

<https://doi.org/10.60043/2949-5938-2026-1-41-58>



Основные подходы тканевой инженерии

П.И. Макаревич^{1,2*}, Н.А. Александрушкина^{1,2}

¹ Медицинский научно-образовательный институт, ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», Россия, 119192, Москва, Ломоносовский пр-т, д. 27, к. 10

² Институт экспериментальной кардиологии, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии имени академика Е.И. Чазова», Россия, 121552, г. Москва, ул. Академика Чазова, 15а

* Адрес для корреспонденции: makarevichpi@my.msu.ru

Аннотация

Краткий обзорно-лекционный материал посвящен одному из ключевых направлений регенеративной медицины — тканевой инженерии с использованием стволовых и мультипотентных клеток. Среди рассматриваемых технологий: классическая тканевая инженерия с использованием скаффолдов, сфероидные подходы, клеточные пласты. В статье рассматриваются и освещены базовые принципы тканевой инженерии (триада компонентов, основные технологии) и ограничения, связанные с использованием данной группы подходов в клинической практике.

Ключевые слова: тканевая инженерия, стволовые клетки, медицинская биоинженерия, скаффолд, клеточный пласт, биореактор, сфероид

Конфликт интересов: Макаревич П.И. является членом редакционной коллегии журнала «Регенерация органов и тканей» с 2023 года, но не имеет отношения к решению о публикации данной статьи. Статья прошла принятую в журнале процедуру рецензирования; мнение автора является частным мнением и не отражает позиции надзорных или экспертных органов.

Финансирование: работа выполнена в рамках государственного задания МГУ имени М.В. Ломоносова.

Для цитирования: Макаревич П.И., Александрушкина Н.А. Основные подходы тканевой инженерии. *Регенерация органов и тканей*. 2026;4(1): 41–58. <https://doi.org/10.60043/2949-5938-2026-1-41-58>

Поступила 12.01.2026

Обработана 27.02.2026

Принята 12.03.2026

Basics of tissue engineering

Pavel I. Makarevich^{1,2*}, Natalya A. Alexandrushkina^{1,2}

¹ Medical Research and Education Institute, Lomonosov Moscow State University, Russia, 119192, Moscow, Lomonosovskiy ave., 27, bldg. 10

² Institute of Experimental Cardiology, National Medical Research Center of Cardiology named after Academician E.I. Chazov, Russia, 121552, Moscow, Academician Chazov str., 15A,

* Corresponding author email: makarevichpi@my.msu.ru

Abstract

This brief overview and lecture focuses on one of the key areas of regenerative medicine: tissue engineering using stem and multipotent cells. The technologies discussed include classical tissue engineering using scaffolds, spheroid approaches, and cell sheets. The article examines and highlights the basic principles of tissue engineering (the triad of components and key technologies) and the limitations associated with the use of this group of approaches in clinical practice.

Keywords: tissue engineering, stem cells, medical bioengineering, scaffold, cell sheet, bioreactor, spheroid

Conflicts of interest: P.I. Makarevich been a member of the editorial board of the journal “Organ and Tissue Regeneration” since 2023, but had no role in the decision to publish this article. This article has undergone the journal’s established peer-review process; the author’s opinion is his or her own and does not reflect the position of any supervisory or expert bodies.

Funding: the study was carried out as part of Lomonosov Moscow State University state assignment.

For citation: Makarevich P.I., Alexandrushkina N.A. Basics of tissue engineering. *Tissue and organ regeneration*. 2026;4(1): 41–58. <https://doi.org/10.60043/2949-5938-2026-1-41-58>

Received 12.01.2026

Revised 27.02.2026

Accepted 12.03.2026

Список сокращений:

ВВ — внеклеточные везикулы

ВКМ — внеклеточный матрикс

ГСК — гематopoэтическая стволовая клетка

дВКМ — децеллюляризованный внеклеточный матрикс

КИ — клиническое исследование

КП — клеточный пласт

МСК — мезенхимные стромальные клетки

РМ — регенеративная медицина

СК — стволовая клетка

ТИ — тканевая инженерия

ТИК — тканеинженерная конструкция

ФР — фактор роста

1. Теоретические основы и актуальное состояние развития методов тканевой инженерии в регенеративной медицине

В XXI веке регенеративная медицина (РМ), эволюционировав из классических направлений медицины, превратилась в обширную междисциплинарную область. Она охватывает изучение процессов дифференцировки, миграции и пролиферации клеток, а также создание искусственных органов, клеточных и тканеинженерных конструкций (ТИК) с целью восстановления тканей и преодоления дефицита органов [1].

В РМ долгое время наибольшие ожидания возлагались на клеточную терапию — ее методическая основа заключается в выделении и культивировании клеток человека с последующим введением в организм для регенерации поврежденных органов, что позволяет восстановить их функциональность.

Открытие негемопоэтических тканеспецифичных стволовых клеток (СК) и разработка методов их культивирования подтолкнули к новым исследованиям в этой сфере. Способность СК к дифференцировке в специализированные типы вкупе с самообновлением посредством асимметричного деления являются ключевыми факторами их участия в поддержании обновления и восстановлении тканей на протяжении всей жизни [2].

Постнатальные СК сохраняются в человеческом организме с момента внутриутробного развития как небольшие пулы слабодифференцированных клеток. Тканеспецифичные СК были обнаружены в паренхиматозных органах, коже, центральной нервной системе, легких и кишечнике [3]. Использование фенотипических характеристик, основанных на поверхностных маркерах и кластерах дифференцировки, позволило точно идентифицировать СК в рамках поисковых исследований и при характеристике для клинического применения [4].

Одним из важнейших этапов в развитии РМ стало начало применения мультипотентных мезенхимных стволовых/стромальных клеток (МСК). С 1990-х годов это направление сохраняет свою актуальность и сегодня. Однако проведенные клинические исследования (КИ) с использованием резидентных СК и МСК из разных источников подняли и ряд проблем, заставивших РМ частично переориентироваться в область созда-

ния ТИК. Проанализируем данный методологический переход с позиции его причин и проблематики данного направления в целом.

2. Регенеративная медицина и тканевая инженерия

Технологии тканевой инженерии (ТИ) направлены на создание и выращивание живых, функциональных тканей и органов вне организма для последующей трансплантации. Цель этой технологии — заменить поврежденные структуры или стимулировать регенерацию в организме пациента. Главное отличие ТИ от клеточной терапии заключается в том, что она предполагает восстановление трехмерной архитектуры ткани за счет организации клеток под воздействием специфических условий. Применение ТИ рассматривается как перспективный подход к решению проблем, связанных с инъекционным введением культивированных клеток, а также как потенциальный способ преодоления дефицита донорских органов, который актуален для современной трансплантологии, и для решения других важных вопросов в этой области.

В начале 1990-х годов возникла концепция использования регенеративного потенциала и морфогенетических программ СК для создания тканей за пределами организма [5]. В отличие от культуры, где успех терапии определяется внутренними свойствами клеток, методы ТИ фокусируются на создании для клеток специфического комплекса условий и сигналов, которые способствуют их функционированию в составе искусственной биоподобной структуры.

В целях создания ТИК с трехмерной структурой широко применяются различные *скаффолды* (от англ. *scaffold*, «помост»). Это материалы, которые имитируют тканевую организацию клеток и поддерживают целостность комплекса до момента трансплантации или замены нефункционирующих органов и тканей. Для модуляции микроокружения в состав скаффолдов могут быть включены регуляторные молекулы: ФР и цитокины. Часть окружения в составе ТИК составляют и сами клетки, которые инкапсулированы в применяемый материал [6]. Сочетание клеток, скаффолдов и сигнальных молекул именуется «триадой ТИ» и рассматривается как фундаментальный компонент разработки эффективного и физиологически релевантного подхода к созданию искусственных тканей или органов для трансплантации [7].

В области ТИ существует особая группа подходов, известных как биореакторные методы. Биореакторы — это инженерные системы, которые могут имитировать широкий спектр условий: парциальное давление кислорода, перфузию, напряжение сдвига, механические воздействия (сжатие и сдвиг), а также комбинированные воздействия в переменном режиме [8]. Важно подчеркнуть, что на данный момент возможности этих методов в РМ не достигли уровня практического медицинского применения. Одним из главных преимуществ биореакторов является возможность контролируемого моделирования условий, имитирующих физиологические процессы, что способствует эффективной дифференцировке клеток, что в перспективе позволит создавать сложные и близкие к естественным органам и тканям [9].

