосвязанными [92].

Учитывая определяющее значение васкуляризации для выживаемости и функциональной интеграции тканеинженерных кожных конструкций, особое внимание в доклинических и клинических исследованиях уделяют факторам, определяющим их приживляемость. При этом установлено, что долговременная жизнеспособность дермальных эквивалентов

напрямую зависит от степени сформированности сосудистой сети, обеспечивающей адекватное снабжение клеток кислородом и питательными веществами.

Например, экспериментальные модели с использованием экстрагированных фибробластов показали, что стабильная сетчатая структура гидрогеля способствует формированию обширных кровеносных сосудов в области раны. Применение дополнительных факторов роста (таких, как VEGF, KGF и EGF ангиопоэтин, трансформирующий фактор роста, тромбоцитарный фактор роста (PDGF) и некоторые интерлейкины) в культурах способствовало росту клеток и более быстрой репопуляции области раны [93], формированию сосудистой сети *in vitro* за счет привлечения периваскулярных клеток [94]. При этом авторы отмечают необходимость соблюдения не только концентрации, но и режимов введения факторов ангиогенеза. Например, избыточные концентрация VEGF могут приводить к формированию сосудов с повышенной проницаемостью [95].

Преимуществом обладают системы, где факторы роста смешивают с гидрогелями или наносят на каркасные структуры перед трансплантацией [96]. В частности, использование композитного каркаса на основе фосфата кальция и полилактогликолевой кислоты с контролируемым одновременным высвобождением PDGF и VEGF, приводило к формированию стабильной и функционально состоятельной сосудистой сети [97]. Интересным подходом является биопечать сосудов с использованием биodeградируемых компонентов биочернил [98] с последующим заселением эндотелиальными клетками [99].

Клинические испытания кожных эквивалентов, полученных с применением 3D-биопечати, демонстрируют перспективы их трансляции в практику. Безусловно, что биопечатаемые конструкции позволяют преодолевать проблему отторжения органов при клиническом применении. Использование аутологичных клеток на этапе создания биочернил позволяет сохранять уникальный иммуногенетический профиль пациента, тем самым снижая риск иммунной несовместимости [100]. Такой персонализированный подход позволяет устранить необходимость в иммуносупрессивной терапии, а следовательно, снизить риски побочных эффектов и повышенной восприимчивости к инфекциям [101].

Использование биопечатных структур сопряжено с рядом этических и регуляторных вопросов, среди которых ключевыми являются принципы качества, клинической эффективности и биобезопасности. Принцип качества предполагает соответствие биопечатных тканей требованиям биосовместимости [102]; используемые биочернила должны быть нетоксичными, прочными, поддерживать васкуляризацию и обеспечивать последующую интеграцию конструкции в ткани организма. Принцип клинической эффективности и безопасности подразумевает обязательное проведение исследований на наличие вирусной, бактериальной, протозойной, грибковой и прионной инфекции при использовании донорских клеток и компонентов биочернил. Большое значение имеет соблюдение принципов безопасного хранения и транспортировки клеток. Принцип прозрачности и доступности доклинических и клинических испытаний предполагает обязательное опубликование результатов имплантации биопечатной ткани (органа) в рецензируемых медицинских научных журналах. Принцип контроля за разработкой цифровой модели пациента и конфиденциальности данных охватывает защиту персональных и биомедицинских данных. Ряд других регламентирующих принципов включает ограничение на изъятие биопечатных тканей у человека после имплантации и другие этические и правовые аспекты, направленные на обеспечение безопасности и прав пациентов [103].

Ограничения и возможности совершенствования подходов к созданию конструкций на основе 3D-биопечати кожи

Механическая прочность и интеграция компонентов искусственной кожи являются одной из важнейших задач для исследователей. Эта задача подразумевает поиск лучшего метода для достижения быстрого и стабильного гелеобразования без ущерба для жизнеспособности клеток. Например, введение диоксида кремния, наноцеллюлозы и нанокомпозитов на основе гидрогеля может улучшить механическую прочность и интеграцию компонентов в создаваемой ткани. Так, F. Hafezi et al. [56] разработали новые биочернила для экструзионной печати из сшитого хитозана (CH)-генипин, содержащие кератиноциты и дермальные фибробласты человека. Данная композиция биочернил оптимально подходила для клеточного материала, выживаемость которого при ее

использовании была выше 90% [104]. Биопечать материалов с использованием наночастиц, гидрогелей и нановолокон может использоваться в качестве перспективных инструментов для локальной и контролируемой доставки различных лекарственных веществ и регуляторных компонентов в тканевой инженерии [105].

Немаловажными и по-прежнему актуальными являются задачи точной регулировки параметров печати (температура, скорость, давление) для сохранения жизнеспособности клеток и устойчивости конструкций. Остаются вопросы уменьшения ограничений по разрешению и стабильности 3D-печатных структур, особенно при использовании различных типов биоматериалов. Указанные вопросы сочетаются с необходимостью более точной имитации сложной микроструктуры кожи, включая реконструкцию васкуляризованных систем и специфических клеточных ниш. Это является критически важным условием для большей устойчивости биопечатных конструкций и улучшения их интеграции с окружающими тканями реципиента в условиях *in vivo* [106].

