

УДК 57.085.23

СТРАТЕГИИ ВЫБОРА И ИСПОЛЬЗОВАНИЯ СКАФФОЛДОВ В БИОИНЖЕНЕРИИ

© 2019 г. А. А. Иванов^{1, *}, О. П. Попова¹, Т. И. Данилова¹, А. В. Кузнецова^{1, 2}

¹Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова,
Москва, Россия

²Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

*E-mail: butivanov@yandex.ru

Поступила в редакцию 30.08.2018 г.

После доработки 30.08.2018 г.

Принята к публикации 30.08.2018 г.

В современной медицине для восстановления или замены поврежденных органов или тканей активно разрабатываются подходы к созданию биоинженерных конструкций, которые требуют тщательного выбора трех основных компонентов: скаффолда, сигнальных факторов и клеток. Выбор скаффолда является одним из ключевых элементов, от которого во многом зависит конечный успех в реконструкции тканей. В данном обзоре представлены различные стратегии выбора скаффолдов с учетом их свойств и особенностей реконструируемого органа.

Ключевые слова: тканевая инженерия, 3D-матрицы, биоинженерная конструкция

DOI: 10.1134/S0042132419020042

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время в современной медицине для восстановления или замены утраченных/поврежденных органов или тканей активно разрабатываются подходы к созданию биоинженерных конструкций с использованием клеточных технологий. Стратегии регенеративной медицины и тканевой инженерии концептуально просты, привлекательны и обещают исключить повторные операции путем использования биodeградируемых биологических заменителей, решить проблему иммунного отторжения имплантатов, инфекций и трансмиссионных заболеваний, связанных с использованием аллотрансплантатов и ксенотрансплантатов и нехваткой донорских органов, инициировать процесс естественной регенерации с биологическими заменителями для восстановления или замены утраченных или поврежденных тканей и предложить потенциальные методы лечения неизлечимых в настоящее время заболеваний (Zippel et al., 2010). Конечной целью тканевой инженерии является создание тканевых продуктов со свойствами аналогичными таковым нативных тканей, предназначенных для замены многих, если не всех, тканей в организме. Однако, несмотря на огромные лабораторные достижения в этой области (Fisher, Mauck, 2013; Albuquerque et al., 2014; Melrose, 2016), практически все еще ограничены из-за значительных пробелов знаний, лежащих в основе регуляции прямого формирования ткани.

Для создания тканей/органов биоинженерная конструкция требует тщательного выбора трех основных компонентов: скаффолда, сигнальных факторов и клеток, обычно называемых триадой тканевой инженерии (Chan, Leong, 2008). При этом используется один из трех общих подходов: 1) дизайн и выращивание ткани человека *in vitro* с последующей ее имплантацией для восстановления или замещения поврежденных тканей. Наиболее ярким примером подобной терапии является пересадка компонентов кожи при лечении ожогов, использующаяся в клинике более 10 лет; 2) имплантация клеток, содержащих компоненты, индуцирующие репарацию или регенерацию функции поврежденных тканей. Этот подход основан на выделении клеток, добавлении к ним определенных “сигнальных” молекул, подобных факторам роста, и переносе этих клеток в биоматериалы, обеспечивающие регенерацию тканей. Наиболее часто в качестве биоматериалов используются новые полимеры, образующие трехмерные конфигурации, удобные для прикрепления и роста клеток, реконструирующих поврежденные ткани; 3) использование внутренних потенциалов тканей для восстановления функции поврежденных органов и тканей. Этот подход использует технику выделения стволовых клеток (СК), которые либо имплантируются пациенту непосредственно в суспензии или в структурном матриксе, либо после коммитирования *in vitro*.

Данный обзор посвящен тканевым инженерным стратегиям, использующим объединение естественных/синтетических носителей (скафф-

фолдов) с клетками, особенностям их выбора для создания тканевых продуктов на примере ряда тканей и органов.

ОСОБЕННОСТИ И СВОЙСТВА СКАФФОЛДОВ ДЛЯ ТКАНЕВОЙ ИНЖЕНЕРИИ

Выбор скаффолда является одним из ключевых элементов, от которого во многом зависит конечный успех в реконструкции тканей. Скаффолды обеспечивают не только прикрепление клеток и их рост, но и способствуют формированию необходимой ткани. Выращивание клеток на носителе/скаффолде, который поддерживает формирование и созревание ткани *in vitro*, является одним из наиболее бурно развивающихся подходов тканевой инженерии. Впоследствии биоинженерный продукт имплантируется пациенту, где происходит его ремоделирование и встраивание в гистеоархитектонику ткани или органа (Vaccasini, Blaker, 2005; Chai, Leong, 2007).

Не вызывает сомнений, что лучшим скаффолдом для искусственной ткани является внеклеточный матрикс (ВКМ) ткани-мишени в его естественном состоянии. Тем не менее, множественные функции, сложный состав и динамический характер ВКМ в нативных тканях затрудняют его точное имитирование (Hodde, 2006). ВКМ является многофункциональным, специфическим для каждого органа или ткани каркасом, обеспечивающим рост, дифференцировку и функционирование клеток. Структурно он состоит из многочисленных водорастворимых и нерастворимых белков и гликопротеинов, формирующих жесткие или гелеобразные комплексы. Помимо пространственных и опорных функций он выполняет важную роль в адгезии, пролиферации, миграции и функционировании клеток, связанных с формированием ключевых матрикс-ассоциированных факторов и адгезивных молекул. ВКМ обладает вязкоупругостью и механокондукционными способностями, регулирующими динамическое поведение межклеточных связей. Между ВКМ и клетками, растущими на ВКМ, формируются биохимические, биоадгезивные и пространственные взаимодействия, которые активируют внутриклеточные сигнальные пути, регулирующие пролиферацию и клеточную экспансию (Chaudhuri et al., 2014). Децеллюляризованный ВКМ рассматривают как наиболее эффективную биологическую матрицу, создающую естественное микроокружение при формировании новых органов и тканей. Его свойства биосовместимости, биоразлагаемости и биоиндуктивности являются важными критериями использования как в научных исследованиях, так и в хирургической практике (Gilbert et al., 2006; Baptista et al., 2011; Chani et al., 2017).

Концепция использования ВКМ, специфического для определенной ткани, предполагает его

применение при регенерации данного типа ткани. Например, использование ВКМ внутреннего мениска вызывает дифференцировку мезенхимальных СК костного мозга человека в фиброхондрогенные клетки, тогда как использование ВКМ внешнего мениска – их дифференцировку в фибробласты (Shimomura et al., 2017). Поэтому использование неспецифических ВКМ для восстановления органов в конечном итоге могут приводить к отторжению трансплантата (Woo et al., 2016).

