

3D-БИОПЕЧАТЬ КОСТНОЙ ТКАНИ *IN VITRO* И *IN SITU*Султанова Д.¹ , Батпен А.² , Сагинова Д.² , Акилбекова Д. А.^{1*} 

¹Кафедра Химической инженерии и технологии материалов, Школа инженерии и цифровых наук, Назарбаев Университет, пр. Кабанбай батыра 53, Астана, Казахстан, 010000

²Национальный научный центр травматологии и ортопедии имени академика Н. Батпеннова, пр. Абылай хана 15а, 010000

*Автор-корреспондент dana.akilbekova@nu.edu.kz

АБСТРАКТ

Передовые методики в области восстановления костной ткани, включают в себя инновационные достижения в сфере тканевой инженерии, среди которых особое место занимает технология 3D-биопечати. Данный метод демонстрирует значительный прогресс, обусловленный его многочисленными преимуществами, подтвержденными в ходе обширных научных исследований. 3D-биопечать предоставляет возможность точной печати костных трансплантатов с заданной геометрией, включающих в себя необходимые биоматериалы, такие как клетки и факторы роста, что способствует эффективной остеоиндукции, остеокондукции и васкуляризации.

В рамках данной обзорной статьи осуществляется анализ разнообразных современных методов восстановления костной ткани, включая применение аутогенных трансплантатов, аллотрансплантатов и синтетических костных трансплантатов. Особое внимание уделяется последним инновациям в области 3D-биопечати, открывающим перспективы для создания индивидуализированных костных тканей, отличающихся высокой степенью биосовместимости и минимальной необходимостью проведения инвазивных процедур.

Дополнительно в статье представлена концепция биопечати *in situ*, разработанная Вайсом и его коллегами в 2007 году, как методика прямой печати биочернилами непосредственно в зоне повреждения живого организма. Этот прогрессивный подход обеспечивает высокую точность в восстановлении тканевых дефектов, независимо от их сложности и геометрических особенностей.

За последнее десятилетие зарегистрировано несколько успешных клинических примеров использования печатных конструкций, что свидетельствует о значимости 3D-биопечати в лечении заболеваний, угрожающих жизни, а также в ускорении процесса регенерации и создании тканевых трансплантатов для последующей имплантации.

Ключевые слова: 3D-биопечать, трансплантаты, костная ткань, *in vitro*, *in situ*, биочернила, тканевая инженерия.

ВВЕДЕНИЕ

В связи с увеличением средней продолжительности жизни и улучшением качества здравоохранения возникла значительная потребность в трансплантации органов. Этот дефицит органов, доступных для трансплантации, ставит под угрозу лечение терминальной стадии органной недостаточности [1]. Например, в США в 2021 году в листе ожидания на трансплантацию находилось около 107 100 пациентов, однако было выполнено всего 17 228 трансплантаций [2].

В контексте этих вызовов, терапевтические подходы, основанные на тканевой инженерии и аддитивном производстве, такие как 3D-биопечать, представляют собой перспективное решение. Они обещают не только устранить нехватку твердых органов, но и снизить риск отторжения имплантов. Применение 3D-печати уже значительно изменило ландшафт производства биомедицинских устройств. Например, почти 90% всех слуховых аппаратов изготавливаются с помощью 3D-печати [3].

В 1980-х годах Чарльз Халл ввел концепцию стереолитографии, основы 3D-печати, которая представляет собой послойное нанесение материалов для создания трёхмерных объектов [4]. В 3D-печати используются такие материалы, как пластик, металл, керамика и порошки. Процесс начинается с создания 3D-модели в файле автоматизированного проектирования, который затем переводится в инструкции для 3D-принтера. Существует более

20 различных процессов 3D-печати, применяемых в медицине, включая селективное лазерное спекание, струйную печать и микроэкструзионную печать [5].

Трёхмерная биопечать, метод аддитивного производства, использует биочернила на основе цитосовместимых гидрогелей для одновременного распределения клеток и биоматериалов, обеспечивая точный контроль над морфологией создаваемых структур, таких как пористость и шероховатость поверхности. Этот метод оптимизирует распределение биоматериала, устраняя необходимость в традиционных процедурах посева клеток в тканевой инженерии и способствуя формированию волокнистых сетей в 3D-среде, необходимых для костной регенерации [6,7].

Биопечать классифицируется по методологии (капельная или экструзионная), стимулам для нанесения биочернил и механизмам их выброса [8]. Инъекционная биопечать (Рисунок 1А), термическая или пьезоэлектрическая, осуществляется нанесением капель биочернил в определённые места. Лазерная биопечать использует высокоэнергетические лазерные импульсы для локализованного испарения и точного размещения капель (Рисунок 1В) [9]. Экструзионная биопечать, наиболее распространённый метод, включает пневматическое или механическое распределение гидрогелей, создавая точные трёхмерные структуры (Рисунок 1С) [6,8,9].

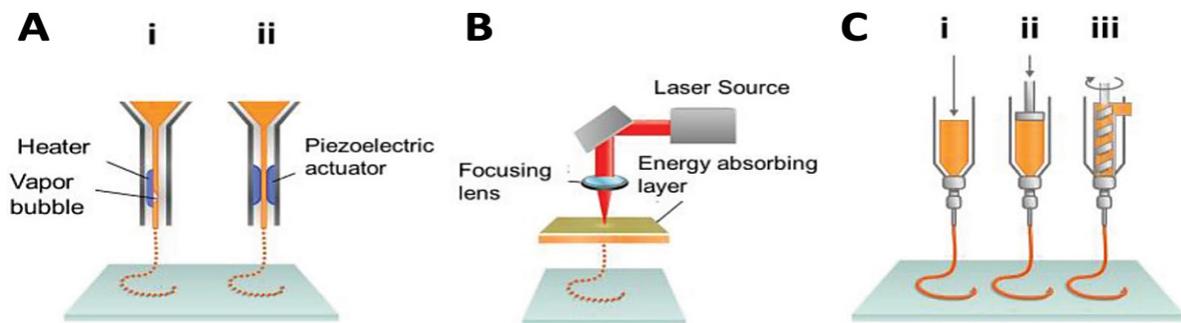


Рисунок 1. Иллюстрация наиболее распространенных методов 3D-биопечати, включающих инъекцию (A), лазерную (B) и экструзию (C). Перепечатано и адаптировано из [6] с разрешения John Wiley and Sons.

