

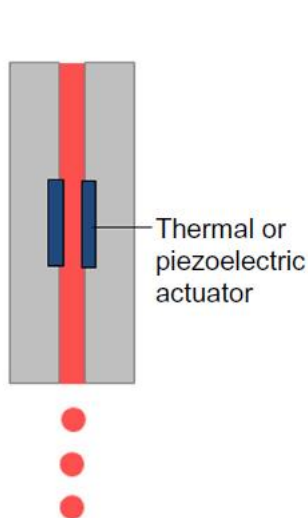
Дәріс 11

3D принтинг басып шығару технологиясын медицинада қолданылуы

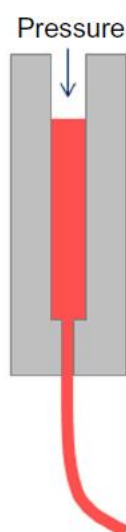
3D құрылымдарын басып шығару арқылы өндіру жылдам прототиптеу және өнеркәсіпте өндіру үшін, сондай-ақ үйде велосипед бөлшектері, зергерлік бұйымдар және электр компоненттері сияқты жеке тұтынушылық өнімдерді өндіру үшін қолданылады. Өндіріс пен тұтынушылық секторлардағы қолданбалардан басқа, 3D басып шығару ғылым мен білімді өзгертеді. Мысалы, археологтар мен антропологтар сақтауға, ортақ пайдалануға және таратуға болатын сирек артефактілердің немесе қазбалардың көшірмелерін жасайды. Уотсон мен Крик ДНҚ құрылымын моншақ үлгісін қолданып модельдегендей, ТП енді күрделі молекулалар мен ақуыздардың өзара әрекеттесуін модельдеу үшін, сондай-ақ жеке зертханалық аспаптарды модельдеу үшін қолданылады.

3D басып шығаруды алғаш рет 1986 жылы Чарльз В. Халл сипаттаған. Ол «стеролитография» деп атаған әдісінде материалдың жұқа қабаттары үздіксіз үш өлшемді құрылымды дәйекті түрде қалыптастыру үшін ультракүлгін сәулелердің әсеріне ұшырады. Еріткішсіз жүйелердің дамуы биологиялық материалдарды биологиялық жасушаларды трансплантациялау үшін пайдалануға болатын 3D тіректерге тікелей басып шығаруға мүмкіндік берді. Келесі қадам - TP, жасуша биологиясы және материалтану саласындағы соңғы жетістіктердің арқасында мүмкін болған тіндік инженерия түрі ретіндегі 3D биопринтинг.

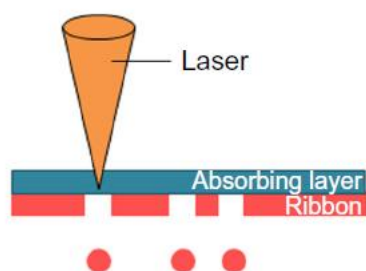
Inkjet printing



Micro-extrusion



Laser printing



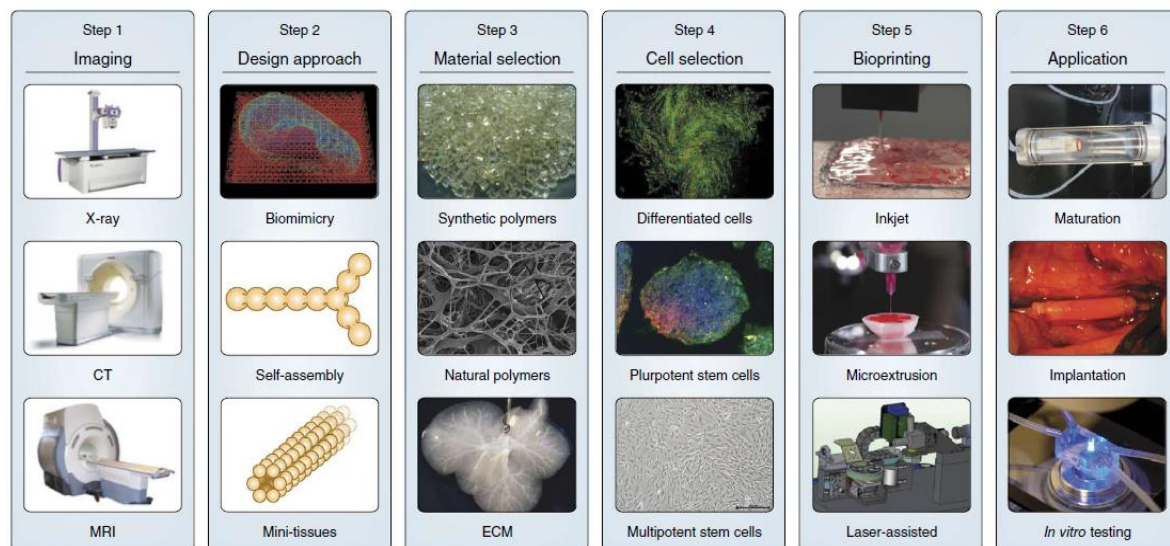
Биопринтинг биологиялық материалдарды, биохимиялық заттарды және тірі жасушаларды функционалдық құрамдастардың орналасуын кеңістіктік бақылаумен үш өлшемді құрылымдар жасау үшін кезең-кезеңімен нақты орналастыруды пайдаланады. Биопринтингтің бірнеше тәсілдері бар, соның ішінде биомимикрия, өзін-өзі ұйымдастыру және тіндік блоктар. Зерттеушілер ұлпалар мен мүшелердің қызметін клиникалық қалпына келтіруге қолайлы биологиялық және механикалық қасиеттері бар үш өлшемді функционалды тірі адам мүшелерін жасау үшін осы тәсілдерді әзірлеуде. Маңызды мәселелердің бірі сезімтал тірі биологиялық материалдарды басып шығару үшін полимерлер мен металдармен басып шығаруға арналған технологияларды бейімдеу болып табылады. Дегенмен, негізгі мәселе - жасушадан тыс матрицаның (ЕС) барлық компоненттерінің күрделі микроархитектурасын және биологиялық функцияны қайталау үшін жеткілікті рұқсатта бірнеше жасуша типтерін жаңғырту.

Биомимикрия. Биологиялық рухтандырылған инженерия көптеген технологиялық мәселелерге, соның ішінде ұшақтардың, пойыздардың, материалдарды зерттеудің, жасуша культурасының әдістерінің және нанотехнологиялардың дизайнында қолданылды. Оны биопринтингке қолдану тіннің немесе органның жасушалық және жасушадан тыс компоненттерінің бірдей репродукцияларын өндіруді қамтиды. Бұған тіндердің спецификалық жасушалық функционалдық құрамдастарын көбейту арқылы қол жеткізуге болады, мысалы, тамырлардың тармақталу үлгілерін имитациялау немесе биоматериалдар мен градиенттердің физиологиялық нақты түрлерін шығару арқылы. Бұл тәсіл сәтті болуы үшін биологиялық тіндердің микро масштабты репликациясы қажет. Осылайша, микроорта туралы түсінік қажет, оның ішінде функционалды және тірек жасушалар түрлерінің нақты орналасуы, еритін немесе ерімейтін факторлардың градиенттері және ЭКМ құрамы.