Децеллюляризованный ВКМ ткани/органа, его формы в виде гидрогеля и микрочастиц широко используются в регенеративной медицине. Децеллюляризованный ВКМ костей, молочной железы, кожи и мочевого пузыря наиболее часто применяется в клинической практике (Rijal, Li, 2016). Целый орган децеллюляризируется и используется как скаффолд для заселения скаффолд-специфическими клетками с использованием индуцирующих и ростовых факторов и регенерации функционального органа *in vitro*. Использование децеллюляризованного ВКМ в виде гидрогеля значительно увеличилось в области исследования рака и доставки лекарств и клеток (Elliott, Yuan, 2011; Garg et al., 2012). После приготовления гидрогеля его наносят на культуральный пластик или твердый каркас (обычно пористый), подготовленный с использованием таких технологий изготовления, как 3D-печать опытного образца, традиционный метод пресс-формы и стереолитографические методы. Покрытие гидрогелем пористого скаффолда, полученного из синтетических биоматериалов (полимеров), например поликапролактона (polycaprolactone или PCL), обеспечивает формирование гидрофильной поверхности необходимой для начальных клеточно-матричных взаимодействий, которые являются важным первичным условием для успешного прикрепления клеток и их роста. Подготовка “биочернил” из смеси микрочастиц гидрогеля ВКМ с клетками сегодня является важнейшим направлением в области биоинженерии и регенеративной медицины (Farnebo et al., 2014). Децеллюляризованный ВКМ считается идеальным биоматериалом для его использования в качестве биочернил.

Однако использование децеллюляризованного ВКМ не всегда возможно. За исключением некоторых исследований для создания тканеинженерных конструкций используются экзогенные скаффолды, которые имитируют возможности ВКМ для роста клеток при создании биоинженерных конструкций (Langer, Tirrell, 2004; Abukawa et al., 2006).

При создании скаффолдов стремятся соблюсти определенные параметры: 1) объем пор для васкуляризации, формирования новой ткани и ее ремоделирования, чтобы облегчить интеграцию ткани хозяина при имплантации и обеспечить эффективный перенос питательных веществ и метаболитов без значительного ущерба механической устойчивости скаффолда; 2) структуру скаффолда, обеспечивающую поддержку как ис-

пользуемых, так и эндогенных клеток для их прикрепления, роста и дифференциации при культивировании *in vitro* и имплантации *in vivo*; 3) взаимодействие скаффолдов с клеточными компонентами тканеинженерной конструкции для поддержания и регулирования их деятельности через клеточно-адгезивные лиганды, улучшающие адгезию клеток или физические сигналы, регулирующие топографию и влияющие на морфологию и направление роста клеток (скаффолд может служить в качестве транспортного средства доставки или хранения факторов роста, ускоряющих регенерацию); 4) соответствие механических свойств и формы скаффолдов реконструируемой ткани.

Таким образом, биоматериалы, используемые для изготовления скаффолдов, должны быть совместимы с клеточными компонентами сконструированных тканей и эндогенных клеток ткани хозяина. Кроме того, они должны разрушаться при имплантации со скоростью, соответствующей скорости формирования новой матрицы.

Для изготовления экзогенных скаффолдов используют различные материалы, включая металлы, природные и синтетические полимеры, керамику и их композиты. Технологии их изготовления, свойства и возможности применения подробно описаны в многочисленных обзорах (Ifkovits, Burdick, 2007; Chevalier et al., 2008; Polo-Corales et al., 2014). Как уже сказано, выбор скаффолда является одним из ключевых элементов для успешной реконструкции тканей. Например, биокерамика (гидроксиапатит, HA; биостекло (окись кремния в смеси с окисями других элементов), включая подгруппу цементных матриц (трикальций фосфат, TCP)) и полимеры подходят для формирования костной ткани, поскольку нативная кость состоит из биологического апатита и естественных полимеров. Однако керамика является хрупкой, а полимеры не обладают достаточными механическими свойствами. И это ограничивает их применение в областях, несущих нагрузку. В отличие от этих материалов биodeградируемые (Mg, Fe, Mn, Zn) и не биodeградируемые (Ta-, Ti-, Ti-Ni-сплавы) металлы более пригодны для зон с повышенной нагрузкой из-за их высокой механической прочности (Rijal, Shin, 2017). В то же время металлы не подходят для тканевой инженерии мягких тканей, поскольку являются биоинертными и практически не биоразлагаемы. Для формирования большинства тканей при создании скаффолдов используют естественные (коллаген, хитозан, альгинат, агарозу, фибрин, фибронектин) и искусственные (поли- α -гидроксиэфиры, в частности полимолочную кислоту (PLA), полигликолиевую кислоту (PGA), их смесь (PLGA), PCL, полиэтиленгликоль (PEG)) полимеры, гидрогели, образующиеся путем ковалентного или ионного сшивания водорастворимых естественных и искусственных полимеров, или их комбинации (Spector, 2006; Carletti et al., 2011; Zhu, Marchant, 2011; Kumar et al., 2013; Do et al., 2015). Гидрогели,

синтезированные ионным или ковалентным поперечным связыванием, могут инкапсулировать белки или биологически активные молекулы, постепенно высвобождая их, управляя набуханием гидрогелей и ростом клеток (Berger et al., 2004). Использование естественно полученных кросс-линкеров, например, гепарина и светочувствительного витамина B_2 , для сшивки ВКМ и факторов роста является большим достижением в моделях тканевой инженерии. Это способствует уменьшению использования неродных кросс-линкеров и синтетических полимеров, которые имеют больше недостатков, чем достоинств в регенерации тканей и высокую вероятность отторжения трансплантата.

Варьированием соотношения различных компонентов – естественных и искусственных полимеров, биокерамики и гидрогелей – скаффолду пытаются придать заранее заданные свойства (Bose et al., 2012; Wu et al., 2014; García-Gareta et al., 2015; Turnbull et al., 2017). В зависимости от задачи, скаффолды могут быть спроектированы биоразлагаемыми, так что только новообразованная ткань останется после определенного периода имплантации, или они могут быть более биостабильными, обеспечивая композитной ткани долгосрочную поддержку (Bernhard, Vunjak-Novakovic, 2016). В случае использования биodeградируемых скаффолдов клетки биоинженерной конструкции будут реконструировать скаффолд путем синтеза собственных белков ВКМ, встраивая формируемую ткань без ущерба для структурной целостности существующим тканям. Однако этот процесс требует строгой координации скорости биodeградации скаффолдов с коэффициентом биосинтеза, и это одно из основных препятствий в этой области.

Структурно-функциональные особенности тканей и органов требуют различного подхода в выборе тканевых инженерных стратегий, которые будут продемонстрированы на примерах воссоздания относительно простых в структурно-функциональном отношении тканей – кожи и кости, и более сложных эквивалентов тканей и органов – скелетной мускулатуре и печени.

РЕКОНСТРУКЦИЯ КОЖИ

Так как в практике культивирования наиболее легко воспроизводимыми оказались покровные эпителии, то не удивительно, что первой органомодельной структурой, которую удалось воссоздать *ex vivo*, и чему посвящено наибольшее количество исследований, явилась кожа. Выращивание фибробластов в толще трехмерного коллагенового геля (живой эквивалент дермы *in vitro*) оказалось наиболее оптимальной основой для выращивания эпидермиса. Нанесенные на поверхность дермального эквивалента кератиноциты разрастались в сплошные эпидермальные пласты, как по матрице (Yannas et al., 1982), формируя структуру, кото-

рую можно было считать полнослойным эквивалентом живой кожи.