Дополнительные исследования по разработке 3D-печатных каркасов, способных высвободить факторы роста в ответ на определенные механические стимулы (сжатие или растяжение) для точного контроля за кинетикой высвобождения факторов роста, могут помочь в функциональном созревании тканей [107]. Ведется поиск биочернил, способных реагировать на окружающую среду, например самовосстанавливаться или разрушаться контролируемым образом [108].

Одна из областей, которая привлекает все большее внимание, — использование генетических технологий. В частности, указывается на возможность модификации экспрессии генов в клеточных линиях, что позволит усовершенствовать стратегии персонализированного улучшения или модификации клеточных культур [109]. Перспективным является направление по использованию антисмысловых олигонуклеотидов для модификации ответа генов, участвующих в регуляции ключевых эффектов клеточных линий [110]. Показана принципиальная возможность использования ДНК-препаратов для блокировки определенных генов с положительным терапевтическим эффектом [111]. Причем при работе с культурами

клеток эта технология может быть весьма эффективной, так как олигонуклеотиды непосредственно помещаются в среду с клеточной культурой или в биочернила и могут регулировать активность определенных генов в раневой поверхности, куда производится приживление созданной конструкции.

Кроме того, большой перспективой обладают возможности использования технологий искусственного интеллекта, которые могут позволить проводить более эффективный поиск состава биочернил, усовершенствовать условия и параметры биопечати, что позволит сделать технологию более эффективной и экономичной [112].

И, несомненно, требуют решения вопросы регуляторной политики и стандартизации при производстве кожных эквивалентов. В конечном счете требуется создание четких протоколов Good Manufacture Practice и Good Clinical Practice для клинического применения 3D-биопечатных кожных эквивалентов [113].

Для решения этих вопросов требуются дальнейшие исследования, междисциплинарное сотрудничество и разработка инновационных подходов для устранения существующих недостатков.

Заключение

Таким образом, проводимые исследования показывают, что 3D-биопечать открывает уникальные возможности по созданию многоуровневых кожных заменителей, максимально приближенных к структуре и функциональным свойствам натуральной кожи. Дальнейшие исследования по оптимизации параметров печати, правильному выбору компонентов биочернил, интеграции фибробластов и других клеточных компонентов позволят более точно моделировать дермальные слои и стимулировать процессы регенерации. Применение дополнительных биологических факторов будет способствовать формированию устойчивой сосудистой сети, что значительно улучшит функциональную интеграцию напечатанных конструкций в ткани организма-реципиента. Следует подчеркнуть, что современные доклинические и клинические испытания демонстрируют перспективность применения технологий регенеративной медицины, однако для их широкого внедрения необходима

стандартизация и регулирование процессов производства. Интеграция передовых методов 3D-биопечати, оптимизированных биочернил и мультিকлеточных конструкций открывает перспективы создания кожных эквивалентов

нового поколения, которые могут не только ускорить процесс регенерации, но и обеспечить эстетически оптимальный результат для пациентов, страдающих от серьезных ожогов, травм и других повреждений кожи.

Литература

1. Murphy SV, Atala A. 3D Bioprinting of Tissues and Organs. *Nature Biotechnology*. 2014;32(8):773–785. DOI: 10.1038/nbt.2958
2. Ma X, Liu J, Zhu W, Tang M, Lawrence N, Yu C, et al. 3D Bioprinting of Functional Tissue Models for Personalized Drug Screening and In Vitro Disease Modeling. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2018;132:235–251. DOI: 10.1016/j.addr.2018.06.011
3. Bishop ES, Mostafa S, Pakvasa M, Luu HH, Lee JM, Wolf JM, et al. 3-D Bioprinting Technologies in Tissue Engineering and Regenerative Medicine: Current and Future Trends. *Genes and Diseases*. 2017;4(4):185–195. DOI: 10.1016/j.gendis.2017.10.002
4. Ravanbakhsh H, Karamzadeh V, Bao G, Mongeau L, Juncker D, Zhang YS. Emerging Technologies in Multi-Material Bioprinting. *Advanced Materials*. 2021;33(49):e2104730. DOI: 10.1002/adma.202104730
5. Saifullah Q, Sharma A. Current trends on innovative technologies in topical wound care for advanced healing and management. *Current drug research reviews*. 2024;16(3):319–332. DOI: 10.2174/0125899775262048230925054922
6. Kammona O, Tsanaktidou E, Kiparissides C. Recent Developments in 3D-(Bio)printed Hydrogels as Wound Dressings. *Gels*. 2024;10(2):147. DOI: 10.3390/gels10020147
7. Amini-Nik S, Yousuf Y, Jeschke MG. Scar management in burn injuries using drug delivery and molecular signaling: Current treatments and future directions. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2018;123:135–154. DOI: 10.1016/j.addr.2017.07.017
8. Perez-Valle A, Del Amo C, Andia I. Overview of Current Advances in Extrusion Bioprinting for Skin Applications. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020;21(18):6679. DOI: 10.3390/ijms21186679
9. Hierner R, Degreef H, Vranckx JJ, Garmyn M, Massage P, van Brussel M. Skin grafting and wound healing — the «dermato-plastic team approach». *American Journal of Clinical Dermatology*. 2005;23:343–352.
10. Greenwood JE, Clausen J, Kavanagh S. Experience with Biobrane: uses and caveats for success. *Eplasty*. 2009;9:e25.
11. Потекаев НН, Фриго НВ, Петерсен ЕВ. Искусственная кожа: виды, области применения. *Клиническая дерматология и венерология*. 2017;16(6):7–15.
12. Billingham RE, Reynolds J. Transplantation studies on sheets of pure epidermal epithelium and on epidermal cell suspensions. *British journal of plastic surgery*. 1952;5(1):25–36.
13. Karasek MA, Charlton ME. Growth of postembryonic skin epithelial cells on collagen gels. *Journal of Investigative Dermatology*. 1971;56(3):205–210.
14. Fredriksson C, Kratz G, Huss F. Transplantation of cultured human keratinocytes in single cell suspension: A comparative in vitro study of different application techniques. *Burns*. 2008;34(2):212–219.
15. Green H. Regeneration of the skin after grafting of epidermal cultures. *Lab Invest*. 1989;60(5):583–584.
16. Phillips TJ, Kehinde O, Green H, Gilchrest BA. Treatment of skin ulcers with cultured epidermal allografts. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 1989;21(2):191–199.
17. Королева ТА. Клеточные технологии в лечении детей с глубокими ожогами кожи (обзор литературы). *Российский вестник*. 2013;3(3):35–42.
18. Bell E, Sher S, Hull B, Merrill C, Rosen S, Chamson A, et al. The reconstitution of living skin. *Journal of Investigative Dermatology*. 1983;81(1):2s–10s.