За последнее десятилетие подходы с использованием биореакторов продемонстрировали впечатляющие достижения в области создания искусственных органов — были разработаны потенциально применимые в клинической практике эквиваленты печени, кожи, костной ткани, хрящей [10]. Несмотря на то что возможности биореакторов в создании тканей вне организма значительно превосходят традиционные методы, их принцип действия остается неизменным: они основаны на использовании скаффолдов и клеточного материала, который заселяет эти структуры. Проанализируем основные принципы и базовые методы ТИ, применяемые в РМ.

2.1. Скаффолды — критическое звено элементов тканевой инженерии

В ТИ скаффолды определяют как трехмерные конструкции из разных материалов. Их задача — имитировать условия ткани для пространственной организации клеток и поддержания их функции, в том числе дифференцировки [11]. С точки зрения физиологии свойства скаффолдов в большой степени имитируют функции ВКМ — сложной структуры из макромолекул, которая окружает клетки всех тканей организма, за исключением крови. ВКМ не только формирует каркас ткани, но и выступает как сигнальный комплекс, предоставляющий клеткам позиционные инструкции и поддерживающий их жизнедеятельность.

Хотя состав ВКМ может меняться в зависимости от типа ткани, его основные физиологические

задачи остаются универсальными для различных тканей [12]:

- 1) обеспечение адгезии клеток, управление их направленной миграцией и передача сигналов о взаимодействии клеточных элементов с тканью;
- 2) придание ткани необходимых механических свойств (жесткость, упругость и вязкость) за счет укладки ВКМ. Это определяет растяжимость ткани, а минерализация ВКМ отвечает за ее твердость [13];
- 3) сигнальные домены белков ВКМ определяют пространственную ориентацию клеток в тканях за счет позиционных сигналов;
- 4) для эффективной рецепции клетками регуляторных молекул, таких как ФР и цитокины, необходимо обеспечить их достаточные удельные концентрации. Исследования показали, что компоненты ВКМ аккумулируют ФР и цитокины, облегчая их взаимодействие с рецепторами или димеризацию, необходимую для перехода некоторых ФР в активную форму;
- 5) формирование динамически меняющихся условий, обеспечиваемых управляемой перестройкой, разрушением и синтезом ВКМ, что имеет особое значение при масштабных процессах с изменениями структуры ткани: морфогенезе, васкуляризации, заживлении после повреждения и фиброзировании.

Учитывая перечисленные функции, логичным выбором скаффолда является образец ВКМ органа, предназначенный для воссоздания. Но из-за сложной структуры и укладки, а также изменчивости нативного ВКМ полное воспроизведение его свойств в лабораторных условиях оказалось практически невозможным. При этом скаффолд должен создавать пространство, благоприятное для васкуляризации, роста и перестройки будущих тканей, но не препятствуя диффузии питательных веществ и интеграции ТИК в организм реципиента.

Несмотря на это, применяя ключевой для РМ принцип биоподобия, были определены свойства скаффолдов, комбинация которых обеспечивает их применимость в тканевой инженерии. Среди этих свойств можно выделить следующие ключевые [7].

1. *Биосовместимость* — данное свойство означает, что введение скаффолда в организм и его успешная интеграция зависят от взаимодействия с живыми структурами. Важно, чтобы архитектура и механические свойства скаффолда были максимально приближены к характеристикам органа или ткани, которые планируется восстановить.

2. *Биоактивность* скаффолда заключается в его способности, подобно нативному ВКМ, модулировать активность клеток посредством сигналов (например, ФР и цитокинов), которые либо присутствуют в его структуре, либо выделяются в процессе культивирования клеток и после трансплантации.

3. Скаффолды характеризуются определенными показателями *жесткости и упругости* и призваны имитировать свойства целевой ткани, а также стабилизировать ее дефекты. Важно отметить, что механические свойства скаффолдов могут существенно влиять на жизнеспособность и дифференцировку клеток, поскольку клетки обладают механизмом механочувствительности [14].

4. *Биодеградируемость* означает способность материала скаффолда растворяться или разрушаться под воздействием ферментов. Ключевым моментом является то, что скорость разрушения должна приближаться к скорости роста новых тканей, а продукты распада должны выводиться из организма без образования токсичных отходов [15].

Прогресс в области биоорганической химии и материаловедения открыл широкий выбор материалов для применения в ТИ. Ключевым моментом при создании тканеинженерной конструкции является тщательный подбор скаффолда, отвечающего ряду необходимых условий. В большинстве случаев скаффолды, используемые в РМ, состоят из природных или синтетических полимеров [7].

К природным скаффолдам относятся целлюлоза, мажорные белки ВКМ (коллагены различных типов, фибронектин), альгинаты, хитозан и его сополимерные формы, гиалуроновая кислота [16, 17]. Однако одним из недостатков этих материалов является их сравнительно низкая механическая прочность, что ограничивает их использование для восстановления тканей,

которые должны выдерживать значительные механические нагрузки. Тем не менее высокая биосовместимость и низкая токсичность делают их перспективным материалом для ТИ кожи и создания на их базе эквивалентов органов, таких как печень, поджелудочная железа и сердце.

Синтетические скаффолды чаще всего формируют из неорганических соединений (гидроксиапатит, трикальцийфосфат, гипс, стеклокерамика) или органических полимеров (алифатические полиэфиры, полиэтиленгликоль, полилактид-ко-гликолид). Благодаря своей высокой механической прочности многие из них подходят для создания тканей с твердой структурой, например для ТИ костей. Хотя синтетические полимеры отличаются низкой иммуногенностью, их структура и химический состав не всегда способствуют эффективному прикреплению клеток в процессе создания тканеинженерных конструкций. В отличие от биологических материалов синтетические и минеральные скаффолды часто имеют низкую совместимость с тканями организма реципиента, что ограничивает их использование в медицине. Чтобы преодолеть эту проблему, разрабатываются методы модификации скаффолдов, например за счет нанесения белковых покрытий. К наиболее распространенным таким белкам относятся фибронектин и коллаген I типа. Нанесение ВКМ на синтетический скаффолд способствует адгезии клеток. Кроме того, эта обработка придает скаффолду биоактивные свойства за счет активации сигнальных путей, которые запускаются при связывании клеточных рецепторов с ВКМ. Благодаря таким биомиметическим методам инертный материал с точки зрения физиологии может регулировать процессы дифференцировки и пролиферации клеток, а также их секреторную функцию [18, 19].

Одним из возможных недостатков, ограничивающих использование натурального или синтетического скаффолда, является риск развития воспалительной реакции в зоне трансплантации ТИК. Введение чужеродного объекта может спровоцировать избыточную выработку воспалительных цитокинов, что, в свою очередь, помешает заживлению и интеграции ТИК. В результате вокруг имплантированной конструкции может развиваться фиброз, а в случае био-разрушаемых носителей может произойти их быстрая деградация и потеря целостности [20].

Формирование крупных ТИК может осложняться тем, что центральная часть таких структур часто подвергается некрозу из-за недостатка кислорода и питательных веществ [21]. В настоящее время поиск и создание материала, способного стать идеальным скаффолдом и преодолеть проблемы фиброза и ограниченности объемов конструкций, является ключевым направлением практических исследований. Частично эта задача была решена благодаря применению методов, которые предполагают получение нативного ВКМ, то есть синтезируемого самими клетками. К таким методам относятся децеллюляризация тканей, формирование сфероидов и пластов, которые будут рассмотрены далее.

2.2. Использование децеллюляризованного ВКМ в тканевой инженерии

Децеллюляризованный ВКМ (дВКМ) создается из тканей человека или животных с применением методик, направленных на удаление клеточного компонента при сохранении матрикса максимально неизменным. Готовый дВКМ представляет собой плотную структуру, состоящую из белков, протеогликанов и фибриллярных элементов, которые были синтезированы клетками во время формирования ткани. Одним из главных преимуществ дВКМ является точная имитация естественной структуры и окружения нативных тканей, что облегчает интеграцию трансплантируемых клеток. Также нативный ВКМ более эффективно подвергается физиологическому и восстановительному ремоделированию. Благодаря этому децеллюляризованные формы дВКМ демонстрируют лучшую приживаемость и заселение клетками как *in vitro*, так и после трансплантации в организм пациента [22]. Этот подход находит широкое применение в тканевой инженерии для создания клапанов сердца, сосудов, нервов, сухожилий и связок, что подтверждается исследованиями [23–25].