Широкому внедрению аллогенных эпидермальных и полнослойных эквивалентов, разрабатываемых с целью сокращения сроков создания трансплантатов, препятствовали противоречивость результатов их применения в клинике, высокая цена и трудоемкость данной технологии по сравнению с выращиванием фибробластов (Cui et al., 1986; Atiyeh, Costagliola, 2007). Параллельно было установлено, что наличия изолированного дермального эквивалента в большинстве случаев вполне достаточно для эффективной реэпителизации раневых дефектов. Относительная простота получения дермального эквивалента открыла возможность конструирования различных вариантов биологических покрытий для закрытия ран различного генеза и локализаций.

Несмотря на то, что децеллюляризованная дерма является максимально близким аналогом нативной ткани, при создании полнослойных и дермальных эквивалентов кожи гораздо чаще в качестве скаффолда, имитирующего ВКМ, используют биосовместимые природные или синтетические полимеры, прежде всего коллаген. Сочетания коллагена с гликозаминогликанами, хитозаном, PCL, PGLA используются для повышения механических свойств, стабильности и предотвращения гиперконтракции коллагеновой матрицы в ходе заживления раны (Park et al., 2003; Horn et al., 2009). Для модулирования общих биологических и механических свойств дермального эквивалента в качестве дополнительного компонента также широко используются желатин и фибрин (Deng et al., 2007).

Достаточно большое количество работ посвящено исследованию разных аспектов применения СК костномозгового происхождения в составе эквивалента дермы (Badiavas et al., 2003; Fathke, 2004; Chu et al., 2017), однако основным типом клеток для заселения дермального скаффолда остаются дермальные фибробласты, как по причине технологической простоты их выделения и культивирования, так и благодаря их способности структурировать коллаген, стимулировать грануляции ран и секретировать ряд факторов роста, ускоряющих васкуляризацию и регенерацию кожи, что в свою очередь, не требует обязательно внесения биологически активных факторов.

Возможно, из-за отсутствия выраженной трехмерности кожа, как реконструируемый орган, была несколько обойдена вниманием разработчиков компьютерного дизайна и инновационных 3D-технологий. Исследования, касающиеся применения методов 3D-печати для создания биоинженерных конструкций кожи, в целом пока немногочисленны и существуют только в эксперименте (Tarassoli et al., 2018). При этом в литературе освещаются два подхода к реконструкции кожи с применением технологий 3D: непосредственная печать в месте повреждения *in situ* и предварительная печать имплантируемого фрагмента ко-

жи *in vitro* с последующей аппликацией на рану (Binder et al., 2010). В последнее время в литературе активно обсуждается работа Кубо с соавт. (Cubo et al., 2016), предложивших методику срочного изготовления кожного биоконструкта методом послойной печати *in vitro*. Приживление образца напечатанной таким способом человеческой кожи иммунодефицитным мышам дало положительный результат. По мнению разработчиков, такой метод позволяет печатать кожу в объемах, необходимых для клинического использования в urgentных состояниях.

Несмотря на существующие достижения и огромное число исследований, реконструкция полнофункциональной кожи человека пока остается сложной задачей в основном за счет трудностей воспроизведения волосных фолликулов, кожных желез и культивирования высокодифференцированных специализированных элементов, таких, как клетки Лангерганса и Меркеля, или создания условий для направленной дифференцировки их предшественников. Исключение составляют меланоциты, которыми сравнительно давно удается заселять культуры кератиноцитов и даже получать пигментированные полнослойные кожные эквиваленты (Gledhill et al., 2015).

РЕКОНСТРУКЦИЯ КОСТИ

Подбор материала скаффолда для реконструкции кости особенно актуален из-за необходимости стабильного поддержания довольно объемной трехмерной структуры. Стабилизация объема реконструируемой кости требует применения либо абсолютно стабильных каркасов (титановая сетка) (Fahmy et al., 2016), либо скаффолдов из биорезорбируемых полимеров с прогнозируемой скоростью их деградации, которая должна находиться в балансе со скоростью роста клеток и продукции ими клеточного вещества кости, замещающего в конечном итоге деградирующий временный субстрат. Включение в состав композита также минералов, в первую очередь основных солей – ТСР и НА, не только более точно имитирует химические свойства натуральной кости и повышает механическую прочность костного импланта, но также способствует поддержанию оптимального рН на фоне накопления кислых продуктов распада полимера. Для моделирования кости на основе 3D-печати в настоящее время успешно используются такие полимерно-минеральные композиты, как PCL–TCP, PLGA–TCP–НА, PCL–PLGA–TCP, PLGA–PCL, желатин с НА (Li et al., 2011; García-Gareta et al., 2015).

Эффективность регенерации кости значительно повышается за счет введения в тканевой эквивалент биоактивных факторов, регулирующих рост костной ткани, прежде всего морфогенетических белков, основного фактора роста фибробластов и трансформирующего фактора роста $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$). Непосредственное включение росто-

вых остеогенных факторов в состав скаффолда на современном этапе стало возможным за счет преимуществ низкотемпературной 3D-печати (Vorn-dran et al., 2010).

Для восстановления относительно небольших костных дефектов достаточно остеоиндуктивной активности имплантированного пористого трехмерного скаффолда, снабженного только факторами роста и не заселенного клетками (Li et al., 2015). Однако реконструкция критических дефектов костной ткани требует как присутствия остеогенных факторов, так и обязательного заселения скаффолда клеточным материалом (Strobel et al., 2014). В качестве клеточных источников для заселения костных имплантов могут служить периодонтальные или периостальные остеообласти (Yamada et al., 2011), однако, в клинической практике для реконструкции костной ткани с использованием аутологичного материала чаще других типов клеток используют мезенхимальные СК жировой ткани или костномозгового происхождения, которые предварительно подвергают экспансии *in vitro* для получения эффективной дозы СК (Cerruti et al., 2007; Gan et al., 2008).

Отдельной проблемой создания жизнеспособных трехмерных тканевых эквивалентов является их адекватная васкуляризация (Johnson et al., 2011). В отношении биоинженерных костных имплантов стимуляция ангиогенеза и васкулогенеза достигается за счет использования пористых скаффолдов с совместным заселением их *in vitro* эндотелиальными клетками с остеогенными клетками (Carano, Filvaroff, 2003). В работе Тэмпл с соавт. (Temple et al., 2014) показана приемлемая васкуляризация имплантов сложной анатомической формы, изготовленных на основе PCL с помощью 3D-печати и предназначенных для восстановления обширных дефектов верхней и нижней челюстей пациента, индуцированная СК из жировой ткани.