В данной статье рассматриваются возможности и текущее применение 3D биоприпринтеров в медицинской сфере. Акцентируется внимание на основных принципах 3D-биопечати костной ткани *in vitro* и *in situ*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обзор литературы научных статей был проведен с использованием ресурсов следующих поисковых систем: Web of Science, Scopus, PubMed, и Google Scholar. Поиск необходимой литературы осуществлялся по ключевым словам. Для решения целей и задач статьи были использованы данные литературы, содержащие ключевые слова, относящиеся к 3D-биопечати и *in situ* биопечати для применения в инженерии костной ткани.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Современные подходы к восстановлению костной ткани включают использование металлических имплантатов, различных типов трансплантатов, таких как ауто-трансплантаты (пересадка клеток, тканей или органов внутри одного организма), аллотрансплантаты (перенос биоматериала между индивидуумами одного вида), и синтетические костные трансплантаты. Однако интеграция этих заменителей может сталкиваться с проблемами, включая вопросы биосовместимости, заболеваемость в области донорского участка, риск инфекций и прочие факторы. В качестве альтернативы, последние разработки в области тканевой инженерии открывают перспективы создания индивидуализированных костных тканей, которые обладают высокой степенью биосовместимости и минимизируют необходимость в инвазивных процедурах.

Организация клеток в форме каркаса является одним из методов создания трехмерных структур. Каркас состоит из рамы, изготовленной из пластика или других временных и биоразлагаемых материалов, обеспечивающих структурную поддержку и имитирующих внеклеточный матрикс, благоприятный для пролиферации и дифференциации клеток [10]. Такие каркасы популярны в исследованиях благодаря своей простоте конструкции и возможности использования в биопечати. По мере формирования биоматериала, мелкие кровеносные сосуды становятся важной структурой, снабжающей клетки кислородом и жизненно важными питательными веществами, которые поддерживают жизнь новообразованной ткани. Однако создание кровеносных сосудов малого диаметра представляет собой сложную задачу при использовании

каркасного метода [11]. Из-за этих ограничений растет интерес к методам биопечати без использования каркасов [12]. В 2004 году доктор Габор Форгакс представил новую технологию безкаркасной биопечати, в которой клетки, заключенные в гидрогель, формируют тканевые блоки с определенными геометрическими паттернами, имитирующими структуру тканей или органов. Этот подход включает объединение клеток в сфероиды и их последующее соединение с помощью биобумаги, созданной из гидрогеля, для трехмерной печати кровеносных сосудов [13]. Экспериментальные кровеносные сосуды печатались с использованием сфероидов биочернил, состоящих из комбинации эндотелиальных, гладкомышечных и фибробластных клеток. После печати эндотелиальные клетки мигрируют внутрь, гладкомышечные - к середине, а фибробласты - к внешней стороне сосуда, образуя сложную тканевую структуру с самоорганизующейся сосудистой сетью. Этот метод биопечати без каркаса имеет несколько преимуществ, таких как достижение адекватной плотности клеток и повышенная их выживаемость, что способствует более успешной формированию ткани. Также этот метод позволяет избежать механического повреждения клеток в процессе печати и предоставляет возможность печати нескольких видов биочернил с использованием разных печатающих головок.

Описанная выше технология также использовалась для изготовления васкуляризированных костных трансплантатов для хирургического замещения кости. Успешные биопечатные конструкции для улучшения регенерации костей требуют оптимальной архитектуры и физико-химических свойств для поддержания жизнеспособности, роста и дифференцировки клеток, избегая воспалительных реакций. Кроме того, диффузия питательных веществ и отходов через конструкцию имеет решающее значение для обеспечения остеоиндукции, остеокондукции и васкуляризации [7,14]. Клетки-предшественники в кости доставляются через сосудистую сеть, и их дифференцировка в клетки остеобластов или остеокластов и дальнейшая пролиферация регулируются факторами роста, секретлируемыми эндотелиальными клетками [15]. Различные биочернила, состоящие из смеси эндотелиальных клеток крови (эндотелиальные клетки пупочной вены человека или HUVEC) и стволовых клеток костного мозга человека (СККМ), используются для печати костных трансплантатов с сосудистой сетью [16]. Васкуляризация может быть создана путем совместной печати бы-

стро разлагающихся биочернил в качестве сердцевин из расходуемого материала. По мере деградации сердцевин, HUVEC в биочернилах мигрируют и размножаются на внутренней поверхности просвета, создавая центральный кровеносный сосуд в печатном каркасе (Рисунок 2). Куи и др. [17] изготовили костную конструкцию с помощью двойного 3D-биопринтера путем совместной печати мягкого гидрогеля с HUVEC, МСК и биоразлагаемыми полилактидными (PLA) волокнами. Твердая часть кости из PLA была напечатана с использованием принтеров FDM и SLA, тогда как желатин метакрилоил (GelMA), наполненный клетками, использовался для печати внутри каналов эластичной сосудистой сети. Факторы роста, иммобилизованные в конструкции, успешно стимулировали остеогенез и ангиогенез. Биочернила на основе фибрина с МСК или HUVEC также показали улучшение неоваскуляризации *in vivo* [18]. Механическая прочность кортикальной кости со средним модулем сжатия 131 ± 23 МПа была достигнута за счет совместной печати с поддерживающим каркасом из поликапролактона (PCL). PCL медленно деградирует из-за достаточной стабильности, что позволяет формировать новую кость после имплантации трансплантата.