Өзін-өзі ұйымдастыру. Биологиялық тіндердің репликациясының тағы бір тәсілі - эмбриональды мүшені пайдалану. Дамушы тіннің жасушалық компоненттері қажетті биологиялық микроархитектура мен функцияны қамтамасыз ету үшін өздерінің жасушадан тыс матрицалық компоненттерін, тиісті жасушалық сигнал беруді және өзін-өзі ұйымдастыру мен үлгілеуді жасайды. Бұл тіреу әдісінің нұсқасы тіндердің дамуын имитациялай отырып, синтезден және жасушалық ұйымнан өтетін жасуша сфероидтарының өздігінен жиналуын пайдаланады. Өзін-өзі ұйымдастыру гистогенездің негізгі қозғаушы күші ретінде жасушаға сүйенеді, тіннің құрамын, локализациясын, функционалдық және құрылымдық қасиеттерін бағыттайды. Бұл эмбриональды тіндердің генезисі мен органогенезінің даму механизмдерін терең білуді, сондай-ақ биобасылған тіндердегі эмбриондық механизмдерді ынталандыру үшін қоршаған ортаны манипуляциялау қабілетін талап етеді.

Мата блоктары . Тін блоктары тұжырымдамасы 3D биобасып шығаруға арналған жоғарыда аталған екі стратегияға да қатысты. Ағзалар мен тіндерде функционалды құрылыс блоктары немесе шағын тіндер бар. Оларды тіннің ең кіші құрылымдық және функционалды құрамдас бөлігі ретінде анықтауға болады. Шағын маталарды ұтымды дизайн, өздігінен құрастыру немесе екеуінің комбинациясы арқылы үлкенірек құрылымға жасауға және жинауға болады. Екі негізгі стратегия бар: біріншіден, өздігінен құрастырылған жасушалық сфералар (мини-тіндерге ұқсас) биологиялық дұрыс ұйымды пайдалана отырып, макро-тіндерге жиналады; Екіншіден, тін бірлігінің дәл, жоғары ажыратымдылықтағы репродукциялары жобаланады, содан кейін функционалды макро-тінге өздігінен жиналуға рұқсат етіледі. Бұл тәсілдердің мысалдары тармақталған тамырлы желілерді қалыптастыру үшін тамырлы құрылыс блоктарын өздігінен құрастыруды және тіндердің функционалдык бірліктерін дәл қайталау үшін биопринтингті пайдалануды қамтиды.

Көптеген функционалды, құрылымдық және механикалық құрамдастары мен қасиеттері бар күрделі 3D биологиялық құрылымды басып шығару үшін жоғарыда аталған стратегиялардың комбинациясы қажет болуы мүмкін. Биопринтинг процесінің негізгі кезеңдері визуализация және дизайн, материалдар мен ұяшықтарды таңдау, сондай-ақ құрылымның өзін басып шығару болып табылады. (64-сурет).



Сурет - 1 Тіндік 3D типтік биобасып шығару процесі.

Материалдар мен жасуша көзін таңдау маңызды және тіннің немесе органның формасы мен қызметіне тән.

Алынған мүше немесе тін кейіннен трансплантацияланады, кейбір жағдайларда жетілу кезеңінен кейін адам ағзасына имплантациялау үшін пайдаланылады немесе одан әрі тәжірибелер үшін пайдаланылады.

Функционалды тіндер мен мүшелердің күрделі гетерогенді архитектурасын жаңғыртудың маңызды талабы олардың құрамдас бөліктерінің құрамы мен ұйымын жан-жақты түсіну болып табылады. Түрлі медициналық бейнелеу технологиялары жасушалар, ұлпалар, мүшелер мен дене деңгейіндегі үш өлшемді құрылым мен функция туралы ақпарат беру үшін инженерлер мен дәрігерлер қолданатын таптырмас құрал болып табылады. Бұл технологияларға инвазивті емес бейнелеу әдістерінің көпшілігі кіреді, олардың ең көп тарағаны компьютерлік томография (КТ) және магнитті-резонансты бейнелеу (МРТ) болып табылады. Сондай-ақ тіндер мен мүшелер үшін күрделі томографиялық және архитектуралық ақпаратты жинау және цифрлау үшін компьютерлік дизайн және компьютерлік өндіріс (CAD-CAM) құралдары мен математикалық модельдеу қолданылады.

Диагностика үшін де, араласу үшін де қолданылатын КТ бейнелеу рентген сәулелерінің ауыспалы сіңуіне негізделген. Рентген сәулесінің көзі объектінің айналасында айналады, датчиктер жіберілген сәуленің қарқындылығы мен бұрышын өлшейді және шағын көлемді (воксель) көрсететін пикселдер жиынтығы ретінде деректерді жазады [16]. Бұл кескіндеу әдісі тіндердің архитектурасының жақын орналасқан осьтік кесектерін шығарады, олар беттік кескіндеу және стереолитографиялық өңдеуден кейін тіннің немесе органның көлемін толығымен сипаттайды.

Екінші тәсіл, МРТ, сондай-ақ иондаушы сәулелену әсерінсіз жұмсақ тіндерді бір-біріне жақын жерде бейнелеу үшін пайдалы контраст ажыратымдылығының артықшылығымен жұмсақ тіндерде жоғары кеңістіктік ажыратымдылықты қамтамасыз ете алады. Магнитті резонансты бейнелеу ядролық магниттік резонансты пайдаланады [17]. Ядролардың энергетикалық күйлерінің өзгеруі қабылдағыш катушкалар арқылы өлшенетін радиожилік сигналдарын тудырады. Биологиялық құрылымдардың контрастын КТ сканерлеу үшін барий немесе йод [18] және МРТ сканерлеу үшін темір оксиді [19], гадолиний немесе металлопротеидтер сияқты контрастты қоспаларды қолдану арқылы айтарлықтай арттыруға болады. Бұл қоспалар рентген сәулелерін әлсіретеді және магниттік-резонанстық сигналдарды күшейтеді, олар әдетте анықтау өте қиын қан тамырлары сияқты құрылымдарды бөлектеу үшін қолданылады.

Осы кескіндеу әдістерінен өңделмеген кескін деректерін алғаннан кейін, екі өлшемді көлденең қима кескіндерін жасау үшін томографиялық қайта құру арқылы деректерді өңдеу керек. 3D анатомиялық кескіндерді одан әрі талдау немесе өзгерту үшін алуға болады. Органдардың немесе тіндердің

архитектурасының 3D үлгілерінен компьютерлік модельдерді құрудың бір жолы CAD-CAM және математикалық модельдеу әдістерін пайдалану болып табылады. 3D анатомиялық көрініс көлемді көрсету, көлемді көрсету және 3D кескіндеу үшін пайдалануға болатын кескін ақпаратын сақтау арқылы орган анатомиясының көріністерін жасайды. Қайта құрастырылған кескіндерді немесе үлгілерді контурлық стектер, сымдық үлгілер, көлеңкеленген үлгілер немесе айналымы жарықтандыру, мөлдірлік және шағылысу қабілеті бар қатты модельдер сияқты бірнеше жолмен көруге болады [20].