19. Steffens D, Mathor MB, Santi BT, Luco DP, Pranke P. Development of a biomaterial associated with mesenchymal stem cells and keratinocytes for use as a skin substitute. *Regenerative Medicine*. 2015;10(8):975–987.
20. Саркисов ДС, Алексеев АА, Глушенков ЕВ. Теоретические и практические аспекты использования культивированных фибробластов при восстановлении целостности кожного покрова. *Вестник РАМН*. 1994;7:6–11.
21. Зорин ВЛ, Зорина АИ, Петракова ОС, Черкасов ВР. Дермальные фибробласты для лечения дефектов кожи. *Гены и клетки*. 2009;4:26–40.
22. Wood FM, Stoner ML, Fowler BV, Fear MW. The use of a non-cultured autologous cell suspension and Integra dermal regeneration template to repair full-thickness skin wounds in a porcine model: a one-step process. *Burns*. 2007;33(6):693–700.
23. Винник ЮС, Салмина АБ, Дробушевская АИ, Теплякова ОВ, Пожиленкова ЕА, Зыкова ЛД. Клеточные технологии и тканевая инженерия в лечении длительно не заживающих ран. *Вестник экспериментальной и клинической хирургии*. 2011;4:392–397.
24. Moiemens NS, Vlachou E, Staiano JJ, Thawy Y, Frame JD. Reconstructive surgery with Integra dermal regeneration template: histologic study, clinical evaluation, and current practice. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 2006;117:160s–174s.
25. Wainwright DJ. Use of an acellular allograft dermal matrix (AlloDerm) in the management of full-thickness burns. *Burns*. 1995;21:243–248.
26. Eaglstein WH, Falanga V. Tissue engineering and the development of Apligraf a human skin equivalent. *Adv Wound Care (New Rochelle)*. 1998;11:1–8.
27. Steiglitz BM, Maher RJ, Gratz KR, Schlosser S, Foster J, Pradhan-Bhatt S, et al. The viable bioengineered allogeneic cellularized construct StrataGraft® synthesizes, deposits, and organizes human extracellular matrix proteins into tissue type-specific structures and secretes soluble factors associated with wound healing. *Burns*. 2024;50(2):424–432. DOI: 10.1016/j.burns.2023.06.001
28. Atala A, Kasper FK, Mikos AG. Engineering complex tissues. *Science Translational Medicine*. 2012;4:3307–3339.
29. Park KM, Yang JA, Jung H, Yeom J. In situ supramolecular assembly and modular modification of hyaluronic acid hydrogels for 3D cellular engineering. *ACS Nano*. 2012;6:2960–2968.
30. Zhong S. P., Zhang Y. Z., Lim C. T. Tissue scaffolds for skin wound healing and dermal reconstruction. *Wiley interdisciplinary reviews. Nanomedicine and nanobiotechnology*. 2010;2:510–525.
31. Hansbrough J. F., Cooper M. L., Cohen R., Spielvogel R., Greenleaf G., Bartel R. L., Naughton G. Evaluation of a biodegradable matrix containing cultured human fibroblasts as a dermal replacement beneath meshed skin grafts on athymic mice. *Surgery*. 1992;111:438–46.
32. Ikada Y. Challenges in tissue engineering. *Journal of the Royal Society Interface*. 2006;3:589–601.
33. Netzlaff F, Kaca M, Bock U, Haltner-Ukomadu E, Meiers P, Lehr C-M, Schaefer UF. Permeability of the reconstructed human epidermis model Episkin in comparison to various human skin preparations. *European journal of pharmaceuticals and biopharmaceutics*. 2007;66:127–34.
34. Duval K, Grover H, Han L-H, Mou Y, Pegoraro AF, Fredberg J, Chen Z. Modeling physiological events in 2D vs. 3D cell culture. *Physiology*. 2017;32:266–277. DOI: 10.1152/physiol.00036.2016
35. Nikolova MP, Chavali MS. Recent advances in biomaterials for 3D scaffolds: a review. *Bioactive Materials*. 2019;4:271–292. DOI: 10.1016/j.bioactmat.2019.10.005
36. Foresti R, Rossi S, Pinelli S, Alinovi R, Sciancalepore C, Delmonte N, et al. In-Vivo Vascular Application via Ultra-Fast Bioprinting for Future 5D Personalised Nanomedicine. *Scientific Reports*. 2020;10(1):3205. DOI: 10.1038/s41598-020-60196-y
37. Amaya-Rivas JL, Perero BS, Helguero CG, Hurel JL, Peralta JM, Flores FA, Alvarado JD. Future Trends of Additive Manufacturing in Medical Applications: An Overview. *Heliyon*. 2024;10:e26641. DOI: 10.1016/j.heliyon.2024.e26641
38. Melchels FPW, Domingos MAN, Klein TJ, Malda J, Bartolo PJ, Huttmacher DW. Additive manufacturing of tissues and organs. *Progress in Polymer Science*. 2012;37(8):1079–1104. DOI: 10.1016/j.progpolymsci.2011.11.007