В 2007 г. Вайс и соавторы предложили идею печати *in situ* с использованием технологии струйной печати [19]. Биопечать *in situ* — это процесс прямой печати биочернилами в месте повреждения в живом организме. По сравнению с традиционными подходами к 3D-печати он позволяет пересаживать ткань в место раны или дефекта [20–24]. *In situ* имеет преимущество в точном восстановлении дефектов ткани с искривленными поверхностями или другой сложной геометрией [25]. Хотя исследования, упомянутые в разделах, проводятся только на животных моделях, есть предпосылки для использования этой технологии на людях в будущем.

3D-биопечать *in situ* имеет несколько преимуществ в восстановлении повреждений и построении тканей по сравнению с технологиями *in vivo* [25]. *In situ* скаффолды печатаются непосредственно в месте дефекта, что позволяет избежать трудоемкого этапа их подготовки и рисков, связанных с заражением. Клетки печатаются на месте и подвергаются воздействию естественной среды и, таким образом, могут дифференцироваться в требуемую клеточную линию без каких-либо манипуляций *in vitro*. Кроме того, печать *in situ* обеспечивает улучшенный контроль над стандартными или неожиданными дефектами во время операции. Комбинация сканирующих систем мо-

жет предоставлять непрерывную информацию о геометрии раны, и, следовательно, любые дефекты могут быть обнаружены и немедленно устранены. Наконец, разработка передовой робототехники и роботизированных медицинских систем открывают новые перспективы в разработке 3D-биопечати *in situ* [26,27].

Коэн и др. использовали 3D-биопечать *in situ* для восстановления изолированных остеохондральных дефектов [28]. Для планирования траектории печати было проведено КТ-сканирование дефектов, а для заполнения костного дефекта использовались альгинатные гидрогели и деминерализованные костные матрицы, смешанные с желатином. Хотя исследование было ограничено изолированными дефектами и выбором биочернил, оно показало потенциал использования биопечати как минимально инвазивного и геометрически персонализированного для пациента.

В исследовании, подтверждающем концепцию, авторы использовали роботизированную лазерную биопечать для восстановления дефектов свода черепа критического размера у мышей *in situ*. Дефекты кости свода черепа шириной 4 мм были выполнены на группе из 30 12-недельных самцов мышей OF-1 [29], после чего их поместили под систему 3D-биопечати для процедуры печати *in situ*. Наногидроксиапатит (н-ГА), биосовместимый материал, являющийся основным минеральным соединением кости и зубов и широко использующийся в оральной и челюстно-лицевой хирургии [30] был послойно нанесен на место раны. Большинство животных восстанавливались после процедуры лазерной печати *in situ* без воспалительных процессов или каких-либо неврологических дефектов. Через 3 месяца результаты микро-КТ показали зрелую костную ткань на месте начального дефектов. После этого предварительного исследования авторы напечатали две разные геометрии дефекта свода черепа у мышей [31] *in situ* используя н-ГА с МСК и коллагеном I. Клетки МСК размножались до 42 дней после биопечати *in situ* и улучшали регенерацию дефекта свода черепа. Необходимы дополнительные исследования, чтобы подтвердить наличие этих клеток в регенерированной кости (Рисунок 3).

ОБСУЖДЕНИЕ

3D-биопечать *in situ* также может быть применена к более значительным черепно-лицевым и черепно-мозговым повреждениям. Для восстановления этих видов дефектов требуется адекватная васкуляризация и структурная поддержка. Биосовместимые твердые материалы,

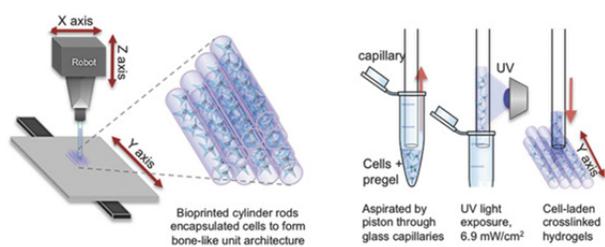
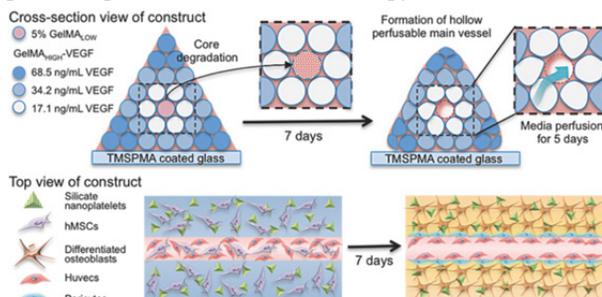


Рисунок 2. 3D-биопечать васкуляризированной костной ткани. Комбинация биочернил с различными механическими свойствами и клеток использовалась для создания просвета сосудов, высланного HUVEC, в то время как внешние слои с чМСК были загружены силикатными наночастицами для индукции остеогенной дифференцировки. Перепечатано и адаптировано из [16] с разрешения John Wiley and Sons.