Сиялы биопринтерлер . Сиялы принтерлер биологиялық емес және биологиялық қолданбалар үшін ең жиі қолданылатын принтер түрі болып табылады. Сиялы принтерлерде сұйықтықтың бақыланатын көлемі белгілі бір бөліктерде алдын ала белгіленген орындарға жеткізіледі. Биопринтинг қолданбалары үшін қолданылған алғашқы сиялы принтерлер коммерциялық қол жетімді 2D сиялы принтерлердің өзгертілген нұсқалары болды. Картриджтегі сия биологиялық материалмен ауыстырылды, ал қағаз z - осін басқаруды қамтамасыз ету үшін электронды басқарылатын платформамен ауыстырылды (x , y және z осінің үш өлшемді өлшемі). Бүгінгі таңда биологиялық материалдарды жеткілікті жоғары дәлдікпен және жылдамдықпен өңдеу және басып шығару үшін арнайы жасалған сия бүріккіш биопринтерлер бар. Сиялы принтерлер сұйықтықты субстратқа итермелеу үшін термиялық немесе акустикалық күштерді пайдаланады, бұл өз кезегінде соңғы дизайнды қолдауы немесе құрауы мүмкін. Термиялық сиялы принтерлер экструдерден тамшыларды шығаруға мәжбүрлейтін қысым импульстерін жасау үшін басып шығару механизмін электрлік қыздыру арқылы жұмыс істейді. Бірнеше зерттеулер 200-ден 300 °C-қа дейін болуы мүмкін жергілікті қыздырудың ДНҚ [21] сияқты биологиялық молекулалардың тұрақтылығына да, жасуша өміршеңдігіне де айтарлықтай әсер етпейтінін көрсетті. Термалды сия бүріккіш принтерлердің артықшылықтарына жоғары басып шығару жылдамдығы, төмен баға және кең қолжетімділік жатады. Дегенмен, ұяшықтар мен материалдардың термиялық және механикалық кернеуден, тамшылардың төмен бағытымен, біркелкі емес тамшылар өлшемінен, саптамалардың жиі бітелуінен және сенімсіз ұяшықты инкапсуляциядан зардап шегетін табиғи тәуекелі бұл принтерлерді 3D биобасып шығаруда пайдалану үшін елеулі кемшіліктерді тудырады .

Акустикалық сиялы принтерлерде сұйықтықты тұрақты аралықпен тамшыларға бөлу үшін басып шығару механизмінің ішінде акустикалық толқын жасайтын пьезоэлектрлік кристал бар. Пьезоэлектрлік материалға кернеуді қолдану пішіннің жылдам өзгеруін тудырады, бұл өз кезегінде саптамадан тамшыларды алу үшін қажетті қысымды тудырады. Басқа сиялы

принтерлер ультрадыбыстық сәулеленуді пайдаланады, импульс, ұзақтығы және амплитудасы сияқты ультрадыбыстық параметрлерді тамшылардың өлшемін және басып шығару жылдамдығын басқару үшін реттеуге болады. Акустикалық сия бүріккіш принтерлердің артықшылығы тамшылардың біркелкі өлшемін және тамшы шығару бағытын жасау және бақылау мүмкіндігін, сондай-ақ жасушалардың термиялық және механикалық кернеулерге ұшырауын болдырмауды қамтиды. Сонымен қатар, саптамасыз шығару жүйесін қолдану арқылы саптама ұшының қабырғасына жасушаларға түсетін кернеудің әсерін болдырмауға болады [22]. Бұл жасуша өміршендігі мен қызметінің ықтимал жоғалуын азайтады және саптаманың бітелу мәселесін жояды. Дегенмен, пьезоэлектрлік сиялы биопринтерлер пайдаланатын 15-25 кГц жиіліктерге және олардың жасуша мембранасының зақымдануына әсер етуіне қатысты кейбір алаңдаушылықтар сақталуда. Сиялы биопринтерлерде сонымен қатар жоғары тұтқырлықтағы ерітінділерді қолданып тамшыларды алу үшін қажет шамадан тыс күшке байланысты материалдың тұтқырлығына шектеулер бар (дұрыс 10 центипозадан төмен).

Сия бүріккіш биопринтерлердің жалпы кемшілігі тамшылардың пайда болуын қамтамасыз ету үшін биологиялық материалдың сұйық күйде болуы; Содан кейін алынған басып шығару сұйықтығы құрылымдық ұйымы мен функционалдығы бар үздіксіз үш өлшемді құрылымды құруы керек. Авторлар бұл шектеуді химиялық қоспаларды қолданып басып шығару арқылы түндырғаннан кейін өзара байланыстыруға болатын материалдарды қолдану арқылы шешуге болатынын көрсетті. Сиялы биобасып шығару технологиясын пайдаланушылар тап болатын тағы бір шектеу - биологиялық жасушалардың маңызды тығыздығына қол жеткізудің қиындығы. Көбінесе ұяшықтардың төмен концентрациясы (10 миллион жасуша/мл-ден аз) саптаманың бітелуін болдырмайтын тамшылардың жақсы қалыптасуы үшін пайдаланылады. Осы кемшіліктерге қарамастан, сия бүріккіш негізіндегі биопринтерлердің артықшылықтары бар, соның ішінде төмен баға, жоғары ажыратымдылық, жоғары жылдамдық және көптеген биологиялық материалдармен үйлесімділік. Сия бүріккіш басып шығарудың тағы бір артықшылығы тамшылардың тығыздығын немесе өлшемін өзгерту арқылы жасушалардың, материалдардың немесе өсу факторларының концентрация градиенттерін 3D құрылымына енгізу мүмкіндігі болып табылады [23].

Стандартты 2D сиялы принтерлердің қолжетімділігіне байланысты көптеген зертханалардағы зерттеушілер сия бүріккіш негізіндегі биобасып шығару технологиясына оңай қол жеткізе алады, өзгерте алады және тәжірибе жасай алады. Коммерциялық қол жетімді сия бүріккіш биопринтерлер де қарапайым құрамдас бөліктерге және оңай қол жетімді бағдарламалық құралға байланысты салыстырмалы түрде үнемді. Бұл технологияны көптеген топтардың кеңінен қолдануы сия бүріккіш биопринтерлерді біркелкі жасуша

тығыздығы бар жоғары ажыратымдылықты және дәл бақыланатын тамшылардың өлшемдерін дәл тұндыру үшін пайдалану мүмкіндігін жылдамдатты. Болашақ жетістіктер бұл технологияны басқа биологиялық маңызды материалдарды және тіннің негізгі биологиялық, құрылымдық және функционалдық құрамдас бөліктерін басып шығаруды жеңілдететіндей өңдеуге және сақтауға бейімдеуді жалғастырады. Көптеген ұяшықтар мен материалдарға қойылатын талаптар сияқты қосымша күрделіліктерді де ескеру қажет. Функционалды тері мен шеміршекті қалпына келтіру үшін сия бүріккіш биопринтингті қолданудың белгілі мысалдары бар. Жоғары басып шығару жылдамдығы жасушалар мен материалдарды тікелей теріге немесе шеміршек зақымдануына тікелей түсіруге мүмкіндік береді.