РЕКОНСТРУКЦИЯ СКЕЛЕТНОЙ МУСКУЛАТУРЫ

Для реконструкции повреждений скелетной мускулатуры к настоящему времени экспериментально изучены различные подходы, предусматривающие использование скаффолдов из самых различных материалов, включая синтетические и натуральные полимеры, а также децеллюляризованный ВКМ различных органов (Grasman et al., 2015). В большинстве случаев клеточным компонентом для заселения скаффолдов служат культивированные предшественники: клетки-сателлиты (PAX-7⁺) или миобласты (Ostrovicov et al., 2014).

Основное преимущество используемых синтетических полимеров, наиболее популярными из которых для мускульной реконструкции являются PGA, PLA и PCL, заключается в возможности формирования любых заданных пространственно-геометрических структур (Neumann et al.,

2003; Williamson et al., 2006), в основном получаемых методом электроспиннинга (Choi et al., 2008). Так предварительная посадка миобластов на полимерную сетку из PCL с продольной ориентацией наночибрилл позволила в дифференциальной среде получить линейно ориентированные протяженные мышечные трубки (Choi et al., 2008; Guex et al., 2013). Добавление электропроводных материалов к полимеру скаффолда улучшает электростимуляцию культивируемых миобластов, значительно ускоряя их дифференцировку в миоциты (Ku et al., 2012; Chen et al., 2013). Несмотря на механическую прочность скаффолдов из синтетических полимеров и их способность задавать правильную структурно-пространственную организацию новообразованных мышечных волокон, в целом ряде работ отмечается существенная недостаточность и/или задержка васкуляризации, необходимой для окончательного формирования мышечной ткани *in situ*. К другим недостаткам синтетических полимерных матриц, снижающих их регенеративные свойства и резко ограничивающих их применение для лечения объемной потери мышечной массы, можно отнести разный по величине и предсказуемости ответ по типу воспалительной реакции на инородные тела (Yang et al., 2014), а также в ряде случаев ослабленную клеточную адгезию (Kim et al., 2010).

Для преодоления недостатков и повышения функциональности синтетических полимерных скаффолдов используются стратегии, предусматривающие добавление к синтетическому носителю природных полимеров или использование природных полимеров как таковых. Для мышечной реконструкции прежде всего рассматриваются альгинаты, коллаген и фибрин, которые в отличие от синтетических полимеров обладают высокой биологической активностью.

Применение децеллюляризованного ВКМ является отдельным и, пожалуй, самым распространенным в настоящее время подходом к реконструкции травматических мышечных дефектов и не предполагает его заселения клеточными элементами. В данном случае стимуляция регенерации мышечных волокон основана на инфильтрации скаффолда, имплантированного в зону дефекта, прогениторными клетками из сохранившейся окружающей мышечной ткани (Mase et al., 2010). Уже существующие бесклеточные скаффолды обладают характеристиками, воплощающими прекрасную основу для регенерации, так как не требуют аутологичной донорской мышечной ткани и идеальны по биологической безопасности. Для реконструкции мышечных дефектов в основном применяются децеллюляризованные скаффолды, полученные как из ткани скелетной мускулатуры, так и из подслизистого слоя тонкого кишечника и мочевого пузыря аллогенного или ксеногенного происхождения (Merritt et al., 2010; Mase et al., 2010; Wolf et al., 2012; Aurora et al., 2015). Интересно, что исходная тканевая специ-

фичность имплантируемого в зону дефекта децеллюляризованного ВКМ никак не влияет на конечный результат.

Несмотря на существующие единичные сообщения о высокой эффективности бесклеточных биологических скаффолдов (Chen, Walters, 2013), большинство экспериментальных и клинических исследований не подтверждает их способности к стимуляции клинически значимой регенерации скелетной мускулатуры (Merritt et al., 2010; Valentin et al., 2010; Corona et al., 2014; Pollot, Corona, 2016). Предполагается, что относительно низкая регенераторная эффективность бесклеточных скаффолдов связана с недостаточным уровнем эндогенной миграции клеток-сателлитов (PAX-7⁺) из сохранный участка мышечной ткани и последующим неприемлемо длительным ремоделингом, занимающим от 3 до 6 месяцев (Valentin et al., 2010; Corona et al., 2014).

Окончательное функциональное восстановление мышечной ткани в большой степени зависит не только от адекватной васкуляризации, но и от развития нервно-мышечных взаимодействий. Невозможность воссоздания иннервации биоинженерных конструкций мышечной ткани пока не позволяет создать функционирующие тканевые эквиваленты скелетной мускулатуры большой величины, способные заместить критические по объему дефекты (Kang et al., 2016).

РЕКОНСТРУКЦИЯ ПЕЧЕНИ

В настоящий момент применение биоинженерных конструкций печени представлено исключительно в экспериментальных исследованиях. Разработка тканеинженерных конструкций печени сопряжена с решением непростых задач выбора клеточных источников, матрицков и технологии комплексного стереоскопического заселения скаффолда-биоконструкта.

В качестве основного тканеспецифического клеточного элемента для создания биоэквивалентов печени могут использоваться как зрелые первично выделенные гепатоциты, так и их предшественники (Ogoke et al., 2017). Тем не менее, более привлекательным источником паренхиматозных клеток для создания биоинженерных конструкций печени представляются малодифференцированные, пролиферирующие предшественники гепатоцитов, к которым прежде всего относятся регионарные СК печени – овальные клетки (Libbrecht, Roskams, 2002) и малые гепатоциты (Best, Coleman, 2007). Также в последнее время в качестве потенциального источника предшественников гепатоцитов и холангиоцитов рассматриваются СК перибилиарных желез желчных протоков (Reid, 2016).

Полноценное функционирование гепатоцитов поддерживается также деятельностью непаренхиматозных клеток, играющих важную роль в производстве белков ВКМ. Данное обстоятельство диктует необходимость комплексного заселения

скаффолда эндотелиоцитами, Купферовскими и звездчатыми клетками и/или их предшественниками так, чтобы все основные типы клеточных элементов печени также присутствовали в составе тканеинженерной конструкции в правильном стереоскопическом распределении (Larkin et al., 2013), что представляет собой отдельную проблему.

Успешная разработка тканеинженерных конструкций ткани печени так же, как и эквивалентов других тканей, сопряжена с созданием и использованием биоматериалов с заданными свойствами. Продемонстрирована высокая жизнеспособность клеток, синтез мочевины и активация цитохрома P450 на коллагеновом каркасе при выращивании клеточных элементов печени в трехмерной культуре в конфигурации “коллагеновый сэндвич” (Zhang et al., 2011). Описано образование трехмерных тканеподобных структур и высокая активность зрелых и фетальных гепатоцитов в отношении синтеза трансаминаз, альбумина, мочевины, креатинина и глюкозы при выращивании в толще ВКМ, содержащего хитозан и гиалуроновую кислоту (Yan et al., 2005; Zhang et al., 2010).