Процедура начинается с децеллюляризации, которая выполняется с применением различных физических и химических методов. Выбор оптимального метода очистки дВКМ играет ключевую роль в разработке эффективного метода ТИ, причем в идеале он должен также сохранять специфических лиганды и сигнальные молекулы, что впоследствии оказывает влияние на интеграцию клеток и формирование ТИК. Для разрушения клеточных мембран применяются физические методы: ультразвуковая

обработка, механическое воздействие, давление и замораживание/оттаивание при контролируемых температурах. Оставшееся после этих манипуляций содержимое клеток вымывается буферными растворами, оставляя за собой плотную массу уложенного дВКМ той ткани или органа, который был взят для его получения. Иногда для дополнительной обработки применяются щелочи, кислоты и хелатирующие вещества, среди которых широко используется этилендиаминтетрауксусная кислота (ЭДТА). Мягкая дополнительная ферментативная обработка может включать применение протеаз (чаще всего трипсина) или эндонуклеаз для удаления нежелательных остатков макромолекул [26].

После получения дВКМ следующим ключевым этапом является *рецеллюляризация*, представляющая собой заселение скаффолда живыми клетками. Этот процесс может осуществляться с применением биореакторов или перфузионных машин и может занять значительное время — вплоть до нескольких недель.

Разработка и оценка ТИК на основе дВКМ из животных тканей, в первую очередь свиней, кроликов, крыс и мышей, является предметом множества исследований. Среди наиболее заметных достижений в этой области следует отметить исследование Ott и его коллег, которые в 2008 году успешно продемонстрировали возможность *ex vivo* создания биоритмичного сердца на основе дВКМ мыши [27]. Впоследствии группа Barakat продемонстрировала успешную интеграцию и функциональную работоспособность человеческих гепатоцитов при их введении в дВКМ, полученный из свиной печени [28].

Хотя применение дВКМ обладает набором преимуществ, его клиническое использование сдерживается рядом объективных ограничений. Одним из главных препятствий является процесс получения дВКМ, в ходе которого остаточные химические соединения и ферменты могут загрязнять готовый тканеинженерный орган. Это может привести к токсическим эффектам на организм пациента-реципиента. Также при конструировании искусственных органов с сложной тканевой структурой (например, почек) на базе дВКМ не получается реализовать полноценную программу морфогенеза, которая свойственна поэтапному развитию в эмбриогенезе. В результате созданные таким обра-

зом органы не демонстрируют той же степени сложности и организации, как нативные [29]. Несмотря на заселение матрикса СК с высоким дифференцировочным потенциалом и их сочетание с клетками сосудистой и нервной систем, в большинстве случаев результатом становится неполноценная структура, которая может иметь различные аберрации. В связи с этим искусственный орган не способен соперничать с донорским, а трансплантация его сопряжена с риском, который значительно превышает потенциальную пользу. К существенным недостаткам этой технологии относится и ее длительность: весь процесс, начиная с забора органа для децеллюляризации и заканчивая получением готового тканеинженерного эквивалента, заселенного клетками, может затянуться на срок до полутора месяцев, а для его осуществления необходимы несколько сложных и трудоемких стадий.

Эти методы представляют собой одно из самых перспективных направлений в данной области, но создание на их основе искусственных органов, способных решать актуальные задачи трансплантологии, в настоящее время еще недостижимо. Несмотря на это, в последнее время наблюдается значительный прогресс в использовании дВКМ для трансплантации хряща, сухожилий, жировой ткани и кожи, что открывает возможность разработки новых продуктов для РМ [30].

2.3. Сфероиды — пионеры в области тканевой инженерии

Сфероиды представляют собой самоорганизующиеся шарообразные структуры, состоящие из клеток, объединенных белками ВКМ, которые играют ключевую роль в поддержании стабильности сфероидов. Их формирование во многом определяется балансом сил межклеточной адгезии и ассоциацией с поверхностью культурного пластика, которую для этого стараются минимизировать.

В 2003 году Kelm [31] представил метод сборки сфероидов, основанный на культивировании в «висячей капле». Этот метод предполагает выращивание клеток на дне перевернутой чашки Петри, где они помещаются в каплю объемом 20–30 микролитров. Благодаря силе гравитации и поверхностному натяжению клетки собираются в шарообразный агрегат, который удерживается активными взаимодействиями между ними.

В связи с этим формирование сфероида можно разделить на три этапа [32]:

- в капле рассеянные клетки будущего сфероида компоненты посредством взаимодействия интегринов с молекулами ВКМ;
- агрегированные клетки увеличивают продукцию кадгеринов, что, в свою очередь, приводит к усилению межклеточной адгезии за счет более плотных соединений;
- повышение количества плотных кадгеринových связей ведет к образованию и стабилизации структуры сфероида [33].

Сфероиды обладают существенным преимуществом по сравнению с заселенными скаффолдами: их структура, включающая комплекс ВКМ и нативные межклеточные контакты, более точно имитирует ткани, что способствует лучшему выживанию, дифференцировке и интеграции клеток после имплантации [34].

Однако конструкции, созданные таким образом, имеют ограничение по объему, поскольку жизнеспособность клеток в сфероиде неоднородна: от краев к центру она снижается. Это обусловлено тем, что многослойная структура сфероида препятствует эффективному поступлению питательных веществ и кислорода, а также выведению продуктов обмена.

Формирующийся градиент приводит к дефициту питательных веществ для клеток, изменению пропорции живых и мертвых элементов, а также к функциональной неоднородности клеток внутри сфероида. В структуре сфероида можно различить страты клеток, находящихся в разных фазах: пролиферирующие, покоящиеся и мертвые (см. рис. 1). Внешний слой состоит из клеток с неповрежденными ядрами, которые активно делятся и получают достаточное количество кислорода и питательных веществ. Благодаря меньшей доступности кислорода и питательных веществ клетки, находящиеся в глубине сфероида, демонстрируют сниженную метаболическую активность. В центре же сфероида по достижении радиуса более 80–100 микрон часто формируется ядро, которое характеризуется как некротическое, с большим количеством погибших клеток и дебриса, низким рН и высоким уровнем лактата [35].

Большое значение для состояния клеток, входящих в состав сфероида, имеют не только его диаметр, но и количество клеток, а также

продолжительность культивирования. Считается, что чем больше клеток содержится в сфероиде и чем более длительное время они находятся в культуре, тем выше риск образования некротического ядра с признаками, описанными выше [36].

В части А схематически показаны различные зоны: зона пролиферации (зеленая), зона покоящихся клеток (оранжевая) и зона некротического ядра (красная). В частях Б и В представлены микрофотографии аналогичных сфероидов: на Б видны живые (зеленый) и погибшие (красный) клетки, а на В — изображение, полученное методом сканирующей электронной микроскопии. Иллюстрация адаптирована из [35].

Сфероиды широко используют в исследовании процессов канцерогенеза и для фармакологической оценки лекарственных препаратов. Их ключевыми преимуществами являются трехмерная структура и естественный состав, созданный клетками ВКМ. Некоторые исследователи считают гетерогенность клеточного состава преимуществом этого типа ТИК, поскольку она имитирует анизотропию условий, свойственную здоровым тканям и солидным опухолям.

Применение сфероидов, созданных из стволовых и зрелых клеток, в настоящее время ограничено. Это обусловлено рядом факторов, среди которых наличие зон некроза и недостаточное понимание морфофункциональных свойств клеток, входящих в структуру сфероида. Формирование в ядре сфероидов градиента

гипоксии, ацидоза и низкой васкуляризации в значительной степени имитирует условия, характерные для канцерогенеза, что порождает опасения в отношении безопасности данного типа ТИК.

2.4. Биопринтинг (биопечать) и сферы его использования

Концепция 3D-печати была впервые сформулирована Jones в 1974 году, а уже в 1981 году Kodama представил протокол использования фотоотверждаемых термореактивных полимеров для создания трехмерных объектов из пластика, что стало одним из первых примеров так называемого *аддитивного* процесса, который предполагал изготовление моделей с помощью специального процесса.

