

НАУКА И ЖИЗНЬ

Биопечать вместо донорских органов

В. Миронов



Проблема нехватки донорских органов для пересадки заставляет искать биомедицинские решения, не требующие использования донорского материала. Технологии регенеративной медицины на сегодняшний день считаются наиболее перспективными. К ним относят генную и клеточную терапию и инжиниринг тканей. В последнее время бурное развитие получило ещё одно направление регенеративной медицины — 3D-биопринтинг. Суть метода — сборка тканей и органов из конгломератов клеток, подобно конструктору. Осуществляют такую сборку, или биопечать, на специально разработанных 3D-биопринтерах, подобно тому как печатают на 3D-принтерах различные детали — послойно, по цифровой (компьютерной) трёхмерной модели. Картриджи принтеров при этом заправляют сфероидами — конгломератами клеток,

которые «капают» на специальную подложку — своеобразную биобумагу. Напечатав один слой из клеточных сфероидов, сверху наносят второй, который «срастается» с первым. Так постепенно получают объёмный живой объект — ткань или орган. Один из пионеров в области биопечати органов и биофабрикации тканей — Владимир Александрович Миронов, профессор университета Вирджинии (Virginia Commonwealth University, США) и научный руководитель компании «3D Bioprinting Solutions» (Россия). В числе его разработок аппарат для производства тканевых сфероидов и гидрогель для получения объёмных тканевых конструкторов. Именно такой гидрогель выполняет роль «биобумаги» для биопечати.

Профессор Владимир Миронов ответил на вопросы читателей на портале журнала «Наука и жизнь» (<http://www.nkj.ru/interview/>). Публикуем сокращённую версию этого интервью.

— Как вообще родилась идея «печати» органов?

— Идея биопринтинга пришла ко мне, когда я увидел, что отдельные кольцевые фрагменты сердца эмбриона цыплёнка могут сливаться в трубку. Стало ясно, что живые ткани можно «собирать» из отдельных клеток или их конгломератов.

Некоторые технологии, необходимые для биопечати, уже существовали. Это, например, технологии быстрого прототипирования и аддитивного мануфактуринга (индустрия с оборотом в 1 млрд долларов), биомедицинский вариант которых и есть биопечать органов — управляемая компьютером послойная роботизированная биофабрикация.

— Но в состав каждого органа входит несколько видов клеток. Значит, для его «печати» все они нужны. Как будет решаться эта проблема?

— В идеале должны быть включены все типы клеток, однако, например, в случае почки можно исключить нервные и гранулярные клетки, клетки лимфатической системы. Основные функции почки — фильтрация и реабсорбция — могут выполняться и без этих клеток. (Отмечу, что «напечатанную» почку мы предполагаем получить к 2030 году.)

— За счёт чего клетки удерживаются в виде сфероидов? Почему сфероиды при печати не остаются отдельными элементами, а сливаются? И приобретают ли эти слившиеся элементы свойства нормальных тканей?

— Клетки контактируют друг с другом внутри клеточных сфероидов через рецепторы клеточной адгезии (от лат. *adhaesio* — прилипание). Тканевые сфероиды сливаются так же, как, например, две капли масла в воде — под действием сил поверхностного натяжения, а также в результате клеточной перегруппировки и миграции. Тканеспецифичные сфероиды при слиянии образуют ткане- и органоспецифичные структуры с «нормальной» морфологией.

— Можно ли с помощью сфероидов создавать единичные слои клеток, например однослойный эпителий?

— Для создания монослоёв из клеток тканевые сфероиды не нужны. При создании одного или несколько слоёв тканевых сфероидов образуются трёхмерные структуры, а не двухмерный монослой. Технология получения клеточных монослоёв была разработана Теруо Окано (Teruo Okano, Japan). В настоящий момент она общепризнана и уже имеет клинические приложения.

— Идея воспроизвести живой, работоспособный орган кажется абсолютно фантастической. С какими органами уже начали работать? Как предполагается решать проблему кровоснабжения и иннервации (снабжения органов и тканей нервами. — ред.)? Как консервируется орган в процессе создания и какой предположительно у него «срок годности»?

— Создание трёхмерных человеческих тканей и органов — это уже не фантастика, а реальность. Лоуренс Боннасар (Laurence Bonnasar, Корнеллский университет, США) сообщил о полученном методом биопринтинга ухе, а Энтони Атала (Anthony Atala, США) — о хряще и коже.