39. Semba JA, Mieloch AA, Rybka JD. Introduction to the State-of-the-Art 3D Bioprinting Methods, Design, and Applications in Orthopedics. *Bioprinting*. 2020;18:e00070. DOI: 10.1016/j.bprint.2019.e00070
40. Kačarević ŽP, Rider PM, Alkildani S, Retnasingh S, Smeets R, Jung O, et al. An Introduction to 3D Bioprinting: Possibilities, Challenges and Future Aspects. *Materials (Basel)*. 2018;11(11):2199. DOI: 10.3390/ma11112199
41. Olejnik A, Semba JA, Kulpa A, Dańczak-Pazdrowska A, Rybka JD, Gornowicz-Porowska J. 3D Bioprinting in Skin Related Research: Recent Achievements and Application Perspectives. *ACS Synthetic Biology*. 2022;11(1):26–38. DOI: 10.1021/acssynbio.1c00547
42. Askari M, Naniz MA, Kouhi M, Saberi A, Zolfagharian A, Bodaghi M. Recent Progress in Extrusion 3D Bioprinting of Hydrogel Biomaterials for Tissue Regeneration: A Comprehensive Review with Focus on Advanced Fabrication Techniques. *Biomaterials Science*. 2021;9(3):535–573. DOI: 10.1039/D0BM00973C
43. Albanna M, Binder KW, Murphy SV, Kim J, Qasem SA, Zhao W, et al. In Situ Bioprinting of Autologous Skin Cells Accelerates Wound Healing of Extensive Excisional Full-Thickness Wounds. *Scientific Reports*. 2019;9(1):1–15. DOI: 10.1038/s41598-018-38366-w
44. Miguel SP, Cabral CSD, Moreira AF, Correia IJ. Production and Characterization of a Novel Asymmetric 3D Printed Construct Aimed for Skin Tissue Regeneration. *Colloids Surfaces B Biointerfaces*. 2019;181:994–1003. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2019.06.063
45. Ventura RD. An Overview of Laser-Assisted Bioprinting (LAB) in Tissue Engineering Applications. *Medical Lasers*. 2021;10(2):76–81. DOI: 10.25289/ML.2021.10.2.76
46. Derakhshanfar S, Mbeleck R, Xu K, Zhang X, Zhong W, Xing M. 3D Bioprinting for Biomedical Devices and Tissue Engineering: A Review of Recent Trends and Advances. *Bioactive Materials*. 2018;3(2):144–156. DOI: 10.1016/j.bioactmat.2017.11.008
47. Chameettachal S, Pati F. “Inkjet-Based 3D Bioprinting”. In: Khademhosseini A., editor. *3D Bioprinting in Regenerative Engineering: Principles and Applications* (2018). P. 99–118.
48. Gopinathan J, Noh I. Recent trends in bioinks for 3D printing. *Biomaterials Research*. 2018;22:1–15. DOI: 10.1186/s40824-018-0122-1
49. Baltazar T, Jiang B, Moncayo A, Merola J, Albanna MZ, Saltzman WM, Pober JS. 3D Bioprinting of an Implantable Xeno-Free Vascularized Human Skin Graft. *Bioengineering and Translational Medicine*. 2022;8(1):e10324. DOI: 10.1002/btm2.10324
50. Cavallo A, Al Kayal T, Mero A, Mezzetta A. Fibrinogen-Based Bioink for Application in Skin Equivalent 3D Bioprinting. *Journal of Functional Biomaterials*. 2023;14(9):459. DOI: 10.3390/jfb14 090459
51. Jiao T, Lian Q, Lian W, Wang Y, Li D, Reis RL, Oliveira JM. Properties of Collagen/Sodium Alginate Hydrogels for Bioprinting of Skin Models. *Journal of Bionic Engineering*. 2023;20:105–118. DOI: 10.1007/s42235-022-00251-8
52. Liu J, Zhou Z, Zhang M, Song F, Feng C, Liu H. Simple and Robust 3D Bioprinting of Full-Thickness Human Skin Tissue. *Bioengineered*. 2022;13(4):10087–10097. DOI: 10.1080/21655979.2022.2063651
53. Somasekharan LT, Raju R, Kumar S, Geevarghese R, Nair RP, Kasoju N, Bhatt A. Biofabrication of Skin Tissue Constructs Using Alginate, Gelatin and Diethylaminoethyl Cellulose Bioink. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2021;189:398–409. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2021.08.114
54. Li M, Sun L, Liu Z, Shen Z, Cao Y, Han L, et al. 3D Bioprinting of Heterogeneous Tissue-Engineered Skin Containing Human Dermal Fibroblasts and Keratinocytes. *Biomaterials Science*. 2023;11:2461–2477.
55. Dai LG, Dai NT, Chen TY, Kang LY, Hsu S. A Bioprinted Vascularized Skin Substitute With Fibroblasts, Keratinocytes, and Endothelial Progenitor Cells for Skin Wound Healing. *Bioprinting*. 2022;28:e00237.
56. Hafezi F, Shorter S, Tabriz AG, Hurt A, Elmes V, Boateng J, Douroumis D. Bioprinting and Preliminary Testing of Highly Reproducible Novel Bioink for Potential Skin Regeneration. *Pharmaceutics*. 2020;12(6):550. DOI: 10.3390/pharmaceutics12060550
57. Desanlis A, Albouy M, Rousselle P, Thepot A, Santos MD, Auxenfans C, Marquette C. Validation of an Implantable Bioink Using Mechanical Extraction of Human Skin Cells: First