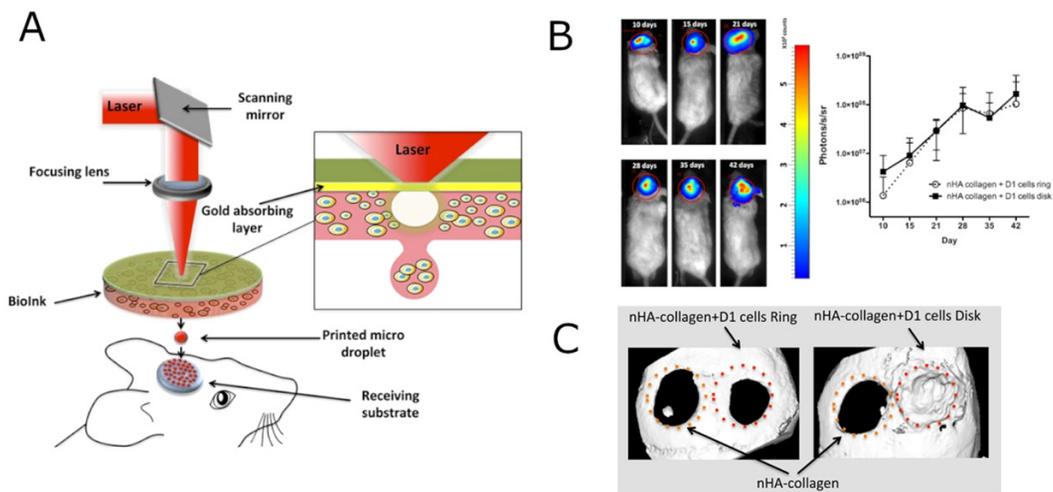


Рисунок 3. Биопечать *in situ* для регенерации кости. (А) Схематическое изображение процесса лазерной биопечати. (В) Увеличение сигнала люминесценции, показывающее пролиферацию МСК в дефекте свода черепа *in vivo* у мышей на протяжении 42 дней. (С) Реконструкционные изображения микро-КТ через 2 месяца после печати, показывающие полное закрытие дефекта коллагена н-ГА и клеток, напечатанных в геометрии диска, в модели свода черепа у мышей. Перепечатано и адаптировано из [31] с разрешения Springer Nature.

такие как гидроксиапатит для поддержки и стволовые клетки для создания тканей, могут быть напечатаны совместно. Дифференцирование стволовых клеток *in situ* в остеобласты и эндотелиальные клетки может способствовать регенерации кости и микровакуляризации [31]. Ли и др. выполнили восстановления крупных сегментарных костных дефектов с помощью роботизированной биопечати *in situ* [27]. Биочернила на основе альгината и желатина вводили в длинные сегментарные дефекты правой большеберцовой кости у свиней с помощью робота-манипулятора для 3D-печати на основе экструзии, тогда как для внутренней фиксации использовалась титановая пластина. Процесс печати занял всего 12 минут. Через 12 недель после операции группа с 3D-биопечатью имела гладкую кортикальную поверхность кости и толстую кортикальную костную ткань с увеличенным объемом новообразованной кости.

Другой подход к биопечати, недавно разработанный для заполнения костных дефектов *in situ*, основан на новом устройстве - биоручке. Первый прототип биоручки был разработан в 2016 году [21], с первым применением *in situ* в 2017 г. [20]. По сравнению с роботизированной биопечатью *in situ*, биоручка предлагает такие преимущества, как моделирование необходимой структуры во время операции, печать конструкции произвольной формы в дефекте/ране и нанесение биочернил в трещины тканей или под ткань. Ее также легко транспортировать и стерилизовать. В этой экспериментальной работе авторы установили хирургическую применимость биоручки для восстановления полнослойных хрящевых дефектов на модели крупного животного. Результаты операции показали отсутствие необходимости в специальной подготовке для выполнения процедуры биопечати, а гистологический анализ показал раннее формирование гиалиноподобного хряща с признаками столбчатого выравнивания хондроцитов. Однако во время исследования была очевидна плохая адгезия напечатанных биочернил к ткани хозяина, и будущая работа будет включать создание более качественных биочернил с улучшенными характеристиками.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На протяжении последнего десятилетия технология 3D-биопечати значительно прогрессировала, что подтверждается многочисленными успешными клиническими случаями имплантации печатных конструкций. Эти достижения открывают новые перспективы в области регенеративной медицины, предлагая индивидуализированные и эффективные методы лечения. Особенно обнадеживающим является развитие технологии биопечати *in situ*, которая включает прямую печать биоматериалов непосредственно в месте раны или дефекта. Этот подход способствует более быстрой регенерации, существенно расширяя возможности создания тканевых трансплантатов для немедленной имплантации. 3D-биопечать играет ключевую роль в современной тканевой инженерии и регенеративной медицине. Ожидается, что дальнейшее усовершенствование этой технологии будет способствовать достижению еще более значительных результатов, что несомненно улучшит качество жизни пациентов и снизит затраты на здравоохранение.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Научно-исследовательская работа выполнена в рамках научного проектов, финансируемых Комитетом науки Министерством науки и высшего образования Республики Казахстан, гранты № AP13067719, и AP14869460.

ЛИТЕРАТУРА

1. Summary Global report 2018 - GODT. Published on the Internet: <http://www.transplant-observatory.org/global-report-2018/> Retrieved 16, February 2023.
2. Organ Procurement and Transplantation Network. Published on the Internet: <https://optn.transplant.hrsa.gov/data/> Retrieved 16, February 2023.
3. Hull c. W. Apparatus for production of three-dimensional objects by stereolithography - Патент US-6027324-A – PubChem. – 1984.
4. Guerra E., Lara J. de, Malizia A., Díaz P. Supporting

user-oriented analysis for multi-view domain-specific visual languages // *Inf Softw Technol.* – 2009. – Vol. 51(4). – P. 769–784. doi: 10.1016/j.infsof.2008.09.005

5. Murphy S.V., Atala A. 3D bioprinting of tissues and organs // *Nat Biotechnol.* – 2014. – Vol. 32(8). – P. 773–785. doi: 10.1038/nbt.2958