Действительно, развитие технологии биопечати более сложных органов во многом зависит от эффективного решения проблемы формирования в них сосудистой сетки (васкуляризации). Для этого мы предполагаем использовать тканевые сфероиды с предварительно сформированной в них сосудистой сетью, так что орган будет печататься с заранее встроенной сосудистой системой. Успехи уже есть — в компании «Органово» (Organovo Inc., Сан-Диего, США) методом биопринтинга получены васкуляризированные трёхмерные микрофрагменты ткани печени из трёх типов клеток.

Иннервация «печатного» органа или ткани, конечно, желательна, но не обязательна, по крайней мере на первых этапах. Более того, теоретически возможна и постимплантационная реиннервация.

Напечатанные органы не консервируются. Их жизнеспособность поддерживается в специальном растворе в так называемом перфузионном биореакторе.

Что касается «срока годности» органа, то если говорить о периоде до пересадки его человеку, то это по крайней мере несколько дней. Если речь идёт о жизнеспособности уже имплантированного органа, то до конца жизни.

— Проводились ли эксперименты по пересадке «напечатанных» органов или тканей человеку?

— Насколько мне известно, человеку напечатанные органы пока не имплантировали. Подобные эксперименты проводили на животных, которым пересадили полученные методом 3D-биопечати кожу и хрящ.

— Ведутся ли разработки в области стоматологии? Работает ли кто-либо над воссозданием зуба целиком?

— В стоматологии в основном пока работают над трёхмерной печатью бесклеточных имплантов челюсти и зубов. Тканево-инженерными зубами занимаются в Японии, США и Бразилии. Есть, конечно, определённый прогресс, особенно в Японии, но до клинических испытаний пока далеко. Работ по биопечати живых зубов или челюстей я пока не видел, хотя биопечать трёхмерной костной ткани с использованием предварительно васкуляризированных тканевых сфероидов очень перспективна и вполне реальна.

— Недавно стало известно, что клетки в тканях упаковываются не хаотически, а в виде различных регулярных сетей, при этом только часть таких сетей входит в репертуар нормального развития. Как при печати органов предполагается вести контроль состава и взаиморасположения клеток и исключать нежелательные варианты клеточной упаковки (в том числе те, которые ведут к злокачественному перерождению)?

— Я не располагаю прямыми данными, подтверждающими, что упаковка клеток каким-то образом влияет на канцерогенность или определяет её. Скорее, мы имеем дело с обратной зависимостью: именно начальные свойства клеток определяют их потенциальную канцерогенность и способ упаковки. На уровне тканевых сфероидов упаковка клеток реализуется за счёт способности тканей к самосборке и клеточной самосортировке (в соответствии с гипотезой дифференциальной адгезии Малькольма—Штайнберга). На уровне надтканевых и органных структур упаковку осуществляет робот (биопринтер) на основе специально разработанной компьютерной программы. Онкобезопасность определяется правильным подбором и тестированием клеток на их онкогенность. Состав и взаиморасположение клеток в напечатанной трёхмерной тканевой или надтканевой структуре будет сначала контролироваться на фиксированных тканях различными морфологическими методами исследования, а затем преимущественно неинвазивными методами, чтобы не разрушать напечатанные живые структуры.

— Не будет ли проблем несовместимости при пересадке напечатанных 3D-тканей?

— При использовании аутологических клеток, то есть клеток, полученных от пациента, как это планируется, согласно классической иммунологии, проблем с несовместимостью быть не должно.

— Откуда предполагается брать специализированные клетки для биопечати?

— В настоящий момент мы работаем с человеческими аутологичными стволовыми клетками из жировой ткани. Компания «Ситори Терапьютикс» (Cytory Therapeutics, Сан-Диего, США) разработала аппарат «Celution», позволяющий автоматически выделять стволовые клетки жировой ткани, полученной при липосакции, и сейчас эта технология проходит клинические испытания, в том числе и в России. Однако возможно использование и других типов стволовых клеток, в частности генетически модифицированных индуцированных плюрипотентных стволовых клеток*. Но получить разрешение на клиническое использование генетически модифицированных клеток значительно труднее.

— Если в картридж закладываются стволовые клетки, то на каком этапе биопечати происходит формирование специализированных клеток (дифференцировка)? Есть ли проблемы с делением (пролиферацией) клеток напечатанного органа?