- Steps to a 3D Bioprinting Treatment of Deep Second Degree Burn. *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*. 2021;15(1):37–48. DOI: 10.1002/term.3148
58. Jorgensen AM, Gorkun A, Mahajan N, Willson K, Clouse C, Jeong CG, et al. Multicellular bioprinted skin facilitates human-like skin architecture in vivo. *Science Translational Medicine*. 2023;4(15):eadf7547. DOI: 10.1126/scitranslmed.adf7547
 59. Choi KY, Ajiteru O, Hong H, Suh YJ, Sultan MT, et al. A digital light processing 3D-printed artificial skin model and full-thickness wound models using silk fibroin bioink. *Acta Biomater*. 2023;1(164):159–174. DOI: 10.1016/j.actbio.2023.04.034
 60. Zhang D, Lai L, Fu H, Fu Q, Chen M. 3D-Bioprinted Biomimetic Multilayer Implants Comprising Microfragmented Adipose Extracellular Matrix and Cells Improve Wound Healing in a Murine Model of Full-Thickness Skin Defects. *ACS Appl Mater Interfaces*. 2023;15(25):29713–29728. DOI: 10.1021/acsami.2c21629
 61. Huyan Y, Lian Q, Zhao T, Li D, He J. Pilot Study of the Biological Properties and Vascularization of 3D Printed Bilayer Skin Grafts. *International Journal of Bioprinting*. 2020;6(1):246. DOI: 10.18063/ijb.v6i1.246
 62. Jin R, Cui Y, Chen H, Zhang Z, Weng T, Xia S, et al. Three-dimensional bioprinting of a full-thickness functional skin model using acellular dermal matrix and gelatin methacrylamide bioink. *Acta Biomater*. 2021;131:248–261. DOI: 10.1016/j.actbio.2021.07.012
 63. Lee HR, Park JA, Kim S, Jo Y, Kang D, Jung S. 3D Microextrusion-Inkjet Hybrid Printing of Structured Human Skin Equivalents. *Bioprinting*. 2021;22:e00143.
 64. Qian Z, Sharma D, Jia W, Radke D, Kamp T, Zhao F. Engineering Stem Cell Cardiac Patch with Microvascular Features Representative of Native Myocardium. *Theranostics*. 2019;9:2143–2157. DOI: 10.7150/thno.29552
 65. Plikus MV, Wang X, Sinha S, Forte E, Thompson SM, Herzog EL, et al. Fibroblasts: Origins, Definitions, and Functions in Health and Disease. *Cell*. 2021;184(15):3852–3872. DOI: 10.1016/j.cell.2021.06.024
 66. Gurtner GC, Werner S, Barrandon Y, Longaker MT. Wound repair and regeneration. *Nature*. 2008;453:314–321. DOI: 10.1038/nature07039
 67. Knoedler S, Broichhausen S, Guo R, Dai R, Knoedler L, Kauke-Navarro M, et al. Fibroblasts — the cellular choreographers of wound healing. *Frontiers in Immunology*. 2023;14:1233800. DOI: 10.3389/fimmu.2023.1233800
 68. Madelaire CB, Klink AC, Israelsen WJ, Hindle AG. Fibroblasts as an experimental model system for the study of comparative physiology. *Comparative Biochemistry and Physiology B*. 2022;260:110735. DOI: 10.1016/j.cbpb.2022.110735
 69. Wahlsten A, Rüttsche D, Nanni M, Giampietro C, Biedermann T, Reichmann E, Mazza E. Mechanical stimulation induces rapid fibroblast proliferation and accelerates the early maturation of human skin substitutes. *Biomaterials*. 2021;273:120779. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2021
 70. Kim Y, Park N, Rim YA, Nam Y, Jung H, Lee K, Ju JH. Establishment of a complex skin structure via layered co-culture of keratinocytes and fibroblasts derived from induced pluripotent stem cells. *Stem Cell Research and Therapy*. 2018;9:1–10. DOI: 10.1186/s13287-018-0958-2
 71. Ramin S, Shariati P, Shokrgozar MA, Vossoughi M, Eslamifar A. In vitro Coculture of human skin keratinocytes and fibroblasts on a biocompatible and biodegradable scaffold. *Iranian Biomedical Journal*. 2009;13:169–177.
 72. Lee J, Rabbani C, Gao H, Steinhart M, Woodruff BM, Pflum ZE, et al. Hair-bearing human skin generated entirely from pluripotent stem cells. *Nature*. 2020;582(7812):399–404. DOI: 10.1038/s41586-020-2352-3
 73. Cheng RY, Eylert G, Garipey JM, He S, Ahmad H, Gao Y, et al. Handheld instrument for wound-conformal delivery of skin precursor sheets improves healing in full-thickness burns. *Biofabrication*. 2020;12(2):025002. DOI: 10.1088/1758-5090/ab6413
 74. Boyce ST, Simpson PS, Rieman MT, Warner PM, Yakuboff KP, Bailey JK, et al. Randomized, paired-site comparison of autologous engineered skin substitutes and split-thickness skin graft for closure of extensive, full-thickness burns. *Journal of Burn Care and Research*. 2017;38(2):61–70. DOI: 10.1097/BCR.0000000000000401