6. Ashammakhi N., Hasan A., Kaarela O., Byambaa B., Sheikhi A., Gaharwar A.K., Khademhosseini A. Advancing Frontiers in Bone Bioprinting // *Adv Healthc Mater.* – 2019. – Vol. (7). – P. 1801048. doi: 10.1002/adhm.201801048

7. Cipitria A., Lange C., Schell H., Wagermaier W., Reichert J.C., Hutmacher D.W., Fratzl P., Duda G.N. Porous scaffold architecture guides tissue formation // *J Bone Miner. Res.* – 2012. – Vol. 27(6). – P. 1275–1288. doi: 10.1002/jbmr.1589.8

8. Hölzl K., Lin S., Tytgat L., Vlierberghe S. Van, Gu L., Ovsianikov A. Bioink properties before, during and after 3D bioprinting // *Biofabrication.* – 2016. – Vol. 3 (8). – P. 032002. doi: 10.1088/1758-5090/8/3/032002

9. Pereira R.F., Bártolo P.J. 3D bioprinting of photocrosslinkable hydrogel constructs // *J Appl Polym Sci.* – 2015. – Vol. 132 (48). doi: 10.1002/app.42458

10. Chua C.K., Yeong W.Y. Bioprinting: Principles and applications // *Bioprinting: Principles and Applications.* – 2015. – P. 1–269.

11. Weinberg C.B., Bell E. A Blood Vessel Model Constructed from Collagen and Cultured Vascular Cells // *Science.* – 1986. – Vol. 231 (4736). – P. 397–400. doi: 10.1126/science.2934816

12. Norotte C., Marga F.S., Niklason L.E., Forgacs G. Scaffold-free vascular tissue engineering using bioprinting // *Biomaterials.* – 2009. – Vol. 30 (30). – P. 5910–5917. doi: 10.1016/j.biomaterials.2009.06.034

13. Mironov V., Visconti R.P., Kasyanov V., Forgacs G., Drake C.J., Markwald R.R. Organ printing: Tissue spheroids as building blocks // *Biomaterials.* – 2009. – Vol. 30 (12). – P. 2164–2174. doi: 10.1016/j.biomaterials.2008.12.084

14. Matassi F., Nistri L., Chicon Paez D., Innocenti M. New biomaterials for bone regeneration // *Clin Cases Miner Bone Metab.* – 2011. – Vol. 8 (1). – P. 21–24.

15. Zhou J., Dong J. Vascularization in the Bone Repair // *InTech.* – 2012. doi: 10.5772/36325

16. Byambaa B., Annabi N., Yue K., Trujillo-de Santiago G., Alvarez M.M., Jia W., Kazemzadeh-Narbat M., Shin S.R., Tamayol A., Khademhosseini A. Bioprinted Osteogenic and Vasculogenic Patterns for Engineering 3D Bone Tissue // *Adv Healthc Mater.* – 2017. – Vol. 6 (16). – P. 1–15. doi: 10.1002/adhm.201700158

17. Cui H., Zhu W., Nowicki M., Zhou X., Khademhosseini A., Zhang L.G. Hierarchical Fabrication of Engineered Vascularized Bone Biphasic Constructs via Dual 3D Bioprinting: Integrating Regional Bioactive Factors into Architectural Design // *Adv Healthc Mater.* – 2016. – Vol. 5 (17). – P. 2174–2181. doi: 10.1002/adhm.201600505

18. Piard C., Baker H., Kamalidinov T., Fisher J. Bioprinted osteon-like scaffolds enhance in vivo neovascularization // *Biofabrication.* – 2019. – Vol. 11 (2). – P. 025013. doi: 10.1088/1758-5090/ab078a

19. Campbell P.G., Weiss L.E. Tissue engineering with the aid of inkjet printers // *Expert Opin Biol Ther.* – 2007. – Vol. 7 (8). – P. 1123–1127. doi: 10.1517/14712598.7.8.1123.

20. Di Bella C., Duchi S., O'Connell C.D., Blanchard R., Augustine C., Yue Z., Thompson F., Richards C., Beirne S., Onofrillo C., Bauquier S.H., Ryan S.D., Pivonka P., Wallace G.G., Choong P.F. In situ handheld three-dimensional bioprinting for cartilage regeneration // *J Tissue Eng Regen Med.* – 2018. – Vol. 12 (3). – P. 611–621. doi: 10.1002/term.2520.

21. Hakimi N., Cheng R., Leng L., Sotoudehfar M., Ba P.Q., Bakhtyar N., Amini-Nik S., Jeschke M.G., Günther A. Handheld skin printer: in situ formation of planar biomaterials and tissues // *Lab Chip.* – 2018. – Vol. 18 (10). – P. 1440–1451. doi: 10.1039/c7lc01236e.

22. Li L., Yu F., Shi J., Shen S., Teng H., Yang J., Wang X., Jiang Q. In situ repair of bone and cartilage defects using 3D scanning and 3D printing // *Sci Rep.* – 2017. – Vol. 7 (1). – P. 9416. doi: 10.1038/s41598-017-09354-2.

23. O'Connell C.D., Di Bella C., Thompson F., Augustine C., Beirne S., Cornock R., Richards C.J., Chung J., Gambhir S., Yue Z., Bourke J., Zhang B., Taylor A., Quigley A., Kapsa R., Choong P., Wallace G.G. Development of the Biopen: a handheld device for surgical printing of adipose stem cells at a chondral wound site // *Biofabrication.* – 2016. – Vol. 8 (1). – P. 015019. doi: 10.1088/1758-5090/8/1/015019.

24. Ozbolat I.T. Bioprinting scale-up tissue and organ constructs for transplantation // *Trends Biotechnol.* – 2015. – P. 1–6. doi: 10.1016/j.tibtech.2015.09.005.