Методы 3D-печати классифицируются на *небиологическую* и *3D-биопечать* в зависимости от используемых материалов и технологий производства. 3D-биопечать, в свою очередь, предполагает позиционирование микрообъектов биоматериалов, биохимических соединений и живых клеток для создания трехмерных структур, имитирующих ткани [37].

Последние годы ознаменовались публикацией ряда обстоятельных обзорных статей, посвященных прогрессу в области 3D-биопечати. Среди них выделяется работа Murphy и соавторов, которая представляет собой систематический обзор, охватывающий практически все аспекты 3D-биопечати: от принципов и методов визуализации и дизайна до технологий и выбора материалов [38].

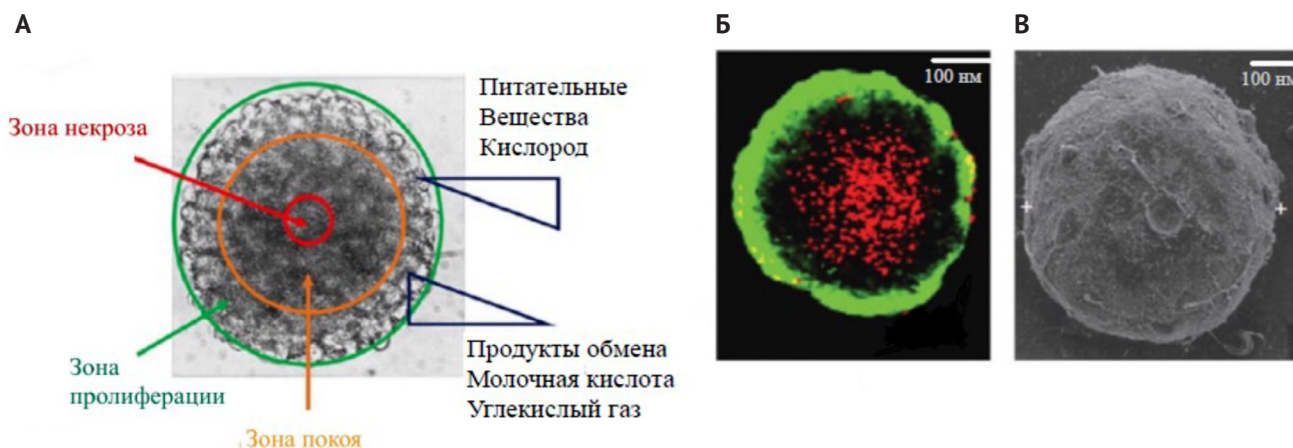


Рис. 1. Структура сфероида из опухолевых стволовых клеток

Fig. 1. Structure of a spheroid made from tumor stem cells

В сфере 3D-биопечати применяются три ключевых метода: струйная, лазерная и экструзионная. Из-за сложности реализации и специфики каждого метода мы сосредоточимся на основных сферах применения 3D-биопечати в РМ и рассмотрим существующие ограничения этой технологии

В отличие от небиологической 3D-печати, которая создает бесклеточный скаффолд, 3D-биопечать направлена на формирование структур с механическими и биологическими характеристиками, позволяющими им взаимодействовать с живыми клетками [38]. 3D-биопечать позволяет точно распределить и обеспечить гетерогенность плотности клеток, а также является масштабируемой и экономически выгодной. Несмотря на потенциал, применение 3D-биопечати в РМ пока не получило широкого распространения из-за ряда проблем. В первую очередь выбор подходящих биоматериалов остается ограниченным. Также существующие методы 3D-биопечати нуждаются в совершенствовании для повышения скорости и точности. Кроме того, обеспечение необходимых биологических функций без компромиссов в механических свойствах требует от 3D-принтеров уровня разрешения, которого пока достичь невозможно.

Для реализации этих методов применяются так называемые *биочернила* — специальные составы, предназначенные для 3D-биопечати и служащие основой ТИК. Заселение клетками может происходить как во время биопечати, так и в напечатанную конструкцию, после чего готовую ТИК трансплантируют в организм реципиента [39].

3D-биопечать стремительно набирает популярность как массовая отрасль благодаря широкому спектру возможностей и перспективам применения. В области биопечати можно выделить две ключевые категории: первая связана с регенерацией тканей, например печатью кровеносных сосудов, сердечных клапанов, элементов опорно-двигательного аппарата, печени, нервов и кожи; вторая — с биомедицинскими приложениями, такими как поиск и тестирование новых лекарственных препаратов [40].

Создание сосудистых сетей с характеристиками, приближающимися к физиологическим, в области печати представляет собой сложную задачу. Это обусловлено наличием у артерий и вен специфических свойств, присущих только

им. Несмотря на это, некоторые успехи были достигнуты в 3D-печати сосудистых сетей. В частности, была разработана технология 3D-печати сосудистой сети из метакрилового желатина [41], а также биочернил на основе Pluronic F127. После завершения печати эти чернила застывали при охлаждении и удалялись, оставляя за собой открытые сосудистые каналы размером до 45 микрон [42]. Несмотря на впечатляющие результаты, эти работы остаются увлекательными экспериментальными находками, но пока далеки от практического применения.

В области биопечати сердечных клапанов ключевую роль играют биочернила на основе гидрогелей различной природы. С их помощью удалось создать аналог трехстворчатого клапана, используя гиалуроновую кислоту, желатин и интерстициальные клетки аортального клапана человека, причем в течение недели в составе ТИК сохранялась высокая жизнеспособность клеток [43]. Несмотря на очевидные технические успехи, гидрогели и биочернила, созданные на их основе, не могут полностью воспроизвести гибкость и эластичность нативной ткани, а их механические характеристики остаются недостаточно близкими к ее параметрам [44].

Производство искусственной кости может осуществляться с применением как небиологических, так и 3D-биопечатных технологий. Для решения этой задачи исследователи применяют двухфазный фосфат кальция, гидроксиапатиты и трикальцийфосфат. Несмотря на то что в некоторых исследованиях структурная точность скаффолдов, созданных на основе двухфазного фосфата кальция, превысила 96,5%, их клиническое применение пока не получило широкого распространения [45]. Использование минерализованного ВКМ, полученного из мезенхимальных стволовых клеток нижней носовой раковины человека, в качестве добавки к 3D-биопечатным каркасам из полилактидо-гликолида и β -трикальцийфосфата показало перспективные результаты, открывая новые возможности для развития данной технологии. Этот скаффолд продемонстрировал высокие остеоиндуктивные и остеокондуктивные характеристики, при этом сохраняя органические и неорганические компоненты костной ткани после имплантации в организм [46].

3D-биопечать открывает возможности для создания хрящевых эквивалентов: в качестве чернил

для этой задачи успешно применялись поликапролактан, гиалуроновая кислота и альгинаты [47]. Все они продемонстрировали эффективность в обеспечении выживаемости клеток (до 80–90%) и их дифференцировки в хондро- и адипогенных направлениях. В соответствующих работах также было показано и накопление значительных количеств гликозаминогликанов — ключевого компонента зрелого хряща — в течение нескольких недель культивирования [48], что является важным показателем формирования функционального эквивалента хряща. Интересно, что гидрогелевые эквиваленты хрящевой ткани демонстрировали незначительную активацию провоспалительных генов в макрофагах. Более того, они даже способствовали снижению смоделированной острой иммунной реакции [49].

Хотя 3D-биопечать достигла успехов в создании ТИК с структурой, имитирующей дерму, печень, щитовидную железу и другие органы, эти подходы пока не достигли клинического применения. Это обусловлено использованием в их составе химических полимеров и несоответствием архитектуры ТИК нативной структуре. В связи с этим данное направление рассматривается как перспективное, но еще не ставшее полноценным практическим решением. 3D-биопечать в настоящее время находит главное применение в скрининге лекарственных средств и моделировании тканей *ex vivo*, где этот метод является незаменимым. В перспективе ожидается активное внедрение методов 3D-биопечати в моделирование тканей человека на чипах, что существенно повысит эффективность фармакологических исследований и поиска новых мишеней лекарственных препаратов.

2.5. Клеточные пласты — минимальные адгезионные тканеинженерные конструкции

Клеточные пласты (КП) представляют собой минимальные ТИК, которые состоят из одного или нескольких типов живых клеток. Эти клетки объединяются в культуре с помощью собственного матрикса, который также обогащен растворимыми факторами, встроенными в его структуру [50, 51].