75. Germain L, Larouche D, Nedelec B, Perreault I, Duranceau L, Bortoluzzi P, et al. Autologous bilayered self-assembled skin substitutes (SASSs) as permanent grafts: a case series of 14 severely burned patients indicating clinical effectiveness. *European Cells and Materials*. 2018;36:128–141. DOI: 10.22203/eCM.v036a10
76. Riehl BD, Park J-H, Kwon IK, Lim JY. Mechanical stretching for tissue engineering: two-dimensional and three-dimensional constructs. *Tissue Engineering — Part B: Reviews*. 2012;18(4):288–300. DOI: 10.1089/ten.teb.2011.0465
77. Хесуани ЮД, Сергеева НС, Миронов ВА, Мустафин АГ, Каприн АД. Введение в 3D-биопринтинг: история формирования направления, принципы и этапы биоопечати. 2018;14(3):40–47.
78. Mironov V, Kasyanov V, Markwald RR. Organ printing: from bioprinter to organ biofabrication line. *Current Opinion in Biotechnology*. 2011;22(5):667–673. DOI: 10.1016/j.cop-bio.2011.02.006
79. Amirsadeghi A, Jafari A, Eggermont LJ, Hashemi SS, Bencherif SA, Khorram M. Vascularization strategies for skin tissue engineering. *Biomaterials Science*. 2020;8(15):4073–4094.
80. Yang GH, Kang D, An S, Ryu JY, Lee K, Kim JS, et al. Advances in the development of tubular structures using extrusion-based 3D cellprinting technology for vascular tissue regenerative applications. *Biomaterials Research*. 2022;26(1):73.
81. Jiang H, Li X, Chen T, Liu Y, Wang Q, Wang Z, Jia J. Bioprinted vascular tissue: Assessing functions from cellular, tissue to organ levels. *Materials Today Bio*. 2023;23:100846. DOI: 10.1016/j.mtbio.2023.100846
82. Summerfield A, Meurens F, Ricklin ME. The Immunology of the Porcine Skin and Its Value as a Model for Human Skin. *Molecular Immunology*. 2015;66(1):14–21. DOI: 10.1016/j.molimm.2014.10.023
83. Sullivan TP, Eaglstein WH, Davis SC, Mertz P. The Pig as a Model for Human Wound Healing. *Wound Repair and Regeneration*. 2001;9(2):66–76. DOI: 10.1046/j.1524-475X.2001.00066.x
84. Kantaros A, Ganetsos T, Petrescu FIT, Alysandratou E. Bioprinting and Intellectual Property: Challenges, Opportunities, and the Road Ahead. *Bioengineering (Basel)*. 2025;12(1):76. DOI: 10.3390/bioengineering12010076
85. Yadav R, Kumar R, Kathpalia M, Ahmed B, Dua K, Gulati M, et al. Innovative approaches to wound healing: insights into interactive dressings and future directions. *Journal of Materials Chemistry B*. 2024;12(33):7977–8006. DOI: 10.1039/d3tb02912c
86. Zhu M, Wang Y, Ferracci G, Zheng J, Cho NJ, Lee BH. Gelatin Methacryloyl and Its Hydrogels With an Exceptional Degree of Controllability and Batch-To-Batch Consistency. *Scientific Reports*. 2019;9(1):6863. DOI: 10.1038/s41598-019-42186-x
87. Nocera AD, Comín R, Salvatierra NA, Cid MP. Development of 3D printed fibrillar collagen scaffold for tissue engineering. *Biomedical Microdevices*. 2018;20(2):1–13. DOI: 10.1007/s10544-018-0270-z
88. Osidak EO, Karalkin PA, Osidak MS, Parfenov VA, Sivogrivov DE, Pereira FDAS, et al. Viscoll collagen solution as a novel bioink for direct 3D bioprinting. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. 2019;30(3):31. DOI: 10.1007/s10856-019-6233-y
89. Heidenreich AC, Pérez-Recalde M, González Wusener A, Hermida ÉB. Collagen and chitosan blends for 3D bioprinting: A rheological and printability approach. *Polymer Testing*. 2020;82:106297. DOI: 10.1016/j.polymertesting.2019.106297
90. Lee V, Singh G, Trasatti JP, Bjornsson C, Xu X, Tran TN, et al. Design and fabrication of human skin by three-dimensional bioprinting. *Tissue Engineering — Part C: Methods*. 2014;20(6):473–484. DOI: 10.1089/ten.TEC.2013.0335
91. Kim BS, Kwon YW, Kong JS, Park GT, Gao G, Han W, et al. 3D cell printing of in vitro stabilized skin model and in vivo pre-vascularized skin patch using tissue-specific extracellular matrix bioink: A step towards advanced skin tissue engineering. *Biomaterials*. 2018;168:38–53. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2018.03.040
92. Ковылин РС, Алейник ДА, Федюшкин ИЛ. Современные пористые полимерные имплантаты: получение, свойства, применение. *Высокомолекулярные соединения С*. 2021;63(1):33–53.