Сия бүріккіш басып шығару әдісі бастапқы жасушалардың немесе дің жасушаларының зақымдану аймағында біркелкі тығыздықта тұндырылуын жеңілдетеді және басып шығарудан кейін жасушалардың жоғары өміршендігі мен қызметін сақтайды. Бұл зерттеулер функционалды құрылымдарды қалпына келтіру үшін сия бүріккіш негізіндегі биобасып шығарудың әлеуетін көрсетеді. Көпқабатты шеміршек конструкциялары электроспиннинг пен сия бүріккіш биобасып шығару комбинациясы арқылы жасалды. Сиялы биопринтерлер егеуқұйрықтар мен тышқандардың денесіне имплантацияланған сүйек құрылымдарын жасау үшін де пайдаланылды.

Микроэкструзиялы биобасып шығару. Ең кең таралған және қол жетімді биологиялық емес 3D принтерлер микроэкструзияны пайдаланады. Микроэкструзия биопринтерлері әдетте x, y және z осьтері бойымен қозғала алатын экструдері бар температурамен басқарылатын материалды тарату жүйесінен және/немесе фотобастаушыны белсендіру үшін тұндыру аймағын жарықтандыруға арналған талшықты-оптикалық жарық көзінен тұрады. Кейбір жүйелер қайта конфигурациялаусыз бірнеше материалдарды дәйекті экструзиялауды жеңілдету үшін бірнеше басып шығару механизмдерін пайдаланады. Жыл сайын дүние жүзінде 30 000-ға жуық 3D принтерлер сатылатындықтан, оқу орындары биологиялық тіндер мен мүшелерді зерттеу үшін микроэкструзия технологиясын көбірек сатып алып, пайдаланады. Өнеркәсіптік принтерлер айтарлықтай қымбатырақ, бірақ жақсырақ ажыратымдылыққа, жылдамдыққа, кеңістікті басқаруға және басып шығаруға болатын материалда үлкен икемділікке ие. Микроэкструзия принтерлері материалды бақыланатын экструзия арқылы жұмыс істейді, ол микроэкструзия басы арқылы субстратқа орналастырылады. Биопринтинг үшін биологиялық материалдарды экструдтаудың ең көп таралған әдістері пневматикалық немесе механикалық (поршеньді немесе бұрандалы) тарату жүйелері болып табылады. Механикалық тарату жүйелері пневматикалық

жүйелерде сығылған газдың кешіктірілген көлеміне байланысты материал ағынын тікелей басқаруды қамтамасыз ете алады. Бұрандалы жүйелер кеңірек басқаруды қамтамасыз ете алады және тұтқырлығы жоғары гидрогельдерді экструдтау үшін пайдалы болып саналады, дегенмен пневматикалық жүйелер жоғары тұтқыр материалдарды тарату үшін де жарамды болуы мүмкін. Ауамен жұмыс істейтін принтерлердің артықшылығы қарапайым жетек компоненттеріне ие және күш жүйенің ауа қысымының мүмкіндіктерімен ғана шектеледі. Механикалық басқарылатын механизмдер кеңістікті басқаруды қамтамасыз ететін кішірек және күрделірек құрамдас бөліктерге ие, бірақ көбінесе максималды күш мүмкіндіктері шектеулі.

Микроэкструзия әдістері әдебиетте сипатталған биобасу процесімен үйлеспейтін өтімділік шектеулеріне ие. Тұтқырлығы 30 мПа/с пен 6×10^7 мПа/с аралығындағы материалдар биоматериалдың экструзиясы үшін үйлесімді екендігі көрсетілген, тұтқырлығы жоғары материалдар көбінесе басып шығарылған құрылымға құрылымдық қолдауды қамтамасыз етеді. Тұтқырлығы төмен материалдар жасушаның өміршеңдігі мен қызметін сақтау үшін қолайлы ортаны қамтамасыз етеді. Көптеген биоүйлесімді материалдарды бөлме температурасында басып шығаруға болады, бұл оларды басқа биологиялық компоненттермен бірге экструдциялауға мүмкіндік береді. Микроэкструзия үшін әдетте сұйылту қасиеті бар материалдар қолданылады. Материалдың бұл Ньютондық емес әрекеті экструдер ығысу жылдамдығының артуына жауап ретінде тұтқырлықтың төмендеуіне әкеледі. Биологиялық өңдеу кезінде саптамада болатын жоғары ығысу жылдамдығы бұл материалдардың саптама арқылы өтуіне мүмкіндік береді және тұндырылған кезде ығысу жылдамдығы азаяды, нәтижесінде тұтқырлықтың күрт артуына әкеледі. Микроэкструзия жүйелерінің жоғары ажыратымдылығы биопринтерге CAD бағдарламалық жасақтамасын пайдаланып жобаланған күрделі құрылымдарды дәл жасауға және бірнеше ұяшық түрлерін үлгілеуді жеңілдетуге мүмкіндік береді. Микроэкструзия биопринтинг технологиясының басты артықшылығы - өте жоғары жасуша тығыздығын тұндыру мүмкіндігі. Биопринтингтің негізгі мақсаты ұлпа органдарында жасушаның физиологиялық тығыздығына қол жеткізу болып табылады. Кейбір топтар микроэкструзиямен басып шығарылған 3D ұлпа конструкцияларын жасау үшін тек жасушалық шешімдерді пайдаланды. Көп элементті жасуша сфероидтары тұндырылып, қажетті үш өлшемді құрылымға өздігінен жиналуға мүмкіндік береді. Тіндердің сфероидтары тіннің жасушадан тыс матрицасының механикалық және функционалдық қасиеттерін қайта жасай алатын материалдық қасиеттерге ие деп саналады. Құрылыс блоктарының тұтқыр серпімді қасиеттеріне байланысты бекітілген жасушалық агрегаттар бір-бірімен біріктіріліп, макроскопиялық құрылымды құрайды. Өздігінен құрастырылатын сфероидты стратегияның бір

артықшылығы - тіндерді жедел ұйымдастырудың әлеуеті және күрделі құрылымдардың қалыптасуына бағыт беру мүмкіндігі. Бұл тәсіл 3D биопротездік органдарға өздігінен құрастырылған тамырлы ұлпа сфероидтарын құрылымдау арқылы 3D қалың тіндерінде немесе орган конструкцияларында органишілік тармақталған тамырлы ағаштарды генерациялауда уәде береді. Микроэкструзиялы биобасып шығарудан кейін жасушаның өміршеңдігі сия бүріккіш биобасып шығаруды пайдаланғанға қарағанда төмен; жасушалардың тіршілігі 40-86% диапазонында, экструзия қысымының жоғарылауына және саптама диаметрінің ұлғаюына байланысты жылдамдық төмендейді. Микроэкструзияны қолдану арқылы тұндырылған ұяшықтардың төмен өміршеңдігі басып шығару механизмінің ауысуымен байланысты. Дозалау қысымы саптама диаметрінен гөрі жасуша өміршеңдігіне айтарлықтай әсер етуі мүмкін. Жасушаның өміршеңдігі төмен қысымда және үлкен саптама өлшемдерінде сақталуы мүмкін болса да, кемшілігі ажыратымдылық пен басып шығару жылдамдығының үлкен жоғалуы болуы мүмкін. Тіндердің функционалдығын қамтамасыз ету үшін жоғары өміршеңдігін сақтау маңызды. Көптеген зерттеулер басып шығарғаннан кейін жасушалардың өміршеңдігі туралы хабарлағанымен, зерттеушілер үшін бұл жасушалардың аман қалып қоймай, сонымен қатар тіндік құрылымда маңызды функцияларын орындайтынын көрсету маңызды.