В конце 1990-х годов группа Окано разработала технологию получения КП, которая на момент своего появления стала методом неинъекционной доставки клеток для терапии без применения скаффолдов или искусственных носителей.

Эта инновация была направлена на решение проблемы аноикса и снижения жизнеспособности клеток, возникающей при их ферментативном отсоединении от субстрата или носителя, как подробно обсуждалось выше.

Компоненты матрикса, входящие в состав КП, поддерживают передачу межклеточных сигналов и сигнализацию от рецепторов интегринов на ВКМ. Это предотвращает активацию аноикса при удалении КП с поверхности культуральной посуды, сохраняя тем самым жизнеспособность клеток.

Получение КП стало возможным благодаря разработке культуральных сосудов с термочувствительным покрытием из поли-N-изопропилакриламида. Это покрытие обладает уникальной способностью изменять свои характеристики в зависимости от температуры. При температуре культивирования, равной 37 °C, оно проявляет гидрофобные свойства, что способствует прикреплению клеток к поверхности сосуда. Когда температура опускается ниже 32 °C, полимер меняет свое состояние на гидрофильное. Молекулы воды проникают внутрь материала, вызывая его набухание и образование набухшего полимерного слоя между пластиком и ТИК, в результате чего происходит отделение пласта (см. рис. 2).

Поли-N-изопропилакриламид образует основу для клеточных культур. При температуре 37 °C (А) клетки удерживаются вместе благодаря межклеточным контактам и адгезии к полимерному покрытию через внеклеточный матрикс. Использование протеаз для открепления клеток (Б) разрушает матриксные белки и межклеточные контакты. Открепление пласта (В) при снижении температуры до 32 °C, вызванное набуханием полимера, позволяет сохранить структуру матрикса и межклеточные контакты. Изображение адаптировано из [52].

В отличие от конструкций на основе скаффолдов КП обладают рядом значимых технических преимуществ. В первую очередь их создание не подразумевает использования сложных и дорогих технологий и реагентов, что делает возможным их получение в любой клеточной лаборатории. Во-вторых, КП состоят исключительно из клеток, а также из нативных компонентов, синтезированных ими в культуре ВКМ, исключая ксеногенные и синтетические элементы [53].

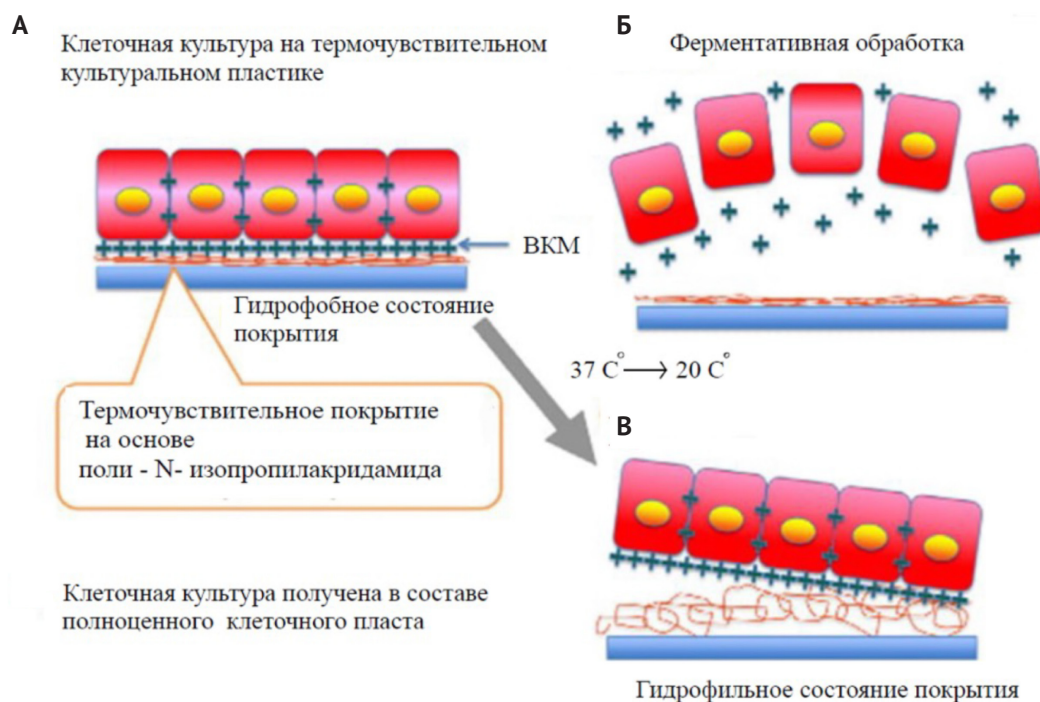


Рис. 2. Процесс формирования клеточных пластов на поверхности термочувствительного покрытия

Fig. 2. The process of formation of cell layers on the surface of a heat-sensitive coating

В отличие от скаффолдов, которые изготавливаются из искусственных материалов или обработанных нативных матриц (например, дВКМ), механическая прочность КП достигается за счет белков ВКМ и взаимодействий между клетками [54]. Благодаря этому применение КП исключает проблемы, связанные с разрушением синтетического материала, которое может привести к высвобождению токсичных веществ и развитию воспаления [55]. ВКМ, входя в состав КП, не только служит естественным каркасом для клеток, но и функционирует как структура, регулирующая регенеративные процессы [56]. Важно отметить, что матрикс содержит секретируемые клетками факторы роста (ФР) и цитокины, а также везикулы, несущие микроРНК и другие компоненты, которые могут активировать регенеративные программы [57]. Таким образом, ВКМ участвует в регуляции регенерации на нескольких уровнях. Кроме того, клетки в составе КП получают более равномерное снабжение питательными веществами и кислородом из культуральной среды по сравнению с клетками сфероидов.

Вначале данный метод применялся преимущественно для получения КП из эпителиальных клеток, выделенных из различных тканей: роговицы [58], слизистой оболочки рта [59] и кожи [60].

В клинической практике такие ТИК показали свою эффективность в заживлении небольших поверхностных повреждений кожи, травм роговицы и восстановлении слизистой оболочки пищевода после удаления опухолей. В ходе развития данной технологии были созданы КП из различных типов клеток: эндотелиальных (ЭК), кардиомиоцитов, первичных фибробластов и миоцитов [61]. Кардиомиоциты, используемые для создания КП, демонстрировали способность к стимулированной и спонтанной пульсации. Важно отметить, что послойная организация нескольких таких конструкций в течение 45 минут приводила к возникновению электромеханического сопряжения с синхронизированной пульсацией за счет образования щелевых контактов, соединяющих слои клеток [62], что имитирует работу сердца.

Возможность создания крупных ТИК на базе КП в будущем может быть реализована посредством префабрикации, которая обеспечивает получение васкуляризованных структур [63]. Например, сокультивирование КП из кардиомиоцитов с ЭК приводит к формированию васкуляризованных конструкций, а их плотность увеличивается *in vivo* после пересадки у животных, что способствует выживанию клеток [64, 65]. Это указывает на потенциал префабрикации для решения задачи

создания крупных ТИК. Эти конструкции могут быть перенесены самостоятельно, приводя к образованию значительных объемов «плюс-ткани», а также применяться в пластической хирургии полых органов или для создания их аналогов за пределами организма.

3. Кризис клеточной терапии и его причины

Во многих опытах на животных было показано, что постнатальные СК и МСК обладают потенциалом для восстановления тканей при заболеваниях или травме. Однако после культивирования стволовые и прогениторные клетки утрачивают свою способность к регенерации, а попытки создать полноценные эквиваленты *in vitro* с помощью методов ТИ пока не увенчались успехом. Существенной проблемой остается то, что даже при комплексном воздействии гормонов (ФР) в тканеспецифичных СК не удается активировать полноценные программы органо- или гистогенеза. В качестве примера можно привести хорошо изученные сателлитные клетки-предшественники, которые после выделения из скелетной мускулатуры способны активироваться *in vitro* и экспрессировать ряд факторов транскрипции, необходимых для слияния и формирования мышц [3]. Тем не менее это не приводит к полноценному развитию мышечной ткани *ex vivo* даже при появлении ряда важных функциональных признаков — например, сократимости такого рода синцитиальных ТИК. Структуры, напоминающие миофибриллы, не обладают регулируемой сократительной активностью и не могут после трансплантации соединяться с мышечной тканью [66]. Как и в случае с введением большинства типов СК и МСК, полученных из тканей взрослых организмов, локальная или системная инъекция не приводит к ожидаемому результату — регенерации значительного объема поврежденного органа или его функциональных частей.