— Клеточная и тканевая дифференцировка стволовых клеток может проводиться на изолированных клеточных сфероидах до процесса биопечати. Мы не выращиваем органы, мы собираем их, как конструктор, из достаточного количества клеток и клеточных сфероидов, пролифелированных перед процессом биопечати. Поэтому размножение клеток делением после биопечати не требуется.

— Что предусмотрено для решения проблемы антибактериальной защиты клеток, из которых строится орган?

— Существуют понятия «асептики» и «антисептики». Любую возможность инфекции всегда можно предотвратить с помощью стерилизации. Стерилизация картриджа биопринтера и использование одноразовых картриджей не проблема.

— В настоящее время существует достаточно много различных научных групп, занимающихся биоинженерным восстановлением органов и тканей, и каждая из таких групп утверждает, что именно её технология наиболее эффективна. Какие критерии оценки эффективности того или иного метода вы могли бы предложить?

— Эффективность метода определяется тремя критериями. Первый — орган должен работать, то есть по крайней мере это должны показать испытания на животных. Второй критерий, который становится всё более и более важным, — цена. И третий — безопасность. С биологической точки зрения мощный конкурент метода 3D-биопечати — технология пересадки органов, выращенных из собственных стволовых клеток человека на «обескелеченном» донорском каркасе, который в организме человека постепенно биодеградирует. После пионерских работ в этой области профессора Паоло Маккиарини вышли четыре мощные статьи, в которых описаны выполненные по этой методике пересадки сердца, лёгкого, печени и почки. Но для такой технологии нужны доноры — это самый главный её недостаток.

— Какие, на ваш взгляд, «овраги» могут встретиться на пути технологии биопечати? Не окажутся ли они настолько непроходимыми, что развитие метода остановится? В истории медицины такие примеры есть.

— Трудности, препятствия и альтернативные подходы есть в любой деятельности, однако так называемых непреодолимых технологических барьеров в биопринтинге я пока не вижу. Всё упирается, скорее, в отсутствие адекватного уровня финансирования и создание мультидисциплинарной команды биоинженеров. С моей точки зрения, у биопринтинга

большое будущее. Рано или поздно человеческие органы научатся печатать — это логика развития науки и технологий. Можно ли делать человеческие органы другими методами? Да, теоретически можно. Но обычно выигрывает технология, которую можно легко автоматизировать и роботизировать. А это как раз наиболее важные характеристики технологии 3D-биопечати.

— Приведёт ли развитие регенеративной медицины к прекращению нелегальной массовой торговли органами? И, как вы думаете, будут ли финансировать подобные исследования страны, не заинтересованные в прекращении такой торговли?

— Нет стран, заинтересованных в нелегальной торговле органами. По крайней мере, на официальном уровне. В любом случае, если нет рынка, то есть спроса, нет и торговли. Биопечать позволит раз и навсегда решить одну из важнейших проблем клинической медицины — нехватку человеческих органов для трансплантации. Поэтому технология 3D-биопечати должна рано или поздно привести к прекращению торговли органами, поскольку спрос на них просто исчезнет.

— Можно ли использовать метод трёхмерной биопечати для омоложения?

— Теоретически напечатанные органы будут продлевать жизнь пациентов и, если хотите, «омолаживать» их, но только на уровне ткани или органа, а не организма в целом. Совместно с бразильскими учёными и инженерами мы сейчас работаем над созданием прототипа роботизированного метода биофабрикации зачатков волос с последующей биопечатью волос прямо на голове человека.

— Когда 3D-принтеры подешевеют настолько, что любая больница сможет их закупать и использовать в повседневной работе?

— Точный неспекулятивный ответ дать, конечно, затруднительно. Во-первых, это будет зависеть от уровня финансирования исследований и разработок, конкурентоспособности технологии и размера потенциального рынка. Во-вторых, история тканевой инженерии показывает, что путь от идеи (статьи или патента) до продукта занимает 15—20 лет и более. Наконец, — это уже твёрдо установленный факт — цена на любой продукт высоких технологий со временем неизбежно падает и порою — в тысячи раз. Например, персональные настольные 3D-принтеры уже можно приобрести за пару тысяч долларов США.

Однако разработчики должны компенсировать свои затраты на исследования и получение разрешения на клиническое использование технологии. Так что изначально высокие цены на биомедицинские трёхмерные принтеры объяснимы. Общество может снизить цены на биопринтеры либо за счёт государственных субсидий на их разработку или покупку, либо за счёт снижения издержек на получение официального разрешения на их практическое применение.