Ажыратымдылық пен басып шығару жылдамдығын арттыру микроэкструзиялы биобасып шығару технологиясының көптеген пайдаланушылары үшін қиындық тудырады. Биологиялық емес микроэкструзиялы принтерлер 10-50 мкм/с сызықтық жылдамдықта 5 мкм және 200 мкм ажыратымдылыққа ие. Бұл параметрлерді жоғары жасуша өміршеңдігі мен функциясын сақтай отырып, биологиялық маңызды материалдар үшін жүзеге асыру мүмкін емес. Механикалық тұрғыдан берік және басып шығарғаннан кейін қайталама механикалық қасиеттерді қамтамасыз ететін жақсартылған биоүйлесімді материалдарды пайдалану басып шығарудан кейін жасушалардың өміршеңдігі мен жұмысын сақтауға көмектеседі. Бірфазалы, екіфазалы және үздіксіз биоблоктар да осыған ұқсас принциптерді пайдалана отырып әзірленуде. Бұған қоса, саптаманы, шприцті немесе мотор жүйелерін жақсарту басып шығару уақытын қысқартуға, сондай-ақ бірнеше материалдарды бір уақытта орналастыруға мүмкіндік береді. Микроэкструзия биопринтерлері тіндердің бірнеше түрін, соның ішінде қолқа қақпақтарын, 93 тармақталған тамырларды және ісік үлгілерін шығару үшін пайдаланылды. Күрделі, жоғары ажыратымдылықтағы құрылымдар үшін дайындау уақыты баяу болуы мүмкін болса да, клиникалық маңызды тін өлшемдерінен микро өлшемді тіндерге дейінгі аралықтағы конструкциялар жасалды.

Матаның құрамдас бөліктері . TP технологиясы бастапқыда металдарды, керамикаларды және термопластикалық полимерлерді тұндыру сияқты биологиялық емес қолданбалар үшін әзірленген және ең алдымен тірі жасушалармен және биологиялық материалдармен үйлесімсіз органикалық еріткіштерді, жоғары температураны қолдануды қамтыды. Сондықтан биопринтинг саласындағы басты мәселелердің бірі биологиялық материалдармен және басып шығару процесімен үйлесімді ғана емес, сонымен қатар тіндердің конструкциялары үшін қажетті механикалық және функционалдық қасиеттерді қамтамасыз ете алатын материалдарды табу болды.

Қазіргі уақытта регенеративті медицина саласында жөндеу және регенерация үшін қолданылатын материалдар негізінен табиғи полимерлер (соның ішінде альгинат, желатин, коллаген, хитозан, фибрин және гиалурон қышқылы, көбінесе жануарлардан немесе адам тіндерінен оқшауланған) немесе синтетикалық молекулаларға негізделген. Табиғи полимерлердің биобасып шығару және басқа тіндік инженерия қолданбалары үшін артықшылығы олардың адамның жасушадан тыс матрица компоненттеріне ұқсастығы және оларға тән биобелсенділігі болып табылады. Синтетикалық полимерлердің артықшылығы - оларды нақты қолданбалар үшін нақты физикалық қасиеттерге бейімдеуге болады. Синтетикалық полимерлерді пайдаланудағы қиындықтарға нашар биоүйлесімділік, улы ыдырау өнімдері және деградация кезінде механикалық қасиеттердің жоғалуы жатады. Осыған қарамастан, гидрофильді және сіңіргіш синтетикалық гидрогельдер синтез кезінде физикалық қасиеттерін бақылаудың қарапайымдылығына байланысты 3D биорегенеративті медицина қолданбалары үшін тартымды.

Медициналық қолдану үшін биологиялық материалдардың алуан түрлілігі артқан сайын баспа материалдарына қойылатын талаптар да нақтылана түседі. Материалдарда мыналар болуы керек: биобасуды жеңілдету үшін қолайлы өзара әрекеттесу механизмдері, ұзақ мерзімді трансплантация үшін биоүйлесімді болуы және сәйкес сипаттамалары болуы керек.

Биопринтингті сәтті енгізудің алдында тұрған көптеген қиындықтар биопринтинг процесінің нақты техникалық, материалдық және ұялы аспектілеріне қатысты. Даму бастапқы кезеңде болғанымен, ол сәтті имплантацияланған және трансплантацияға қажетті функционалдылыққа жақындаған бірнеше мүшелерді жасай алды (3-сурет). Технологиялық міндеттер биологиялық маңызды материалдармен ажыратымдылықты, жылдамдықты және үйлесімділікті арттыру қажеттілігін қамтиды. Біз бұрыннан бар технологияны өзгертуден бас тартып, нақты биологиялық компоненттерді өңдеуге арналған биопринтерлерді жобалауды бастағанда, үйлесімді материалдардың ауқымын, сондай-ақ материалды үйлесімділік

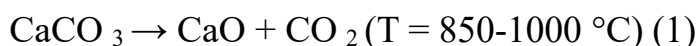
әдістерін кеңейтуге болады. Клиникалық маңызды өлшемдердің конструкцияларын жасау үшін өндіру жылдамдығын арттыру керек. Бұған қол жеткізудің бір жолы блоктарды біріктіру үшін макроүлгіні пайдалана отырып, клиникалық сәйкес өлшемге дейін масштабтауға болатын шағын функционалды тін блоктарын жасау болды. Коммерцияландыру масштабталатын автоматтандырылған роботтық технологияларды қажет етуі мүмкін. 88. Оған биопринтердің өзі ғана емес, сонымен қатар материалдар, ұяшықтар және басқа қосалқы компоненттер өндірісі кіреді.