Причиной этого является отсутствие у культивируемых СК способности к автономной регуляции дифференцировки вне контекста ткани и присущей ей физиологической регуляции. Эволюция данных представлений привела к пониманию, что функциональной единицей регенерации является не сама СК, а комплекс, состоящий из СК и специфической регуляторной ниши [67]. В современной концепции регенеративного процесса ниша выполняет функцию рецепции сигналов, активирующих дифференцировку, и участвует в контроле СК на всех ее этапах. Важно отметить, что ниша,

помимо самой СК, включает в себя растворимые ФР, цитокины, белки внеклеточного матрикса и стромальные клетки, которые обеспечивают ее структурную целостность [67]. Отсутствие в культуре этих компонентов может привести к снижению или полному блокированию ключевых свойств СК, необходимых для регенерации.

Эффективность применения клеточной терапии была низкой также из-за резкого падения жизнеспособности СК и МСК во время их введения в организм. Для снятия клеток традиционно используют протеолитические ферменты, которые разрушают ВКМ и межклеточные контакты. В результате этого развивается *аноиксис* — состояние, при котором клетки лишаются своего «дома». Этот термин обозначает механизм программируемой гибели клетки при разрыве связей с матриксом и окружающими клетками. Впервые предложенный в 1994 году [68], он получил широкое распространение в литературе и отражает ключевое свойство многоклеточных организмов: способность предотвращать перемещение и интеграцию клеток из одной части тела в другую. Аноиксис характерен для всех клеток человеческого организма за исключением форменных элементов крови, поскольку их суспендированное состояние является условием функционирования системы крови.

Инъекция клеток, снятых с культуральной посуды, в поврежденные ткани приводит к их стремительной гибели за счет активации аноиксиса. Клетки, попадая в поврежденную ткань с присущей ей гипоксией, воспалением, высокой концентрацией свободных радикалов и потенциально чужеродными микроорганизмами, испытывают стресс, который может оказаться для них фатальным. Исследования показали, что в первые 2–3 дня после введения суспендированных клеток около 75% клеток погибают вследствие апоптоза, а к 4–5-му дню в тканях выживает лишь небольшая часть (около 10%) введенного материала [69, 70].

Таким образом, базовые предпосылки для разработки методов клеточной терапии с помощью СК и МСК были обоснованными, однако эффективность этих методов в РМ оказалась ограниченной. Важно подчеркнуть, что с 1995 по 2015 год было разработано и доведено до стадии КИ более 200 препаратов клеточной терапии. Эти исследования предоставили ценную информацию о безопасности, потенциальных рисках и побочных

эффектах их использования, а также стимулировали поиск оптимальных показаний и протоколов применения в практике [71, 72]. Достижения этого «золотого века» клеточной терапии стали основой для развития современных методов лечения в онкологии, гематологии и при орфанных заболеваниях крови и иммунной системы. В частности, они позволили создать такие подходы, как CAR-T лимфоциты и дендритно-клеточные вакцины, которые сегодня применяются с успехом.

4. Заключение

В настоящее время ТИ обладает обширным и действенным набором методов, применимых в РМ. Принимая во внимание перспективы методов с использованием биореакторов и 3D-биопечати, наиболее вероятные для внедрения в практику достижения в ближайшем будущем будут основаны на использовании автономных свойств клеток в культуре.

Важную роль играют их способности синтезировать ВКМ, создавать относительно простые, но функциональные для трансплантации ТИК, а также управлять процессами дифференцировки и выживаемости клеток в составе этих структур. Несмотря на имеющиеся ограничения, существующие методы ТИ (сфероиды, КП) эффективно решают ключевую проблему клеточной терапии — обеспечение выживаемости трансплантируемых клеток и регулирование их дифференцировки и интеграции в организм.

В составе ТИК формируются регуляторные и сигнальные связи, отсутствующие в простых культурах и особенно в суспензиях клеток. Это означает, что статус трансплантированных в составе ТИК клеток (в том числе СК и МСК) существенно отличается от их статуса в обычных клеточных препаратах.

Следует, несомненно, упомянуть и статус клинических разработок в ТИ, которая охватывает ортопедию, кардиологию, неврологию и пластическую хирургию. В ортопедии ТИК для восстановления костей и хрящей показали многообещающие результаты в лечении критических по размеру дефектов костей и остеохондральных повреждений. Использование в этих работах ТИК на основе МСК способствовало усилению регенерации костей и восстановлению хрящей, улучшая клинические результаты [73, 74].

В кардиологии разработка биоинженерных сосудистых трансплантатов и клеточных пластов предлагает потенциальные решения для сердечно-сосудистых заболеваний, обеспечивая улучшенную биосовместимость и снижение риска отторжения трансплантата по сравнению с синтетическими альтернативами. Интеграция фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) и других ангиогенных факторов в эти конструкции еще больше повысила их регенеративную способность, способствуя неоваскуляризации и интеграции ТИК в структуру ткани [75, 76].

В пластической и реконструктивной хирургии тканеинженерные конструкции из кожи, жира и мышц предлагают инновационные решения для сложных дефектов, улучшая как функциональные, так и эстетические результаты [77]. Использование ССК в этих областях применения оказалось особенно эффективным, обеспечивая эффективность регенерации и поддержание механических свойств ткани.

В настоящее время ключевой задачей направления является создание и апробация оптимальных платформ ТИ, то есть многофункциональных подходов, основанных на воспроизводимых и удобных методах, в том числе принимая во внимание возможность индустриального масштабирования данных технологий.

Литература

1. Ntege EH, Sunami H, Shimizu Y. Advances in regenerative therapy: A review of the literature and future directions. *Regen Ther*, 2020;14:136–153.
2. Raveh-Amit H, Berzsenyi S, Vas V, et al. Tissue resident stem cells: till death do us part. *Biogerontology*, 2013;14(6):573–590.
3. Макаревич П.И., Ефименко А.Ю., Ткачук В.А. Биохимическая регуляция регенеративных процессов факторами роста и цитокинами: основные механизмы и значимость для регенеративной медицины // Биохимия. — 2020. — Том 85, № 1. — С. 15–33.