Принципиальным является также сходство с трехмерной и внутренней архитектурой нативного ВКМ печени (Vasanthan et al., 2012). Размер, частота и структура пор матрикса играют важную роль в поддержании адгезии и специфических функций клеток печени. Наиболее приемлемыми для культивирования гепатоцитов в биоинженерных конструкциях признаны скаффолды с пористостью от 50 до 150 мкм и большим количеством сообщающихся пор для осуществления диффузионных процессов таких, как доставка кислорода, питательных веществ, регуляторных факторов и удаление продуктов метаболизма, а также обеспечения возможности прорастания в него сосудов для одновременного поддержания биологических свойств и физиологических функций клеток и предотвращения их ишемического повреждения и гибели (Mugua et al., 2008).

С учетом вышесказанного наиболее приемлемым скаффолдом с точки зрения биохимии и микроархитектоники является децеллюляризованная строма печени. Биоинженерная печень, созданная посредством рецеллюляризации ее бесклеточного матрикса органоспецифическими клетками, находится на начальной стадии разработки, однако рассматривается пока как наиболее реальная и перспективная альтернатива получения аллогенного органа. Децеллюляризация целого органа позволяет получить его соединительнотканый каркас с химически сохранными матриксными белками и интактной архитектурой. Так частично рецеллюляризованная гепатоцитами и эндотелиальными клетками децеллюляризованная печень крысы сохраняла белково-синтетическую функцию в течение 5 сут в условиях непрерывной перфузии, а после пересадки признаки ишемического повреждения гепатоцитов отсутствовали в течение 8 ч (Uygun et al., 2010). Про-

ведение аналогичных экспериментов с печенью свиньи сулит многообещающие перспективы с экстраполяцией на человека, поскольку на сегодняшний день максимальный вес свиной печени, поддающейся децеллюляризации, составляет 506 ± 27 г, а такой вес печени после ее рецеллюляризации может обеспечить полную компенсацию печеночных функций (Yagi et al., 2013), хотя до конца нерешенной проблемой является формирование полноценного сосудистого русла.

В последнее время появилось направление, ориентированное на создание долгоживущих имплантируемых тканеинженерных микромаштабных конструкций печени. Один из способов создания такой печени основан на применении технологии биологических микроэлектромеханических (чиповых) систем (BioMEMS – Biological MicroElectro Mechanical Systems). В данном случае культивирование клеток происходит в предварительно организованном пространстве в условиях контролируемого микроокружения. В рамках данного подхода имитация сложной тканевой структуры печени, как правило, создается за счет микрофлюидных систем, характеризующихся использованием матриксов с микрочастицами для заселения клеток разных типов и свободного проникновения кислорода. Так в микрофлюидных системах описано формирование различных функциональных элементов ткани печени, например, синусоидов (Zervantonakis et al., 2011) или желчных капилляров и тканеспецифичных тяжеподобных структур (Yamada et al., 2012). Совсем недавно Ду с соавт. (Du et al., 2017) смоделировали функциональную органотипическую структуру печени на двухканальном микрофлюидном чипе при совместном культивировании в одном канале синусоидального эндотелия и Купферовских клеток и звездчатых клеток с гепатоцитами – в другом канале чипа. При этом каналы были разделены полупроницаемой пористой мембраной. Поддержание активной синтетической функции в описанных системах способно продолжаться около трех месяцев.

Другим подходом для создания микромаштабных тканеинженерных структур печени является технология 3D-культуры ткани печени методом наложения, которая предусматривает сложение нескольких 2D-слоев клеток и служит для имитации естественной структуры ткани печени. Метод позволяет создать условия для формирования желчных капилляров и гепатоподобных структур, секретирующих альбумин уже спустя 5 сут после наложения слоев при культивировании предшественников гепатоцитов (малые гепатоциты) (Okano, 2014) или смеси клеток (малые гепатоциты, звездчатые и эндотелиальные клетки) на пористых мембранах (Kasuya et al., 2012). Тем не менее, несмотря на оригинальный подход к пространственной организации клеточных элементов печени и демонстрацию поддержания высокой синтетической гепатоспецифической функции,

подобные микроустройства пока неприменимы в клинике и могут служить только в качестве клеточных систем для тестирования гепатотоксичности лекарств.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Стратегии выбора биоинженерных конструкций сталкиваются со сложными инженерными задачами по имитации естественного микроокружения. При “воссоздании” какого-либо органа или ткани требуется выбор как клеток, так и носителей. Огромное количество работ посвящено созданию и тестированию *in vitro* и *in vivo* материалов скаффолдов с улучшенными свойствами, оптимизации процедур изоляции, экспансии и дифференцировки клеток, технологических подходов к комплексному заселению клетками 3D-матриц с использованием современных компьютерных технологий. Тем не менее, пока удалось получить только приближенные аналоги относительно простых в структурно-функциональном отношении тканей, таких как кожа, хрящ или кость. В то же время биоинженерное воспроизведение сложных специализированных тканей, таких как печень или почка, отличающихся высокой клеточной гетерогенностью и комплексными внутренними структурно-функциональными и пространственными взаимоотношениями, на сегодняшний момент пока далеко от воплощения. Несмотря на все достижения регенеративной медицины в создании биоинженерных конструкций, их фактический вклад в общую картину лучшего восстановления, замены и нормализации клеточной/тканевой функции на сегодняшний день пока незначителен (Webber et al., 2015).

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена в рамках раздела государственного задания МГМСУ им. А.И. Евдокимова “Разработка технологии стимулирования направленной регенерации костной и иных тканей с использованием 3D-моделирования матриц сложной конфигурации” и ИБР РАН по теме № 0108-2019-0004.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием животных и людей в качестве объектов исследований.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Abukawa H., Papadaki M., Abulikemu M. et al. The engineering of craniofacial tissues in the laboratory: a review