3.1 Сүйек элементтерін өсіру үшін биоүйлесімді тірек құру

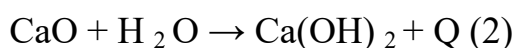
Сүйек тінінің ең жақын минералды компоненттері гидроксипатит пен үшқальций фосфатына негізделген керамикалық материалдар болып табылады. Адам және жануар сүйектерінің қызметін қалпына келтіру үшін қолданылатын импланттардың бетіндегі сүйек тінінің түзілу және өсу процестерін зерттеу [24], сонымен қатар цементтеу процестерін стоматологиялық зерттеулер және пломбалық тіс эмальының қалыптасуы-дентин байланыстары, адгезия, биобелсенділік және биоүйлесімділік сияқты сипаттамаларын жақсарту үшін құрылымы, құрылымы және химиялық құрамы бойынша биогендік композиттерге ұқсас жаңа материалдарды алу қажеттілігін растайды. Биоматериалдардың бұл қасиеттері көптеген факторларға байланысты және прекурсорлар мен синтез параметрлерін таңдаумен, сондай-ақ адамның сүйек тінінің барлық сипаттамаларына сәйкес келу қажеттілігімен анықталады. Сүйек тінінің минералды компонентінің кристалдық химиялық аналогы гидроксипатит ($\text{HAP} - \text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) [25]. Бұл биоминералды табиғи құрылымдарда нанокристалды күйде (~5-10 нм) болуы остеогенез процестерімен анықталады және организмдегі кальцийдің табиғи метаболизміне ықпал етеді және нәтижесінде осы қосылыс болатын барлық өзара әрекеттесулерге әсер етеді. қатысты. Зертханалық жағдайларда алынған биоматериалдардың қолданылуы құрылымы, құрамы және кристалдылығы сияқты үлгі сипаттамаларымен анықталады; өз кезегінде бұл параметрлер материалдар синтезінің сипаттамаларына байланысты. Импланттардың, стоматологиялық цементтердің және дәрілік пасталардың жабындары үшін бұл қосылыстың жоғары биоактивтілігіне және оның негізінде композициялық материалдарды құру мүмкіндігіне байланысты гидроксипатиттің нанокристалды түрі қолданылады. Нанокристалды гидроксипатитті әртүрлі әдістермен, соның ішінде қатты фазалық синтез әдістерімен синтездеуге болады. Көбінесе кальций фосфаттарының синтезі гидролиз және тұндыру процестерін қолдану арқылы сулы ерітінділерден жүзеге асырылады. Су ерітінділерінен тұндыру арқылы гидроксипатит

синтезінің бақылау параметрлерінің үлкен санын бір уақытта бақылаудың қиындығы (рН, реагенттер мен қоспалардың құрамы мен концентрациясы, араластыру тәртібі мен жылдамдығы, температура, уақыт).

Жұмыртқа қабығын қолдану себебі 95% кальцит - CaCO_3 . Оның қалған бөлігін органикалық заттар алып жатыр – бір-бірімен байланысқан белок талшықтарының бірнеше қабаттары, сондай-ақ осы белок талшықтарында кальцит сияқты орналасқан қабықшадағы әртүрлі минералды тұздар (<1%). CaCO_3 CaO және CO_2 қыздырғанда ыдырайтыны белгілі :

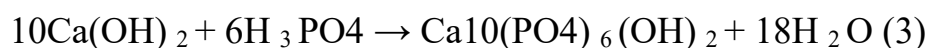


Жасыту кезінде қабықтың органикалық құрамдас бөлігі жанып кетеді, ал алынған қалдық құрамында қоспаның төмен ($\leq 1\%$) құрамында CaO бар. Нанокристалды НАР синтезі әдісі тұнбаны кезең-кезеңімен дайындауды қамтиды. Құрамында CaCO_3 бар бұрын жақсы тазартылған қабықша (1) сәйкес $900 \text{ }^\circ\text{C}$ температурада (кальций карбонаты үшін оңтайлы күйдіру режимі) 2 сағат бойы жуылды және күйдірілді. Осыдан кейін алынған кальций оксиді бірден ($\sim 100 \text{ }^\circ\text{C}$ температурада) дистилденген су H_2O мен араластырылды және алынған қоспа толығымен салқындағанша қалдырылды (2):

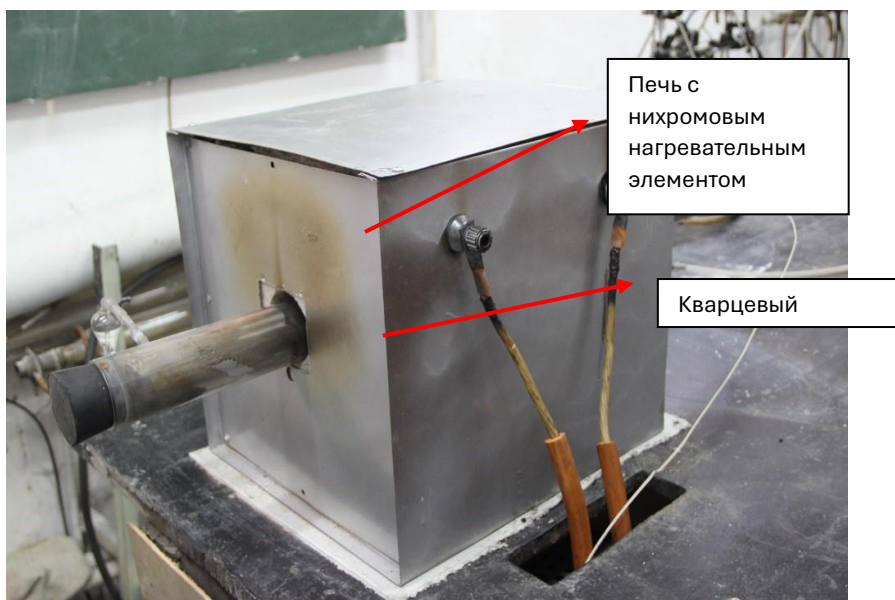


мұндағы Q – реакция кезінде бөлінетін жылу.

Алынған кальций гидроксиді Ca(OH)_2 бөлме температурасында ортофосфор қышқылының H_3PO_4 (0,6 M) ерітіндісімен титрленіп, гидроксипатит (3) алынды.