- Makarevich PI, Efimenko AYU, Tkachuk VA. Biochemical regulation of regenerative processes by growth factors and cytokines: basic mechanisms and significance for regenerative medicine. *Biochemistry*, 2020;85(1):15–33. (In Russ.)
4. Kolios G, Moodley Y. Introduction to stem cells and regenerative medicine. *Respiration*, 2013;85(1):3–10.
 5. Vacanti CA, Vacanti JP. Functional organ replacement, the new technology of tissue engineering. *Surg Technol Int*, 1991;1:43–49.
 6. Sharma B, Elisseeff JH. Engineering structurally organized cartilage and bone tissues. *Ann Biomed Eng*, 2004;32(1):148–159.
 7. Chan BP, Leong KW. Scaffolding in tissue engineering: general approaches and tissue-specific considerations. *Eur Spine J*, 2008;17(4):467–479.
 8. Barzegari A., Saei A.A. An update to space biomedical research: tissue engineering in microgravity bioreactors. *Bioimpacts*, 2012;2(1):23–32.
 9. Berthiaume F, Maguire TJ, Yarmush ML. Tissue engineering and regenerative medicine: history, progress, and challenges. *Annu Rev Chem Biomol Eng*, 2011;2:403–430.
 10. Lim D, Renteria ES, Sime DS, et al. Bioreactor design and validation for manufacturing strategies in tissue engineering. *Biodes Manuf*, 2022;5(1):43–63.
 11. Abdelaziz AG, Nageh H, Abdo SM, et al. A review of 3D polymeric scaffolds for bone tissue engineering: principles, fabrication techniques, immunomodulatory roles, and challenges. *Bioengineering*, 2023;10(2):204.
 12. Kim Y, Ko H, Kwon IK, et al. Extracellular matrix revisited: roles in tissue engineering. *Int Neurourol J*, 2016;20(1):S23–29.
 13. Басок Ю.Б., Севастьянов В.И. Технологии тканевой инженерии и регенеративной медицины в лечении дефектов хрящевой ткани суставов // Вестник трансплантологии и искусственных органов. — 2016. — Том 18, № 4. — С. 102–122.
Basok YuB., Sevastyanov VI. Technologies of tissue engineering and regenerative medicine in the treatment of defects of joint cartilage tissue. *Bulletin of Transplantation and Artificial Organs*, 2016;18(4):102–122. (In Russ.)
 14. Бекетов Е.Е., Исаева Е.В., Шегай П.В. и др. Современное состояние тканевой инженерии для восстановления хрящевой ткани. // Гены и Клетки, 2019. — Том 14, № 2. — С. 12–20.
Beketov EE, Isaeva EV, Shegay PV, et al. Current state of tissue engineering for cartilage tissue restoration. *Genes and Cells*, 2019;14(2):12–20. (In Russ.)
 15. Yang D, Xiao J., Wang B., et al. The immune reaction and degradation fate of scaffold in cartilage/bone tissue engineering. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2019;104:109927.
 16. Baier Leach J., Bivens KA, Patrick CW, Jr., et al. Photocrosslinked hyaluronic acid hydrogels: natural, biodegradable tissue engineering scaffolds. *Biotechnol Bioeng*, 2003;82(5):578–589.
 17. Chevallay B., Herbage D. Collagen-based biomaterials as 3D scaffold for cell cultures: applications for tissue engineering and gene therapy. *Med Biol Eng Comput*, 2000;38(2):211–218.
 18. Chevalier E, Chulia D, Pouget C, et al. Fabrication of porous substrates: a review of processes using pore forming agents in the biomaterial field. *J Pharm Sci*, 2008;97(3):1135–1154.
 19. Dhariwala B., Hunt E, Boland T. Rapid prototyping of tissue-engineering constructs, using photopolymerizable hydrogels and stereolithography. *Tissue Eng*, 2004;10(9–10):1316–1322.
 20. Meinel L, Karageorgiou V, Fajardo R, et al. Bone tissue engineering using human mesenchymal stem cells: effects of scaffold material and medium flow. *Annals of biomedical engineering*, 2004;32:112–122.
 21. Cui X, Hartanto Y, Zhang H. Advances in multicellular spheroids formation. *J R Soc Interface*, 2017;14(127):20160877.
 22. Gilbert TW, Sellaro TL, Badylak SF. Decellularization of tissues and organs. *Biomaterials*, 2006;27(19):3675–3683.
 23. Hall S. Axonal regeneration through acellular muscle grafts. *J Anat*, 1997;190(Pt1):57–71.
 24. Ingram JH, Korossis S, Howling G, et al. The use of ultrasonication to aid recellularization of acellular natural tissue scaffolds for use in anterior cruciate ligament reconstruction. *Tissue Eng*, 2007;13(7):1561–1572.

25. Исаева Е.В., Бекетов Е.Е., Аргучинская Н.В. и др. Децеллюляризованный внеклеточный матрикс для тканевой инженерии (обзор) // Современные технологии в медицине — 2022. — Том 14, № 3. — С. 57–69.
Isaeva EV, Beketov EE, Arguchinskaya NV, et al. Decellularized extracellular matrix for tissue engineering (review). *Modern technologies in medicine*, 2022;14(3):57–69. (In Russ.)
26. Safdari M., Bibak B, Soltani H, et al. Recent advancements in decellularized matrix technology for bone tissue engineering. *Differentiation*, 2021;121:25–34.
27. Ott HC, Matthiesen TS, Goh S-K, et al. Perfusion-decellularized matrix: using nature's platform to engineer a bioartificial heart. *Nature Medicine*, 2008;14(2):213–221.
28. Barakat O, Abbasi S, Rodriguez G, et al. Use of decellularized porcine liver for engineering humanized liver organ. *J Surg Res*, 2012;173(1):e11–25.
29. Мелконян К.И., Бирюкова А.О., Улитина Н.Н. и др. Компоненты внеклеточного матрикса в восстановлении поврежденных тканей: биохимические взаимодействия и протективный эффект // Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины. — 2019. — Том 9, № 4. — С. 55–62.
Melkonyan KI, Biryukova AO, Ulitina NN, et al. Components of the extracellular matrix in the restoration of damaged tissues: biochemical interactions and protective effect. *Crimian Journal of Experimental and Clinical Medicine*, 2019;9(4):55–62. (In Russ.)
30. Porzionato A, Stocco E, Barbon S, et al. Tissue-engineered grafts from human decellularized extracellular matrices: a systematic review and future perspectives. *Int J Mol Sci*, 2018;19(12):4117.
31. Kelm JM, Timmins NE, Brown CJ, et al. Method for generation of homogeneous multicellular tumor spheroids applicable to a wide variety of cell types. *Biotechnol Bioeng*, 2003;83(2):173–180.
32. Foty R. A simple hanging drop cell culture protocol for generation of 3D spheroids. *J Vis Exp*, 2011;51:2720.
33. Lin RZ, Chang HY. Recent advances in three-dimensional multicellular spheroid culture for biomedical research. *Biotechnol J*, 2008;3(9-10):1172–1184.
34. Habanjar O., Diab-Assaf M, Caldefie-Chezet F, et al. 3D cell culture systems: tumor application, advantages, and disadvantages. *Int J Mol Sci*, 2021;22(22):12200.
35. LaBarbera DV, Reid BG, Yoo BH. The multicellular tumor spheroid model for high-throughput cancer drug discovery. *Expert Opin Drug Discov*, 2012;7(9):819–830.
36. Грядунова А.А., Буланова Е.А., Кудан Е.В. и др. Масштабируемая биофабрикация и морфологическая оценка тканевых сфероидов // Клиническая и экспериментальная морфология. — 2019. — Том 8, № 2. — С. 12–20.
Gryadunova AA, Bulanova EA, Kudan E.V., et al. Scalable biofabrication and morphological evaluation of tissue spheroids. *Clinical and experimental morphology*, 2019;8(2):12–20. (In Russ.)
37. Mandrycky C, Wang Z, Kim K, et al. 3D bioprinting for engineering complex tissues. *Biotechnol Adv*, 2016;34(4):422–434.
38. Murphy SV, Atala A. 3D bioprinting of tissues and organs. *Nat Biotechnol*, 2014;32(8):773–785.
39. Хесуани Ю.Д., Сергеева Н.С., Миронов В.А. и др. Введение в 3D-биопринтинг: история формирования направления, принципы и этапы биопечати // Гены и Клетки. — 2018. — Том 13, № 3. — С. 38–45.
Hesuani YuD, Sergeeva NS, Mironov VA, et al. Introduction to 3D bioprinting: history of the formation of the direction, principles and stages of bioprinting. *Genes and Cells*, 2018;13(3):38–45. (In Russ.)
40. Derakhshanfar S, Mbeleck R, Xu K, et al. 3D bioprinting for biomedical devices and tissue engineering: A review of recent trends and advances. *Bioact Mater*, 2018;3(2):144–156.
41. Bertassoni LE, Cecconi M, Manoharan V, et al. Hydrogel bioprinted microchannel networks for vascularization of tissue engineering constructs. *Lab Chip*, 2014;14(13):2202–2211.
42. Kolesky DB, Truby RL, Gladman AS, et al. 3D bioprinting of vascularized, heterogeneous cell-laden tissue constructs. *Adv Mater*, 2014;26(19):3124–3130.