25. Singh S., Choudhury D., Yu F., Mironov V., Naing M.W. In situ bioprinting – Bioprinting from bedside to bedside? // *Acta Biomater.* – 2020. – Vol. 101. – P. 14–25. doi: 10.1016/j.actbio.2019.10.005.

26. Fortunato G.M., Rossi G., Bonatti A.F., De Acutis A., Mendoza-Buenrostro C., Vozzi G., De Maria C. Robotic platform and path planning algorithm for in situ bioprinting // *Bioprinting.* – 2021. – Vol. 22. – P. e00139. doi: 10.1016/j.bprint.2021.e00139.

27. Li L., Shi J., Ma K., Jin J., Wang P., Liang H., Cao Y., Wang X., Jiang Q. Robotic in situ 3D bioprinting technology for repairing large segmental bone defects // *J Adv Res.* – 2021. – Vol. 30. – P. 75–84. doi: 10.1016/j.jare.2020.11.008.

28. Cohen D.L., Lipton J.I., Bonassar L.J., Lipson H. Additive manufacturing for in situ repair of osteochondral defects // *Biofabrication.* – 2010. – Vol. 2 (3). – P. 035004. doi: 10.1088/1758-5082/2/3/035004.

29. Keriquel V., Guillemot F., Arnault I., Guillotin B., Miraux S., Amédée J., Fricain J.C., Catros S. In vivo bioprinting for computer- and robotic-assisted medical intervention: preliminary study in mice // *Biofabrication.* – 2010. – Vol. 2 (1). – P. 014101. doi: 10.1088/1758-5082/2/1/014101.

30. Pepla E., Besharat L.K., Palaia G., Tenore G., Migliau G. Nano-hydroxyapatite and its applications in preventive, restorative, and regenerative dentistry: a review of literature // *Ann Stomatol.* – 2014. – Vol. 5 (3). – P. 108–114. doi: 10.11138/ads/2014.5.3.108.

31. Keriquel V., Oliveira H., Rémy M., Ziane S., Delmond

S., Rousseau B., Rey S., Catros S., Amédée J., Guillemot F., Fricain J.C. In situ printing of mesenchymal stromal cells, by laser-assisted bioprinting, for in vivo bone regeneration applications // *Sci Rep.* – 2017. – Vol. 7 (1). – P. 1778. doi: 10.1038/s41598-017-01913-2.

32. Temple J.P., Hutton D.L., Hung B.P., Huri P.Y., Cook C.A., Kondragunta R., Jia X., Grayson W.L. Engineering anatomically shaped vascularized bone grafts with hASCs and 3D-printed PCL scaffolds // *J Biomed Mater Res A.* – 2014. – Vol. 102 (12). – P. 4317–4325. doi: 10.1002/jbm.a.35098.

REFERENCES

1. Summary Global report 2018 - GODT. Published on the Internet: <http://www.transplant-observatory.org/global-report-2018/> Retrieved 16, February 2023.

2. Organ Procurement and Transplantation Network. Published on the Internet: <https://optn.transplant.hrsa.gov/data/> Retrieved 16, February 2023.

3. Hull c. W. Apparatus for production of three-dimensional objects by stereolithography - Патент US-6027324-A – PubChem. – 1984.

4. Guerra E., Lara J. de, Malizia A., Díaz P. Supporting user-oriented analysis for multi-view domain-specific visual languages // *Inf Softw Technol.* – 2009. – Vol. 51(4). –P. 769–784. doi: 10.1016/j.infsof.2008.09.005

5. Murphy S.V., Atala A. 3D bioprinting of tissues and organs // *Nat Biotechnol.* – 2014. –Vol. 32(8). – P. 773–785. doi: 10.1038/nbt.2958

6. Ashammakhi N., Hasan A., Kaarela O., Byambaa B., Sheikhi A., Gaharwar A.K., Khademhosseini A. Advancing Frontiers in Bone Bioprinting // *Adv Healthc Mater.* – 2019. – Vol. (7). – P. 1801048. doi: 10.1002/adhm.201801048

7. Cipitria A., Lange C., Schell H., Wagermaier W., Reichert J.C., Huttmacher D.W., Fratzl P., Duda G.N. Porous scaffold architecture guides tissue formation // *J Bone Miner. Res.* – 2012. – Vol.27(6). – P. 1275–1288. doi: 10.1002/jbmr.1589.8

8. Hözl K., Lin S., Tytgat L., Vlierberghe S. Van, Gu L., Ovsianikov A. Bioink properties before, during and after 3D bioprinting // *Biofabrication.* – 2016. – Vol.3 (8). – P. 032002. doi: 10.1088/1758-5090/8/3/032002

9. Pereira R.F., Bártolo P.J. 3D bioprinting of photocrosslinkable hydrogel constructs // *J Appl Polym Sci.* – 2015. – Vol. 132 (48). doi: 10.1002/app.42458

10. Chua C.K., Yeong W.Y. Bioprinting: Principles and applications // *Bioprinting: Principles and Applications.* – 2015. – P. 1–269.

11. Weinberg C.B., Bell E. A Blood Vessel Model Constructed from Collagen and Cultured Vascular Cells // *Science.* – 1986. – Vol. 231 (4736). – P. 397–400. doi: 10.1126/science.2934816

12. Norotte C., Marga F.S., Niklason L.E., Forgacs G. Scaffold-free vascular tissue engineering using bioprinting // *Biomaterials.* – 2009. – Vol. 30 (30). – P. 5910–5917. doi: 10.1016/j.biomaterials.2009.06.034

13. Mironov V., Visconti R.P., Kasyanov V., Forgacs G., Drake C.J., Markwald R.R. Organ printing: Tissue spheroids

as building blocks // *Biomaterials.* – 2009. – Vol. 30 (12). – P. 2164–2174. doi: 10.1016/j.biomaterials.2008.12.084

14. Matassi F., Nistri L., Chicon Paez D., Innocenti M. New biomaterials for bone regeneration // *Clin Cases Miner Bone Metab.* – 2011. – Vol. 8 (1). – P. 21–24.