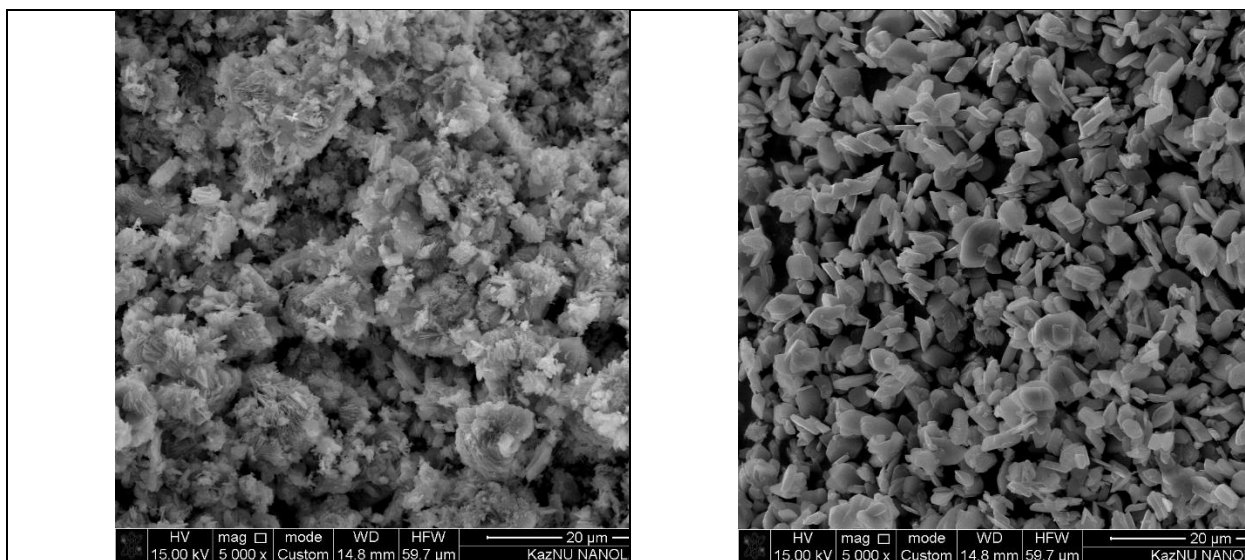


Синтез процесі реакция кезінде рН өлшеу арқылы бақыланды. Жасыту процесі нихромды пеште жүргізілді, ол 65-суретте көрсетілген.



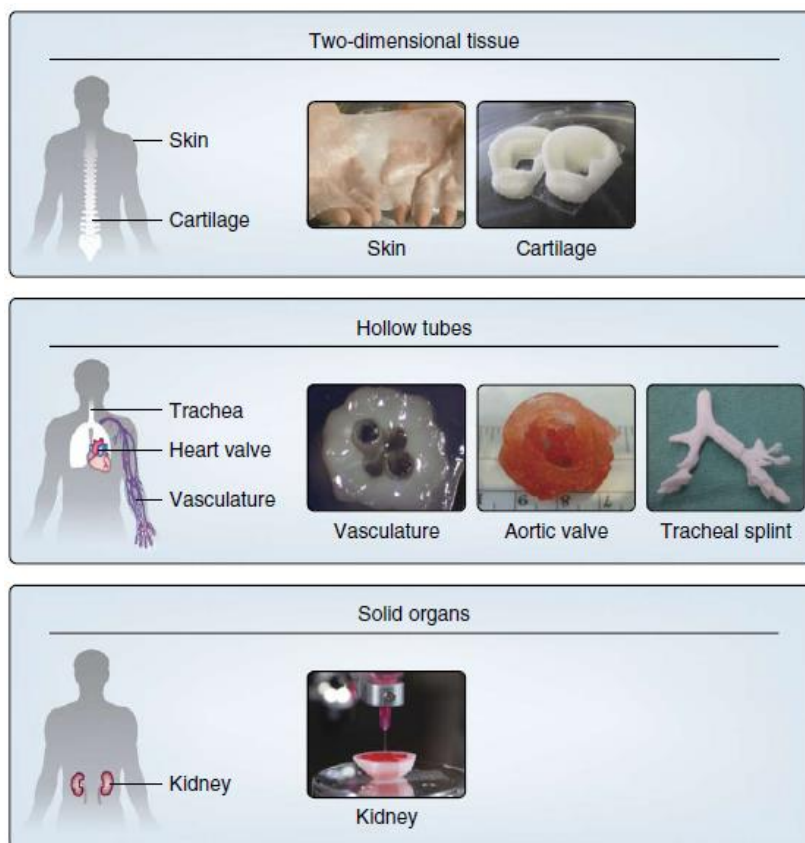
Сурет 2. Нихромды қыздыру элементі бар пеш

Алынған кальций оксиді ұнтағы ортофосфор қышқылының ерітіндісінде ерітілді. Ұнтақтың дисперсиясын қамтамасыз ету үшін ерітінді ультрадыбыстық ваннаға ұшырады. Электрондық микроскопта түсірілген суреттер 66-суретте көрсетілген.



Сурет 3. Электрондық микроскоптың суреттері.

Оларда 1-2 мкм өлшемді кристалдарды көруге болады, нәтижесінде алынған гидроксипатиттің негізгі айырмашылығы синтез үшін әртүрлі жағдайлар қолданылды. Ерітіндіден синтез процесі сыртқы жағдайларға өте тәуелді. Содан кейін шаң бөлшектерінің түсуін болдырмау үшін ерітінді вакуумдық камерада кептірілді.



Сурет 4. Адамның биотрансформация тіндерінің мысалдары. былғары (Wake Forest қалпына келтіру медицина институты)

Биопринтингті сәтті жүзеге асыру үшін өте оңай көбеюге болатын, иммуногенді емес және тіннің немесе мүше жүйесінің барлық функцияларын қайта жасай алатын жасушалардың оңай қол жетімді көздері қажет. Потенциалды түрде әртүрлі жетілген және/немесе мультипотентті жасуша көздерінің комбинациясы нақты тіндерге қажетті жасуша фенотиптерін тиімді көбейту үшін қолданылуы мүмкін. Мысалы, қызығушылық тудыратын тіннің функционалдық құрамдас бөлігінен алынған дiң жасушаларының популяциясы құрылымның функционалды құрылыс блоктарын жасау үшін пайдаланылуы мүмкін, ал сүйек кемігінен немесе гестациялық тіннен алынған жасушаішілік матрица компоненттері дәнекер тiнiн тиімді түрде жасай алады. органның құрылымдық бөліктері. Сонымен қатар, жасуша мәдениетіне шағын молекулаларды қолданудағы соңғы жетістіктер біз жасушалардың көбеюі мен дифференциациясын тікелей басқаратын болашаққа қарай жылжып келе

жатқанымызды көрсетеді және қазір бірқатар зерттеулер шағын молекулаларды қолдану арқылы бағытталған жасуша дифференциациясын сипаттайды.

Биопринтинг сонымен қатар тіндік инженерия мен регенеративті медицинаның барлық зерттеулерінде кездесетін басқа да қиындықтарға тап болады. Кез келген тіндік құрылымның тұрақты өміршеңдігі үшін құрылымның жеткілікті васкуляризациясын қамтамасыз ету өте маңызды. Биореакторлар ұлпа құрылымдарының өміршеңдігін сақтауға көмектесе алады және тіндерді кейінгі өңдеу, модельдеу және жетілу үшін қажетті уақытты қамтамасыз етеді. Биореакторлық емдеуді ангиогенезді және иннервацияны ынталандыратын факторлармен, сондай-ақ жасушалардың өміршеңдігін қолдайтын немесе сақтай алатын факторлармен біріктіріп қолдануға болады [26]. Сонымен қатар, биореакторлар температура, рН, қоректік заттар мен газ концентрациясы сияқты микроэкологиялық параметрлерді сақтауда маңызды рөл атқарады. Бұл параметрлер тіннің немесе мүшенің әрбір нақты түрі үшін биореактордың белгілі бір түрін жобалауды және әзірлеуді талап етеді.