43. Duan B, Kapetanovic E, Hockaday LA, et al. Three-dimensional printed trileaflet valve conduits using biological hydrogels and human valve interstitial cells. *Acta Biomater*, 2014;10(5):1836–1846.
44. Li J, Chen M, Fan X, et al. Recent advances in bioprinting techniques: approaches, applications and future prospects. *J Transl Med*, 2016;14:271.
45. Castilho M, Moseke C., Ewald A., et al. Direct 3D powder printing of biphasic calcium phosphate scaffolds for substitution of complex bone defects. *Biofabrication*, 2014;6(1):015006.
46. Pati F, Song TH, Rijal G, et al. Ornamenting 3D printed scaffolds with cell-laid extracellular matrix for bone tissue regeneration. *Biomaterials*, 2015;37:230–241.
47. Lee JS, Hong JM, Jung JW, et al. 3D printing of composite tissue with complex shape applied to ear regeneration. *Biofabrication*, 2014;6(2):024103.
48. Antich C, de Vicente J, Jimenez G, et al. Bioinspired hydrogel composed of hyaluronic acid and alginate as a potential bioink for 3D bioprinting of articular cartilage engineering constructs. *Acta Biomater*, 2020;106:114–123.
49. Li C, Wang K, Zhou X, et al. Controllable fabrication of hydroxybutyl chitosan/oxidized chondroitin sulfate hydrogels by 3D bioprinting technique for cartilage tissue engineering. *Biomed Mater*, 2019;14(2):025006.
50. Aleksandrushkina NA., Danilova NV, Grigorieva OA, et al. Cell sheets of mesenchymal stromal cells effectively stimulate healing of deep soft tissue defects. *Bull Exp Biol Med*, 2019;167(1):159–163.
51. Yamato M, Okano T. Cell sheet engineering. *Materials Today*, 2004;7(5):42–47.
52. Kanai N, Yamato M, Okano T. Cell sheets engineering for esophageal regenerative medicine. *Ann Transl Med*, 2014;2(3):28.
53. Chen M, Xu Y, Zhang T, et al. Mesenchymal stem cell sheets: a new cell-based strategy for bone repair and regeneration. *Biotechnol Lett*, 2019;41(3):305–318.
54. Tsumanuma Y, Iwata T, Washio K, et al. Comparison of different tissue-derived stem cell sheets for periodontal regeneration in a canine 1-wall defect model. *Biomaterials*, 2011;32(25):5819–5825.
55. Chang D, Fan T, Gao S, et al. Application of mesenchymal stem cell sheet to treatment of ischemic heart disease. *Stem Cell Res Ther*, 2021;12(1):384.
56. Allan D, Tieu A, Lalu M, et al. Mesenchymal stromal cell-derived extracellular vesicles for regenerative therapy and immune modulation: Progress and challenges toward clinical application. *Stem Cells Transl Med*, 2020;9(1):39–46.
57. Дергилёв К.В., Цоколаева З.И., Белоглазова И.Б. и др. Сравнительная эффективность эпикардальной трансплантации прогениторных клеток сердца в виде клеточных пластов и интрамиокардиальных инъекций при стимуляции регенеративных процессов в постинфарктном сердце // Кардиология. — 2019. — Том 59, № 5. p. 53–60.
Dergilev KV, Tsokolaeva ZI, Beloglazova IB, et al. Comparative effectiveness of epicardial transplantation of cardiac progenitor cells in the form of cell sheets and intramyocardial injections in stimulating regenerative processes in the post-infarction heart. *Cardiology*, 2019;59(5):53–60. (In Russ.)
58. Nishida K, Yamato M, Hayashida Y, et al. Corneal reconstruction with tissue-engineered cell sheets composed of autologous oral mucosal epithelium. *New England Journal of Medicine*, 2004;351(12):1187–1196.
59. Ohki T, Yamato M, Ota M, et al. Prevention of esophageal stricture after endoscopic sub-mucosal dissection using tissue-engineered cell sheets. *Gastroenterology*, 2012;143(3):582–588.
60. Alexandrushkina N, Nimiritsky P, Eremichev R, et al. Cell sheets from adipose tissue MSC induce healing of pressure ulcer and prevent fibrosis via trigger effects on granulation tissue growth and vascularization. *Int J Mol Sci*, 2020;21(15):5567.
61. Matsuda N, Shimizu T, Yamato M, et al. Tissue engineering based on cell sheet technology. *Advanced Materials*, 2007;19(20):3089–3099.
62. Shimizu T, Yamato M, Kikuchi A, et al. Two-dimensional manipulation of cardiac myocyte sheets utilizing temperature-responsive culture dishes augments the pulsatile amplitude. *Tissue engineering*, 2001;7(2):141–151.

63. Matsuura K, Masuda S, Shimizu T. Cell sheet-based cardiac tissue engineering. *The Anatomical Record*, 2014; 297(1):65–72.
64. Sekine H, Shimizu T., Okano T. Myocardial tissue engineering: toward a bioartificial pump. *Cell and Tissue Research*, 2012;347(3):775–782.
65. Song SY, Kim H, Yoo J, et al. Prevascularized, multiple-layered cell sheets of direct cardiac reprogrammed cells for cardiac repair. *Biomaterials science*, 2020;8(16):4508–4520.
66. Syverud BC, VanDusen KW, Larkin LM. Growth factors for skeletal muscle tissue engineering. *Cells Tissues Organs*, 2016;202(3–4):169–179.
67. Walker MR, Patel KK, Stappenbeck TS. The stem cell niche. *J Pathol*, 2009;217(2):169–180.
68. Frisch SM, Francis H. Disruption of epithelial cell-matrix interactions induces apoptosis. *J Cell Biol*, 1994;124(4):619–626.
69. Mamidi MK, Singh G, Husin JM, et al. Impact of passing mesenchymal stem cells through smaller bore size needles for subsequent use in patients for clinical or cosmetic indications. *J Transl Med*, 2012;10:229.
70. Rangatchew F., Rasmussen BS, Svalgaard JD, et al. Efficacy of mesenchymal stem cell-delivery using perpendicular multi-needle injections to the skin: Evaluation of post-ejection cellular health and dermal delivery. *Burns*, 2023;49(3):633–645.
71. Lalu, MM, McIntyre L, Pugliese C, et al. Safety of cell therapy with mesenchymal stromal cells (SafeCell): a systematic review and meta-analysis of clinical trials. *PLoS One*, 2012;7(10):e47559.
72. Trounson A, McDonald C. Stem cell therapies in clinical trials: progress and challenges. *Cell Stem Cell*, 2015;17(1):11–22.
73. Meinel L, Fajardo R, Hofmann S, et al. Silk implants for the healing of critical size bone defects. *Bone*, 2005;37(5):688–698.
74. Roddy E, DeBaun MR, Daoud-Gray A, et al. Treatment of critical-sized bone defects: clinical and tissue engineering perspectives. *Eur J Orthop Surg Traumatol*, 2018;28(3):351–362.
75. Matsuzaki Y, John K, Shoji T, et al. The Evolution of Tissue Engineered Vascular Graft Technologies: From Preclinical Trials to Advancing Patient Care. *Appl Sci*, 2019;9(7).
76. Shin'oka, T, Imai Y, Ikada Y. Transplantation of a tissue-engineered pulmonary artery. *N Engl J Med*, 2001;344(7):532–533.
77. Boyce ST, Kagan RJ, Yakuboff KP, et al. Cultured skin substitutes reduce donor skin harvesting for closure of excised, full-thickness burns. *Ann Surg*, 2002;235(2):269–279.

Об авторах

Макаревич Павел Игоревич — д.м.н., профессор РАН, заведующий лабораторией медицинской биоинженерии Центра регенеративной медицины Медицинского научно-образовательного института МГУ имени М.В. Ломоносова; доцент кафедры биохимии и регенеративной биомедицины Факультета фундаментальной медицины МГУ имени М.В. Ломоносова.

Александрushкина Наталья Андреевна — к.б.н., научный сотрудник лаборатории медицинской биоинженерии Центра регенеративной медицины Медицинского научно-образовательного института МГУ имени М.В. Ломоносова.

Authors

Pavel I. Makarevich — Dr. Sci. (Med.), RAS Professor, Head of the Laboratory of Medical Bioengineering at the Center for Regenerative Medicine of the Medical Scientific and Educational Institute at Lomonosov Moscow State University; associate professor of the Department of Biochemistry and Regenerative Biomedicine at the Faculty of Medicine at Lomonosov Moscow State University.

Natalya A. Alexandrushkina — Cand. Sci. (Med.), Research Fellow at the Laboratory of medical Bioengineering at the Center for Regenerative Medicine of the Medical Scientific and educational Institute at Lomonosov Moscow State University.

Макаревич П.И., Александрюшкина Н.А.
Основные подходы тканевой инженерии

Вклад авторов

П.И. Макаревич — концепция работы; утверждение рукописи.

Н.А. Александрюшкина — подготовка рукописи; подготовка иллюстраций.

Author contribution statement

Pavel I. Makarevich — concept of the work; manuscript approval.

Natalya A. Alexandrushkina — manuscript preparation; figure preparation.