- of biomaterials for scaffolds and implant coatings // *Dent. Clin. North Am.* 2006. V. 50. № 2. P. 205–216.
- Albuquerque M.T.P., Valera M.C., Nakashima M. et al.* Tissue-engineering-based strategies for regenerative endodontics // *J. Dent. Res.* 2014. V. 93. № 12. P. 1222–1231.
- Atiyeh B.S., Costagliola M.* Cultured epithelial autograft (CEA) in burn treatment: three decades later // *Burns.* 2007. V. 33. № 4. P. 405–413.
- Aurora A., Roe J.L., Corona B.T., Walters T.J.* An acellular biologic scaffold does not regenerate appreciable *de novo* muscle tissue in rat models of volumetric muscle loss injury // *Biomaterials.* 2015. V. 67. P. 393–407.
- Badiavas E.V., Abedi M., Butmarc J. et al.* Participation of bone marrow derived cells in cutaneous wound healing // *J. Cell. Physiol.* 2003. V. 196. № 2. P. 245–250.
- Baptista P.M., Siddiqui M.M., Lozier G. et al.* The use of whole organ decellularization for the generation of a vascularized liver organoid // *Hepatology.* 2011. V. 53. № 2. P. 604–617.
- Berger J., Reist M., Mayer J.M. et al.* Structure and interactions in covalently and ionically crosslinked chitosan hydrogels for biomedical applications // *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2004. V. 57. № 1. P. 19–34.
- Bernhard J.C., Vunjak-Novakovic G.* Should we use cells, biomaterials, or tissue engineering for cartilage regeneration? // *Stem Cell Res. Ther.* 2016. V. 7. № 1. P. 56.
- Best D.H., Coleman W.B.* Treatment with 2-AAF blocks the small hepatocyte-like progenitor cell response in retorsine-exposed rats // *J. Hepatol.* 2007. V. 46. № 6. P. 1055–1063.
- Binder K.W., Zhao W., Aboushwareb T. et al.* *In situ* bioprinting of the skin for burns // *J. Am. Coll. Surg.* 2010. V. 211. № 3. P. S76.
- Boccaccini A.R., Blaker J.J.* Bioactive composite materials for tissue engineering scaffolds // *Exp. Rev. Med. Dev.* 2005. V. 2. № 3. P. 303–317.
- Bose S., Roy M., Bandyopadhyay A.* Recent advances in bone tissue engineering scaffolds // *Trends Biotechnol.* 2012. V. 30. № 10. P. 546–554.
- Carano R.A.D., Filvaroff E.H.* Angiogenesis and bone repair // *Drug Discov. Today.* 2003. V. 8. № 21. P. 980–989.
- Carletti E., Motta A., Migliaresi C.* Scaffolds for tissue engineering and 3D cell culture // *Methods Mol. Biol. (Clifton, N.J.).* 2011. V. 695. P. 17–39.
- Cerruti H.F., Kerkis I., Kerkis A. et al.* Allogeneous bone grafts improved by bone marrow stem cells and platelet growth factors: clinical case reports // *Artif. Organs.* 2007. V. 31. № 4. P. 268–273.
- Chai C., Leong K.W.* Biomaterials approach to expand and direct differentiation of stem cells // *Mol. Ther.* 2007. V. 15. № 3. P. 467–480.
- Chan B.P., Leong K.W.* Scaffolding in tissue engineering: general approaches and tissue-specific considerations // *Eur. Spine J.* 2008. V. 17. P. 467–479.
- Chani B., Puri V., Sobti R.C. et al.* Decellularized scaffold of cryopreserved rat kidney retains its recellularization potential // *PLoS One.* 2017. V. 12. № 3. P. e0173040.
- Chaudhuri O., Koshy S.T., Branco Da Cunha C. et al.* Extracellular matrix stiffness and composition jointly regulate the induction of malignant phenotypes in mammary epithelium // *Nat. Mater.* 2014. V. 13. № 10. P. 970–978.
- Chen M.C., Sun Y.C., Chen Y.H.* Electrically conductive nanofibers with highly oriented structures and their potential application in skeletal muscle tissue engineering // *Acta Biomater.* 2013. V. 9. № 3. P. 5562–5572.
- Chen X.K., Walters T.J.* Muscle-derived decellularised extracellular matrix improves functional recovery in a rat latissimus dorsi muscle defect model // *J. Plast. Reconstr. Aesthetic Surg.* 2013. V. 66. № 12. P. 1750–1758.
- Chevalier E., Chulia D., Pouget C., Viana M.* Fabrication of porous substrates: a review of processes using pore forming agents in the biomaterial field // *J. Pharm. Sci.* 2008. V. 97. № 3. P. 1135–1154.
- Choi J.S., Lee S.J., Christ G.J. et al.* The influence of electrospun aligned poly(ϵ -caprolactone)/collagen nanofiber meshes on the formation of self-aligned skeletal muscle myotubes // *Biomaterials.* 2008. V. 29. № 19. P. 2899–2906.
- Chu G.Y., Chen Y.F., Chen H.Y. et al.* Stem cell therapy on skin: mechanisms, recent advances and drug reviewing issues // *J. Food Drug Anal.* 2017. V. 26. № 1. P. 14–20.
- Corona B.T., Ward C.L., Baker H.B. et al.* Implantation of *in vitro* tissue engineered muscle repair constructs and bladder acellular matrices partially restore *in vivo* skeletal muscle function in a rat model of volumetric muscle loss injury // *Tissue Eng. Part A.* 2014. V. 20. № 3–4. P. 705–715.
- Cubo N., Garcia M., del Cañizo J.F. et al.* 3D bioprinting of functional human skin: production and *in vivo* analysis // *Biofabrication.* 2016. V. 9. № 1. P. 015006.
- Cuono C., Langdon R., McGuire J.* Use of cultured epidermal autografts and dermal allografts as skin replacement after burn injury // *Lancet.* 1986. V. 327. № 8490. P. 1123–1124.
- Deng C.M., He L.Z., Zhao M. et al.* Biological properties of the chitosan-gelatin sponge wound dressing // *Carbohydr. Polym.* 2007. V. 69. № 3. P. 583–589.
- Do A.-V., Khorsand B., Geary S.M., Salem A.K.* 3D printing of scaffolds for tissue regeneration applications // *Adv. Healthc. Mater.* 2015. V. 4. № 12. P. 1742–1762.
- Du Y., Li N., Yang H. et al.* Mimicking liver sinusoidal structures and functions using a 3D-configured microfluidic chip // *Lab Chip.* 2017. V. 17. № 5. P. 782–794.
- Elliott N.T., Yuan F.* A review of three-dimensional *in vitro* tissue models for drug discovery and transport studies // *J. Pharm. Sci.* 2011. V. 100. № 1. P. 59–74.
- Fahmy M.D., Jazayeri H.E., Razavi M. et al.* Three-dimensional bioprinting materials with potential application in preprosthetic surgery // *J. Prosthodont.* 2016. V. 25. № 4. P. 310–318.
- Farnebo S., Woon C.Y.L., Schmitt T. et al.* Design and characterization of an injectable tendon hydrogel: a novel scaffold for guided tissue regeneration in the musculoskeletal system // *Tissue Eng. Part A.* 2014. V. 20. № 9–10. P. 1550–1561.
- Fathke C.* Contribution of bone marrow-derived cells to skin: collagen deposition and wound repair // *Stem Cells.* 2004. V. 22. № 5. P. 812–822.
- Fisher M.B., Mauck R.L.* Tissue engineering and regenerative medicine: recent innovations and the transition to translation // *Tissue Eng. Part B. Rev.* 2013. V. 19. № 1. P. 1–13.
- Gan Y., Dai K., Zhang P. et al.* The clinical use of enriched bone marrow stem cells combined with porous beta-tricalcium phosphate in posterior spinal fusion // *Biomaterials.* 2008. V. 29. № 29. P. 3973–3982.
- García-Gareta E., Coathup M.J., Blunn G.W.* Osteoinduction of bone grafting materials for bone repair and regeneration // *Bone.* 2015. V. 81. P. 112–121.