15. Zhou J., Dong J. Vascularization in the Bone Repair // *InTech.* – 2012. doi: 10.5772/36325

16. Byambaa B., Annabi N., Yue K., Trujillo-de Santiago G., Alvarez M.M., Jia W., Kazemzadeh-Narbat M., Shin S.R., Tamayol A., Khademhosseini A. Bioprinted Osteogenic and Vasculogenic Patterns for Engineering 3D Bone Tissue // *Adv Healthc Mater.* – 2017. – Vol. 6 (16). – P. 1–15. doi: 10.1002/adhm.201700158

17. Cui H., Zhu W., Nowicki M., Zhou X., Khademhosseini A., Zhang L.G. Hierarchical Fabrication of Engineered Vascularized Bone Biphasic Constructs via Dual 3D Bioprinting: Integrating Regional Bioactive Factors into Architectural Design // *Adv Healthc Mater.* – 2016. – Vol. 5 (17). – P. 2174–2181. doi: 10.1002/adhm.201600505

18. Piard C., Baker H., Kamalitinov T., Fisher J. Bioprinted osteon-like scaffolds enhance in vivo neovascularization // *Biofabrication.* – 2019. – Vol. 11 (2). – P. 025013. doi: 10.1088/1758-5090/ab078a

19. Campbell P.G., Weiss L.E. Tissue engineering with the aid of inkjet printers // *Expert Opin Biol Ther.* – 2007. – Vol. 7 (8). – P. 1123–1127. doi: 10.1517/14712598.7.8.1123.

20. Di Bella C., Duchi S., O’Connell C.D., Blanchard R., Augustine C., Yue Z., Thompson F., Richards C., Beirne S., Onofrillo C., Bauquier S.H., Ryan S.D., Pivonka P., Wallace G.G., Choong P.F. In situ handheld three-dimensional bioprinting for cartilage regeneration // *J Tissue Eng Regen Med.* – 2018. – Vol. 12 (3). – P. 611–621. doi: 10.1002/term.2520.

21. Hakimi N., Cheng R., Leng L., Sotoudehfar M., Ba P.Q., Bakhtyar N., Amini-Nik S., Jeschke M.G., Günther A. Handheld skin printer: in situ formation of planar biomaterials and tissues // *Lab Chip.* – 2018. – Vol. 18 (10). – P. 1440–1451. doi: 10.1039/c7lc01236e.

22. Li L., Yu F., Shi J., Shen S., Teng H., Yang J., Wang X., Jiang Q. In situ repair of bone and cartilage defects using 3D scanning and 3D printing // *Sci Rep.* – 2017. – Vol. 7 (1). – P. 9416. doi: 10.1038/s41598-017-09354-2.

23. O’Connell C.D., Di Bella C., Thompson F., Augustine C., Beirne S., Cornock R., Richards C.J., Chung J., Gambhir S., Yue Z., Bourke J., Zhang B., Taylor A., Quigley A., Kapsa R., Choong P., Wallace G.G. Development of the Biopen: a handheld device for surgical printing of adipose stem cells at a chondral wound site // *Biofabrication.* – 2016. – Vol. 8 (1). – P. 015019. doi: 10.1088/1758-5090/8/1/015019.

24. Ozbolat I.T. Bioprinting scale-up tissue and organ constructs for transplantation // *Trends Biotechnol.* – 2015. – P. 1–6. doi: 10.1016/j.tibtech.2015.09.005.

25. Singh S., Choudhury D., Yu F., Mironov V., Naing M.W. In situ bioprinting – Bioprinting from bedside to bedside? // *Acta Biomater.* – 2020. – Vol. 101. – P. 14–25. doi: 10.1016/j.actbio.2019.10.005.

26. Fortunato G.M., Rossi G., Bonatti A.F., De Acutis A., Mendoza-Buenrostro C., Vozzi G., De Maria C. Robotic

platform and path planning algorithm for in situ bioprinting // *Bioprinting*. – 2021. – Vol. 22. – P. e00139. doi: 10.1016/j.bprint.2021.e00139.

27. Li L., Shi J., Ma K., Jin J., Wang P., Liang H., Cao Y., Wang X., Jiang Q. Robotic in situ 3D bioprinting technology for repairing large segmental bone defects // *J Adv Res*. – 2021. – Vol. 30. – P. 75–84. doi: 10.1016/j.jare.2020.11.008.

28. Cohen D.L., Lipton J.I., Bonassar L.J., Lipson H. Additive manufacturing for in situ repair of osteochondral defects // *Biofabrication*. – 2010. – Vol. 2 (3). – P. 035004. doi: 10.1088/1758-5082/2/3/035004.

29. Keriquel V., Guillemot F., Arnault I., Guillotin B., Miraux S., Amédée J., Fricain J.C., Catros S. In vivo bioprinting for computer- and robotic-assisted medical intervention: preliminary study in mice // *Biofabrication*. – 2010. – Vol. 2 (1). – P. 014101. doi: 10.1088/1758-5082/2/1/014101.

30. Pepla E., Besharat L.K., Palaia G., Tenore G., Migliau G. Nano-hydroxyapatite and its applications in preventive, restorative, and regenerative dentistry: a review of literature // *Ann Stomatol*. – 2014. – Vol. 5 (3). – P. 108–114. doi: 10.11138/ads/2014.5.3.108.