Тіндердің және жасушалық құрылымдардың биопринтингі тек трансплантациялау үшін ғана емес, сонымен қатар дәрілік заттардың әсерін талдауда, химиялық, биологиялық және токсикологиялық реагенттерді талдауда және іргелі зерттеулерде қолдану үшін әзірленуде. Тері сияқты екі өлшемді тіндерден, қан тамырлары сияқты қуыс түтіктерге, қуық сияқты қуыс түтіксіз органдарға және ең соңында бүйрек сияқты қатты органдарға дейін, жасушалар мен материалдарға қойылатын талаптарды қамтитын күрделі мәселелер туындайды, тіндердің функционалдығы және тиісті васкуляризация және иннервация. Бұл міндеттерді шешу мультидисциплинарлы зерттеулерді және регенеративті медицина саласында төңкеріс жасау үшін биопринтингтің әлеуетін жүзеге асыруды талап етеді.

Тін инженериясы биологиялық үйлесімді және биологиялық ыдырайтын құрылыс блоктарын биоактивті компоненттермен және жасушалармен біріктіріп, зақымдалған немесе ақаулы тіндерді ауыстыру үшін жаңа тіндерді жасайды. Тін инженериясы сүйек ақауларын емдеу және аутологиялық сүйек трансплантаттарын ауыстыру үшін қолданылады, қол жетімділіктің төмендігі, ақаулы аймақтың анатомиялық сәйкестігінің қиындығы және донорлық аймақтың аурушандығы сияқты шектеулерді болдырмайды. Тіндік инженерия мен регенеративті медицинаны қолдану хитозан, коллаген, желатин, альгинат, целлюлоза, поликапролактон (PCL), поли(L-сүт қышқылы) (PLLA), поли(лактид-ко-) сияқты табиғи және синтетикалық материалдарды қолдануды қамтиды. гликолид) (PLGA) және полиэтиленді кетондар, олар

тірек және қалпына келтіретін тіндер үшін тамаша материалдар болып табылады.

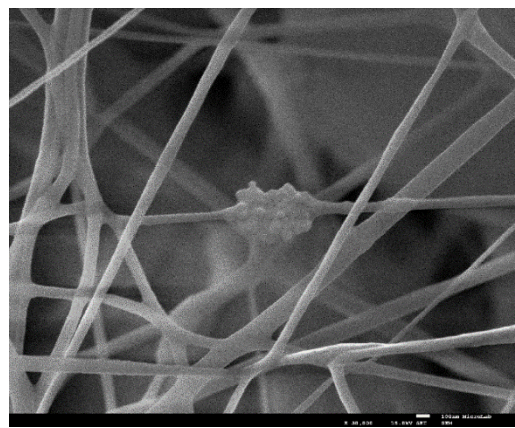
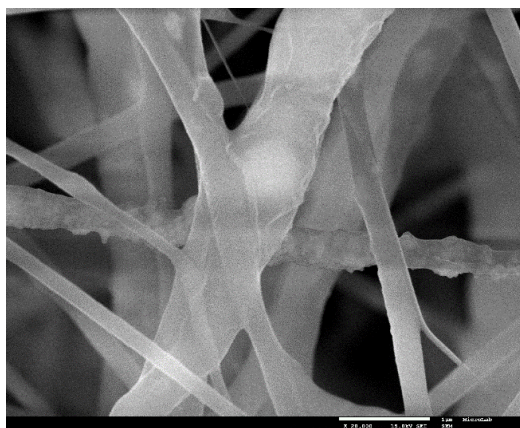
Түрлі полимерлер арасында PCL әсіресе тартымды, өйткені ол FDA мақұлдаған және жақсы механикалық беріктігі, икемділігі, биоүйлесімділігі және минималды уыттылығымен биоыдырағыштығы бар. Жақында жүргізілген зерттеулер PCL жасушалардың қосылуын, пролиферациясын және дифференциациясын қолдайтын пайдалы жасушалық әрекеттерге ықпал ете алатынын көрсетті. Полимерлі тіректерді әдетте кеуекті тіректер, талшықты тіндер, микро- немесе нанобөлшектер, гидрогельдер немесе пленкалар түрінде алады, олар регенерацияланатын тіндердің жасушаларымен себілген.

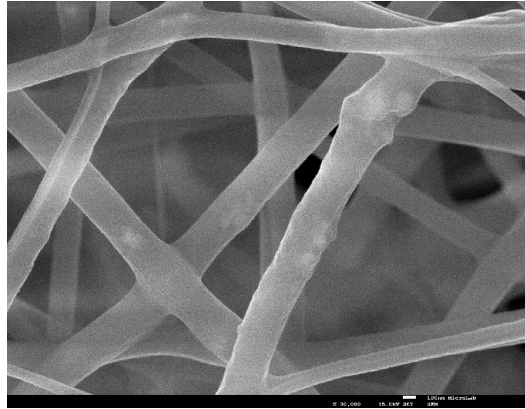
Жасушадан тыс биологиялық матрицаларды алудың әртүрлі әдістерінің ішінде электроспиннинг бірегей және қарапайым болып саналады. Наноөлшемді талшықтарды электроформалау белгілі бір диаметрі бар талшықтарды алуға мүмкіндік береді, бұл басқа әдістермен салыстырғанда үлкен артықшылық. Наноталшықтардың электроформациясы ерітіндінің сұйық фазасынан болатынын атап өткен жөн, бұл өз кезегінде композиттік құрылымдарды құруға мүмкіндік береді.

Күрделі биокөпозит болып табылатын табиғи сүйекті имитациялау үшін гидроксипатит (НАР) және поликапролактон наноталшықтары сияқты бейорганикалық нанобөлшектерді қамтитын композиттік талшықты тіректер пайдаланылды.

Тәжірибелер биоерігіш полимерден және біз синтездейтін кальций гидроксипатитінен алынған матрицалардың наноталшықтардың диаметрі бойынша да, нанокристалды кальций гидроксипатитінің өлшемдері бойынша да жақсы таралатынын көрсетті.

Төменде электроспиннинг және кальций гидроксипатитінің нанобөлшектерін қосу арқылы алынған нано өлшемді полимер талшықтарының электронды микроскоптағы суреттері берілген.





Сурет 5. Электрондық микроскоптың суреттері

Суреттерден талшықтардың диаметрлері 100-ден 500 нм-ге дейін болатыны анық, ал кальций гидроксипатитінің бөлшектері анық көрінеді. Әрі қарайғы зерттеулер дәрілік заттарды қосу арқылы талшықтарды алуды қамтиды, бұл сөзсіз эксперименттік жағдайларда кейбір шектеулерді талап етеді.

Жану проблемалары институтында жүргізілген жұмыстардың нәтижесінде нанокристалды кальций гидроксипатитін синтездеу әдістері және жасушалық құрылымдарды өсіру үшін биологиялық композиттік тіректерді құру әдісі әзірленді.

Кальций гидроксипатитінің дисперстілігі бірнеше себептер бойынша маңызды екенін ескеріңіз. Оны электроспиннингке пайдалану үшін бөлшектер нанометрлік масштабта болуы қажет, әйтпесе электроспиннің негізгі электроды бітелуге ұшырайды, бұл микрон масштабты талшықтардың пайда болуына әкеледі.