- Garg T., Singh O., Arora S., Murthy R.S.R. Scaffold: a novel carrier for cell and drug delivery // *Crit. Rev. Ther. Drug Carr. Syst.* 2012. V. 29. № 1. P. 1–63.
- Gilbert T.W., Sellaro T.L., Badylak S.F. Decellularization of tissues and organs // *Biomaterials.* 2006. V. 27. № 19. P. 3675–3683.
- Gledhill K., Guo Z., Umegaki-Arao N. et al. Melanin transfer in human 3D skin equivalents generated exclusively from induced pluripotent stem cells // *PLoS One.* 2015. V. 10. № 8. P. e0136713.
- Grasman J.M., Zayas M.J., Page R.L., Pins G.D. Biomimetic scaffolds for regeneration of volumetric muscle loss in skeletal muscle injuries // *Acta Biomater.* 2015. V. 25. P. 2–15.
- Guex A.G., Birrer D.L., Fortunato G. et al. Anisotropically oriented electrospun matrices with an imprinted periodic micropattern: a new scaffold for engineered muscle constructs // *Biomed. Mater.* 2013. V. 8. № 2. P. 021001.
- Hodde J. Extracellular matrix as a bioactive material for soft tissue reconstruction // *ANZ J. Surg.* 2006. V. 76. № 12. P. 1096–1100.
- Horn M.M., Martins V.C.A., de Guzzi Plepis A.M. Interaction of anionic collagen with chitosan: effect on thermal and morphological characteristics // *Carbohydr. Polym.* 2009. V. 77. № 2. P. 239–243.
- Ifkovits J.L., Burdick J.A. Review: photopolymerizable and degradable biomaterials for tissue engineering applications // *Tissue Eng.* 2007. V. 13. № 10. P. 2369–2385.
- Johnson E.O., Troupis T., Soucacos P.N. Tissue-engineered vascularized bone grafts: basic science and clinical relevance to trauma and reconstructive microsurgery // *Microsurgery.* 2011. V. 31. № 3. P. 176–182.
- Kang H.W., Lee S.J., Ko I.K. et al. A 3D bioprinting system to produce human-scale tissue constructs with structural integrity // *Nat. Biotechnol.* 2016. V. 34. № 3. P. 312–319.
- Kasuya J., Sudo R., Mitaka T. et al. Spatio-temporal control of hepatic stellate cell-endothelial cell interactions for reconstruction of liver sinusoids *in vitro* // *Tissue Eng. Part A.* 2012. V. 18. № 9–10. P. 1045–1056.
- Kim M.S., Jun I., Shin Y.M. et al. The development of genipin-crosslinked poly(caprolactone) (PCL)/gelatin nanofibers for tissue engineering applications // *Macromol. Biosci.* 2010. V. 10. № 1. P. 91–100.
- Ku S.H., Lee S.H., Park C.B. Synergic effects of nanofiber alignment and electroactivity on myoblast differentiation // *Biomaterials.* 2012. V. 33. № 26. P. 6098–6104.
- Kumar V.A., Caves J.M., Haller C.A. et al. Acellular vascular grafts generated from collagen and elastin analogs // *Acta Biomater.* 2013. V. 9. № 9. P. 8067–8074.
- Langer R., Tirrell D.A. Designing materials for biology and medicine // *Nature.* 2004. V. 428. № 6982. P. 487–492.
- Larkin A.L., Rodrigues R.R., Murali T.M., Rajagopalan P. Designing a multicellular organotypic 3D liver model with a detachable, nanoscale polymeric space of disse // *Tissue Eng. Part C. Methods.* 2013. V. 19. № 11. P. 875–884.
- Li J., He L., Zhou C. et al. 3D printing for regenerative medicine: from bench to bedside // *MRS Bull.* 2015. V. 40. № 2. P. 145–153.
- Li J., Hsu Y., Luo E. et al. Computer-aided design and manufacturing and rapid prototyped nanoscale hydroxyapatite/polyamide (n-HA/PA) construction for condylar defect caused by mandibular angle ostectomy // *Aesth. Plast. Surg.* 2011. V. 35. № 4. P. 636–640.
- Libbrecht L., Roskams T. Hepatic progenitor cells in human liver diseases // *Semin. Cell Dev. Biol.* 2002. V. 13. № 6. P. 389–396.
- Mase V.J., Hsu J.R., Wolf S.E. et al. Clinical application of an acellular biologic scaffold for surgical repair of a large, traumatic quadriceps femoris muscle defect // *Orthopedics.* 2010. V. 33. № 7. P. 511.
- Melrose J. Strategies in regenerative medicine for intervertebral disc repair using mesenchymal stem cells and bioscaffolds // *Regen. Med.* 2016. V. 11. № 7. P. 705–724.
- Merritt E.K., Hammers D.W., Tierney M. et al. Functional assessment of skeletal muscle regeneration utilizing homologous extracellular matrix as scaffolding // *Tissue Eng. Part A.* 2010. V. 16. № 4. P. 1395–1405.
- Murua A., Portero A., Orive G. et al. Cell microencapsulation technology: towards clinical application // *J. Control. Release.* 2008. V. 132. № 2. P. 76–83.
- Neumann T., Hauschka S.D., Sanders J.E. Tissue engineering of skeletal muscle using polymer fiber arrays // *Tissue Eng.* 2003. V. 9. № 5. P. 995–1003.
- Ogoke O., Oluwole J., Parashurama N. Bioengineering considerations in liver regenerative medicine // *J. Biol. Eng.* 2017. V. 11. № 1. P. 46.
- Okano T. Current progress of cell sheet tissue engineering and future perspective // *Tissue Eng. Part A.* 2014. V. 20. № 9–10. P. 1353–1354.
- Ostrovitov S., Hosseini V., Ahadian S. et al. Skeletal muscle tissue engineering: methods to form skeletal myotubes and their applications // *Tissue Eng. Part B. Rev.* 2014. V. 20. № 5. P. 403–436.
- Park S.N., Lee H.J., Lee K.H., Suh H. Biological characterization of EDC-crosslinked collagen-hyaluronic acid matrix in dermal tissue restoration // *Biomaterials.* 2003. V. 24. № 9. P. 1631–1641.
- Pollok B.E., Corona B.T. Volumetric muscle loss // *Methods Mol. Biol.* 2016. V. 1460. P. 19–31.
- Polo-Corrales L., Latorre-Esteves M., Ramirez-Vick J.E. Scaffold design for bone regeneration // *J. Nanosci. Nanotechnol.* 2014. V. 14. № 1. P. 15–56.
- Reid L.M. Stem/progenitor cells and reprogramming (plasticity) mechanisms in liver, biliary tree, and pancreas // *Hepatology.* 2016. V. 64. № 1. P. 4–7.
- Rijal G., Li W. 3D scaffolds in breast cancer research // *Biomaterials.* 2016. V. 81. P. 135–156.
- Rijal G., Shin H.-I. Human tooth-derived biomaterial as a graft substitute for hard tissue regeneration // *Regen. Med.* 2017. V. 12. № 3. P. 263–273.
- Shimomura K., Rothrauff B.B., Tuan R.S. Region-specific effect of the decellularized meniscus extracellular matrix on mesenchymal stem cell-based meniscus tissue engineering // *Am. J. Sports Med.* 2017. V. 45. № 3. P. 604–611.
- Spector M. Biomaterials-based tissue engineering and regenerative medicine solutions to musculoskeletal problems // *Swiss Med. Wkly.* 2006. V. 136. № 19–20. P. 293–301.
- Strobel L., Rath S., Maier A. et al. Induction of bone formation in biphasic calcium phosphate scaffolds by bone morphogenetic protein-2 and primary osteoblasts // *J. Tissue Eng. Regen. Med.* 2014. V. 8. № 3. P. 176–185.
- Tarassoli S.P., Jessop Z.M., Al-Sabah A. et al. Skin tissue engineering using 3D bioprinting: an evolving research field // *J. Plast. Reconstr. Aesth. Surg.* 2018. V. 71. № 5. P. 615–623.
- Temple J.P., Hutton D.L., Hung B.P. et al. Engineering anatomically shaped vascularized bone grafts with hASCs