31. Keriquel V., Oliveira H., Rémy M., Ziane S., Delmond S., Rousseau B., Rey S., Catros S., Amédée J., Guillemot F., Fricain J.C. In situ printing of mesenchymal stromal cells, by laser-assisted bioprinting, for in vivo bone regeneration applications // *Sci Rep*. – 2017. – Vol. 7 (1). – P. 1778. doi: 10.1038/s41598-017-01913-2.

32. Temple J.P., Hutton D.L., Hung B.P., Huri P.Y., Cook C.A., Kondragunta R., Jia X., Grayson W.L. Engineering anatomically shaped vascularized bone grafts with hASCs and 3D-printed PCL scaffolds // *J Biomed Mater Res A*. – 2014. – Vol. 102 (12). – P. 4317–4325. doi: 10.1002/jbm.a.35098.

UDC 62.33.31, 31.23.00

3D-BIOPRINTING OF BONE TISSUE *IN VITRO* И *IN SITU*Sultanova Dana¹, Batpen Arman², Saginova Dina², Akilbekova Dana A.^{1*}¹Department of Chemical Engineering and Materials Technology, School of Engineering and Digital Sciences, Nazarbayev University, 53 Kabanbay Batyr Ave., Astana, Kazakhstan, 010000²National Scientific Center of Traumatology and Orthopedics named after Academician N. Batpenov, Ablai Khan Ave. 15a, 010000

*Corresponding author dana.akilbekova@nu.edu.kz

ABSTRACT

Advanced techniques in bone tissue regeneration include innovative achievements in the field of tissue engineering, among which 3D bioprinting technology holds a special place. This method demonstrates significant progress, driven by its numerous advantages, confirmed through extensive scientific research. 3D bioprinting offers the capability of precise printing of bone transplants with specified geometry, incorporating necessary biomaterials such as cells and growth factors, which facilitates effective osteoinduction, osteoconduction, and vascularization.

This review article analyzes various modern methods of bone tissue restoration, including the use of autotransplants, allotransplants, and synthetic bone transplants. Particular attention is paid to the latest innovations in 3D bioprinting, opening prospects for creating individualized bone tissues characterized by a high degree of biocompatibility and minimizing the need for invasive procedures.

Additionally, the article presents the concept of *in situ* bioprinting, developed by Weiss and his colleagues in 2007, as a method of direct printing of bio-inks directly in the area of damage in a living organism. This progressive approach provides high precision in the restoration of tissue defects, regardless of their complexity and geometric features.

Over the last decade, several successful clinical cases of using printed structures have been registered, demonstrating the significance of 3D bioprinting in treating life-threatening diseases, as well as in accelerating the regeneration process and creating tissue transplants for subsequent implantation.

Keywords: 3D-bioprinting, transplants, bone tissue, *in vitro*, *in situ*, bioink, tissue engineering.

ӘОЖ 62.33.31, 31.23.00

3D-БИОПРИНТИНГ СҮЙЕК ТІНІН *IN VITRO* ЖӘНЕ *IN SITU*Султанова Дана¹, Батпен Арман², Сагинова Дина², Акилбекова Дана А.^{1*}¹Инженерлік және цифрлық ғылымдар мектебі, Химиялық инженерия және материалдар технологиясы, Назарбаев Университеті, Қабанбай батыр даңғылы, 53, Астана, Қазақстан, 010000²Академик Н.Батпенов атындағы травматология және ортопедия ұлттық ғылыми орталығы, Абылай хан даңғылы, 15а, 010000

*Автор-корреспондент dana.akilbekova@nu.edu.kz

ТҮЙІН

Сүйек тінін қалпына келтірудегі заманауи әдістер тін инженериясы саласындағы жаңашыл жетістіктерді қамтиды, оның ішінде 3D-биопринтинг технологиясы ерекше орын алады. Бұл әдіс көптеген артықшылықтарының арқасында маңызды прогресске ие, бұл артықшылықтар кең көлемді ғылыми зерттеулерде расталған. 3D-биопринтинг қажетті биоматериалдармен, мысалы, жасушалармен және өсу факторларымен енгізілген, анық геометриясы бар сүйек трансплантаттарын дәл басып шығару мүмкіндігін ұсынады, бұл тиімді остеоиндукцияға, остеокондукцияға және васкуляризацияға ықпал етеді.

Осы шолу мақалада ауто трансплантаттарды, аллотрансплантаттарды және жасанды сүйек трансплантаттарын қолдану сияқты әртүрлі заманауи сүйек тінін қалпына келтіру әдістері талданады. 3D-биопринтинг саласындағы соңғы инновацияларға ерекше назар аударылады, бұл биосыйымдылық дәрежесі жоғары және инвазивті процедураларды қажет етпейтін жекеленген сүйек тінін жасау перспективаларын ашады.

Қосымша, мақалада 2007 жылы Вайс және оның әріптестері жасаған *in situ* биопринтинг тұжырымдамасы ұсынылады, ол тірі организмдегі зақымдану аймағында био-сияны тікелей басып шығару әдісі ретінде қарастырылады. Бұл прогрессивті тәсіл кез келген күрделілігі мен геометриялық ерекшеліктеріне қарамастан, тін дефектілерін қалпына келтіруде жоғары дәлдікті қамтамасыз етеді.

Соңғы онжылдықта басып шығарылған құрылымдарды қолдану арқылы бірнеше сәтті клиникалық мысалдар тіркелген, бұл 3D-биопринтингтің өмір үшін қауіпті ауруларды емдеудегі, сондай-ақ регенерация процесін жеделдетудегі және кейінгі имплантация үшін тін трансплантаттарын жасаудағы маңыздылығын көрсетеді.

Кілт сөздер: 3D-биопринтинг, трансплантаттар, сүйек тіні, *in vitro*, *in situ*, биосия, тіндік инженерия.