93. Simunovic F, Finkenzeller G. Vascularization strategies in bone tissue engineering. *Cells*. 2021;10(7):1749. DOI: 10.3390/cells10071749
94. Hutton DL, Moore EM, Gimble JM, Grayson WL. Platelet-derived growth factor and spatiotemporal cues induce development of vascularized bone tissue by adipose-derived stem cells. *Tissue Engineering — Part A*. 2013;19:2076–2086. DOI: 10.1089/ten.TEA.2012.0752
95. Piard C, Luthcke R, Kamalitinov T, Fisher J. Sustained delivery of vascular endothelial growth factor from mesoporous calcium-deficient hydroxyapatite microparticles promotes in vitro angiogenesis and osteogenesis. *Journal of Biomedical Materials Research*. 2021;109:1080–1087. DOI: 10.1002/jbm.a.37100
96. Farokhi M, Mottaghitalab F, Ai J, Shokrgozar MA. Sustained release of platelet-derived growth factor and vascular endothelial growth factor from silk/calcium phosphate/PLGA based nanocomposite scaffold. *International Journal of Pharmaceutics*. 2013;454:216–225. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2013.06.080
97. Chen EP, Toksoy Z, Davis BA, Geibel JP. 3D Bioprinting of Vascularized Tissues for in vitro and in vivo Applications. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 2021;9:664188. DOI: 10.3389/fbioe.2021.664188
98. Mathur V, Agarwal P, Kasturi M, Srinivasan V, Seetharam RN, Vasanthan KS. Innovative bioinks for 3D bioprinting: Exploring technological potential and regulatory challenges. *Journal of Tissue Engineering*. 2025;16:1–31. DOI: 10.1177/20417314241308022
99. Yaneva A, Shopova D, Bakova D, Mihaylova A, Kasnakova P, Hristozova M, Semerdjieva M. The Progress in Bioprinting and Its Potential Impact on Health-Related Quality of Life. *Bioengineering (Basel)*. 2023;10(8):910. DOI: 10.3390/bioengineering10080910
100. Lam EHY, Yu F, Zhu S, Wang Z. 3D Bioprinting for Next-Generation Personalized Medicine. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023;24(7):6357. DOI: 10.3390/ijms24076357
101. Егоров ИА, Семенчук ОВ. Применение технологии 3D-печати в медицине. *Кронос*. 2022;7(4):29–32. DOI: 10.52013/2658-7556-66-4-8
102. Шутова АА, Бегишев ИР. Этические принципы создания и применения биопринтных технологий. *Russian Journal of Economics and Law*. 2025;19(2):448–463. DOI: 10.21202/2782-2923.2025.2.448-463
103. Kreimendahl F, Köpf M, Thiebes AL, Duarte Campos DF, Blaeser A, Schmitz-Rode T, et al. Three-Dimensional Printing and Angiogenesis: Tailored Agarose-Type I Collagen Blends Comprise Three-Dimensional Printability and Angiogenesis Potential for Tissue-Engineered Substitutes. *Tissue Engineering Part C: Methods*. 2017;23(10):604–615. DOI: 10.1089/ten.TEC.2017.0234
104. Аймалетдинов АМ, Маланьева АГ, Тамбовский МА, Закирова ЕЮ. 3D-биопечать, как метод тканевой инженерии: применение и перспективы. *Биотехнология*. 2024;40(2):3–22.
105. Zhuang Y, Cui W. Biomaterial-based delivery of nucleic acids for tissue regeneration. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2021;176:113885. DOI: 10.1016/j.addr.2021.113885
106. Fu H, Zhang D, Zeng J, Fu Q, Chen Z, Sun X, et al. Application of 3D-printed tissue-engineered skin substitute using innovative biomaterial loaded with human adipose-derived stem cells in wound healing. *International Journal of Bioprinting*. 2023;9(2):674. DOI: 10.18063/ijb.v9i2.674
107. Budharaju H, Sundaramurthi D, Sethuraman S. Embedded 3D bioprinting — An emerging strategy to fabricate biomimetic & large vascularized tissue constructs. *Bioactive Materials*. 2023;32:356–384. DOI: 10.1016/j.bioactmat.2023.10.012
108. Mobaraki M, Ghaffari M, Yazdanpanah A, Luo Y, Mills DK. Bioinks and bioprinting: A focused review. *Bioprinting*. 2020;18:e00080.
109. Shende P, Trivedi R. 3D Printed Bioconstructs: Regenerative Modulation for Genetic Expression. *Stem Cell Reviews and Reports*. 2021;17(4):1239–1250. DOI: 10.1007/s12015-021-10120-2
110. Bremer J, van den Akker PC. In Vivo Models for the Evaluation of Antisense Oligonucleotides in Skin. *Methods in Molecular Biology*. 2022;2434:315–320. DOI: 10.1007/978-1-0716-2010-6_21

Саенко Ю.С. и др.