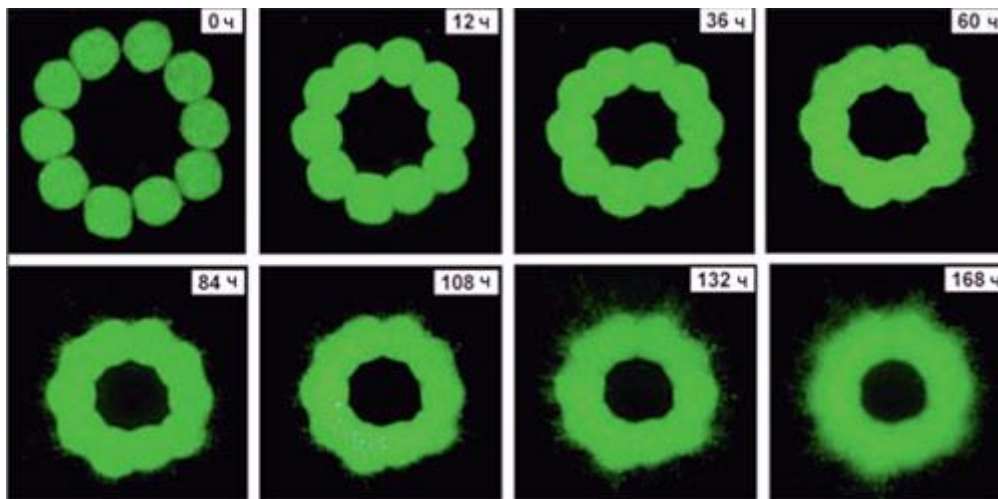
- [← Перейти к рубрике](#)



Профессор Владимир Миронов возглавил первую в России лабораторию по 3D-биопечати.



Биопринтер. Процессу биопечати предшествует создание трёхмерной модели ткани или органа.