- and 3D-printed PCL scaffolds // *J. Biomed. Mater. Res. Part A*. 2014. V. 102. № 12. P. 4317–4325.
- Turnbull G., Clarke J., Picard F. et al. 3D bioactive composite scaffolds for bone tissue engineering // *Bioact. Mater.* 2017. V. 3. № 3. P. 278–314.
- Uygun B.E., Soto-Gutierrez A., Yagi H. et al. Organ reengineering through development of a transplantable recellularized liver graft using decellularized liver matrix // *Nat. Med.* 2010. V. 16. № 7. P. 814–820.
- Valentin J.E., Turner N.J., Gilbert T.W., Badylak S.F. Functional skeletal muscle formation with a biologic scaffold // *Biomaterials*. 2010. V. 31. № 29. P. 7475–7484.
- Vasanthan K.S., Subramanian A., Krishnan U.M., Sethuraman S. Role of biomaterials, therapeutic molecules and cells for hepatic tissue engineering // *Biotechnol. Adv.* 2012. V. 30. № 3. P. 742–752.
- Vorndran E., Klammert U., Ewald A. et al. Simultaneous immobilization of bioactives during 3D powder printing of bioceramic drug-release matrices // *Adv. Funct. Mater.* 2010. V. 20. № 10. P. 1585–1591.
- Webber M.J., Khan O.F., Sydlík S.A. et al. A Perspective on the clinical translation of scaffolds for tissue engineering // *Ann. Biomed. Eng.* 2015. V. 43. № 3. P. 641–656.
- Williamson M.R., Adams E.F., Coombes A.G.A. Gravity spun polycaprolactone fibres for soft tissue engineering: interaction with fibroblasts and myoblasts in cell culture // *Biomaterials*. 2006. V. 27. № 7. P. 1019–1026.
- Wolf M.T., Daly K.A., Reing J.E., Badylak S.F. Biologic scaffold composed of skeletal muscle extracellular matrix // *Biomaterials*. 2012. V. 33. № 10. P. 2916–2925.
- Woo J.S., Fishbein M.C., Reemtsen B. Histologic examination of decellularized porcine intestinal submucosa extracellular matrix (CorMatrix) in pediatric congenital heart surgery // *Cardiovasc. Pathol.* 2016. V. 25. № 1. P. 12–17.
- Wu S., Liu X., Yeung K.W.K. et al. Biomimetic porous scaffolds for bone tissue engineering // *Mater. Sci. Eng. R. Rep.* 2014. V. 80. № 1. P. 1–36.
- Yagi H., Fukumitsu K., Fukuda K. et al. Human-scale whole-organ bioengineering for liver transplantation: a regenerative medicine approach // *Cell Transplant.* 2013. V. 22. № 2. P. 231–242.
- Yamada M., Utoh R., Ohashi K. et al. Controlled formation of heterotypic hepatic micro-organoids in anisotropic hydrogel microfibers for long-term preservation of liver-specific functions // *Biomaterials*. 2012. V. 33. № 33. P. 8304–8315.
- Yamada Y., Ito K., Nakamura S. et al. Promising cell-based therapy for bone regeneration using stem cells from deciduous teeth, dental pulp, and bone marrow // *Cell Transplant.* 2011. V. 20. № 7. P. 1003–1013.
- Yan Y., Wang X., Pan Y. et al. Fabrication of viable tissue-engineered constructs with 3D cell-assembly technique // *Biomaterials*. 2005. V. 26. № 29. P. 5864–5871.
- Yang J., Jao B., McNally A.K., Anderson J.M. *In vivo* quantitative and qualitative assessment of foreign body giant cell formation on biomaterials in mice deficient in natural killer lymphocyte subsets, mast cells, or the interleukin-4 receptor α and in severe combined immunodeficient mice // *J. Biomed. Mater. Res. Part A*. 2014. V. 102. № 6. P. 2017–2023.
- Yannas I., Burke J., Orgill D., Skrabut E. Wound tissue can utilize a polymeric template to synthesize a functional extension of skin // *Science*. 1982. V. 215. № 4529. P. 174–176.
- Zervantonakis I.K., Kothapalli C.R., Chung S. et al. Microfluidic devices for studying heterotypic cell-cell interactions and tissue specimen cultures under controlled microenvironments // *Biomicrofluidics*. 2011. V. 5. № 1. P. 013406.
- Zhang F., Xu R., Zhao M.J. QSG-7701 human hepatocytes form polarized acini in three-dimensional culture // *J. Cell. Biochem.* 2010. V. 110. № 5. P. 1175–1186.
- Zhang S., Tong W., Zheng B. et al. A robust high-throughput sandwich cell-based drug screening platform // *Biomaterials*. 2011. V. 32. № 4. P. 1229–1241.
- Zhu J., Marchant R.E. Design properties of hydrogel tissue-engineering scaffolds // *Exp. Rev. Med. Dev.* 2011. V. 8. № 5. P. 607–626.
- Zippel N., Schulze M., Tobiasch E. Biomaterials and mesenchymal stem cells for regenerative medicine // *Recent Pat. Biotechnol.* 2010. V. 4. № 1. P. 1–22.

Strategy of the Selection and Use of Scaffolds in Bioengineering

A. A. Ivanov^{1,*}, O. P. Popova¹, T. I. Danilova¹, A. V. Kuznetsova^{1,2}

¹*Evdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry, Moscow, Russia*

²*Koltzov Institute of Developmental Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia*

*e-mail: butivanov@yandex.ru

Received August 30, 2018

Revised August 30, 2018

Accepted August 30, 2018

Currently, in modern medicine, to restore or replace lost/damaged organs or tissues, approaches to the creation of bioengineering structures using cellular technologies are actively being developed. A huge number of works are devoted to the creation and testing *in vitro* and *in vivo* of scaffold materials with improved properties, optimization of isolation procedures, expansion and differentiation of cells, technological approaches to complex population of 3D-matrix cells using modern computer technologies. Nevertheless, so far only approximate analogues of relatively simple structurally functional tissues, such as skin, cartilage or bone, have been obtained. At the same time, bioengineering reproduction of complex specialized tissues, such as the liver or kidney, characterized by high cellular heterogeneity and complex internal structural/functional and spatial relationships, is far from being realized.

Keywords: tissue engineering, 3D-scaffolds, bioengineering constructions