Эквиваленты кожи для заживления ран и регенерации

111. Makalish TP, Golovkin IO, Oberemok VV, Laikova KV, Temirova ZZ, Serdyukova OA, et al. Anti-Rheumatic Effect of Antisense Oligonucleotide Cytos-11 Targeting TNF- α Expression. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021;22(3):1022. DOI: 10.3390/ijms22031022
112. Shahin H. Keratinocytes and adipose-derived mesenchymal stem cells: The heir and the spare to regenerative cellular therapies for difficult-to-heal skin wounds. Sweden: Linköping University (2023).
113. Sekar MP, Budharaju H, Zennifer A, Sethuraman S, Vermeulen N, Sundaramurthi D, Kalaskar DM. Current standards and ethical landscape of engineered tissues-3D bioprinting perspective. *Journal of Tissue Engineering*. 2021;12:20417314211027677. DOI: 10.1177/20417314211027677

Об авторах

Саенко Юлия Сергеевна — лаборант-исследователь Инжинирингового центра «Генетические и клеточные биотехнологии», ординатор ордена Трудового Красного Знамени Медицинского института им. С.И. Георгиевского.

Агеева Елизавета Сергеевна — д.м.н., доцент, заведующая кафедрой биологии медицинской, руководитель ЦКП НО «Молекулярная биология» Инжинирингового центра «Генетические и клеточные биотехнологии» ордена Трудового Красного Знамени Медицинского института им. С.И. Георгиевского.

Юрченко Ксения Андреевна — младший научный сотрудник Инжинирингового центра «Генетические и клеточные биотехнологии» ордена Трудового Красного Знамени Медицинского института им. С.И. Георгиевского.

Дегирменджи Эвелина Талятовна — лаборант-исследователь Инжинирингового центра «Генетические и клеточные биотехнологии», студентка ордена Трудового Красного Знамени Медицинского института им. С.И. Георгиевского.

Волкова Надежда Александровна — младший научный сотрудник Инжинирингового центра «Генетические и клеточные биотехнологии», студентка ордена Трудового Красного Знамени Медицинского института им. С.И. Георгиевского.

Фомочкина Ирина Ивановна — д.м.н., профессор, заведующая кафедрой базисной и клинической фармакологии ордена Трудового Красного Знамени Медицинского института им. С.И. Георгиевского.

Кубышкин Анатолий Владимирович — д.м.н., профессор, заведующий кафедрой общей и клинической патофизиологии, директор Инжинирингового центра «Генетические и клеточные биотехнологии» ордена Трудового Красного Знамени Медицинского института им. С.И. Георгиевского.

Authors

Julia S. Saenko — Research Lab Assistant, Engineering Center “Genetic and Cellular Biotechnology”, ordinator, Order of the Red Banner of Labor Medical Institute named after S.I. Georgievsky.

Elizaveta S. Ageeva — Dr. Sci. (Med.), Associate Professor, Head of the Department of Medical Biology, Head of the Center for Collective Use of the Scientific Research Institute “Molecular Biology” of the Engineering Center “Genetic and Cellular Biotechnology”, Order of the Red Banner of Labor Medical Institute named after S.I. Georgievsky.

Ksenia A. Yurchenko — Junior researcher at the Engineering Center “Genetic and Cellular Biotechnology”, student, Order of the Red Banner of Labor Medical Institute named after S.I. Georgievsky.

Evelina T. Degirmenji — Research Lab Assistant, Engineering Center “Genetic and Cellular Biotechnology”, student, Order of the Red Banner of Labor Medical Institute named after S.I. Georgievsky.

Nadezhda A. Volkova — Junior researcher at the Engineering Center “Genetic and Cellular Biotechnology”, student, Order of the Red Banner of Labor Medical Institute named after S.I. Georgievsky.

Irina I. Fomochkina — Dr. Sci. (Biology), Professor, Head of the Department of Basic and Clinical Pharmacology Order of the Red Banner of Labor Medical Institute named after S.I. Georgievsky.

Anatoly V. Kubyshkin — Dr. Sci. (Biology), Professor, Head of the Department of General and Clinical Pathophysiology, Head of the Engineering Center “Genetic and Cellular Biotechnology”, Order of the Red Banner of Labor Medical Institute named after S.I. Georgievsky.

Вклад авторов

Ю.С. Саенко — сбор данных, анализ и интерпретация данных.

Е.С. Агеева — концепция работы, итоговая переработка статьи.

К.А. Юрченко — составление статьи, итоговая переработка статьи.

Э.Т. Дегирменджи — сбор данных, анализ и интерпретация данных.

Н.А. Волкова — сбор данных, составление статьи.

И.И. Фомочкина — итоговая переработка статьи, окончательное утверждение версии для публикации.

А.В. Кубышкин — итоговая переработка статьи, окончательное утверждение версии для публикации.

Author contribution statement

Julia S. Saenko — data collection, data analysis and interpretation.

Elizaveta S. Ageeva — the concept, final revision of the article.

Ksenia A. Yurchenko — article drafting, final revision of the article.

Evelina T. Degirmenji — data collection, data analysis and interpretation.

Nadezhda A. Volkova — data collection, article drafting.

Irina I. Fomochkina — final revision of the article, final approval of the version for publication.

Anatoly V. Kubyshkin — final revision of the article, final approval of the version for publication.