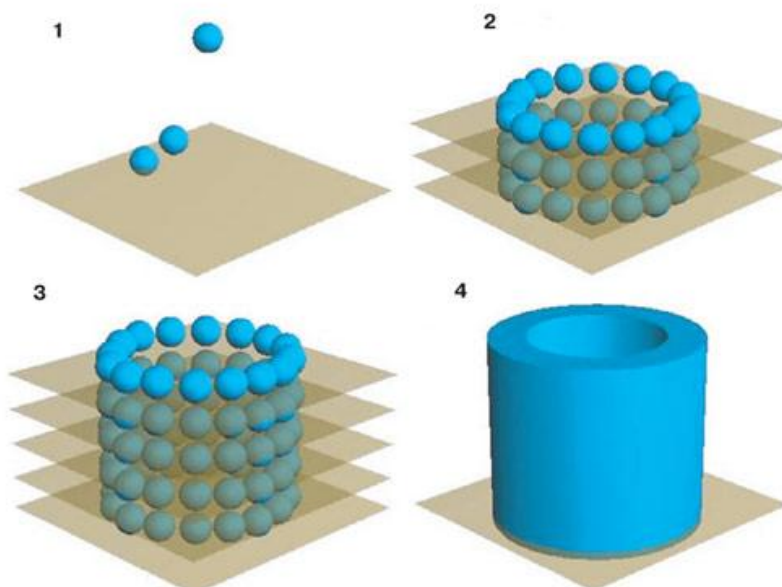


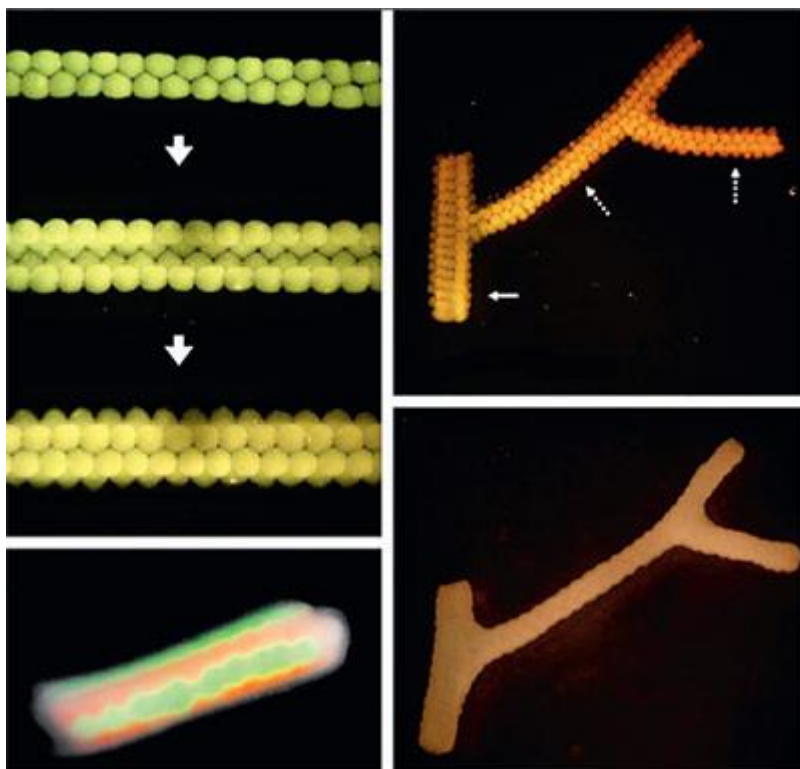
Эволюция кольца

из 10 сфероидов в коллагеновом геле. На микрофотографии видно, как отдельные клеточные сфероиды полностью сливаются за 168 часов (7 суток). Сращивание клеточных сфероидов — фундаментальная основа технологии. Американский морской биолог Петер фон Вильсон (1863—1939) обнаружил свойство сращивания тканей. В 1907 году он проводил эксперименты на морских губках и наблюдал, как отдельные измельчённые кусочки морского животного сращивались в единый организм.



хема получения 3D-объекта из клеточных сфероидов: 1 — отдельные сфероиды «капают» на специальный биогель, постепенно формируя «сфероидный» монослой; 2—3 — послойная сборка объекта в форме цилиндра...





Кровеносный сосуд, полученный

методом биопринтинга. На микрофотографиях показаны этапы формирования сосуда из клеточных сфероидов. При сращивании сфероидов объём ткани уменьшается, это важно учитывать при создании копии человеческого органа.

Детальное описание иллюстрации

- Биопринтер. Процессу биопечати предшествует создание трёхмерной модели ткани или органа. Детализированная компьютерная модель включает все виды клеток, образующих ткань, особенности сосудистого рисунка, анатомического строения. В биопринтер загружают шарикообразные конгломераты клеток — самособирающиеся тканевые сфероиды, окружённые тонким слоем специального гидрогеля. Тому или иному типу ткани будущего органа отвечают свои клетки, для каждого типа которых в картридже предусмотрено отдельное отверстие. Полученная трёхмерная «печатная» биоконструкция помещается в биореактор для ускоренного достижения полного развития, защиты от инфекции и поддержания жизнеспособности. В биореакторе будущий орган находится в некоем коктейле, состоящем из комбинации факторов развития ткани и имитирующем настоящую среду организма. Фото: www.virtualycus.org.
- Эволюция кольца из 10 сфероидов в коллагеновом геле. На микрофотографии видно, как отдельные клеточные сфероиды полностью сливаются за 168 часов (7 суток). Сращивание клеточных сфероидов — фундаментальная основа технологии. Фото: Центр клеточной динамики университета Вашингтона, США (Center for Cell Dynamics, University of Washington).
- Американский морской биолог Петер фон Вильсон (1863—1939) обнаружил свойство сращивания тканей. В 1907 году он проводил эксперименты на морских губках и наблюдал, как отдельные измельчённые кусочки морского животного сращивались в единый организм. Фото: университет Северной Каролины, США (University of North Carolina).
- Схема получения 3D-объекта из клеточных сфероидов: 1 — отдельные сфероиды «капают» на специальный биогель, постепенно формируя «сфероидный» монослой; 2—3 — послойная сборка объекта в форме цилиндра; 4 — трёхмерный объект в виде цилиндра после слияния сфероидов. Рисунок предоставлен Владимиром Мироновым.
- Кровеносный сосуд, полученный методом биопринтинга. На микрофотографиях показаны этапы формирования сосуда из клеточных сфероидов. При сращивании сфероидов объём

ткани уменьшается, это важно учитывать при создании копии человеческого органа. Фото: <http://habrastorage.org>.

Источник: <http://www.nkj.ru/archive/articles/23328/>